مجلة الخليج العربي للبحوث العلمية 26 (4): 228- 220 (2008)

**Research Paper** **Ref. No 2421**

# تحليل النظم الأنزيمية في وريقات وجذور ثلاثة أصناف من نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* النامية في الأحساء والقطيف بالمملكة العربية السعودية

# Electrophoretic Analysis of Isoenzymes in three Cultivars of Date Palm (*Phoenix dactylifera L.*) Leaflets and Roots from Al-Ahsa and Al-Qatif in Saudi Arabia

عادل محمد العيسى [1]، علي عبد المحسن الهلال [2] و فيصل عبد الله السعد [2]

*Adel Mohamed Al-Essa, Ali Abdulmohsen Al-Helal and Faisal Abdulla Al-Saad*

[1] **أمانة المنطقة الشرقية ، ص ب** 5037 **الدمام** 31422

[2] **قسم النبات والأحياء الدقيقة ، كلية العلوم ، جامعة الملك سعود**

**ص ب** 2455 **الرياض** 11451

**المستخلص**: تم تحليل النظم الأنزيمية في وريقات وجذور ثلاث أصناف من نخيل التمر المشهورة في المنطقة الشرقية من المملكة العربية السعودية وهي خلاص وشيشي ورزيز المزروعة في الأحساء والقطيف وقد أظهرت النتائج تعددًا شكليًا للحزم التي تم فصلها على الجل حيث لوحظ ظهور حزمة أو أكثر في مستخلص أحد الأصناف وعدم ظهورها في مستخلص مثيله النامي في الموقع الآخر وظهور حزمة أو أكثر في مستخلص أحد الأصناف وعدم ظهورها في مستخلص الصنفين الآخرين في نفس الموقع كما لوحظ تميز جذور صنف شيشي النامي في الأحساء بظهور حزمة الـ (EST) ذات قيمة RF: 0.38، ما يجعل من الممكن استخدامها كواسم وراثي للصنف بينما كانت النظم الأنزيمية المستخلصة من الوريقات منخفضة في محتواها من النشاط الإنزيمي وبالتالي لا يمكن استخدامها كواسمات وراثية مميزة للصنف وقد خلصت الدراسة إلى أنه من الضروري التأكد من مطابقة الفسائل - المعدة للإكثار - للصنف المرغوب الإكثار منه.

**كلمات مدخلية**: *تقنيات الترحيل الكهربائي، الإنزيمات المتشابهة، أصناف، وريقات وجذور، نخلة التمر (Phoenix dactylifera L.)، واسم وراثي.*

**Abstract**: Date palm trees (*Phoenix dactylifera L.*) are widely distributed in the Eastern Province of Kingdom of Saudi Arabia. There are more than 70 cultivars that have been grown there for ages, Three cultivars, namely "khalas", "Shaishi" and "Ruzaiz" have been selected from each of the two localities (Al-Ahsa and Al- Qatif) and subjected to isoenzymes electrophoretic analysis. Leaflets and roots of the three cultivars were analyzed using the PAGE techniques for the occurrence of the isoenzymes EST, GOT, SOD, GDH and LAP. The results show that the three cultivars differed in their isoenzymes pattern within the same location and between different locations. The obtained results also signified that the isoenzymes patterns could be used as genetic expression markers for the cultivars and their interactions with the environmental factors in the two locations.

**Keywords**: *electrophoresis, isoenzymes, cultivars, leaflets and roots, date palm (phoenix dactylifera), genetic marker.*

## المقدمة

تقدر أصناف نخيل التمر في المملكة العربية السعودية بما يزيد على 400 صنف (خليفة وآخرون، 1985) والتي منها حوالي 70 صنفا تنتشر في المنطقة الشرقية، والاختلاف في مكان زراعة بعض أصناف

