

استخدام طريقة الفصل الكهربائي في التمييز بين بعض الأصناف الذكرية من نخيل التمر

(*Phoenix dactylifera* L.)

منتهى عبد الزهرة عاتي ، ساجدة ياسين سويد

مركز أبحاث النخيل- جامعة البصرة- العراق

الخلاصة:

اجري البحث الحالي في مختبرات مركز أبحاث النخيل وكلية الزراعة - جامعة البصرة لمقارنة أنماط الحزم البروتينية المفصولة كهربائياً لثلاثة أصناف من نخيل التمر الذكرية (خكري وسمسمي و غنامي الأخضر) المزروعة في منطقة شط العرب - الفيحاء ، حيث تم اخذ العينات من الأوراق الحديثة النمو لأجراء التقدير النوعي للبروتينات وقد أظهرت نتائج التفريد الكهربائي للبروتينات وجود اختلافات في أنماط الحزم البروتينية وكثافتها وعددها التي تدل على اختلاف كمية ونوعية البروتينات باختلاف صنف اللقاح. كما أوضحت النتائج ان الأصناف الثلاثة الذكرية السابقة الذكر احتوت على حزمة بروتينية مشتركة ظهرت في نفس الموقع وذات وزن جزيئي منخفض كما أظهرت النتائج حدوث عملية التعبير الجيني التفاضلي حيث لوحظ ظهور عدد من الحزم البروتينية التي اختلفت في العدد والموقع والكثافة والحجم والوزن الجزيئي على الهلام وحسب صنف اللقاح المستخدم وكانت هناك فروق واضحة بين أصناف اللقاح الثلاثة.

الكلمات المفتاحية: نخلة التمر ، تفريد كهربائي ، نمط بروتيني

Received on: 22/12/2015

Accepted for publication on: 28/12/2015

Referees: Prof. Adel S. Taghian

Prof. Abdel-Fattah M. EL-Salhy

المقدمة:

نخلة التمر *Phoenix dactylifera L.* من أقدم الأشجار البستانية التي اكتسبت أهميتها مما تقدمه من فوائد متعددة منذ ان عرف الإنسان كيفية الاستفادة من أجزائها المختلفة إضافة الى ثمارها التي جعلتها شجرة الحياة (البكر، ١٩٧٢).

نظراً لصعوبة التمييز بين الأصناف المختلفة وجنسها في المراحل الأولية للنمو تم إجراء هذا البحث لمقارنة أنماط البروتينات المفصولة كهربائياً بطريقة التفريد الكهربائي للتعرف تفصيلاً على طبيعة المكونات البروتينية لأشجار نخيل التمر الذكرية. هناك العديد من الأبحاث التي استخدمت تقنيات الفصل الكهربائي الأفقي والعمودي في التقدير النوعي للبروتينات والكشف عن النظم الإنزيمية في أشجار نخيل التمر بهدف معرفة الاختلافات الوراثية بين الأصناف وبالتالي التعرف على واسمات التعبير الجيني (Stegemann *et al.*, 1985) ؛ Bader *et al.*, 2002 ؛ العيسى وآخرون ، ٢٠٠٨).

