التنوع الشكلي والوراثي لطرز التوت الشامي (*Morus nigra* L.) في المنطقة الجنوبية من سورية

علاء عبود*[1] وفيصل حامد[2] وفهد البيسكي[3]

(1). الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية دمشق، سورية.

(2). قسم البساتين، كلية الهندسة الزراعية، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

(3). قسم التقانات الحيوية النباتية، الهيئة العامة للتقانات الحيوية، دمشق، سورية

(*للمراسلة: د. علاء عبود. البريد الالكتروني:Discovery_ao@hotmail.com).

تاريخ الاستلام:2022/04/28 تاريخ القبول:2022/06/6

الملخص:

نفذ البحث لصالح الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية خلال الفترة الزمنية (2019 – 2021) على 27 طرازاً مظهريّاً من التوت الشامي (الأسود) المزروعة، بالإضافة إلى 3 طرز بذرية بهدف تقييمها شكلياً ووراثياً، حيث أجريت الدراسة الشكلية في مواقع الكوم وخان أرنبة (محافظة القنيطرة) ودربل (محافظة ريف دمشق) وحوط (محافظة السويداء) باعتماد 28 مؤشر شكلي. وتمت الدراسة الجزيئية في مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية /قسم التقانات الحيوية النباتية/، وذلك باستخدام 16 بادئاً من بادئات تقنية ISSR. أظهرت النتائج اختلافاً بين طرز التوت الشامي المحلية (المزروعة) فيما يتعلق بالصفات الشكلية والزراعية، حيث بلغ متوسط قيم عدم التوافق (PDV) للموقع المدروس 0.30، وأشار التحليل العنقودي الشكلي إلى انفصال طرز التوت الشامي في مجموعة مستقلة عن الطرز الثلاث البذرية، كما انفرد الطراز 1kh بعنقود مستقل. أظهرت الدراسة الجزيئية اختلافات وراثية بين الطرز المدروسة حيث بلغ متوسط قيم عدم التوافق (PDV) 0.72، أعطت جميع البادئات المستخدمة تعددية شكلية بنسبة 100%، كما أشار التحليل العنقودي الجزيئي وبشكل واضح إلى انفراد طرز كل موقع بمجموعة مستقلة (الكوم، خان أرنبة، دربل، حوط). بيّن اختبار Mantel وجود ارتباط ضعيف وغير معنوي بين شجرتي القرابة الشكلية والجزيئية (r=0.27). وقد أظهرت النتائج أيضاً كفاءة تقنية ISSR في تحديد درجة التباين الوراثي والتمييز بين الطرز المدروسة، وبالتالي إمكانية استخدام هذه التقنية في دراسات التنوع الوراثي.

الكلمات المفتاحية: التوت الأسود، صنف الشامي، *Morus nigra* L.، التعددية الشكلية، ISSR، التنوع الوراثي.

المقدمة:

تعد شجرة التوت الشامي (الأسود) *Morus nigra* L. من أشجار الفاكهة الهامة في سورية وخاصة بعد التوسع في زراعته تبعاً لمردوديته الجيدة. ينتمي التوت الشامي إلى رتبة *Urticalis*، والعائلة التوتية *Moraceae* وللجنس *Morus* (Orhan and Ercisli, 2010; داؤود، 1979). كما أنها تعدُّ واحدة من أهم الأشجار المثمرة في سورية، إذ بلغ متوسط إنتاجية الشجرة الواحدة والتي يزيد عمرها عن 10 سنوات 100 إلى 300 كغ (النابلسي، 2004)، مما شكل حافزاً لدى المزارعين للتوسع في هذه الزراعة بزيادة ملحوظة بالمساحات المزروعة وبعدد الأشجار وخاصة مع بداية القرن الحادي والعشرين، حيث بدأ بعض المزارعين بتأسيس

بساتين للتوت الشامي نظراً لزيادة الطلب عليه وارتفاع أسعاره وتعدد استخداماته ودخوله في العديد من الصناعات الدوائية والغذائية (Singhal *et al.*, 2010). حيث تمتاز ثمار التوت بخصائص علاجية لبعض الأمراض المعوية والمعدية وتستهلك طازجة أو على شكل عصائر وتصنع منه المربيات (Ozgen *et al.*, 2009)، كما تتميز ثمارها بغناها بالفينولات والقلويدات، وعلى كميات جيدة من المعادن كالبوتاسيوم والكالسيوم والمغنزيوم والصوديوم والحديد والزنك والنيكل (Imran *et al.*, 2010). لكن بالرغم من ذلك لا تزال زراعتها محدودة وتُعد من الأشجار المهددة بالانقراض وتقتصر زراعته في حوض المتوسط على بعض البساتين في المناطق الساحلية (Boubya *et al.*, 2009)، أما محلياً فقد بلغت المساحة المزروعة بأشجار التوت 562 هكتار لعام 2020 وبإجمالي إنتاج 2189 طن (المجموعة الإحصائية لوزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، 2020).

تعد سورية من أهم مراكز التنوع الأحيائي الوراثي ومهداً غنياً للعديد من المصادر الوراثية النباتية البرية والمستأنسة في العالم، ويعود ذلك إلى تنوع الأنظمة البيئية السائدة المتميزة بقدرتها الإنتاجية الجيدة وتحمّلها للإجهادات البيئية والحيوية، مما يجعلها مصدراً قيّماً للموارد الغذائية الذي لا بد من صونه وحمايته لتحقيق استدامته بشتى الوسائل.

يعدُّ التوصيف الشكلي (المورفولوجي) أحد الدعامات الأساسية التي اعتُمد عليها لتعريف الطرز وتمييزها، إذ تم وضع معايير عالمية لتوصيف الطرز الوراثية (Smith، 1997). وقد استُخدم التوصيف الشكلي في سورية لتعريف معظم الأنواع النباتية ومن ضمنها التوت الشامي، لكن الدراسات على هذا النوع لا تزال محدودة ولم تشمل جميع البيئات والمناطق التي تشتهر بزراعته وخاصة المنطقة الجنوبية، وقد قامت منظمة الأغذية والزراعة التابعة للأمم المتحدة الفاو (FAO) بوضع مفتاح توصيفي لأشجار التوت الأسود *Morus nigra* L. بالتحديد (Rao، 2002).

أظهر التحليل العنقودي الناتج عن الدراسة الشكلية (14 مؤشر) لـ 25 طرازاً تابعاً لأربعة أنواع من التوت، وجود اختلافات كبيرة بين الطرز التي توزعت على 7 مجموعات متباينة، مما أكد إمكانية استخدام التوصيف الشكلي لإظهار التباين الوراثي وإمكانية استخدام النتائج في التحسين الوراثي للتوت (Banerjee *et al.*, 2007).

درس Koyuncu (2004) الصفات الشكلية والكيميائية والنوعية لثمار 153 طرازاً من التوت الأسود مزروعة في 6 مواقع بهدف انتخاب أفضل الطرز وإدخالها في برامج التربية والتحسين الوراثي.

درس (Jolly *et al.*, 1986) 124 مدخلاً تنتمي إلى 9 أنواع تابعة للجنس *Morus* من مناطق جغرافية مختلفة من حيث طبيعة الإزهار، وأظهرت النتائج أن 75 مدخلاً ثنائي المسكن، و44 مدخلاً وحيد المسكن، و5 مدخلات غير مزهرة، ومن بين المدخلات ثنائية المسكن: 17 مدخلاً مذكراً (13.7%) و58 مدخلاً مؤنثاً (46.7%)، أما المدخلات وحيدة المسكن فتحمل مزيجاً من الأزهار المؤنثة والمذكرة.

درس (Peris *et al.*, 2014) التباين الوراثي لخمسة طرز للتوت، ثلاثة تنتمي للتوت الأبيض *M. alba* واثنان للتوت الهندي *M. indica*، وذلك بالاعتماد على المؤشرات الشكلية للأوراق، وقد أظهرت النتائج وجود تباين وراثي واضح بين الطرز المدروسة.

أظهرت دراسة الصفات الشكلية والكيميائية لثمار 21 طراز من التوت في تايلاند من مواقع مختلفة، توزّع الطرز المدروسة على 6 مجموعات متباينة، ويُعدّ هذا التباين الأساس لعمليات التربية والتهجين للتوت مستقبلاً (Bootprom *et al.*, 2014).