النخيل ينتج عنه اختلاف في الخصائص الكيميائية والطبيعية للثمار (Asif, *et al.* 1982)، حيث يشير إلى أن الاختلافات البيئية ينتج عنها اختلافات في الخصائص الكيميائية والطبيعية لثمار نفس الصنف وهو اختلاف يشير بوضوح إلى دور العامل البيئي في تحديد انتشار الأصناف المختلفة (إبراهيم وخليف، 1998)، ومعروف محليًا أن جودة ثمار بعض أصناف نخيل التمر تختلف بحسب موقع زراعتها. ولم تتناول الدراسات المنشورة إجراء مقارنات كيموحيوية سواء ضمن الصنف الواحد أو بين الأصناف وذلك للأصناف داخل الأحساء أو مقارنة بمناطق أخرى ليتبين فيما إذا كان هذا التفاوت في الجودة هو ناتج عن اختلاف في التركيب الوراثي أم هي اختلافات نتجت بتأثير من العوامل البيئية. وقد كانت تغرس فسائل أصناف النخيل ومنها الأصناف - موضوع البحث - خارج مناطقها الأساسية وبالتالي وفي كثير من الأحيان تعد ضمن الأصناف المنتشرة في المناطق التي نقلت إليها (البكر، 1972)، فمن تلك المناطق التي نقلت إليها القطيف وهي واحة تقع إلى الشمال من الأحساء بمسافة تزيد على مائة وستين كيلو متر تقريبًا وكان قد لوحظ اختلاف في جودة ثمار هذه الأصناف النامية في القطيف مقارنة بمثيلاتها النامية في الأحساء. وعند مقارنة العوامل البيئية في الأحساء والقطيف لوحظ وجود اختلاف في العوامل البيئية بينهما وذلك من حيث الموقع ودرجة الحرارة والرطوبة النسبية ومعدلات البخر ومعدلات سقوط الأمطار بالإضافة إلى اختلاف نوعيات التربة والمياه (مصلحة الأرصاد وحماية البيئة، 2003؛ سقا، 1998).

استخدمت تقنيات الفصل الكهربي للكشف عن النظم الأنزيمية في العديد من النباتات منها ما تناولت النخيل (Majourhat, *et al.* 2000, Saker, *et al.* 2000, Salem, *et al.* 1999, Bendiab, *et al.* 1998, Al-Helal, 1992, 1988, Salman, *et al.*, 1988, Torres and Tisserat, 1980، الجبوري، 1988) ومنها ما تناول نباتات أخرى مثل الصنوبر (Allona, *et al.* 1996)، العدس (Angela and Taranto 2006)، القمح (Figliuolo and Spagnoletti, 2006); *Podophyllum hexandrum* Royle (Sharma, *et al.* 2006)، الخرشوف (Sergio, *et al.* 2005)، الفلفل (Zecevic, *et al.* 1997)، الكاكاو (Sie, *et al.* 2006; Lachenaud, *et al.* 2006)، القلقاس (Menzano, *et al.* 2006)، والأفوكادو (Kanellis and kalaitzis, 1992). ولقد دلت مراجعة الدراسات المنشورة على وجود نقص كبير في الدراسات التحليلية المختلفة التي تناولت أصناف نخيل التمر بشكل عام، ولذا تهدف هذه الدراسة إلى معرفة النظم الإنزيمية المميزة في وريقات وجذور أصناف نخيل التمر الثلاثة المشهورة في المنطقة الشرقية من المملكة العربية السعودية وهي خلاص وشيشي ورزيز المزروعة في الأحساء والقطيف، كما تهدف إلى معرفة أوجه الشبه والاختلاف بين هذه الأصناف وأثر العامل البيئي أو الوراثي على حدوث مثل هذه الاختلافات.

## المواد وطرق العمل

تم اختيار نخيل الأصناف الثلاثة بمعدل خمس نخلات أناث منتجة من كل صنف في كل موقع، وقد روعي أن توجد النخيل من الصنف الواحد في نفس الموقع متتابعة على خط زراعة واحد ومتماثلة مع نظيرتها في الموقع الآخر من حيث العمر وطريقة الري والخدمة. وقد أخذت عينات من وريقات خضراء حديثة النضج وذلك لمواسم النمو الأربعة، وكذلك من الجذور العرضية المتفرعة، وقد روعي أن تكون حديثة النمو غير متخشبة وبقطر لا يزيد عن (2) ملم. وتم تجميدها مباشرة حال جمعها في النيتروجين السائل، ومن ثم نقلت مباشرة للحفظ في مجمّد على درجة حرارة - 20 درجة مئوية لحين الاستخدام. وعند تحضير العينات تم تقطيعها إلى قطع صغيرة جدًا مع استمرار حفظها في المجمد ليؤخذ منها بعد ذلك بقدر الحاجة. وحيث أن كل صنف ممثل بخمس نخلات في كل موقع فقد أخذ من عينة كل نخلة مقدار ثابت ضمت إلى عينات مثيلاتها لكل صنف ولكل موقع لتصبح لدينا عينة واحدة ممثلة للصنف في الموقع من النخلات الخمس.