وجد (Soliman *et al.*, 2003) في دراسته لأربعة أصناف من نخيل التمر المؤنث ومقارنتها مع أربعة أصناف أخرى غير معروفة من نخيل التمر باستخدام بتقنية RAPD ان هناك درجة قرابة او تشابه بين الأصناف بلغت ٨٧,٥ و ٩٨,٩ % ، كما درست درجة القرابة الوراثية لطرز الرمان النامية في ثلاثة مناطق من شرق اليمن ووسطه وشماله بتقنية RAPD حيث وجدت درجة من القرابة الوراثية بين بعض طرز الرمان في حين عُدت بعض الطرز الأخرى أصنافاً مستقلة لاختلاف درجة الاختلاف الوراثي بينها (يوسف ، ٢٠٠٣ ؛ الشاوش وآخرون، ٢٠٠٧). كما أظهرت نتائج الدراسة التي قام بها العيسى وآخرون (٢٠٠٨) لثلاثة أصناف من نخيل التمر المشهورة في المملكة العربية السعودية وهي خلاص وشيسي ورزيز المزروعة في الأحساء والقطيف ان هناك تعدداً شكلياً للحزم المفصولة على الجل وظهور حزمة او أكثر في مستخلص احد الأصناف وعدم ظهورها في مستخلص مثيله النامي في الموقع الأخر وعدم ظهورها في مستخلص الصنفين الآخرين في نفس الموقع. وفي ثمار صنف الحلاوي البذرية والبكرية وجدت عاتي (٢٠٠٩) ان الثمار البذرية والبكرية اختلفت في أنماط الحزم البروتينية المفصولة على الهلام مما يدل على أن الثمار البذرية (الملقحة) والبكرية (غير الملقحة) اختلفت في عملية التعبير الجيني ، وفي دراسة لأيجاد الاختلافات الوراثية لعدد من أصناف نخيل التمر الأنثوية (بوكي وبرحي وبريم وجوزي وحساوي وسابير وأم الدهن) بتقنية التفريد الكهربائي للبروتينات المفصولة من سعف هذه الأصناف لوحظ وجود اختلافات في عدد ومواقع الحزم البروتينية المفصولة وان الصنفين الحساوي والسابير يقعان في نفس المجموعة وان كليهما يمتلكان حزمتين بروتينيتين ذات وزن جزيئي متشابه (٦٢,٩٤١ و ٣٣,٠٧) كيلو دالتن (عبد الواحد وعاتي ، ٢٠١٢).

المواد وطرائق العمل:

تم الاستخلاص والتقدير النوعي للبروتينات المفصولة في مختبرات مركز أبحاث النخيل وكلية الزراعة للموسم الزراعي ٢٠١١ وتم اخذ العينات في الشهر السادس (حزيران) وتم تفريد العينات كهربائياً بجهاز Electrophoresis كما استخدم برنامج Photocapt في تحليل نواتج التفريد الكهربائي للبروتينات.

تجهيز المادة النباتية:

تم استخلاص عينات السعف المقطعة الى قطع صغيرة بالأسيتون المبرد في خلط كهربائي سبق تبريده لمدة ٤ دقائق وتم الاستخلاص لثلاثة مرات واخذ ١غم من السعف المطحون الجاف والمحفوظ مسبقاً في عبوات محكمة الغلق في درجة حرارة (٤ م⁰) وحسب الطريقة الموصوفة في (Wong *et al.*, 1971).

تحضير محاليل الاستخلاص:

استخدم محلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز (٠,١ مولاري) والحاوي على (٥٤% يوريا و ٥ % حجم /حجم من ٢- مركبتو ايثانول و ١٠% SDS وزن/ حجم كأفضل محلول لاستخلاص البروتينات وحسب ما ذكر في (العاني، ١٩٩٨).

طريقة العمل:

تم خلط ١غم من مسحوق الأسيون لسعف النخيل مع محلول الاستخلاص بنسبة ١:١٠ وزن / حجم في هاون خزفي ثم طرد مركزي لمدة ١٥ دقيقة، جمع الرائق وأهمل الراسب لأجراء الخطوات اللاحقة لإتمام عملية التفريد.

ترسيب البروتين:

تم ترسيب البروتين باستخدام محلول ٥ % ثلاثي كلورو حامض الخليك بنسبة ٥ : ٢ جزء من الحامض : جزء من الرائق ثم أهمل الرائق وأذيب الراسب في المحلول الدارئي للعينة.

المحلول الدارئي للنموذج برقم هيدروجيني pH=6.8 يتكون من المحاليل الآتية:

- ١- محلول هلام الرص (٠,٥) مولار ترس برقم هيدروجيني ٦,٨
- ٢- محلول SDS بتركيز ١٠%
- ٣- محلول البروموفينول الأزرق بتركيز ٠,٥ %
- ٤- محلول المركبتو ايثانول بتركيز ٠,٥ %
- ٥- محلول السكروز بتركيز ٢٠%

