كشف الخلط الوراثي في حقل أمهات *Malus communis* والنباتات الناتجة عنه المعدة لإنتاج غراس التفاح باستخدام تقنية SSR

علا توفيق الحلبي*[1] وبيان محمد مزهر[1]

(1). قسم بحوث التفاحيات والكرمة في السويداء، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.
(*للمراسلة: د. علا الحلبي. البريد الإلكتروني: Ola_halabi@msn.com).

تاريخ الاستلام: 2017/04/21 تاريخ القبول: 2017/07/05

الملخص:

نُفّذ البحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية في قسم بحوث التفاحيات والكرمة التابع للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، وفي مشتل نبع عرى الزراعي، وحقول أمّهات مفعّلة في محافظة السويداء خلال العامين 2011 و2012 وذلك للكشف عن الخلط الوراثي بين خمسة طرز بذرية في حقول الأمهات *Malus communis* والنباتات الناتجة عنها، والمعدّة لإنتاج غراس التفاح، باستخدام عشرة أزواج من بادئات SSR. بيّنت النتائج قدرة ثمانية أزواج من البادئات المستخدمة على كشف التباينات الوراثية بين النباتات المدروسة بتعددية شكلية 100%، وكانت درجةُ التشابه الوراثي بين الطرز المدروسة منخفضةً، حيث بلغت أعلى درجة تشابه وراثي 0.2 بين الطرازين B و E، أما ضمن كلّ طراز فقد كانت درجة التشابه الوراثي جيدة (أكثر من 0.5) بين النباتات التابعة لكلٍّ من الطرز A و B و C، وكانت منخفضةً في نباتات الطرازين E و D. قسّم التحليل العنقودي النباتات المدروسة إلى خمس مجموعات، حيث وقعت نباتات كلّ طراز مع النبات الأم في مجموعاتٍ منفصلة. تُظهر النتائج الحالية البعد الوراثي بين الطرز المدروسة التي قد تنتمي لأكثر من نوع، فلابدّ من عدم خلط البذور المعدّة لإنتاج غراس التفاح، واعتماد مصدراً واحداً للبذور، ومن ناحيةٍ أخرى تؤكّد النتائج على قدرة تقنية SSR في كشف التباينات الوراثية وتنقية المجمّعات الوراثية.

الكلمات المفتاحية: تفاح، طرز بذرية، تباين وراثي، SSR.

المقدمة:

تُعدّ شجرة التفاح من الأشجار الهامّة في سورية، إذ تحتلّ المرتبة الثالثة من حيث المساحة بين الأشجار متساقطة الأوراق والتي تبلغ 51574 هكتاراً، والمركز الأول بالإنتاج الذي وصل إلى 307199 طناً في عام 2015 (وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، 2016). تشكّل الزراعة المطرية (69 %) في حين تشكّل الزراعة المروية (31%)، مما يتطلّب التطعيم على الأصول المناسبة تبعاً لمنطقة الزراعة، بغية تطوير هذه الزراعة وتحسين الإنتاجيّة. يُعدّ الأصل مهمّاً في فيزيولوجية الشجرة، لذلك فإنّ اختيار الأصل الصحيح مسألةٌ ضرورية، حيث كان اختيار العديد من المزارعين للأصل في السابق حسب ما هو متوفر في المشتل، مما أدى لضعف الإنتاجيّة (Roper, 2001)، لذلك يجب أن يكون اختيار الأصل مناسباً للظروف البيئيّة، والاقتصاديّة، واستراتيجية إدارة إنتاج التفاح (Webster and Wertheim, 2003).

أصبحت الحاجة حالياً إلى أصول تحقق العديد من المتطلبات كالتحكم في قوّة النمو، والتبكير في الإنتاج، وثبات الإنتاج ووفرته، وجودة الثمار، بالإضافة إلى تحمّل الإجهادات الحيويّة واللاحيويّة، في حين استخدمت الأصول في السابق فقط كوسيلة سهلة لإكثار أصناف التفاح، من خلال التطعيم عليها، نظراً لصعوبة إكثار التفاح بالطرائق الأخرى كالترقيد، والعقل (Webster, 2003).

على الرغم من وجود معلومات قليلة أو فهم قليل لكيفية تأثير الأصل المستخدم على نمو طرود الصنف المطعم عليه، وكذلك آلية التأثير على الإزهار، وعقد الثمار، والإنتاج (Atkinson and Else, 2003)، تؤكّد الدراسات اختلاف إنتاجيّة الأشجار، وقوة نمو الصنف، باختلاف الأصل المستخدم (KviklienandKviklys, 2006; Kosina, 2010; Dodangeh *et al.*, 2012).