### المواد الكيميائية:

استخدمت المواد الكيميائية التالية في هذا البحث وهي من إنتاج عدة شركات وتفصيلها كالتالي:

**DH Chemicals Ltd, England:-**

Ammonium persulphate, Polyvinylpyrolidoe (PVP), Sodium acetate anhydrous, Acetic acid glacial, Hydrochloric acid (HCl), Ethanol, Iodine, and L. Glutamic acid sodium salt.

**Win Lab. UK:-**

Acrylamide, N.N- Methylene bis acrylamide, Glycerol GRG, O-dianisidine, tetrazotized (fast blue B salt), N- acetyl-DL-phenylalanine β – naphthylester, and L- leucyl-B-naphthylamide.

**Sigma-Aldrich Inc., 3050 Supruce Street, USA:-**
Trizma base, (tris) hydroxyl methyle amino metane, Glycine, (TEMED) N,N,N,N Tetranethyl-ethylenediamine, α – Ketoglutaric acid, free acid, and Peridoxal-5-phosphate (co decarboxylene).

**Fluka , Switzerland:-**
Sodium dihydrogen phosphate, Starch, Fast blue B salt, alpha – D-glucose-1-phosphate, dipottassium salt, α – naphthyl acetate, β–nicotinamide adenine dinucleotide (β-NAD), N, Phenazine methylsulphate, and Nitroblue tetrazolium blue chloride (NBT).

**Merck , Germany:-**
Phosphoric acid, Sodium chloride, and L. aspartic acid.

**Seelze- Hanover , Germany:-**
Pottassium iodide, and Pottassium cyanide (KCN).

تم فصل النظم الأنزيمية باستخدام تقنية الترحيل الكهربائي Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE) حسب طريقة (Davis, 1963) and (Ornstein, 1964) مع بعض التحوير. وقد استخدم في فصلها محلول الاستخلاص المكون من المحلول المنظم المبرد فوسفات الصوديوم (0.075 مولار ورقم هيدروجيني 7.25) + 10% جليسرول Glycerol (ح\ح) + 2% عديد فينيل البايرولدين (PVP) (و/ح) وقد تم تحضير العينات بطحن (200) ملجم من عينات الوريقات، و (500) ملجم من عينات الجذور جيدًا في الهون باستخدام النيتروجين السائل يضاف إليها (1.4) مل من محلول الاستخلاص، ثم نقلت إلى أنابيب ابندورف، وطردت لمدة (10) دقائق على سرعة 10000 دورة بالدقيقة، ونقلت الطبقة السائلة العليا إلى أنابيب أخرى. بعد ذلك نقلت الأنابيب إلى جهاز التجفيف بالتبريد freeze drier لمدة 24 ساعة. وبعد ذلك تم إعادة إذابتها في (0.5) مل من محلول الاستخلاص، وطردت على سرعة 10000 دورة بالدقيقة لمدة خمس دقائق، وتحميل العينات بمعدل (100) ميكروليتر.

تم إعداد جل الفصل 7.5% حسب المكونات التالية: (4.5) جم أكريلامايد (0.1) + Acrylamide جم أكريلامايد مكرر (22.5) + bis Acrylamide مل محلول تريس 1 (Tris) مولار المعاير بحمض الهايدروكلوريك Hydrochloric Acid (HCl) عند رقم هيدروجيني 8.8 + (34) مل ماء مقطر + (2) مل محلول أمونيوم بيرسلفيت(15 amm. Persulphate مج/ 1 مل ماء مقطر) + (20) ميكروليتر رابع مثيل إيثايلين ثنائي الأمين Tetramethyl Ethylene-Diamine (TEMED).