تم إجراء بحث لتقييم التباين المورفولوجي بين الأنماط الجينية للتوت المزروعة في بنك الأصول الوراثية للتوت في معهد أبحاث لتربية دودة القز في بنغلاديش /راجشاهي/، خلال 2018–2020. بهدف الوصول إلى الطرز الجينية لتحسين الأصناف. تم دراسة

50 صفة شكلية من التوت، منها لون وطعم وطول وعرض ووزن الثمار ولون البذرة، تم العثور على تباين ملحوظ في طعم الثمار وخمسة ألوان من البذور، بشكل عام تم عرض مجموعة واسعة من الاختلافات بين الطرز الجينية المدروسة والتي تم أخذ عينات مميزة منها (Faruque *et al*, 2021).

أشار (Boubya *et al.*, 2009) في دراسة شكلية على 23 صنفاً من التوت الأبيض والأسود والأحمر في تونس، بالاعتماد على شكل الأوراق ومساحتها، ودرجة تفصيصها، ووجود الزغب، إلى وجود تباين واضح بين أصناف التوت المدروسة.

وبالرغم من وجود عدد من الدراسات في بعض دول البحر الأبيض المتوسط، إلا أن مثل هذه الدراسات في سورية لا تزال قليلةً جداً وغير كافية، وتشكل دراسة التنوع الحيوي لطرز التوت الشامي قاعدةً مهمةً في حفظ المصادر الوراثية ونقطة البدء في برامج التحسين الوراثي.

إنّ تحديد درجة القرابة الوراثية بين أنواع وطرز التوت يعتبر من أهم الدراسات للمحافظة على الأصول الوراثية لأشجار التوت بأنواعها (Srivastava *et al.*, 2004).

قام (Botton *et al.*, 2005) بدراسة التباين الوراثي لثلاثة أنواع من التوت باستخدام تقنية الـ AFLP، حيث بلغت نسبة التعددية الشكلية 72.2%، وبلغ معدل التشابه الوراثي داخل النوع *M. bombycis* 0.845 و0.884 في النوع *M. alba* و0.869 في النوع *M. latifolia*.

قام (Garcia-Gómez *et al.*, 2019) بتوصيف جزيئي لأصناف التوت المختلفة (*Morus alba* L.) والتي تم جمعها من عدة بلدان (كوبا، كوستاريكا، البرازيل، كوريا الجنوبية، اثيوبيا، الصين، اليابان، إيطاليا، إسبانيا) باستخدام تقنية الـ SSR، أظهرت النتائج طيف جيني واسع من التوت، حيث كشفت النتائج وجود 53 أليلاً من 12 برايمر من SSR، وقد أعطت الأصناف اليابانية والإيطالية والإسبانية مجموعة منفصلة. وأظهرت النتائج الجزيئية أيضاً انتشار أنواع التوت المزروعة من الصين حول العالم.

وفي دراسة لتقييم التنوع الجيني لـ 70 مدخلاً من التوت في لبنان Morus SPP باستخدام الواسمات المورفولوجية والكيميائية والجزيئية SSR وISSR، فقد أظهرت النتائج المورفولوجية تباعداً نسبياً بين الطرز المدروسة، وتركز الاختلاف في لون وطعم الثمار، كما تميزت البادئات المستخدمة في الدراسة بقوة تمييز عالية (0.7 إلى 0.89). وبالتالي فإن هناك مستوى عالٍ من التنوع الجيني داخل أشجار التوت في لبنان. حيث يمكن الاستفادة من هذه النتائج في إدارة الأصول الوراثية للتوت من حيث حماية التنوع البيولوجي وكمصدر مهم لتجمع الجينات وتحسين المحاصيل (Kadri *et al.*, 2021).

كما قام Thumilan و Dandin (2009) باستخدام الواسمات الجزيئية باستخدام تقنيتي الـISSR والـSSR لدراسة التنوع الوراثي لـ 27 نوع من أنواع التوت منها 19 نوع من الأنواع المزروعة، وثمانية أنواع برية من التوت. حيث بينت النتائج بأن التنوع الوراثي الموجود بين الأنواع البرية أعلى من التنوع الوراثي الموجود بين الأنواع المزروعة. كما بينت النتائج بأن الأنواع البرية بعيدة وراثياً عن الأنواع المزروعة المدروسة.

وفي دراسة جزيئية لـ (Banerjee *et al.*, 2016) على 14 طراز من التوت باستخدام تقنيتي RAPD و ISSR، بتطبيق 25 بادئاً على العينات، نجح منها 20 (8 لـRAPD و 12 لـISSR). أعطت تقنية الـ ISSR تعددية شكلية بنسبة 93%، أما تقنية RAPD فقد أعطت تعددية شكلية بلغت 87.5٪.

كما استخدمت تقنية الـ ISSR على أصناف التين (Khadari *et al.*, 2004)، واللوز (MirAli و Nabulsi، 2003b)، والفستق الحلبي (MirAli و Nabulsi، 2003a)، والزيتون (MirAli و Nabulsi، 2004) والتفاح (الحلبي، 2007). كما

أجريت دراسات جزيئية على الأشجار البرية في مناطق انتشارها الطبيعية مثل الأجاص (MirAli *et al.*, 2007)، والزعرور (ميرعلي وآخرون، 2009).

استخدم (Srivastava *et al.*, 2004) تقنية الـISSR لدراسة التنوع الوراثي وتصنيف الأصول الوراثية بين الأنواع المختلفة للتوت وذلك لـ 12 نوع من الأنواع البرية وثلاثة أنواع من الأنواع المزروعة للتوت، حيث بينت النتائج إلى أن الواسمات الجزيئية باستخدام تقنية الـISSR كانت مفيدة في دراسة التنوع الوراثي وتصنيف الأصول الوراثية للتوت.

تشكل دراسة التنوع الوراثي للتوت الشامي قاعدة هامة في حفظ المصادر الوراثية من جهة، ونقطة البدء في برامج التحسين الوراثي من جهة أخرى. ويشكل التوصيف الشكلي والجزيئي الدقيق للمادة الوراثية وتفسير العلاقات بين السلالات الموجودة في أي مجتمع نباتي صلة وصل هامة بين حفظ المصادر الوراثية والاستخدام الأمثل لها (Rodriguez *et al.*, 1999).

وفي سورية أُجريت بعض الدراسات الشكلية والجزيئية والتي تناولت دراسة التنوع الوراثي وحصر بعض الطرز في المناطق الشمالية من سورية (عبد القادر، 2014). لكن هذه الدراسة الأولى التي تتناول دراسة توصيفيه شاملة على العديد من الطرز المزروعة في المنطقة الجنوبية من سورية، والتي تشتهر بزراعة وإنشاء بساتين بمئات الأشجار للتوت الشامي، والتي تشكل مردوداً هاماً للفلاح في هذه المناطق.

ومن هنا يبرز دور هذه الدراسة كضرورة علمية وتطبيقية لتحديد وتوصيف طرز التوت الشامي المتواجدة في المنطقة الجنوبية بشكل دقيق، وتحديد هويتها الوراثية ليتسنّى لنا انتخاب الأفضل منها لإدخالها في برامج الإكثار والتحسين الوراثي.

أهداف البحث

1- التوصيف الشكلي والجزيئي لطرز التوت الشامي المزروعة في المحافظات الجنوبية من سورية.

2- تحديد درجة القرابة الوراثية بين هذه الطرز.

مواد البحث وطرائقه:

- **المادة النباتية:**

نفِّذت الدراسة على 27 طرازاً (شجرة) من التوت الشامي *Morus nigra* L. (9 من كل موقع) بعمر حوالي 20 عاماً، بالإضافة إلى /3/ طرز بذرية، (الجدول 1).