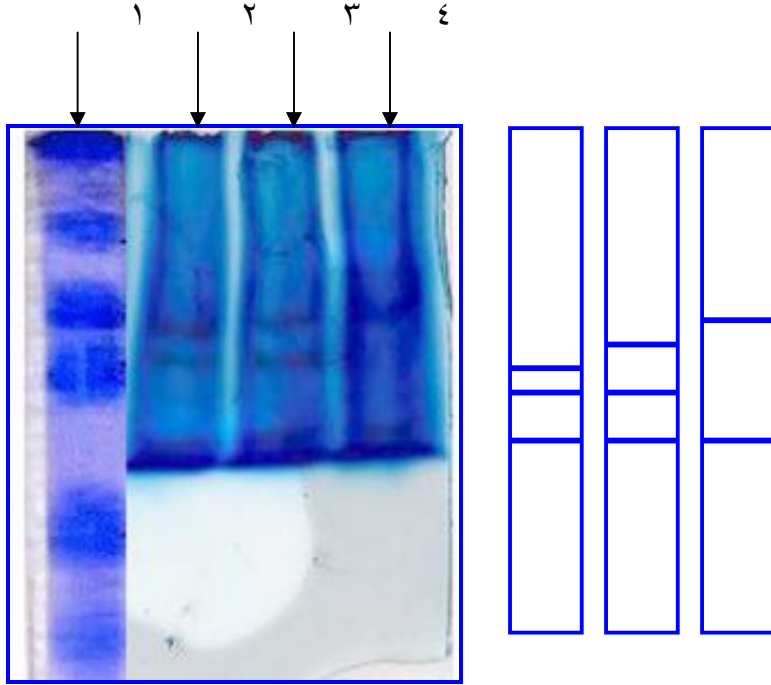
التفريد الكهربائي:

اتبعت الطريقة الموصوفة في (Blacksher 1984) في تحضير الهلام وإجراء عملية الترحيل الكهربائي.

النتائج والمناقشة:

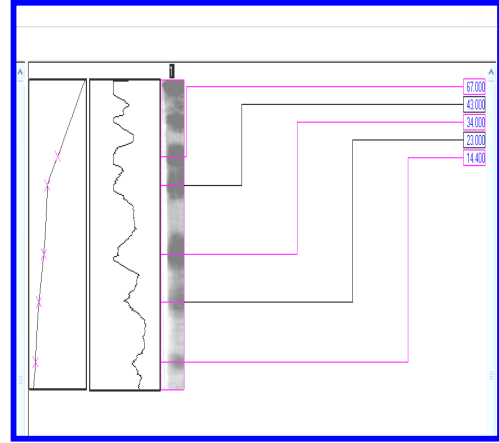
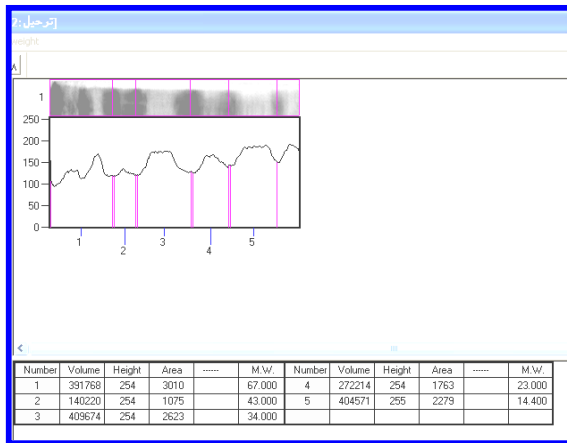
أظهرت نتائج التفريد الكهربائي للبروتينات المفصولة على الجل (الهلام) اختلاف في أنماط الحزم البروتينية المفصولة في الأصناف الذكرية لنخيل التمر (السكري والسسمي والغنمي الأخضر) حيث اظهر صنف الغنمي الأخضر ظهور حزمتين بروتينيتين ذات وزن جزيئي (٦٧,٩٢ و ٤٠,٥٢) كيلو دالتن والتي اختلفتا في موقعهما وكثافتهما وأوزانهما الجزيئية في حين اظهر صنف السسمي والسكري عدد مماثل من الحزم البروتينية التي اختلفت في موقعها وكثافتها وأوزانها الجزيئية حيث اظهرت ثلاثة حزم بروتينية لصنف السكري بوزن جزيئي (٥٨,٦٤ و ٤٥,٨٥ و ٤٠,٢٧) كيلو دالتن وثلاثة حزم بروتينية لصنف السسمي بوزن جزيئي (٦٢,٧٨ و ٤٥,٠٩ و ٤٠,٢٧) كيلو دالتن ومما يلاحظ من خلال الشكل (١) أن الأصناف الثلاثة الذكرية احتوت على حزمة بروتينية متشابهة. كما اظهر صنف الغنمي الأخضر ظهور حزمتين بروتينيتين احدهما ذات وزن جزيئي مرتفع وكثافة عالية والأخرى ذات وزن جزيئي منخفض وكثافة واطنة. أن هذه الاختلافات في أنماط الحزم البروتينية بين أصناف اللقاح الثلاثة يعني أن أصناف اللقاح الثلاثة اختلفت في عملية التعبير الجيني التفاضلي differential gene expression مما يمكن استخدامها كواسمات للتعبير الجيني ولكن بشكل محدود (العيسي، ٢٠٠٦) كما ان الاختلاف في العدد الكلي للبروتينات المفصولة على هيئة حزم (Bands) على الجل وفي سماكة وكثافة هذه الحزم تدل على اختلاف كمية ونوعية البروتينات فيها (القريني وآخرون، ٢٠٠٦) كما يلاحظ من نتائج الترحيل الكهربائي للبروتينات (الشكل ١) ان الأصناف الثلاثة الذكرية احتوت على حزمة بروتينية مماثلة ظهرت في نفس الموقع وذات وزن جزيئي منخفض. ان البصمة الوراثية للأصناف الذكرية تختلف من صنف ذكرى لآخر حيث ان تطابق أي بصمة وراثية لصنف معين مع صنف آخر تدل على تبعيةها