أما جل التركيز 4.5% فقد تم إعداده حسب المكونات التالية: (0.9) جم أكريلامايد (0.025 + Acrylamide) جم أكريلامايد مكرر (2.5 + bis Acrylamide) مل محلول تريس (tris) 1 مولار المعاير بحمض الهايدروكلوريك hydrochloric acid (HCl) عند رقم هيدروجيني 6.8 + (17) مل ماء مقطر + (0.5) مل محلول أمونيوم بيرسلفيتAmm. Persulphate (15 مج/ 1 مل ماء مقطر) + (10) ميكروليتر رابع مثيل إيثايلين ثنائي الأمين Tetramethyl Ethylene-Diamine (TEMED).

واستخدم في الفصل الكهربي المحلول المنظم المكون من محلول تريس (3.0) جم + (14.1) جم جلايسين Glycine والذي أكمل حجمه بالماء المقطر حتى (1) لتر، وضبط الرقم الهيدروجيني عند (8.3)، وذلك باستخدام جهاز الترحيل الكهربي Parklaan 36 مع وحدة طاقة Consort N.V. E143 وكان الوقت المستغرق من بدأ الفصل الكهربي حتى نهاية الفصل 2 - 2.5 ساعة.

تم تحضير صبغات النظم الأنزيمية حسب الطريقة التي اتبعها Al-Helal (1985) (جدول 1). أما بالنسبة لصبغ الأميليز Amylase فإنه بعد الانتهاء من عملية الترحيل الكهربي تم وضع لوح الجل في (150) مل محلول خلات الصوديوم (0.2) مولار المعاير بحمض الهايدروكلوريك (HCl) عند رقم هيدروجيني 5.0 والذي يحتوي على 1% (و/ح) نشا ذائب وذلك لمدة ساعتين عند درجة حرارة الغرفة، وبعد ذلك تم غسل الجل مرتين باستخدام حمض الخليك 0.1 مولار ومن ثم وضع في محلول الصبغ. وبالنسبة لصبغ الفوسفورليز Phosphorylase فإنه بعد الانتهاء من عملية الترحيل الكهربي تم وضع الجل في (50) مل من محلول خلات الصوديوم (0.1) مولار المعاير بحمض الهايدروكلوريك (HCl) عند رقم هيدروجيني 6.0 والذي يحتوي على (1) ملجم نشا ذائب و(0.33) ملجم جلوكوز أحادي الفوسفات Glucose-1-Phosphate وذلك لمدة ثلاث ساعات عند درجة حرارة الغرفة ومن ثم وضع في محلول.

**جدول 1.** يبين مكونات محاليل الصبغات.

| الأنزيمات | مكونات الصبغات |
|---|---|
| **Glutamate Oxaloacetate Transaminase (GOT)** | L-aspatric acid (500 mg) + Ketoglutaric acid (70 mg) + Pyridoxal 5-phosphate (10 mg) + Fast blue B salt (200 mg) + 0.2 M sodium acetate butter pH 5.0 (100 ml) |
| **Non-specific esterase (EST)** | α-naphthyl acetate (15 mg) + Fast blue B salt (90 mg) + 0.2 M sodium acetate butter pH 5.0 (90.0 ml) , |
| **Glutamate dehydrogenase (GDH)** | NAD (40 mg) + Phenazine methosulphate (2 mg) + Nitroblue tetrazolium (35 mg) + Sodium glutamate (300 mg) + 0.1 M tris\HCl buffer pH 9.0 (75 ml) |
| **Super Oxide Dismutase (SOD)** | NAD (40 mg) + Phenazine methosulphate (2 mg) + Nitroblue tetrazolium (35 mg) + 0.1 M tris\HCl buffer pH 9.0 (75 ml) |
| **Alcohol dehydrogenase (ADH)** | NAD (40 mg) + Phenazine methosulphate (2 mg) + Nitroblue tetrazolium (35 mg) + Ethanol (2.5 ml) + 0.1 M tris\HCl buffer pH 9.0 (75 ml) |
| **Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH)** | NAD (40 mg) + Phenazine methosulphate (2 mg) + Nitroblue tetrazolium (35 mg) + Glucose-6-phosphate (100 mg) + 0.1 M tris\HCl buffer pH 9.0 (75 ml) |
| **Malate dehydrogenase (MDH)** | NAD (40 mg) + Phenazine methosulphate (2 mg) + Nitroblue tetrazolium (35 mg) + L-malic acid (660 mg) + 0.1 M tris\HCl buffer pH 9.0 (75 ml) |
| **Leucine-aminopeptidase (LAP)** | L-leucyl- β – naphthylamide (8mg/ml H2O) (3 ml) + 0.85% (w/v) NaCl (24 ml) + 0.2 M KCN (3 ml) + Fast blue B salt (60 mg) + 0.2 M sodium acetate butter pH 5.0 (30 ml) |
| **amylase** | KI (0.1 gm) + I2 (20.0 mg) + 0.1 M acetic acid (100.0 ml) |
| **Phosphorylase** | KI (14 mM) + I2 (10 mM) + 0.1 M acetic acid (100.0 ml) |