الجدول (1): يبين الترميز المستخدم لطرز كل موقع

موقع الكوم	موقع خان أرنبه	موقع دربل	الطرز البذرية
1k	1kh	1d	1w
2k	2kh	2d	2w
3k	3kh	3d	3w
4k	4kh	4d	
5k	5kh	5d	
6k	6kh	6d	
7k	7kh	7d	
8k	8kh	8d	
9k	9kh	9d	

موقع وتاريخ تنفيذ البحث:

نُفذت الدراسة الشكلية خلال موسمي النمو (2019/2018) و (2020/2019) في موقعي الكوم وخان أرنبة من محافظة القنيطرة بارتفاع (930 – 950) م على التوالي عن سطح البحر، وموقع دربل (1320) م من محافظة ريف دمشق، وتم جمع

الطرز البذرية من موقع حوط بمحافظة السويداء بارتفاع 1125م عن سطح البحر. وأجريت الدراسة الجزيئية في مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية /قسم التقانات الحيوية النباتية/ في عام 2021. علماً أن مواقع الدراسة تقع ضمن مناطق الاستقرار الأولى والثانية.

المؤشرات الشكلية المدروسة:

دُرست الصفات الشكلية للطرز المدروسة وفق الاستمارة المعتمدة لتوصيف التوت الشامي والصادرة عن منظمة الأغذية والزراعة الفاو (Rao، 2002) بالاعتماد على 28 مؤشر شكلياً أساسياً:

طبيعة النمو والتفرع وشكل البراعم، الأوراق: (شكل القمة، القاعدة، الحواف، ملمس الورقة، الأذينات، الفصوص، لون ولمعان الوقة، زاوية التوضّع، طول وعرض الورقة، الشكل، طول وعرض السويقة)، موعد الإزهار، التعبير الجنسي، النورات الزهرية: (عددها، وطولها، وعدد الأزهار في النورة الواحدة)، الثمار: (الطول، العرض، الوزن، اللون، الطعم)، وتم حساب المساحة الورقية باستخدام برنامج Image.J.

التوصيف الجزيئي:

تم استخدام تقنية ISSR في الدراسة الجزيئية، وتمت الخطوات على الشكل الآتي:

استخلاص الـ DNA: عزل الـ DNA من 0.2 غ من الأوراق الفتية وفق طريقة CTAB المعدلة (Murray و Thompson، 1980).

تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR):

تم اختبار 16 بادئاً (تم الحصول عليها من شركة Eurofins الأوروبية) على عينات الطرز المدروسة (الجدول 2):

الجدول (2): بادئات الـ ISSR المستخدمة في دراسة التنوع الوراثي لطرز التوت الشامي المدروسة ودرجة حرارة التحامها

اسم البادئة	تسلسل القواعد النيتروجينية	درجة حرارة الالتحام (C°)
P46	CTCTCTCTCTCTCTCTAC	60.50
P47	GTCGTCGTCGTCGTCGTC	60.50
P48	ATTATTATTATTATTATT	30.20
P49	AGAGAGAGAGAGAGAGT	50.40
P50	GAGAGAGAGAGAGAGAT	50.40
P51	GAGAGAGAGAGAGAGAA	50.40
P52	ACACACACACACACACAC	53.70
P53	ACACACACACACACACAG	53.70
P54	ATGAATGAATGAATGATG	46.9
P56	GACAGACAGACAGACA	49.2
P57	GTGCGTGCGTGCGTGC	59.40
P58	GTGTGTGTGTGTCC	44.00
P59	GAGGAGGAGGAGGC	48.00
P62	AGAGAGAGAGAGAGAGTA	51.40
P65	TGTGTGTGTGTGTGTGGT	53.70
P66	AGAGAGAGAGAGAGAGTC	53.70

جرى تفاعل الـ PCR باستخدام KAPA PCR KIT بحسب تعليمات الشركة المصنعة في حجم نهائي قدره 25 µl. وذلك وفق البرنامج الحراري التالي:

- المرحلة الأولى (مرحلة الفصل الأولي): وتتم لمرة واحدة على درجة حرارة 95 م° لمدة 3 دقائق.

- المرحلة الثانية: وتتكرر 40 مرة وتضم الخطوات التالية:

1.مرحلة الفصل: وتتم على درجة حرارة 95 م° لمدة 15 ثانية.

2. مرحلة الالتحام: تتم على درجة الحرارة المناسبة لكل بادئة من بادئات المستخدمة لمدة دقيقة واحدة.

3. الاستطالة: تتم على درجة حرارة 72 م° لمدّة دقيقة واحدة.

- المرحلة الثالثة (الاستطالة النهائية): تتم لمرة واحدة على درجة حرارة 72 م° لمدّة 5 دقائق.

الرحلان الكهربائي والتلوين والتصوير لنواتج الـPCR :

رحلت نواتج تفاعل الـ PCR على هلامة الآجاروز 2% في المحلول المنظم X TBE1 والمكون من: {(X TBE 10 8.0 buffer = 108 g Tris borate + 55 g Boric acid + 9.2 EDTA, pH)} والمضاف إليها µl5 من صبغة Read safe (20,000X)، كما تم حقن مؤشر جزيئي من الحمض النووي (100 pb DNA) من شركة (KAPA, USA)، ثم تم الترحيل لمدة ساعتين ونصف بمرور تيار كهربائي شدته 100 فولط، صورت الهلامة بعد ذلك بوجود الأشعة فوق البنفسجية بجهاز تصوير هلامة الآغاروز Image analyzer.

التحليل الإحصائي

تم تحديد درجة القرابة الوراثية بين الطرز المدروسة استناداً إلى الصفات الشكلية من خلال تحويل البيانات إلى صيغ رقمية على أساس وجود الصفة (1) أو غيابها (0)، إذ تم إنشاء مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) Percent Disagreement Values باستخدام طريقة (UPGMA) Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Averages باستخدام برنامج Statistica الإحصائي، ومن ثم وضع النتائج على شكل شجرة قرابة (Statsoft, Inc، 2003). وللتوصيف الجزيئي حدد حجم حزم الـ DNA الناتجة عن التضخيم باستخدام برنامج Total Lab، وحوّلت المعطيات إلى النظام الثنائي (1 للحزمة الموجودة و0 للحزمة الغائبة) وتم حساب التعددية الشكلية (عدد الحزم المتباينة *100/عدد الحزم الكلية)، كما تم حساب مصفوفة عدم التوافق الوراثي اعتماداً على معامل Jaccard (Jaccard، 1908)، ثم استخدمت هذه المصفوفة لإجراء التحليل العنقودي بطريقة (UPGMA) ورسم شجرة القرابة الوراثية.

ولمقارنة مصفوفات البيانات الشكلية والجزيئية الناتجة في هذه الدراسة ومعرفة درجة ومعنوية الارتباط بين النتائج الشكلية والجزيئية فقد استُخدِمَ معيار Mantel من برنامج NTSYS الإحصائي (Rohlf, 1995).

النتائج والمناقشة

– درجة القرابة الشكلية بين الطرز المدروسة:

يتضح من معطيات الدراسة باستخدام المؤشرات الشكلية (28 مؤشر) تباين الصفات الشكلية بين الطرز، وقد تركزت الاختلافات بين الطرز من حيث طبيعة النمو وعدد النورات الزهرية وعدد الازهار في النورة وطعم الثمار. ولتحديد درجة التشابه والاختلاف فيما بينها تم استخدام شجرة القرابة الشكلية، وايجاد مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV). تراوحت قيم النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) للصفات الشكلية للطرز المدروسة (الجدول 3) بين 0.00 سجلت في 24 حالة بين الطرز: (3k+1k) و (5k + 2k، 4kh، 6kh، 8kh، 9kh) و (4kh + 5k، 6kh، 8kh، 9kh) و (7k+6k) و (2d+9k ، 9d) و (6kh +2kh، 4d) و (6kh +4kh، 8kh، 9kh) و (8kh +6kh، 9kh) و (4d+7kh) و (9kh+8kh) و (8d+1d) و

(9d+2d)، و0.83 سجلت بين الطرز (5d + 1w، 2w)، كما تشير النتائج أن أبعد طرازين من طرز التوت الشامي هما: (5d+2kh) بقيمة PDV=0.40، وبمتوسط عام للموقع وقدره 0.30.