تُعتبر الواسمات الجزيئية أحد أهمّ التقنيات المستخدمة للتمييز بين أنواع وطرز النباتات المختلفة (Kiraly *etal.*,2008)، لما لها من ميزاتٍ كثيرة، وخاصّةً في النباتات الخشبية المعمّرة (Wunsch and Hormaza, 2002). تمتلك تقنية SSR إيجابيات تفوق باقي التقنيات، كونها تظهر السيادة المشتركة، وتعطي العديد من الأليلات في الموقع الواحد، ومتوفرة بكثرة في الجينوم، إذ تستخدم في تعريف الأصناف، وتحاليل النسب، والتنوع الوراثي، والخرائط الوراثية (Liebhard, 2002; Lu *et al.*, 2010).

طُبّقت تقنية SSR لتمييز السلالات الناتجة عن أصناف تفاح مختلفة، ولتأكيد آبائهم المفترضين (Kenis *et al.*, 2001)، كما تمّ توصيف 496 شجرة بذرية ناتجة عن بذور النوع *Malus orientalis* التي تمّ جمعها من جنوب روسيا وتركيا، والمحفوظة في المجمع الوراثي الوطني USDA الخاص بالجنس *Malus*، وذلك باستخدام سبعة واسمات SSR (Volk *et al.*, 2008). وتُستخدم واسمات SSR لدراسة التنوع الوراثي، وتعريف أصول التفاح بشكلٍ واسع (Fazio and Baldo, 2005; Oraguzie *et al.*, 2005; Jin *et al.*, 2012; Al Halabi and Muzher, 2015). كما يجري التركيز حالياً على تطوير بادئات متخصصة بالتفاح تعتمد على مواقع مرتبطة ببعض المورّثات (ESTs)، والتي يمكن الاستفادة منها في برامج التربية والتحسين الوراثي (Vaidya *et al.*, 2015). وفي سورية أصبح استخدام تقنية SSR كأداة هامّة لكشف الخلط الوراثي للعديد من الأشجار المثمرة، كالخلط الوراثي في أصل الكرمة روكجري (مزهر والحلبي، 2015)، والخلط الوراثي في أصناف الفستق الحلبي (Al hajjar *et al*., 2016).

يعتمد المربّون في عدد قليل من الدول على أصول التفاح البذرية، وذلك فقط في البلدان التي يصعب استخدام الأصول الخضريّة فيها، أو أنّ استخدامها غير اقتصادي، وللحدّ من التنوّع الوراثي الكبير ضمن الأصول البذريّة، يتمّ جمع البذور من حقول مزروعة بنوع أو صنف واحد محدد مخصص لإنتاج البذور، كما يجب أن تكون هذه الحقول بعيدة عن الحقول الأخرى لمنع التلقيح الخلطي، ففي أمريكا مثلاً يتمّ استخدام الأصول البذرية الناتجة عن Red Delicious، أما في الصين فما زالت تستخدم الأصول البذرية الناتجة عن *M.seversii* و *M.prunifolia* بشكلٍ واسع، ويُستخدم الصنفان Antonovka و Bittenfilder في أوروبا (Webster and Wertheim, 2003).

ماتزال مشاتل إنتاج غراس التفاح في سورية تعتمد على الأصول البذرية، حيث تنتج هذه الأصول من خليط من البذور التي تمّ جمعها من حقول الأمّهات المخصصة لإنتاج البذور، وذلك لاعتقادهم أنّ هذه الحقول مزروعة بنوع واحد هو *Malus cummunis* ولكن بيّنت الدّراسات المورفولوجية أنّها عبارةٌ عن خليط، وتمثل كلّ شجرة طرازاً مستقلاً (Muzher and Al-Halabi, 2016)، مما يؤدّي إلى خلط وراثي عال في الغراس البذرية الناتجة، وبالتالي اختلاف قوة نموها وتحمّلها للإجهادات الإحيائيّة واللاإحيائيّة، مما ينعكس سلباً على إنتاجيّة الأشجار المطعّمة عليها والمزروعة في الحقل نفسه. لذلك يهدف هذا البحث إلى تحديد التباين الوراثي باستخدام تقنية SSR بين الأشجار المخصصة لجمع البذور من جهة، ومن جهةٍ أخرى بين النباتات الناتجة عنها، بغية توحيد الأصل المستخدم لإنتاج غراس التفاح الموثوقة، والمطابقة للمواصفات الفنية لتحسين الإنتاج وتطوير هذه الزراعة.

مواد البحث وطرائقه:

زمان ومكان تنفيذ البحث:

تمّ تنفيذ البحث خلال العامين 2011 و2012 في قسم بحوث التفاحيات والكرمة التابع للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، وفي مشتل نبع عرى الزراعي، على عينة مأخوذة من حقول أمّهات مفعّلة في محافظة السويداء.

المادة النباتية:

خمسة طرز تفاح بذرية مزروعة في حقول أمّهات مفعّلة المخصصة لإنتاج البذور، تمّ ترميزها كالتالي: A و B و C و D و E والنباتات الناتجة عنها.

طرائق العمل:

جُمعت البذور من الطرز المذكورة أعلاه، وزرعت بذور كلّ طراز على حدة في مشتل نبع عرى، بعد تنضيدها لكسر طور السكون، وقُدّمت الخدمات اللازمة من ري وتعشيب وتسميد ومكافحة.