لنفس الصنف وبالتالي يتم التشخيص المبكر لفسائل الأصناف المختلفة في مراحل مبكرة من وصولها الى سن الحمل والإثمار (باشة وآخرون، ١٩٨٨).



شكل (١): التفريد الكهربائي لبروتينات الذكورية من نخيل التمر

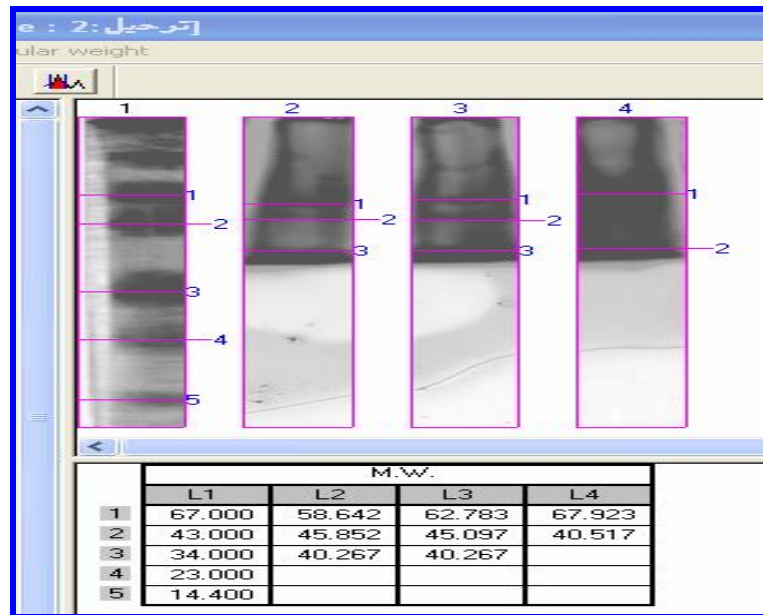
- ١- البروتينات القياسية
- ٢- sukri
- ٣- السسمي
- ٤- الغنمى الأخضر