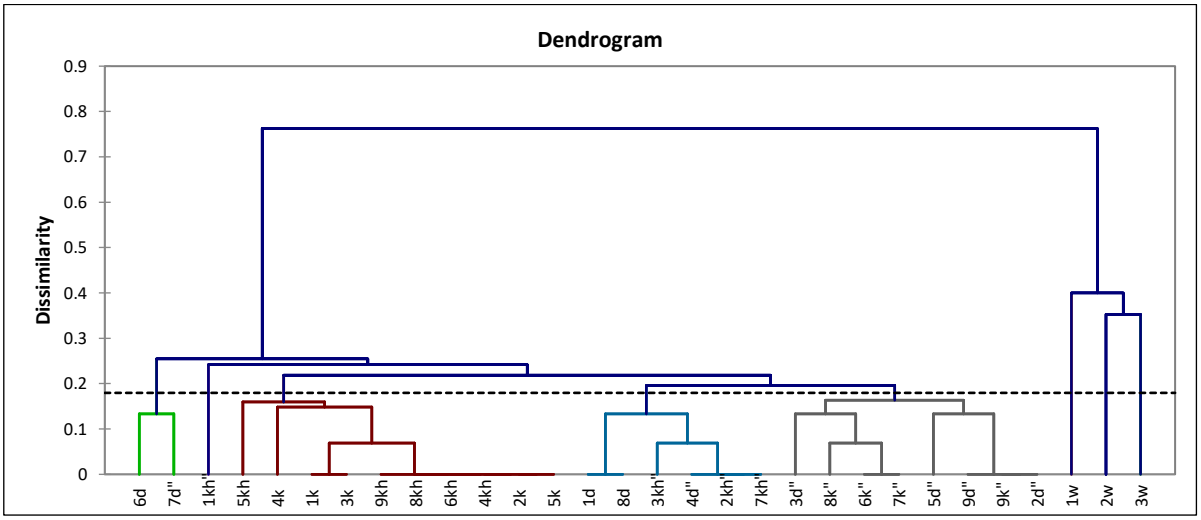
الجدول (3): مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) الناتجة عن الدراسة الشكلية للطرز المدروسة

	1k	2k	3k	4k	5k	6k	7k	8k	9k	1kh	2kh	3kh	4kh	5kh	6kh	7kh	8kh	9kh	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	1w	2w	3w
1k	-																													
2k	0.06	-																												
3k	0.00	0.06	-																											
4k	0.19	0.13	0.19	-																										
5k	0.06	0.00	0.06	0.13	-																									
6k	0.19	0.25	0.19	0.25	0.25	-																								
7k	0.19	0.25	0.19	0.25	0.25	0.00	-																							
8k	0.13	0.19	0.13	0.19	0.19	0.06	0.06	-																						
9k	0.13	0.19	0.13	0.30	0.19	0.19	0.19	0.13	-																					
1kh	0.19	0.25	0.19	0.35	0.25	0.25	0.25	0.19	0.19	-																				
2kh	0.13	0.19	0.13	0.19	0.19	0.19	0.19	0.13	0.13	0.19	-																			
3kh	0.19	0.25	0.19	0.25	0.25	0.13	0.13	0.19	0.19	0.25	0.06	-																		
4kh	0.06	0.00	0.06	0.13	0.00	0.25	0.25	0.19	0.19	0.25	0.19	0.25	-																	
5kh	0.19	0.13	0.19	0.25	0.13	0.25	0.25	0.30	0.30	0.25	0.30	0.25	0.13	-																
6kh	0.06	0.00	0.06	0.13	0.00	0.25	0.25	0.19	0.19	0.25	0.19	0.25	0.00	0.13	-															
7kh	0.13	0.19	0.13	0.19	0.19	0.19	0.19	0.13	0.13	0.19	0.00	0.06	0.19	0.30	0.19	-														
8kh	0.06	0.00	0.06	0.13	0.00	0.25	0.25	0.19	0.19	0.25	0.19	0.25	0.00	0.13	0.00	0.19	-													
9kh	0.06	0.00	0.06	0.13	0.00	0.25	0.25	0.19	0.19	0.25	0.19	0.25	0.00	0.13	0.00	0.19	0.00	-												
1d	0.13	0.19	0.13	0.19	0.19	0.25	0.25	0.25	0.25	0.30	0.13	0.13	0.19	0.25	0.19	0.13	0.19	0.19	-											

2d	0.13	0.19	0.13	0.30	0.19	0.19	0.19	0.13	0.00	0.19	0.13	0.19	0.19	0.30	0.19	0.13	0.19	0.19	0.25	-										
3d	0.25	0.30	0.25	0.30	0.30	0.13	0.13	0.13	0.13	0.30	0.25	0.25	0.30	0.35	0.30	0.25	0.30	0.30	0.25	0.13	-									
4d	0.13	0.19	0.13	0.19	0.19	0.19	0.19	0.13	0.13	0.19	0.00	0.06	0.19	0.30	0.19	0.00	0.19	0.19	0.13	0.13	0.25	-								
5d	0.25	0.30	0.25	0.19	0.30	0.19	0.19	0.13	0.13	0.30	0.13	0.19	0.30	0.40	0.30	0.13	0.30	0.30	0.25	0.13	0.13	0.13	-							
6d	0.19	0.25	0.19	0.25	0.25	0.25	0.25	0.30	0.30	0.35	0.19	0.13	0.25	0.25	0.25	0.19	0.25	0.25	0.13	0.30	0.35	0.19	0.30	-						
7d	0.19	0.25	0.19	0.30	0.25	0.19	0.19	0.25	0.30	0.35	0.30	0.25	0.25	0.25	0.25	0.30	0.25	0.25	0.25	0.30	0.30	0.30	0.35	0.13	-					
8d	0.13	0.19	0.13	0.19	0.19	0.25	0.25	0.25	0.25	0.30	0.13	0.13	0.19	0.25	0.19	0.13	0.19	0.19	0.00	0.25	0.25	0.13	0.25	0.13	0.25	-				
9d	0.13	0.19	0.13	0.30	0.19	0.19	0.19	0.13	0.00	0.19	0.13	0.19	0.19	0.30	0.19	0.13	0.19	0.19	0.25	0.00	0.13	0.13	0.13	0.30	0.30	0.25	-			
1w	0.78	0.75	0.78	0.80	0.75	0.78	0.78	0.80	0.78	0.78	0.80	0.78	0.75	0.72	0.75	0.80	0.75	0.75	0.80	0.78	0.80	0.80	0.83	0.75	0.75	0.80	0.78	-		
2w	0.75	0.72	0.75	0.78	0.72	0.78	0.78	0.80	0.78	0.78	0.80	0.78	0.72	0.69	0.72	0.80	0.72	0.72	0.78	0.78	0.80	0.80	0.83	0.72	0.72	0.78	0.78	0.40	-	
3w	0.72	0.69	0.72	0.75	0.69	0.75	0.75	0.78	0.75	0.75	0.78	0.75	0.69	0.63	0.69	0.78	0.69	0.69	0.75	0.75	0.78	0.78	0.80	0.69	0.69	0.75	0.75	0.40	0.35	-
المتوسط	**0.20**	**0.22**	**0.20**	**0.27**	**0.22**	**0.26**	**0.26**	**0.24**	**0.24**	**0.30**	**0.22**	**0.25**	**0.22**	**0.28**	**0.22**	**0.22**	**0.22**	**0.22**	**0.25**	**0.24**	**0.30**	**0.22**	**0.29**	**0.28**	**0.30**	**0.25**	**0.24**	**0.75**	**0.74**	**0.71**

التشابه الوراثي = 70% **المتوسط العام = 0.30**

يشير التحليل العنقودي (الشكل 1) إلى تقسيم شجرة القرابة الشكلية للطرز المدروسة إلى مجموعتين تعكس درجة القرابة الشكلية فيما بينها. حيث ضمت المجموعة الأولى خمس تحت مجموعات توزعت على الشكل التالي: تحت المجموعة الأولى (1k، 2k، 3k، 4k، 5k، 4kh، 5kh، 6kh، 8kh، 9kh)، تحت المجموعة الثانية (6k، 7k، 8k، 9k، 2d، 3d، 5d، 9d)، تحت المجموعة الثالثة (2kh، 3kh، 7kh، 1d، 4d، 8d)، تحت المجموعة الرابعة (6d، 7d)، بينما انفرد الطراز (1kh) بتحت مجموعة مستقلة. وضمت المجموعة الثانية الطرز البذرية فقط: (1W، 2W، 3W) حيث انفرد كل واحد منهم بتحت مجموعة مستقلة. مما يؤكد إمكانية استخدام التوصيف الشكلي لإظهار الاختلافات بين الطرز، وإمكانية استخدام النتائج في برامج التحسين الوراثي للتوت.