عزل DNA:

عزل DNA بالاعتماد على طريقة CTAB حسب (Porebski *et al*., 1997) من الأوراق الفتية لخمسة نباتات أُخذت عشوائياً من نباتات كلّ طراز، بالإضافة إلى النبات الأم وتمّ قياس تركيز DNA بالطريقة البصرية باستخدام Marker معروف التركيز (Ladder 100bp).

تطبيق تقنية SSR (Simple Sequence Repeat):

استخدمت 10 أزواج (primer-pairs) من بادئات SSR الخاصة بالتفاح تمّ تطويرها من قبل (Silverberg *et al*., 2006) وهي سلسلة Hi-SSR، كما هو مبين في الجدول (1)، وتمّ إجراء تفاعل البلمرة المتسلسل بحجم 25µl تضمن مواد التفاعل التالية: DNA (50ng)، 10X PCR buffer، 10 pmol forward Primer , 10 pmol reverse Primer، 2mM dNTPs mix، 0.2 µl hot start *Taq* polymerase (5U/µ).

وضعت الأنابيب في جهاز البلمرة المتسلسل Eppendorf (PCR) وكانت الشروط على الشكل التالي: في البداية على درجة حرارة 95°م لمدة 5 دقائق ومن ثم 40 دورة تضمّنت كلّ دورة المراحل التالية: فصل سلسلتي DNA (denaturation) درجة الحرارة 95° مئوية لمدة دقيقة واحدة، ومن ثم الالتحام(annealing) لمدة دقيقة درجة الحرارة بين 55° و58° مئوية، وبعد ذلك مرحلة الاستطالة (extension) درجة الحرارة 72° مئوية لمدة دقيقة، وفي الدورة النهائية لمدة 7 دقائق درجة الحرارة 72° مئوية. تمّ تحليل نواتج PCR في هلامة من الأغاروز 2% في جهاز الرحلان الكهربائي، وعُرّضت بعد ذلك للأشعة فوق البنفسجية وصُوّرت باستخدام Geldocumentation (VILBERLOURMOT, Germany)، تمّ قياس الوزن الجزيئي للحزم الناتجة باستخدام برنامج softwareBioprofil-Bio-1D، وذلك بالاعتماد على المعلم القياسي (PromegaUSA) 100bp.

الجدول 1. أسماء البادئات المستخدمة في تقنية SSR والتسلسل النكليوتيدي لها، وحرارة الانصهار Tm، و CG%، وحجم الأليلات الناتجة

SSR name اسم البادئ	التسلسل النكليوتيدي لـ Forward primer (´5 ´3)	التسلسل النكليوتيدي لـ Reverse primer (´5´3)	حرارة الانصهار Tm	GC %	حجم الأليلات (bp)
Hio4a05	GGCAGCAGGGATGTATTCTG	GTTTCATGTCAAATCCGATCATCAC	70- 62	55- 40	222 - 194
Hi04g05	CTGAAACAGGAAACCAATGC	GTTTCGTAGAAGCATCGTTGCAG	68-58	47.8 - 47.4	258 - 190
Hi07h02	CAAATTGGCAACTGGGTCTG	GTTTAGGTGGAGGTGAAGGGATG	70-60	52.2- 50	276 - 246
Hi08c05	TCATATAGCCGACCCCACTTA	GTTTCACACTCCAAGATTGCATACG	72-66	47.6 - 44	240 - 230
Hi08d09	AACGGCTTCTTGTCAACACC	GTTTACTGCATCCCTTACCACCAC	72- 60	50- 50	186 - 183
Hi08e06	GCAATGGCGTTCTAGGATTC	GTTTGGCTGCTTGGAGATGTG	64-60	52.4- 50	138 - 134
Hi09a01	GAAGCAACCACCAGAAGAGC	GTTTCCCATTCGCTGGTACTTGAG	72-62	55 - 50	192 - 183
Hi12a02	GCAAGTCGTAGGGTGAAGCTC	GTTTAGTATGTTCCCTCGGTGACG	72-66	57.1 - 50	255 - 249
Hi07f01	GGAGGGCTTTAGTTGGGAAC	GTTTGAGCTCCACTTCCAACTCC	70-62	55 -52.2	220 - 204
Hi08g06	AATCGAACCAGCACAGGAAG	GTTTAGATGGAGGTCGTGGTTACG	72-60	50- 50	198 - 192

التحليل الإحصائي:

تمّ تسجيل جميع الحزم الناتجة، وأعطيت الحزمة الموجودة رقم 1، والحزمة الغائبة رقم 0، وتمّ حساب النسبة المئوية لتعدد الأشكال (polymorphism)، كما تمّت دراسة درجة التشابه الوراثي (Geneticsimilarity) بين النباتات المدروسة باستخدام معامل Jaccard (Jaccard, 1908). واستُخدم التحليل العنقودي (Clusteranalysis) بطريقة UPGMA (Group Method Using Arithmetic Averages) باستخدام برنامج past.