بالنسبة لإزالة الصبغة فقد تم استخدام الإيثانول (300) مل + حمض الخليك (100) مل + ماء مقطر (600) مل. استخدم في وصف النشاط الأنزيمي للحزم الظاهرة على الجل الرموز التالية: (-) حزمة ذات نشاط أنزيمي مرتفع نسبيًا أمكن مشاهدتها وتصويرها، (-) حزمة ذات نشاط أنزيمي منخفض أمكن مشاهدتها وصورت بصعوبة، (...) حزمة ذات نشاط أنزيمي منخفض جدًا شوهدت بصعوبة وما أمكن تصويرها، كما استخدم برنامج فوتوشوب في معالجة الصور لتكون الحزم أكثر وضوحاً. وقد استخدم في تمييز العينات (KH) خلاص الأحساء، (SH) شيشي الأحساء، (RH) رزيز الأحساء، (KQ) خلاص القطيف، (SQ) شيشي القطيف، (RQ) رزيز القطيف.

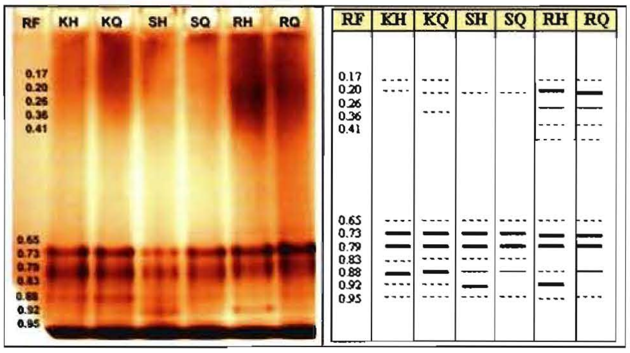
## النتائج

أجريت تجارب تحليل النظم الأنزيمية في الوريقات والجذور لمرة واحدة ومن ثم أعيدت لتأكيد النتيجة. وحيث أن العينة ممثلة للخمس نخلات في كل موقع فلم يتم تحليل النتائج إحصائيًا، وقد أظهرت النتائج وجود اختلافات بين الأصناف الثلاثة النامية في الأحساء مقارنة بمثيلاتها النامية في القطيف حيث أظهرت تعدداً شكلياً للحزم التي تم فصلها على الجل. وقد لوحظ ظهور حزمة أو أكثر في مستخلص أحد الأصناف وعدم ظهورها في مثيله النامي في الموقع الآخر، كما لوحظ ظهور حزمة أو أكثر في أحد الأصناف وعدم ظهورها في الصنفين الآخرين في نفس الموقع.