الشكل:(1) شجرة القرابة الشكلية بين الطرز المدروسة باستخدام طريقة (UPGMA).

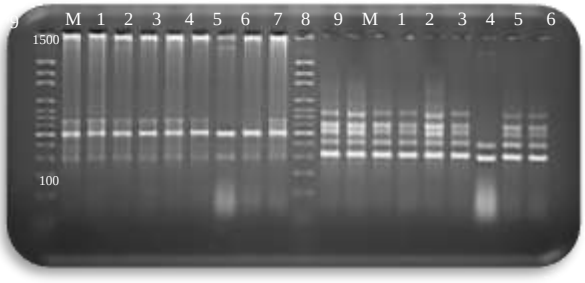
التوصيف الجزيئي:

لقد أظهرت تقنية ISSR وجود درجة تباين وراثي بين الطرز المدروسة، حيث تمكّنت 9 بادئات من الالتحام في مناطق متعددة من جينوم طرز التوت الشامي المدروسة، بلغ عدد الحزم الكلية الناتجة 142 حزمة، لم تتشابه أي منها في جميع العينات، وبالتالي تباينت جميع الحزم (الأشكال 2، 3، 4، 5)، وقد بلغ متوسط نسبة التعددية الشكلية (Polymorphism) 100% (الجدول 4). أعطت البادئات (P47، P66، P49) أعلى عدد من الحزم الكلية وصل إلى (20، 19، 18) حزمة على التوالي بتعددية شكلية 100% (الجدول 4). في حين أعطت البادئات (P53، P52) 12 حزمة بتعددية شكلية 100%. كما أعطت البادئات (P49، P50، P59، P66) حزم فريدة (1، 1، 2، 3) على التوالي. تُنتج بادئات الـ ISSR عدد مختلف من حزم الـ DNA بحسب تسلسل التكرارات البسيطة التي تحويها. وتدل هذه النتائج على إمكانية استعمال هذه البادئات بشكل فعال.

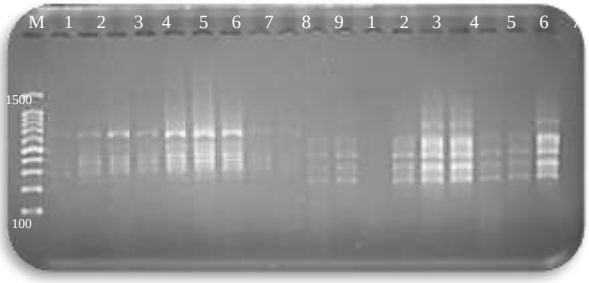
الجدول (4): عدد الحزم الكلية المتشابهة والمتباينة ونسبة التعددية الشكلية للبادئات المستخدمة في الدراسة.

البادئة	عدد الحزم الكلية	عدد الحزم المتشابهة	عدد الحزم المتباينة	نسبة التعددية الشكلية (%)	الحزم الفريدة
P47	20	0	20	100.00	0
P49	18	0	18	100.00	1
P50	17	0	17	100.00	1
P51	16	0	16	100.00	0
P52	12	0	12	100.00	0
P53	12	0	12	100.00	0
P59	14	0	14	100.00	2
P65	14	0	14	100.00	0
P66	19	0	19	100.00	3

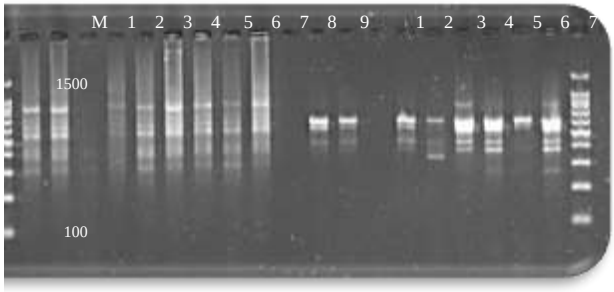
المجموع	142	0	142	-	7
المتوسط	15.77	0	15.77	100.00	0.77



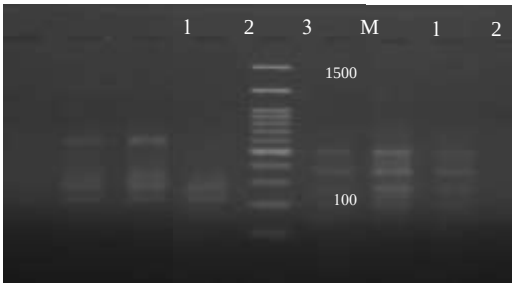
الشكل (2): نواتج تضخيم DNA لطرز الكوم باستخدام البادئتين P65 و P66 بوجود معلم جزيئي bp100



الشكل (3): نواتج تضخيم DNA لطرز خان أرنبة باستخدام البادئتين P50 و P51 بوجود معلم جزيئي bp100



الشكل (4): نواتج تضخيم DNA لطرز دربل باستخدام البادئتين P52 و P53 بوجود معلم جزيئي bp100



الشكل (5) : نواتج تضخيم DNA للطرز البذرية باستخدام البادئتين P50 و P51 بوجود معلم جزيئي bp100

تمت دراسة العلاقة الوراثية بين الطرز المدروسة من خلال حساب مصفوفة عدم التوافق الوراثي (PDV) اعتماداً على معامل Jaccard لتحديد درجة التباين الوراثي فيما بينها، والذي يفيد في تأمين قاعدة وراثية كبيرة للاستفادة منها في برامج التحسين الوراثي. كان الطرازان (5K+4K) هما الأقرب وراثياً بتباين وراثي قدره 0.31، بينما كان الأبعد وراثياً بين الطراز (4Kh) والطرازان البرّيان (2w, 3w) بتباين وراثي قدره 0.93 (الجدول 5)، وبمتوسط عام للموقع وقدره 0.72.

الجدول (5): مصفوفة عدم التوافق (PDV) بين طرز التوت المدروسة استناداً إلى معامل Jaccard