النتائج والمناقشة:

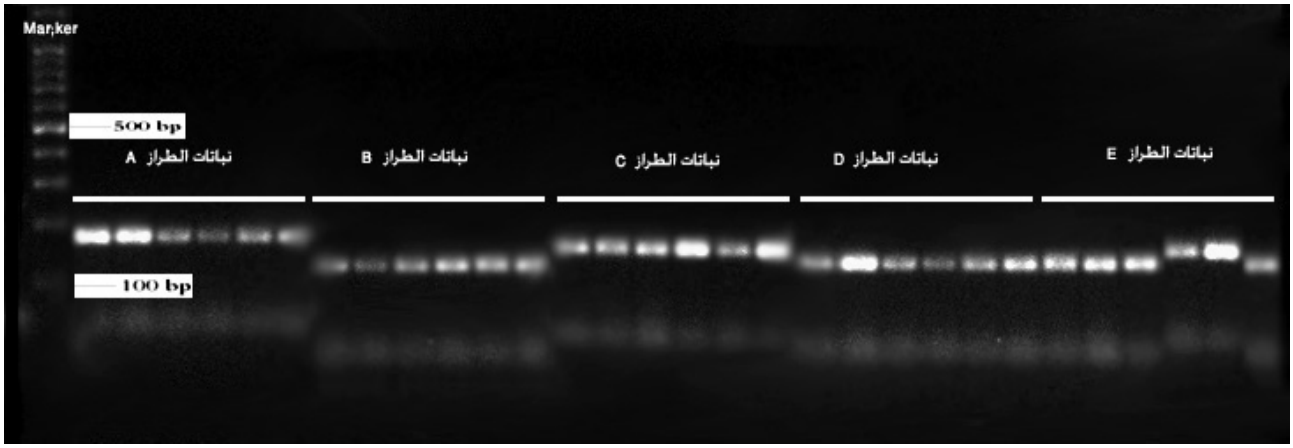
النسبة المئوية لتعدد الأشكال:

تمكّنت ثمانية أزواج من البادئات المستخدمة من كشف التباينات الوراثيّة بين النباتات المدروسة، في حين لم يتمكّن أيّاً من البادئين Hi07f01 و Hi08g06 من إظهار أية حزمة أثناء تفاعل البلمرة المتسلسل. أنتجت أزواج البادئات (الثمانية) 45 أليلاً متعدداً شكلياً (Polymorphic) بنسبة تعددية شكلية 100 %، وتراوح عدد الأليلات في المواقع المختلفة بين 3 و 9 أليلات بمعدل 5.63 أليلاً لكل زوج من البادئات (الجدول2). تدل النتائج على التنوع الوراثي الكبير بين الطرز المدروسة،

إذ أعطت كافة البادئات أليلات متعددة شكلياً (الشكل1)، ويتوافق ذلك مع دراسة لتوصيف 37 صنف تفاح قديم بالمقارنة مع 11 صنفاً مرجعياً (شاهد) باستخدام 11 زوجاً من بادئات SSR فقد أظهرت كافة مواقع SSR المستخدمة تعدداً شكلياً مرتفعاً، وقد تراوح عدد الأليلات بين 8 إلى 14 أليلاً بمعدّل 10.45 بالنسبة للأصناف القديمة، بينما كان بين 5 إلى 12 أليلاً بمعدّل 7.55 في الأصناف المرجعية (Sikorskaite *et al*., 2012). كما كانت النسبة المئوية لتعدد الأشكال 100% في العديد من الدراسات على التفاح باستخدام تقنية SSR (Goulau and Oliveira, 2001; Guarino *et al*., 2006) و (الحلبي وآخرون، 2009). تراوح حجم الأليلات الناتجة بين 119 و135bp في البادئ Hi08e06 ووصلت إلى 286bp في البادئ Hi04g05 (الجدول 2)، حيث تطابقت مع الحجم المتوقع حسب Silverberg *et al*., (2006).

الجدول 2. عدد الأليلات الناتجة عن أزواج البادئات المستخدمة في تقنية SSR، وعدد الأليلات المتعددة شكلياً، والنسبة المئوية للتعددية الشكلية، وحجم الأليلات الناتجة.

البادئ	عدد الأليلات الناتجة	عدد الأليلات المتعددة شكلياً Polymorphic alleles	النسبة المئوية للتعددية الشكلية Polymorphism %	حجم الأليلات الناتجة Alleles size (bp)
Hio4a05	5	5	100	220-211-200-195- 188
Hi04g05	9	9	100	286-274-250-245-240-230-218-208-190
Hi07h02	7	7	100	277-270-265-258-250-242-228
Hi08c05	6	6	100	232- 225-218-205-200-189
Hi08d09	4	4	100	194-180-170-165
Hi08e06	3	3	100	135-127-119
Hi09a01	5	5	100	198-189-176-168-160
Hi12a02	6	6	100	258-250-240-235- 230- 224
المجموع	**45**	**45**		
المتوسط	**5.63**	**5.63**	**100**	



الشكل 1. نماذج الأليلات الناتجة عن زوج البادئ Hi08d09 المستخدم في تقنية SSR، في طرز التفاح المدروسة.