### النظم الأنزيمية في الوريقات

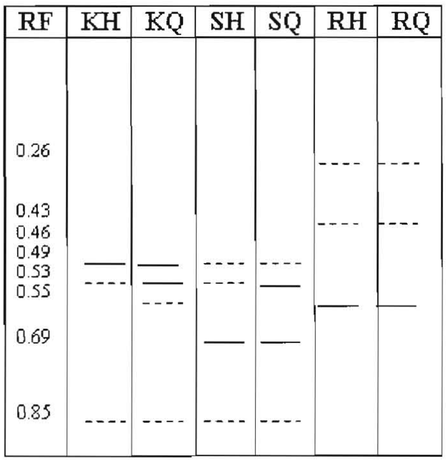
يبين شكل (1) اختلاف أنماط الـEST في وريقات الأصناف النامية في الأحساء مقارنة بالنامية في القطيف، حيث انفصل مستخلص صنف خلاص النامي في الأحساء والنامي في القطيف إلى 9 و 10 حزم، على التوالي، وتختلف هذه الحزم في محتواها من النشاط الأنزيمي وهي حزم إما ذات نشاط إنزيمي مرتفع نسبيًا أو منخفض أو منخفض جدًا وقد اختلف النامي في القطيف عن النامي في الأحساء باحتوائه على الحزمة ذات قيمة RF: (0.26). وانفصل مستخلص صنف شيشي النامي في الأحساء والقطيف إلى 8 و 7 حزم، على التوالي، وقد اختلف النامي في الأحساء عن مثيله النامي في القطيف باحتوائه على الحزمة ذات قيمة RF: (0.92). وانفصل مستخلص صنف رزيز النامي في الأحساء والقطيف إلى 11 و 10 حزم، على التوالي، وقد اختلف النامي في الأحساء عن مثيله النامي في القطيف باحتوائه على الحزمة ذات قيمة RF: (0.92). كما اختلفت الأصناف النامية في الأحساء في عدد الحزم، حيث اختلف صنفي خلاص وشيشي عن صنف رزيز باحتوائهما على الحزمة ذات قيمة RF: (0.83)، كما اختلف صنفي خلاص ورزيز عن صنف شيشي باحتوائهما على الحزمة ذات قيمة RF: (0.17)، واختلف صنف رزيز عن صنفي خلاص وشيشي باحتوائه على الحزم ذات قيمة RF: (0.26، 0.36، 0.41). ولم يختلف صنفي خلاص ورزيز النامين في القطيف من حيث عدد الحزم، بينما اختلفا عن صنف شيشي. وقد اختلف صنف خلاص عن صنفي شيشي ورزيز باحتوائه على

الحزمة ذات قيمة RF: (0.92)، واختلف صنفي خلاص وشيشي عن صنف رزيز باحتوائهما على الحزمة ذات قيمة RF: (0.83) كما اختلف صنفي خلاص ورزيز عن صنف شيشي باحتوائهما على الحزم ذات قيمة RF: (0.17، 0.26)، واختلف صنف رزيز عن صنفي خلاص وشيشي باحتوائه على الحزم ذات قيمة RF: (0.36، 0.41).



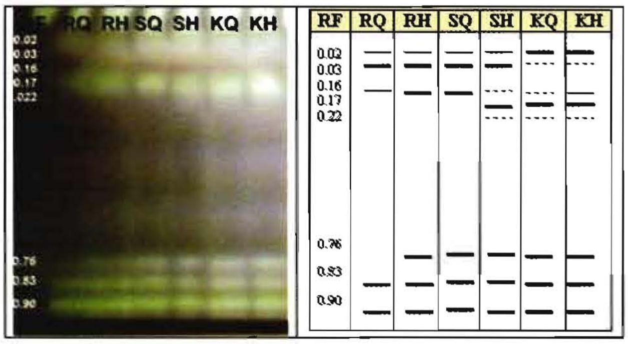

**شكل 1.** أنماط حزم ألـ EST في مستخلصات وريقات الأصناف النامية في الأحساء والقطيف (خلاص الأحساء =HK، خلاص القطيف =QK، شيشي الأحساء =HS، شيشي القطيف =QS، رزيز الأحساء =HR، رزيز القطيف =QR).

الأصناف النامية في الأحساء مقارنة بالنامية في القطيف حيث انفصل مستخلص كل صنف إلى عدد من الحزم يتراوح بين 3 إلى 4 حزم. وتلاحظ أن نشاطه قليل ولم يظهر إلا عددًا قليلاً من الحزم ذات النشاط الأنزيمي المنخفض وبالتالي يصعب استخدامه للمقارنة بين الأصناف.




**شكل 2.** أنماط حزم ألـ GOT في مستخلصات وريقات الأصناف النامية في كل من الأحساء والقطيف (خلاص الأحساء=KH، خلاص القطيف=KQ، شيشي الأحساء=SH، شيشي القطيف=SQ، رزيز الأحساء=RH، رزيز القطيف=RQ).