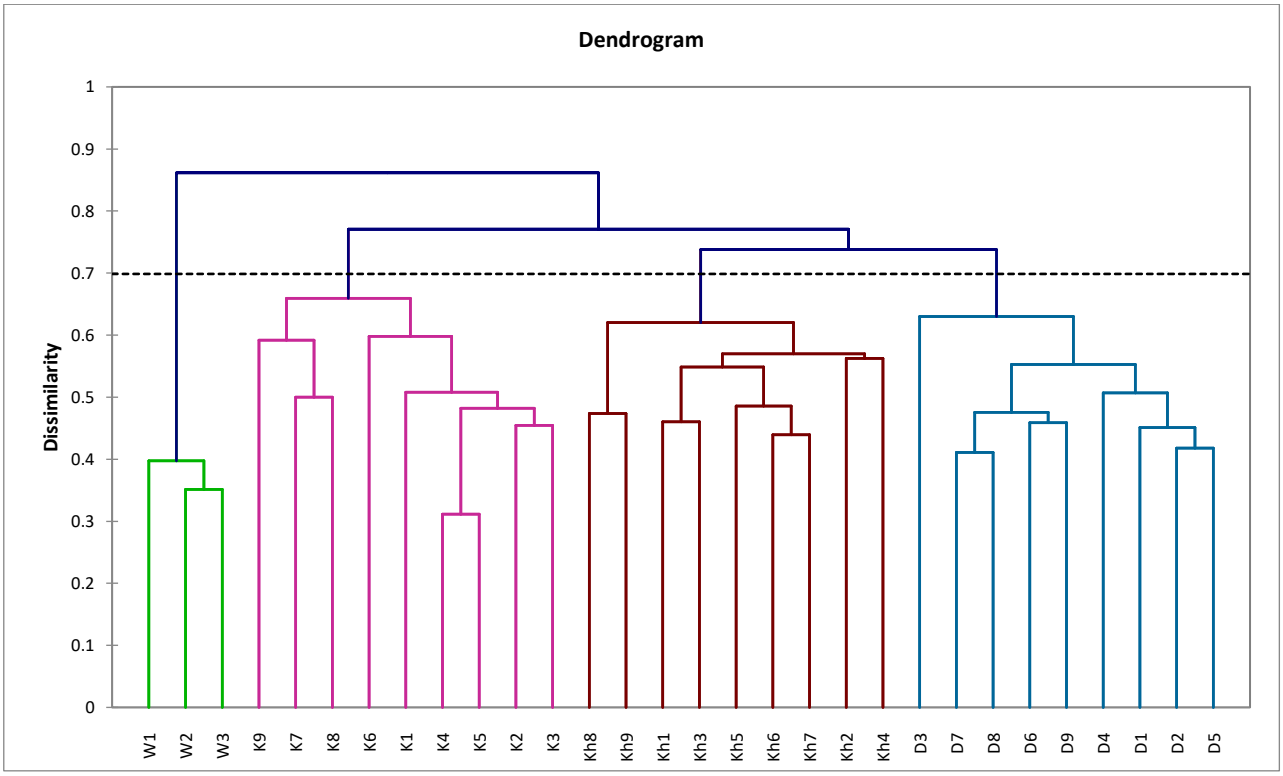
	1k	2k	3k	4k	5k	6k	7k	8k	9k	1k h	2k h	3k h	4k h	5k h	6k h	7k h	8k h	9k h	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	1w	2w	3w
1k	-																													
2k	0.54	-																												
3k	0.46	0.45	-																											
4k	0.47	0.44	0.47	-																										
5k	0.54	0.48	0.52	0.31	-																									
6k	0.57	0.67	0.57	0.61	0.55	-																								
7k	0.75	0.67	0.62	0.72	0.68	0.64	-																							
8k	0.66	0.63	0.68	0.60	0.58	0.56	0.50	-																						
9k	0.66	0.69	0.68	0.69	0.70	0.60	0.63	0.55	-																					
1kh	0.77	0.77	0.79	0.72	0.79	0.84	0.86	0.82	0.82	-																				
2kh	0.85	0.84	0.85	0.80	0.83	0.82	0.84	0.83	0.84	0.50	-																			
3kh	0.68	0.73	0.75	0.65	0.69	0.72	0.77	0.70	0.75	0.46	0.66	-																		
4kh	0.82	0.84	0.80	0.77	0.80	0.83	0.86	0.85	0.88	0.51	0.56	0.60	-																	
5kh	0.73	0.69	0.68	0.71	0.71	0.74	0.74	0.72	0.74	0.57	0.60	0.66	0.55	-																
6kh	0.69	0.68	0.69	0.69	0.77	0.77	0.80	0.76	0.78	0.54	0.57	0.48	0.62	0.47	-															
7kh	0.72	0.70	0.72	0.64	0.75	0.73	0.82	0.76	0.78	0.48	0.51	0.53	0.52	0.50	0.43	-														
8kh	0.88	0.85	0.89	0.82	0.83	0.87	0.83	0.84	0.80	0.62	0.60	0.74	0.57	0.63	0.65	0.55	-													
9kh	0.84	0.81	0.82	0.77	0.80	0.85	0.85	0.86	0.83	0.62	0.60	0.70	0.60	0.58	0.63	0.52	0.47	-												

1d	0.78	0.78	0.78	0.78	0.76	0.80	0.76	0.77	0.76	0.74	0.78	0.77	0.76	0.64	0.71	0.73	0.70	0.76	-									
2d	0.76	0.73	0.80	0.70	0.74	0.77	0.80	0.71	0.80	0.68	0.64	0.72	0.74	0.64	0.62	0.66	0.71	0.73	0.43	-								
3d	0.85	0.81	0.80	0.82	0.79	0.78	0.75	0.83	0.84	0.77	0.73	0.79	0.78	0.79	0.76	0.80	0.78	0.78	0.49	0.61	-							
4d	0.80	0.74	0.77	0.79	0.78	0.72	0.79	0.78	0.75	0.83	0.77	0.78	0.84	0.75	0.72	0.76	0.77	0.79	0.50	0.52	0.59	-						
5d	0.82	0.73	0.77	0.75	0.77	0.75	0.80	0.73	0.78	0.76	0.72	0.74	0.76	0.71	0.70	0.68	0.75	0.77	0.46	0.41	0.59	0.48	-					
6d	0.71	0.73	0.73	0.68	0.71	0.74	0.79	0.67	0.75	0.74	0.74	0.69	0.74	0.63	0.69	0.63	0.77	0.81	0.56	0.48	0.66	0.61	0.42	-				
7d	0.73	0.72	0.72	0.71	0.73	0.72	0.79	0.69	0.69	0.77	0.76	0.71	0.78	0.72	0.74	0.69	0.82	0.78	0.62	0.56	0.70	0.58	0.49	0.45	-			
8d	0.74	0.74	0.69	0.65	0.73	0.73	0.80	0.79	0.72	0.73	0.76	0.67	0.77	0.70	0.68	0.67	0.78	0.75	0.54	0.56	0.63	0.54	0.48	0.50	0.41	-		
9d	0.68	0.63	0.67	0.64	0.70	0.75	0.80	0.72	0.71	0.69	0.76	0.68	0.75	0.67	0.65	0.64	0.76	0.76	0.59	0.56	0.75	0.65	0.51	0.45	0.44	0.49	-	
1w	0.80	0.84	0.85	0.83	0.84	0.88	0.91	0.85	0.85	0.80	0.84	0.80	0.90	0.86	0.87	0.85	0.91	0.92	0.81	0.80	0.89	0.76	0.89	0.83	0.80	0.84	0.86	-
2w	0.84	0.85	0.86	0.87	0.85	0.89	0.85	0.86	0.83	0.86	0.89	0.85	0.93	0.84	0.89	0.91	0.90	0.92	0.82	0.83	0.91	0.81	0.90	0.82	0.83	0.82	0.86	0.41
3w	0.85	0.82	0.85	0.84	0.84	0.89	0.87	0.86	0.87	0.82	0.87	0.84	0.93	0.89	0.91	0.90	0.92	0.92	0.82	0.80	0.91	0.81	0.88	0.84	0.80	0.82	0.85	0.38
المتوسط	**0.72**	**0.71**	**0.71**	**0.69**	**0.71**	**0.74**	**0.77**	**0.73**	**0.75**	**0.71**	**0.74**	**0.70**	**0.75**	**0.68**	**0.69**	**0.67**	**0.76**	**0.75**	**0.70**	**0.67**	**0.76**	**0.72**	**0.69**	**0.68**	**0.69**	**0.68**	**0.68**	**0.82**

المتوسط العام: 0.72 **متوسط التشابه الوراثي: 28%**

اندرجت الطرز المدروسة في أربع مجموعات في شجرة التحليل العنقودي (الشكل 6). ضمت المجموعة الأولى طرز موقع الكوم فقط: (1k، 2k، 3k، 4k، 5k، 6k، 7k، 8k، 9k)، والتي انقسمت بدورها إلى تحت مجموعتين: ضمت تحت المجموعة الأولى الطرز (7k،8k، 9k) والتي انقسمت بدورها إلى تحت مجموعتين فرعيتين: ضمت الأولى الطراز (9k)، وضمت الثانية الطرازين (7k، 8k). وضمت تحت المجموعة الثانية الطرز (1k، 2k، 3k، 4k، 5k، 6k) وانقسم بدوره إلى تحت مجموعتين فرعيتين: ضمت الأولى الطراز (6K)، وضمت الثانية الطرز: (1k، 2k، 3k، 4k، 5k). أما المجموعة الثانية فقد ضمت طرز موقع خان أرنبة التسعة: (1kh، 2kh، 3kh، 4kh، 5kh، 6kh، 7kh، 8kh، 9kh)، والتي انقسمت بدورها إلى تحت مجموعتين ضمت الأولى الطرازين: (8kh، 9kh)، أما الثانية فقد ضمت بقية طرز الموقع: (1kh، 2kh، 3kh، 4kh، 5kh، 6kh، 7kh). أما المجموعة الثالثة فقد ضمت طرز موقع دربل: (1d، 2d، 3d، 4d، 5d، 6d، 7d، 8d، 9d)، والتي انقسمت بدورها إلى تحت مجموعتين حيث انفرد الطراز (3d) بتحت مجموعة مستقلة، وضمت تحت المجموعة الثانية بقية طرز دربل والتي انقسم إلى تحت مجموعتين فرعيتين ضمت الأولى الطرز: (6d، 7d، 8d، 9d)، بينما ضمت الثانية: (1d، 2d، 4d، 5d). أما بالنسبة للمجموعة الرابعة فقد ضمت الطرز البذرية الثلاث: (1w، 2w، 3w) والتي انقسمت إلى تحت مجموعتين، ضمت الأولى الطراز (1w)، وضمت الثانية الطرازين: (2w، 3w).