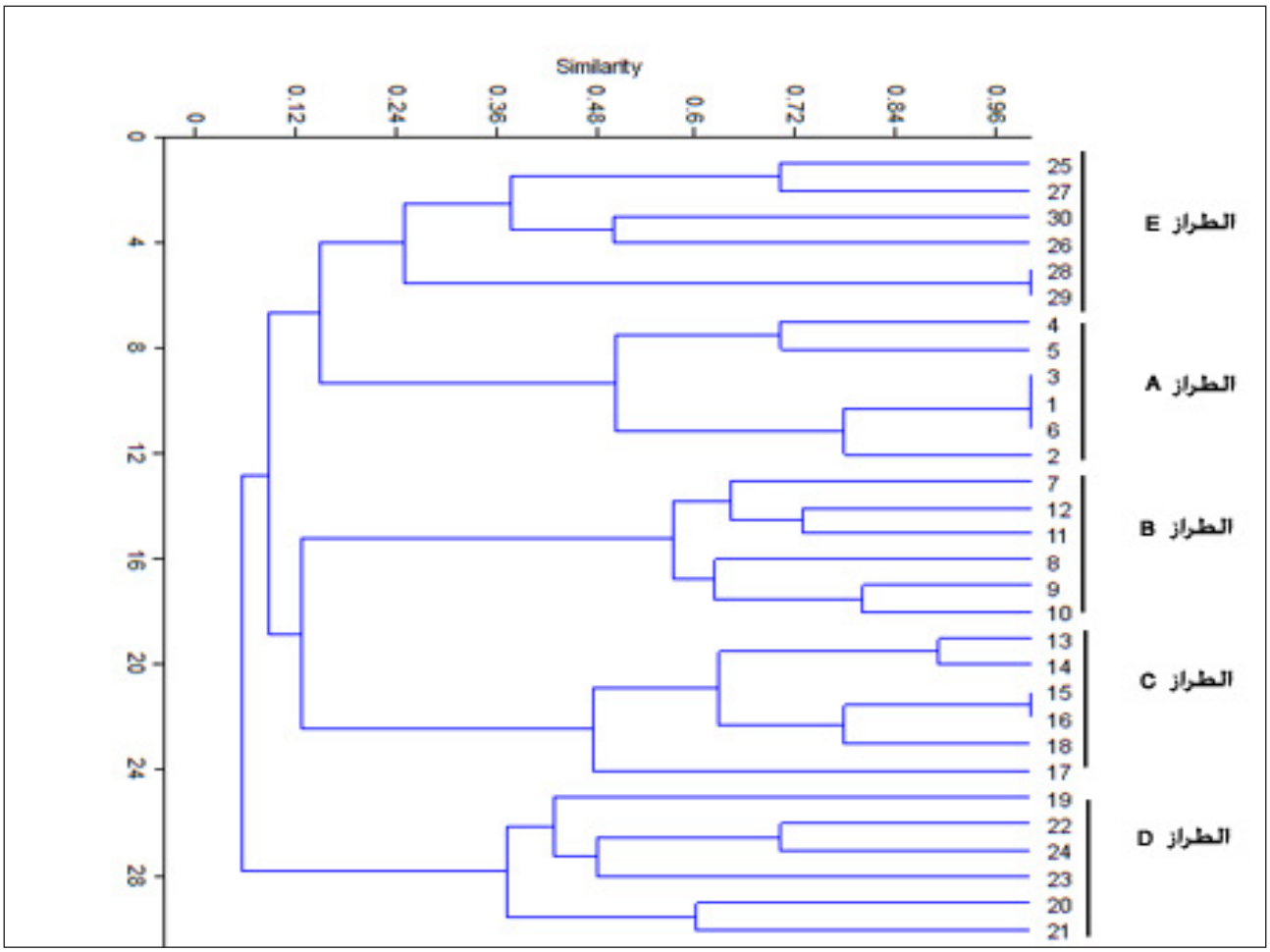
درجة التشابه الوراثي:

دلّت النتائج على البعد الوراثي بين الطرز المدروسة، حيث كانت درجة التشابه الوراثي بينها منخفضة جداً، إذ كانت أعلى درجة تشابه وراثي 0.20 بين الطرازين B و E. كما بيّنت النتائج ضمن كلّ طراز مدروس أن أعلى متوسط درجة تشابه وراثي فيما بين نباتات الطراز A (0.67)، وقد أظهر نباتان أعلى درجة تشابه وراثي (1) مع النبات الأم، وأقل درجة 0.45، تلاه الطرازان C و B (بمتوسط 0.64 و0.61 على التوالي)، وقد كانت أعلى درجة تشابه لنباتات الطراز C مع النبات الأم 0.78 وأقلها 0.60،