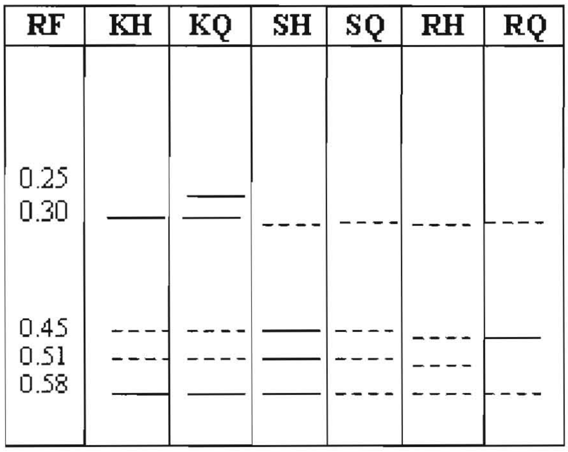
يبين شكل (3) اختلاف أنماط الـSOD في وريقات الأصناف النامية في الأحساء مقارنة بالنامية في القطيف، حيث انفصل مستخلص كل صنف إلى عدد من الحزم. وتختلف هذه الحزم في محتواها من النشاط الأنزيمي فكان عدد الحزم 6 و 8 لخلاص الأحساء والقطيف، على التوالي، 8 و 6 حزم لشيشي الأحساء والقطيف، على التوالي، 6 و 5 حزم لرزيز الأحساء والقطيف، على التوالي. وقد اختلف شيشي الأحساء عن مثيله في القطيف باحتوائه على الحزمتين ذاتا قيمة RF: (0.17، 0.22)، وقد اختلف رزيز الأحساء عن مثيله في القطيف باحتوائه على الحزمة ذات قيمة RF: (0.76)، ولم يختلف صنفا خلاص وشيشي الناميين في الأحساء من حيث عدد الحزم، بينما اختلفا عن صنف رزيز. كما اختلف مستخلصا صنفي خلاص وشيشي عن صنف رزيز باحتوائهما على الحزم ذات قيمة RF: (0.17، 0.22). وقد اختلفت الأصناف النامية في القطيف من حيث عدد الحزم، واختلف مستخلص صنف خلاص عن صنفي شيشي ورزيز باحتوائه على الحزم ذات قيمة RF: (0.17، 0.22)، واختلف مستخلصا صنفي خلاص وشيشي عن صنف رزيز باحتوائهما على الحزمة ذات قيمة RF: (0.76).



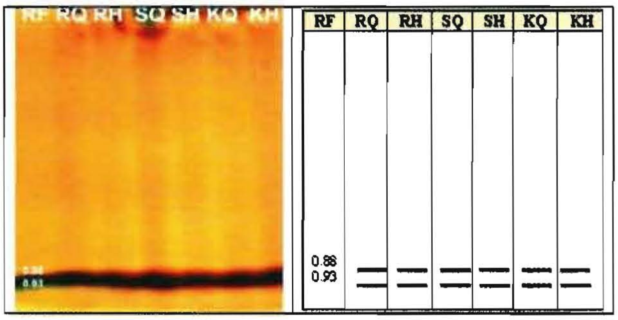

**شكل 3.** أنماط حزم ألـ SOD في مستخلصات وريقات الأصناف النامية في كل من الأحساء والقطيف (خلاص الأحساء=HK، خلاص القطيف=QK، شيشي الأحساء=HS، شيشي القطيف=QS، رزيز الأحساء =HR، رزيز القطيف=QR).

يبين شكل (4) اختلاف أنماط الـ GDH في وريقات الأصناف النامية في الأحساء مقارنة بالنامية في القطيف، حيث انفصل مستخلص كل صنف إلى عدد من الحزم يتراوح بين 4 إلى 5 حزم، ويلاحظ أن نشاطه قليل ولم يظهر إلا عددًا قليلاً من الحزم ذات النشاط الأنزيمي المنخفض، وبالتالي يصعب استخدامه للمقارنة بين الأصناف.