وبالنتيجة تثبت نتائجنا أن تقنية ISSR وبشكل خاص البادئات المستخدمة في هذا البحث، هي أداة سريعة وفعالة لتحديد درجة التباين الوراثي بين طرز التوت الشامي المختلفة، وبالتالي يمكن أن تساعد هذه المؤشرات في اختيار الطرز المناسبة لإدخالها في برامج التربية، كما تدل درجة التباين الوراثي المرتفعة ما بين الطرز المدروسة على إمكانية استخدام هذه الطرز في برامج التحسين الوراثي للتوت الشامي، مما يسمح بتوسيع القاعدة الوراثية الانتخابية لمربي النبات في الاختيار الصحيح للطرز الأكثر تنوعهاً أحيائياً وتباعداً وراثياً، حيث تميّزت هذه الطرز بحزم فريدة إشارة لتمكّن تقنية الـ ISSR المستخدمة في هذه الدراسة من كشف الفروق الوراثية بين هذه الطرز، وهذا يتوافق مع (Banerjee *et al.*, 2016) الذي أكد على نجاح تقنية الـ ISSR في تقييم التنوع الوراثي بين الطرز الوراثية للتوت. وبالتالي نستنتج أن الطرز الوراثية المتطابقة من الناحية الشكلية كانت متباينة وراثياً، وهذا يعود إلى عدم كفاية المعايير الشكلية في توصيف الطرز المدروسة، وبالتالي من الضروري ربطها بالدراسة الجزيئية في تقييم التنوع الوراثي بين هذه الطرز.



الشكل (6): شجرة القرابة الجزيئية بين الطرز المدروسة الناتجة عن تقنية ISSR باستخدام طريقة (UPGMA).

الارتباط بين شجرتي القرابة الشكلية والوراثية:

لقد تم في هذه الدراسة إلقاء الضوء على حجم التباينات الوراثية بين الطرز المدروسة، باستخدام تحليل (Mantel)، حيث تم مقارنة نتائج الدراسة الشكلية مع الجزيئية المعتمدة على تضخيم DNA باستخدام المؤشرات الجزيئية ISSR. أظهرت نتائج التحليل عند دمج البيانات الشكلية والجزيئية بوجود علاقة ارتباط ضعيفة جداً بين الدراستين الشكلية والجزيئية بقيمة بلغت (r=0.27). إن نتائج الدراسة تؤكد على استخدام تقنيات البصمة الوراثية لفعاليتها ودقة نتائجها وعدم تحيّزها في التوصيف وفي تقدير درجة القرابة الوراثية بين الطرز بشكل أكثر دقة، وهذا يتفق مع (Guasmi *et al.*, 2006). وقد استخدمت تقنية الـ ISSR على اعتبار أنها أحدث من تقنية الـ RAPD وأكثر موثوقية كونها تحتاج لبادئات ذات أسس أكثر مما يتطلب استخدام درجات حرارة التحام أعلى وبالتالي أكثر تخصصية (Bornet و Branchard، 2001). كما أنها أثبتت فعاليتها في تحديد درجة التنوع الوراثي لطرز التوت (Thumilan و Dandin، 2009) حيث أنها متعددة الأشكال كثيراً ولا تتأثر بالظروف البيئية بشكل كبير (Khadari *et al.*, 2004).

الاستنتاجات

1. عدم الاعتماد الكلي على طرائق التوصيف الشكلي في الدراسات الرامية لتحديد درجة القرابة الوراثية بين طرز التوت الشامي. ولكن تبقى هذه الطرائق مهمة في التصنيف، حيث أظهرت نتائج دراستنا تباين الطرز بصفات النورات الزهرية وعدد الأزهار وطعم الثمار.
2. يضم التوت الشامي *Morus nigra* L. تنوعاً كبيراً في الطرز التي تشكل قاعدة واسعة لإجراء عمليات الانتخاب خدمة لبرامج التحسين الوراثي.
3. انفردت طرز كل موقع وبشكل واضح بمجموعة مستقلة، مما يؤكد على الأثر الكبير لتغير العوامل البيئية والتربة واختلاف مصدر هذه الطرز في كل منطقة من مناطق الدراسة.

4. من بين البادئات الـ 16 المستخدمة في الدراسة، نجحت 9 منها في الارتباط وإعطاء تعددية شكلية (جدول رقم 4).
5. إن وجود درجة أعلى من الاختلافات في المؤشرات الجزيئية (PDV=0.72) منها في الصفات الشكلية (PDV=0.30) يفضي إلى الاستفادة من الأولى في عمليات الانتخاب، نظراً لأن معظمها يرجع إلى أسباب وراثية.
6. إن هذا النوع من الدراسات الذي يجمع بين النواحي الشكلية والجزيئية يظهر بشكل واضح التنوع الوراثي واختلاف طرز التوت الشامي بين المناطق المدروسة، وبالتالي دعم الجهود لانتخاب أفضل الطرز وإنشاء مجمعات وراثية موثوقة تشكل مرجع وراثي هام لعمليات الانتخاب والتحسين الوراثي والإكثار.

المقترحات

1. اعتماد التوصيف الجزيئي لطرز التوت الشامي في كافة مناطق زراعته باستخدام تقنية ISSR، وتوسيع هذا التوصيف ليشمل عدداً أكبر من البادئات وعدة تقنيات جزيئية أخرى لدراسة التنوع والتباين الوراثي، وذلك ضماناً لهذه المصادر بإعطاء كل منها حزماً مميزة لها.
2. نوصي باعتماد الطرائق الرياضية المستندة على البيانات الجزيئية لتكوين صورة واقعية وبالأرقام عن درجة التنوع الوراثي ضمن وبين الطرز المواقع.
3. تأسيس بنك نواة للمادة الوراثية لطرز التوت الشامي وحفظ الأصول الوراثية وإدارتها، وبناء قاعدة بيانات علمية ودمجها وتطويرها وصولاً إلى قاعدة بيانات وطنية لاستخدامها في برامج التحسين الوراثي.
4. إنشاء مجمعات وراثية تضم طرز التوت الشامي المنتخبة وفق مؤشرات هامة كالإنتاجية وقوة النمو وغيرها من الصفات التي تنعكس بشكل ملموس على زيادة الإنتاج وتحسين الدخل للفلاح.

المراجع

المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. 2020. مديرية التخطيط والتعاون الدولي–وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي.

النابلسي غسان، 2004 –حالة المصادر الوراثية للأشجار المثمرة وصيانتها واستثمارها. مشروع الحفظ والاستخدام المستدام للتنوع الحيوي الزراعي في المناطق الجافة، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي بالتعاون مع UNDP – ACSAD. ص 27.

الحلبي، علا. (2007). التوصيف المورفولوجي والجزيئي لبعض أصناف التفاح المحلية. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

داؤد داؤد محمود، 1979. تصنيف أشجار الغابات. كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، صفحة 429.

عبد القادر، محمد. (2014). حصر وتقييم التنوع الوراثي لبعض طرز التوت *Morus* sp. في المناطق الشمالية الغربية من سورية. رسالة ماجستير، جامعة حلب.

ميرعلي، نزار. العودات، محمد. حيدر، 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 810.48.

Banerjee, R; S. Roychowdhuri; H. SAU; K. B. DAS; P. Ghosh, and B. Saratchandra. (2007). Genetic diversity and interrelationship among Mulberry phenotypes. Journal of genetic and genomics,34,8, 691-697.

Banerjee, R; S. Chattopadhyay; and A. K. Saha (2016). Genetic Diversity and Relationship of Mulberry Genotypes Revealed by RAPD and ISSR Markers, Pages 478-492, Published online: 21 Jun 2016.

Bootprom, N; P. Songsri; N. Kong Pun, and K. A. Sabrao (2014). Genetics diversity based on horticultural traits and total soluble solid content in mulberry (*Morus alba*) varieties. Journal of Breeding and Genetics, 46, 2, 231- 240.