وبلغت أعلى درجة تشابه وراثي لنباتات الطراز B مع النبات الأم 0.70 وأدناها 0.50، وتدلّ هذه النتائج على درجة تشابه وراثي جيدة أعلى من 0.5 (زايد وآخرون، 2006)، أما فيما بين نباتات كلا الطرازين D و E فكان متوسط درجة التشابه الوراثي منخفضاً 0.43 و0.38 على التوالي، وقد كانت أعلى درجة تشابه وراثي لنباتات كلا الطرازين مع النبات الأم 0.70 و 0.50 على التوالي، أما أقلّ درجة تشابه وراثي مع النبات الأم كانت 0.3 و 0.2 على التوالي. كما دلّت النتائج أنّه لدى مقارنة نباتات الطرز المدروسة مع بعضها أن أعلى درجة تشابه وراثي كانت بين نباتات الطرازين A و(0.15)E، وأخفض درجة بين نباتات الطرازين A و(0.01)D، وتؤكّد هذه النتائج على مدى الخلط الوراثي في الغراس البذرية المعدة للإنتاج، إذ لا يتمّ جمع بذور كلّ طراز على حدة، إنّما تُجمع من كافة الأشجار الموجودة في حقل الأمهات بما تحمله من تباين وراثي الأمر الذي أكّدته نتائج الدراسة الحالية، بالإضافة إلى أنّ بعض الطرز حتى لو جمعت بذورها وزرعت على حدة، فإنّها لا تعطي نباتات متشابهة بدرجة مقبولة كما في الطرازين D وE، مما يزيد من نسبة الخلط بشكل كبير، حيث يسمح في حال الأصول بوجود تنوّع وراثي بسيط بينما لا يقبل أي تنوع وراثي في الصنف المطعم (Cummins and Aldwinckle, 1995)، ولا بدّ من الإشارة إلى أنّ الطرز المدروسة بما أظهرته من تنوع وراثي، تشكل عينة بسيطة من الطرز الموجودة في حقل الأمهات، مما يؤكد ضرورة عدم خلط بذورها، وكذلك استخدام بذور الطرز التي تعطي نباتات متشابهة وراثياً بدرجة عالية مع النبات الأم وفيما بينها. كما تفيد معرفة القرابة الوراثية في برامج تربية الأصول من خلال إتاحة الفرصة لتنظيم المجمعات الوراثية، بحيث يتمّ توجيه العملية الانتخابية لاختيار الآباء التي ستدخل في عملية التهجين (Jin *et al.*, 2012).

التحليل العنقودي:

قسم التحليل العنقودي النباتات المدروسة إلى خمس مجموعات (الشكل 2)، وقد ضمّت المجموعة الأولى النباتات الناتجة عن الطراز E مع النبات الأم، وقد تطابق نباتان من النباتات المدروسة مع بعضهما، وضمّت المجموعة الثانية النباتات الناتجة عن الطراز A مع النبات الأم حيث تطابق نباتان مع النبات الأم تماماً، ووقعت النباتات الناتجة عن الطراز B مع النبات الأم في المجموعة الثالثة، وقد شملت المجموعة الرابعة على نباتات الطراز C مع النبات الأم، الذي تطابق اثنان من النباتات الناتجة مع بعضهما، وضمت المجموعة الأخيرة نباتات الطراز D مع النبات الأم، وبالتالي وقعت النباتات الناتجة عن كل طراز مع النبات الأم في مجموعة واحدة، وتتوافق هذه النتائج مع Jin *et al.*, (2012) أثناء دراسة التنوع الوراثي بين أصول التفاح، تبين وجود تنوّع وراثي معقّد بين هذه الأصول التي قسمها التحليل العنقودي إلى خمس مجموعات، إذ يقسم التحليل العنقودي الطرز المدروسة بناءً على نسبها وأصلها (Hormaza, 2002; Muzher, 2004; Perez *et al*., 2005; Amirbakhatiar *et al.,* 2006).



الشكل 2. مخطط التحليل العنقودي الناتج عن تقنية SSR، بالاعتماد على معامل Jaccard من خلال طريقة UPGMA للنباتات الناتجة عن الطرز المدروسة والنباتات الأم (رقم النبات الأم: 6، 12، 18، 24، 30 في الطرز A، B، C، D، E على التوالي).

الاستنتاجات:

بيّنت نتائج التعددية الشكلية ودرجة التشابه الوراثي والتحليل العنقودي على البعد الوراثي الكبير بين الطرز المدروسة، وبالتالي حدوث تباين وراثي عال عند زراعة بذور هذه الطرز كخليط، مما ينعكس على الإنتاج سلباً، وعلى تماثل حجم الأشجار المزروعة في الحقل نفسه، بالإضافة إلى اختلاف الحساسية للآفات والتحمل للإجهادات البيئية، مما يتطلب اعتماد مصدر واحد للبذور، وزراعة حقول أمهات معزولة. كما بيّنت النتائج قدرة تقنية SSR في كشف التباين الوراثي بين الطرز المدروسة، وتحديد درجة التشابه، الذي من شأنه المساعدة على تنقية المجمّعات الوراثيّة، وتوجيه العملية الانتخابية.