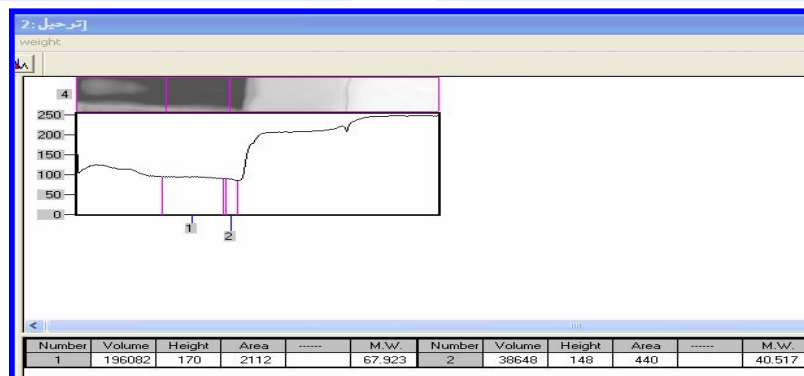
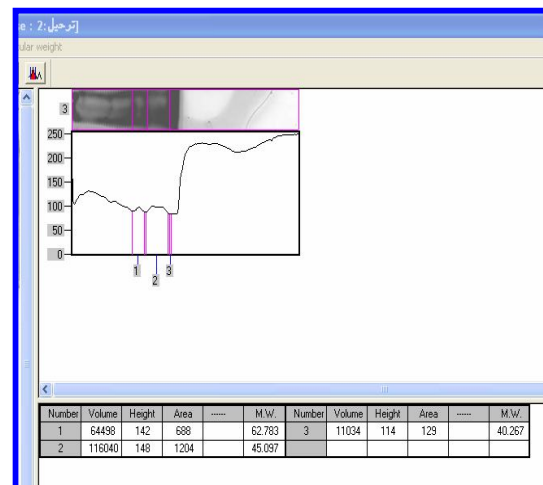
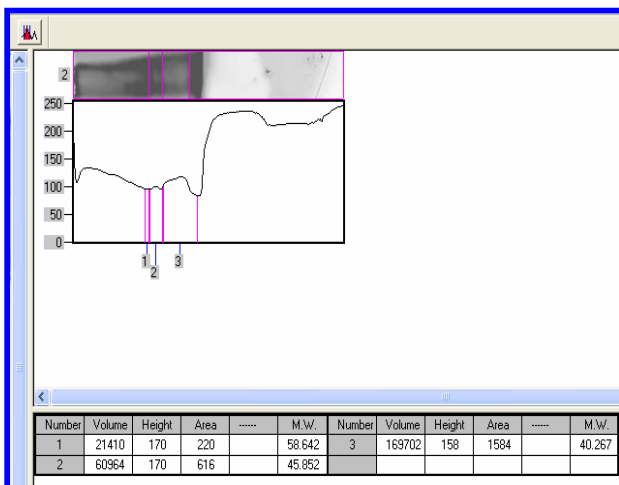
B - تحديد الأوزان الجزيئية للبروتينات القياسية

A - تحديد حزم العينة القياسية

شكل (٢): البروتينات القياسية



شكل (٣): الأوزان الجزيئية لبروتينات الأصناف الذكرية من نخيل التمر



شكل (٤): تحديد الوزن الجزيئي لعينات التجربة

المصادر:

باشة، محمد علي ؛ طه، عبد الله نصر ومحمد عبد الرحيم شاهين (١٩٨٨). التلقيح وعلاقته بانتاجية أشجار نخيل البلح في المنطقة الوسطى بالمملكة العربية السعودية. ادارة البحث العلمي - مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية.

البكر، عبد الجبار (١٩٧٢). نخلة التمر ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعاتها وتجارتها . مطبعة العاني - بغداد : ١٠٨٥ ص.

الشاوش، فتحي ؛ فيصل، حامد والعيسي ، عماد (٢٠٠٧). دراسة التنوع الوراثي لبعض طرز الرمان في اليمن باستخدام تحاليل ال RAPD. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ٢٣ (٢) : ٢١٩-٢٣١ ص.

عاتي ، منتهى عبد الزهرة (٢٠٠٩). دراسة بعض تغيرات نمو وتطور ثمار نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* البذرية والبكرية في صنف الحلاوي. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة البصرة : ١٠٥ ص.