Bornet, B; and M. Branchard (2001). Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers: Reproducible and Specific Tools for Genome Fingerprinting. Plant molecular Biology Reporter 19(3): 209-215.

Botton, M.; I. Lorini; A. P. Afonso (2005). Ocorrência de Sitophilus zeamais Mots. (Coleoptera: Curculionidae) danificando a cultura davideira no Rio Grande do Sul.Neotropical Entomology, v. 34, n. 2, p. 355-356.

Boubya, A; B. M. Salah; N. Marzougui; A. Ferchichi (2009). Pomological characterization of the Mulberry tree (*Morus spp*.) in the South of Tunisia. Journal of Arid land studies, 19, 1: 157-159.

Faruque, A.; H. Anwar; A. Nasir Uddin; A. Md Jahangir; and I. Md. Shoriful (2021). Genotypic Effects on Morphological Characterization of Fruit Traits in Mulberry. European Journal of Agriculture and Food Sciences.www.ejfood.org. DOI: Vol 3 | Issue 5.

Garcia-Gómez B; H. Gonzalez-Alvarez; C. Martínez-Mora; J. Luis Cenis; M. del Carmen Pérez-Hernández; Y. Martínez-Zubiaur; P. Martínez-Gómez (2019). The molecular characterization of an extended mulberry germplasm by SSR markers. - Genetika, Vol51, No.2, 389-403.

Guasmi, F.; A. Ferchichi; K. Fares; and L. Touil (2006). Identification and differentiation of Ficus carica L. cultivars using inter simple sequence repeat markers. African J. Biotechnology., 5(15): 1370-1374.

Imran, M; H. Khan; M. Shah; R. Khan; and F. Khan (2010). Chemical composition and antioxidant activity of certain Morus species. J Zhejiang Univ Sci B: 973-980.

Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. Bull. Coc. Vaud Sci Nat., 44: 223-270.

Jolly, M.S; S.B. Dandin; S. Rabindran; and R. Kumar (1986). Sexual polymorphism in genus *Morus* L. Proceeding of the Indian Academy of Sciences (Plant Science) 96 (4): 315–320

Kadri, A; S. Saleh; A. Elbitar; and A. Chehade (2021). Genetic diversity assessment of ancient mulberry (Morus spp.) in Lebanon using morphological, chemical and molecular markers (SSR and ISSR). Advances in Horticultural Science, 35(3), 243-253. https://doi.org/10.36253/ahsc-8376

Khadari, B.; A. Oukabli; M. Ater; A. Mamouni; J. P. Roger; and F. Kjellberg (2004). Molecular Characterization of Moroccan Fig Germplasm Using Intersimple Sequence Repeat Markers to Establish a Reference Collection. Hort Science 40(1):29-32.

Koyuncu, F. (2004). Morphological and agronomical characterization of black mulberry (*Morus nigra* L.) *Insutculer, Turkey*.

MirAli, N. and I. Nabulsi (2003a). Genetic diversity of Syrian grown almond cultivars (Amygdalus communis L.) Using RAPD technique. Scientia Horticutura 98/4, 461-471.

MirAli, N. and I. Nabulsi (2003b). Genetic diversity of Syrian pistachio cultivars (Pistachia vera L.) using RAPD technique. Advances in Hort. Science17/4, 215-222.

MirAli, N. and I. Nabulsi (2004). Molecular characterization and genetic relatedness among olive cultivars using RAPD markers. Advances in Hort. Science. 18/4, 173-180.

MirAli, N.; N. Haider; I. Nabulsi; and M. Al-Oudat, (2007). Pyrus syriaca: An Ecological and Molecular study. Advances in Horticultural Sci. 21 (2) 89-95.

Murray, M.G. and W.F. Thompson (1980). Rapid Isolation of high molecular weight DNA.Nucleic Acid Res.8(19):4321-4325.

Orhan E, and S. Ercisli; (2010). Genetic relationships between selected Turkish mulberry phenotypes (Morus spp) based on RAPD markers. Genetics and Molecular Research, 9(4):2176-2183. http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2010/vol9-4//pdf/gmr958. pdf.

Ozgen M., M. Gunes; Y. Akea; N. Turemis; M. Ngin; G. Kizilei; U. Erdogan; and S. Serce, (2009)- Morphological characterization of Several Morus Species from Turkey, Hort. Environ. Biotechnol. 50(1):1-5.

Peris, W. N; M. K. Gacheri; M.M. Ophillus; and N. Lucas (2014). Morphological characterization of Mulberry (*Morus* spp) accession grown in Kenya. *Sustainable agriculture research*, 3, 1, 1927- 0518.

Rao Ananda, A. (2002). Conservation status of mulberry genetic resources in India. Central Sericultural Germplasm Resources Centre. Central Silk Board, (Govt. of India), Ministry of Textiles. P.B.No-44, Thally Road. FAO, Rome.

Rodriguez, J.M.; T. Berke; L. Engle and J. Nienhuis (1999). Variation among and within Capsicum species revealed by RAPD markers. Theor. Appl. Genet. 99: 147–156.

Rohlf, F. J. (1995). NTSYS-PC Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 1.8 Exeter Software, Setauket, NY.

Singhal, K. B; A. M. Khan; A. Dhar; M. F. Baqual, and B. B. Bindroo (2010). Approaches to industrial exploitation of mulberry (*Morus* sp) fruits.18, 1, 83-99.

Smith, S. (1997). Cultivar identification and varietal protection. In: Anolles, G. C. and Gresshoff, P. M (Eds). DNA marker protocols, applications, and overviews. Wiley-Liss, Inc. United States of America: 283-285.

Srivastava, P. P; K. Vijayan; K. A. Awasthi; and B. Saratchandra (2004). Genetic analysis of Morus alba through RAPD and ISSR markes. India journal of biotechnology, 3, 527- 532.

Statsoft, Inc. (2003). STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.

Thumilan MB; and SB. Dandin (2009) Genetic analysis of diploid and colchi-tetraploid mulberry (Morus indicaand Morus alba) by molecular and morphological markers. Internat J Plant Breed 3(1):58-64.

Morphological and Genetic Diversity of Berries (*Morus nigra* L.) in the Southern Region of Syria

Alaa Aboud[(1)*] Faisal Hamed[(2)] and Fahed Al-biski[(3)]

(1). General Commission for Scientific Agricultural Research, Damascus (GCSAR), Syria.
(2). Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Damascus University, Damascus, Syria.
(3). Department of Biotechnology, (GCB), Damascus, Syria.
(*Corresponding author: Dr. Alaa Aboud. E-Mail: Discovery_ao@hotmail.com)

Accepted:28/04/2022 Received:6/06/2022

Abstract

The research was carried out for the benefit of the General Commission for Scientific Agricultural Research during (2019-2021) on 27 phenotypes of cultivated (black) berries, in addition to 3 wild cultivars in order to evaluate them morphologically and genetically. Where the formal study was carried out in the sites of Kom and Khan Arnabah (Quneitra governorate), Darbel (Damascus countryside governorate) and Hawt (Suwayda governorate) by adopting 28 formal indicators. The molecular study was carried out in the laboratories of the General Authority for Biotechnology/Department of Plant Biotechnology/, using 16 ISSR technology primers. Results showed a difference between the local (cultivated) mulberry cultivars about morphological and agricultural characteristics, where the average percent disagreement values (PDV) for the studied site were 0.30, and the morphological cluster analysis indicated the separation of berry cultivars in a group independent of the three wild cultivars, and the 1kh phenotypes has a single cluster. The molecular study showed genetic differences between the studied phenotypes, where the average percent disagreement values (PDV) were 0.72, all the primers used gave a polymorphism of 100%, and the molecular cluster analysis clearly indicated that the genotypes of each site were unique to an independent group (Al-Koum, Khan Arnabeh, Darbul). Mantel test showed a weak and insignificant correlation between morphological and molecular data (r = 0.27). The results also showed the efficiency of the ISSR technique in determining the degree of genetic variation and distinguishing between the studied phenotypes, thus this technique is an efficient tool in genetic diversity studies.

Keywords: berries, Shami cultivar, ISSRs, *Morus nigra* L., Genetic diversity, Polymorphism.