المراجع:

الحلبي، علا وبيان مزهر وخليل المعري (2009). توصيف بعض أصناف التفاح المحلية في سورية باستخدام بعض المؤشرات الشكلية والجزيئية. المجلة الأردنية في العلوم الزراعية. 5 (1):73-89.

وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي (2015). قسم الإحصاء والتخطيط، مديرية الإحصاء والتعاون الدولي، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي. دمشق، سورية.

زايد، عبد الوهاب وهيوز وبورسيدو ونيكولاس (2006). معجم مصطلحات التقنية الحيوية في مجال الأغذية والزراعة. مطبوعات جامعة الإمارات العربية المتحدة. 434 ص.

مزهر، بيان وعلا الحلبي (2015). توثيق شجيرات أصل الكرمة (Ru140) المقاوم لحشرة الفيلوكسيرا في مشاتل وزارة الزراعة باستخدام المؤشرات الجزيئية SSR. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية (موافقة نشر رقم 2605/و.د تاريخ 2015/8/4).

Al Halabi, O.; and B. Muzher (2015). Assessment of genetic integrity of apple seedlings rootstocks derived from the local apple cultivar (Sukari 2) in Syria using SSR markers. 7th International Scientific Symposium. Agrosym 2015. Book of proceeding. Pp.721-726.

Al Hajjar, N.M.; B.M. Muzher; and F. Hamed (2016). Assessing genetic relationships between *Pistacia Vera* L. Hybrids and their parents (*P. Vera* X Monocious genotypes of *P. Atlantica*) using SSR markers. Jordan Journal of Agricultural Sciences. 12(1): 148- 159.

Amirbakhtiar, N.; B. Shiran; H. Moradi; and B.E. Sayed-Tabatabaei (2006). Molecular characterization of almond cultivars using microsatellite markers. Acta Horticulture. 726: 51- 56.

Atkinson, C.J.; and M.A. Else (2003). Enhancing harvest index in temperate fruit tree crops through the use of dwarfing rootstocks. International workshop on cocoa breeding for improved production system. Accra, Ghana. P: 118- 131

Cummins, J.N.; and H.S. Aldwinckle (1995). Breeding rootstocks for tree fruit crops. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. 23:395-402.

Dodangeh, M.R.; M.J. Shakouri; Z. Hamzehei; and A. Dadashpour (2012). Effects of M9 and MM106 rootstocks on agromorphological characteristics of 'Golab Kohanz' and 'Delbarstival' apple cultivars in Abhar region of Iran. Indian Journal of Science and Technology. 5(1): 1844- 1847.

Fazio, G.; and A.M. Baldo (2005). Placement of apple rootstock cultivars within the Malus germplasm. Plant and Animal Genomes XIII Conference. San Diego. CA.

Goulao, L.; and C.M. Oliveira (2001). Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus X domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. Euphytica. 122(1) :81-89.

Guarino, C.; S. Santoro; L. De Simone; O. Lain; G. Cipriani; and R. Testolin (2006). Genetic diversity in a collection of ancient cultivars of apple (*Malus* x *domestica* Borkh.) as revealed by SSR-based fingerprinting. Horticultural Science and Biotechnology. 81(1):39-44.

Hormaza, J.I. (2002). Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunusarmeniaca* L.) genotypes using simple sequence repeats. TAG Theoretical and Applied Genetics. 104(2-3):321-328.

Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherchessur la distribution flora. Bull. Sac. Nat., 44:223- 270.

Jin, W.; Q. Zhang; S. Liu; and Q. Wei (2012). Genetic diversity of 41 apple rootstocks based on simple sequence repeat markers. JASHS. 137(1): 51- 56.

Kenis, K.; E. Pauwels; N. Van Houtvink; and J. Keulemans (2001). The use of microsatellite to establish unique fingerprinting for apple cultivars and some of their descendants. Acta Hort., 564:427- 431.

Kiraly, I.; M. Tóth; A. Pedryc; J. Halász; and T. Deák (2008). Parent identification of Hungarian apple cultivars using SSR markers. Acta Hort., 839:471- 477.

Kosina, J. (2010). Effect of dwarfing and semi dwarfing apple rootstocks on growth and productivity of selected apple cultivars. Hort. Sci., 37(4): 121- 126.

Kviklien, N.; and D. Kviklys (2006). Rootstock effect on maturity and quality of 'Auksis' apples. Scientific works of the Lithuanian institute of horticulture and Lithuanian university of agriculture. Sodininkyste ir Darzininkyste. 25(3): 258- 263.