عبد الواحد ، عقيل هادي وعاتي ، منتهى عبد الزهرة (٢٠١٢). أيجاد الاختلافات الوراثية لعدد من أصناف نخيل التمر باستخدام تقنية الترحيل الهلامي الكهربائي. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية ٤ (١) : ١٠ ص.

العاني ، مؤيد رجب عبود (١٩٩٨). دراسة أمكانية تمييز جنس النخيل في مرحلة البادرات باستخدام الهجرة الكهربائية للبروتينات والمواد الشبيهة بالجبرلينات. أطروحة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة بغداد - العراق.

العيسي ، عادل بن محمد (٢٠٠٦). مقارنة فسيولوجية بيئية بين ثلاثة اصناف من نخيل التمر في الأحساء والقطيف بالمملكة العربية السعودية. أطروحة دكتوراه - كلية العلوم - جامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية.

العيسي ، عادل محمد ؛ الهلال ، علي عبد المحسن والسعد ، فيصل عبد الله (٢٠٠٨). التحليل بالتفريد الكهربائي للنظم الانزيمية في ثمار ثلاثة أصناف من نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* النامية في الأحساء والقطيف بالمملكة العربية السعودية. مجلة جامعة الملك عبد العزيز ١٩ : ٦٣ - ٨٤.

يوسف، روبين ابراهيم (٢٠٠٣). تقييم توزيع الرمان وتنوعه واستخدامه في سورية. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة حلب.

القريني، فهد حمد ؛ السعد ، فيصل عبد الله وفلفلان ، شفيق عبد الله (٢٠٠٦). دراسة مقارنة أنماط البروتينات في النخيل المنتج من زراعة الأنسجة والنخيل المنتج من الفسائل في مواسم مختلفة. المجلة السعودية للعلوم البايولوجية ١٣ (١) : ٢٠-٣١ ص.

- Bader, E.A.; Hemeida, A.A.; Badawy, O.M. and Hekal, H.A.(2002). Identification of protein markers and phylogenetic relationships in five potato cultivars .Arab J. Biotech., vol.5, No.(1).83-94.
- Blackshear, L. J. (1984). System to poly acrylamid gel electrophoresis in: methods in Enzymology. (Ed. Takoby W. B.). Academic press. INC. Harcourt Brace. Javonovich publishers. 104: 237 – 256.
- Stegemann, H., Afify, A. M. R. and Hussein, K. R. F. (1985). Cultivar identification of dates (*Phoenix dactylifera* L.) by protein patterns Second International symposim of Biochemical Approaches to Identification of cultivars. Brauns chewing, West Germany, pp44.
- Soliman , S.S. ; Ali , B.A. and Ahmed, M.M.(2003). Genetic comparisons of Egyptian date palm cultivars (*Phoenix dactylifera* L.) by RAPD-PCR. African Journal of Biotechnology Vol. 2 (4), pp. 86-87.
- Wong, I.G. Luh, B. S. and Whitaker, J. R. (1971). Isolation and characterization of polyphenol oxidase isozymes of olingstone peach . Plant physiol. 48: 14-23.

Using Electrophoresis for Discrimination between Male Cultivars of Three Date Palm

Muntaha A. Ati and Sajeda Yaseen Swaed

Date palm research center, Basrah University, Iraq

Summary:

The study was carried out in Date Palm Research Center Laboratory and College of Agriculture – Basrah University to compare protein electrophoretic patterns for three cultivars of date palm selected for the experiments. Young leaflets were taken from three different cultivars (Ghennamy Al-Akhdar, Samasmi, Khikri) grown in shatt –Al arab - Alfaiha- Iraq. Electrophoresis studies showed differences in protein pattern and density and molecular weights. The results indicated that there were differences between proteins in both types and quantities in all three pollen cultivars. Also the results showed that three male cultivars contained one common band in the same location that has low molecular weight. Also, results showed the process of differential gene expression has occurred since there were bands, which differed in number, position, and density on the gel in particular male cultivar. There were very distinct differences between of the three male type.

Key words: *Date palm ,Electrophoresis , Protein pattern*