Liebhard, R.; L. Gianfranceschi; B. Koller; C.D. Ryder; R. Tarchini; E. Van de Weg; and C. Gessler (2002). Development and characterization of 140 microsatellite in apple (*Malus X domestica* Borkh.). Molecular Breeding. 10 (4): 217-241.

Lu, M.; H. Tang; X. Chen; J. Gao; Q. Chen; and L. Lin (2010). Comparative genome mapping between apple and pearby apple mapped SSR markers. American-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci., 9 (3): 303-309.

Muzher, B.M. (2004). Application of biochemical and PCR based molecular markers to the characterization of Syrian pears (*Pyrussyriaca*Boiss*)* Genotypes. Ph. D. Degree in Agricultural Science. Cairo University. Pp. 108.

Muzher, B.; and O. Al Halabi (2016). Preliminary evaluation of some elicited apple genotypes candidate as cultivars using morphological and molecular markers. International Journal of Environment. 5(2): 98- 109.

Oraguzie, N.C.; T. Yamamoto; J. Soejima; T. Suzuki; and H.N. De Silva (2005). DNA fingerprinting of apple (*Malus* spp.) rootstocks using Simple Sequence Repeats. Plant Breeding. 124(2): 197-202.

Perez, S. R.; D. Ruiz; F. Dicenta; J. Egeaand; M.P. Gomez (2005). Application of simple sequence repeat (SSR) markers in apricot breeding: molecular characterization, protection, and genetic relationships. Scientia Horticultrae. 103(3):305-315.

Porebski, S.; G.L. Bailey; and B.R. Baum (1997). Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. Plant Molecular Biology Reporter. 15(1): 8-15.

Roper, T.R. (2001). Rootstocks for fruit trees in Wisconsin. Cooperative Extension Publications. A3561.

Sikorskaite, S.; D. Gelvonauskiene; V. Stanysand; D. Baniulis (2012). Characterization of microsatellite loci in apple (*Malus* × *domestica* Borkh.) cultivars. Agriculture. 99 (2): 131–138.

Silverberg, D.E.; C.L. Matasci; W.E. Van; M.P.W. Kaauwen; M. Walser; L.P. Kodde; V. Soglio; L. Gianfranceschi; C.E. Durel; F. Costa; T. Yamamoto; B. Koller; C. Gessler; and A. Patocchi (2006). Microsatellite markers spanning the apple (*Malus* x *domestica* Borkh.) genome. Tree Genetics and Genomes. 2(4): 202-224.

Vaidya, E.; R. Kaur; K. Kumar; and N. Sharma (2015). Exploitation of *Malus* ESTs for development of SSR markers after *in silico* analysis. Journal of Applied Botany and Food Quality. 88: 164 - 169.

Volk, G. M.; C.M. Richards; A.D. Henk; A.A. Reilley; P.A. Reeves; and P.L. Forsline (2008). Genetic diversity of wild *Malus orientalis*. Plant and Animal Genomes XVI Conference. San Diego. CA.

Webster, A. D. (2003). Breeding and selection of apple and pear rootstocks. Acta Hort., 622: 499- 512.

Webster, A. D.; and S.J. Wertheim (2003). Apple rootstocks. In: Ferree, D.C.; and Warrington, I.J. (Eds). CAB International. Botany, Production and Uses. Pp:91- 124.

Wunsch, A.; and J.I. Hormaza (2002). Cultivar identification and genetic fingerprinting of temperate fruit tree species using DNA markers. Euphytica. 125(1): 59-67.

Detection of Genetic Variation in *Malus communis* Mother Fields and Within Their Seedlings Using SSR Technique

Ola Al-Halabi*(1) and Bayan Muzher(1)

(1). Pome and Grapevine Division in Sweida, General Commission for Scientific Agriculture Research (GCSAR), Damascus, Syeia.
(*Corresponding author: Dr. Ola Al-Halabi. E-Mail: Ola_halabi@msn.com).

Received: 21/04/2017 Accepted: 05/07/2017

Abstract:

This investigation was conducted at Pome and grapevine Division in Sweida, General Commission for Scientific Agriculture Research (GCSAR), and at Ira Agricultural Nursery, during 2011 and 2012 seasons, to detect the genetic variation among five apple seedling genotypes in Mafaala *Malus communis* fields, and within the seedlings produced from them, using 10 SSR primer pairs. The results showed the ability of 8 primer pairs to detect genetic variation among studied plants with polymorphism 100%. Genetic similarity was low among studied genotypes, the highest genetic similarity was 0.2 between B and E genotypes, while within each genotypes it was good among plants belong to A, B and C genotypes, while it was low in the genotypes D and E plants. Cluster analysis divided the studied plants into five groups, each group included one genotype plants with the mother. These results reflected the genetic distance among studied genotypes, thus it is necessary not to mix seeds for producing apple seedling rootstocks, and find one credible source for seeds. On the other hand, SSR technique is an important tool for genetic variation detection and germplasms purification.

Key words: Apple, Seedling rootstocks, Genetic variation, SSR.