يبين شكل (5) أنماط الـ LAP في وريقات الأصناف النامية في الأحساء مقارنة بالنامية في القطيف، حيث انفصل كل مستخلص إلى حزمتين ذاتا قيمة RF: (0.88، 0.93) ولا يوجد فروق بين الأصناف.




**شكل 4.** أنماط حزم ألـGHD في مستخلصات وريقات الأصناف النامية في كل من الأحساء والقطيف (خلاص الأحساء=HK، خلاص القطيف=QK، شيشي الأحساء=HS، شيشي القطيف=QS، رزيز الأحساء=HR، رزيز القطيف=QR).




**شكل 5.** أنماط حزم ألـPAL في مستخلصات وريقات الأصناف النامية في كل من الأحساء والقطيف (خلاص الأحساء=HK، خلاص القطيف=QK، شيشي الإحساء=HS، شيشي القطيف=QS، رزيز الإحساء=HR، رزيز القطيف=QR).

يبين جدول (2) ما أظهرته النظم الأنزيمية من وجود اختلاف (تعدد شكلي) polymorphic في عدد الحزم الأنزيمية zymogram electrophoretic bands للأصناف النامية في الأحساء مقارنة بمثيلاتها النامية في القطيف، حيث اختلف صنف خلاص النامي في الأحساء عن مثيله النامي في القطيف في حزمة EST واحدة أي بنسبة 10% ولم يختلفا بالنسبة لـ LAP، SOD. كما اختلف صنف شيشي النامي في الأحساء عن مثيله النامي في القطيف في حزمة EST واحدة أي بنسبة 12.5% وحزمتين SOD أي بنسبة 25% ولم يختلفا بالنسبة لـ LAP. واختلف صنف رزيز النامي في الأحساء عن مثيله النامي في القطيف في حزمة EST واحدة أي بنسبة 9.1% وحزمة واحدة SOD أي بنسبة 16.67% ولم يختلفا في LAP. بالنسبة للنظم الأنزيمية الأخرى فهي لم تظهر أي نشاط أنزيمي حسب الطرق الموصوفة في المواد وطرق العمل.

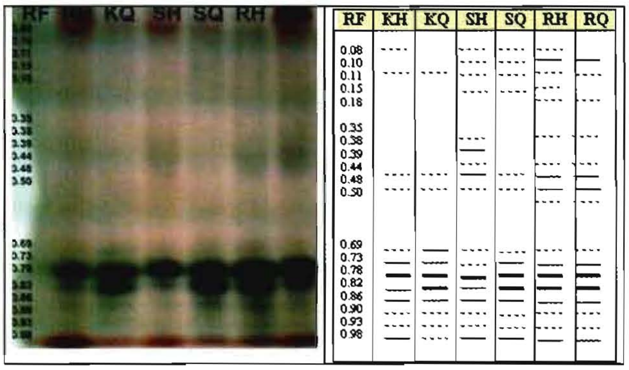
## النظم الأنزيمية في الجذور

يبين شكل (6) اختلاف أنماط الـEST في جذور الأصناف النامية في الأحساء مقارنة بالنامية في القطيف حيث انفصل مستخلص صنف خلاص النامي في الأحساء والنامي في القطيف إلى 12 و 11 حزم على التوالي وتختلف هذه الحزم في محتواها من النشاط الأنزيمي وهي حزم إما ذات نشاط إنزيمي مرتفع نسبيًا أو منخفض أو منخفض جدًا وقد اختلف النامي في الأحساء عن النامي في القطيف باحتوائه على الحزمة ذات قيمة RF: (0.08)، وانفصل مستخلص صنف شيشي النامي في الأحساء والقطيف إلى 17 و 14 حزم، على

**جدول 2.** مقارنة حزم أشباه الأنزيمات المستخلصة من الوريقات للأصناف النامية في الأحساء والقطيف.

| الأنزيمات المتشابهه Isoenzymes | إجمالي الحزم Total Bands | تشابه شكلي Monomorphic | تعدد شكلي Polymorphic | تعددشكلي (%) |
|---|---|---|---|---|
| | | صنف خلاص | | |
| EST | 10 | 9 | 1 | 10 |
| SOD | 8 | 8 | 0 | 00 |
| LAP | 2 | 2 | 0 | 00 |
| | | صنف شيشي | | |
| EST | 8 | 7 | 1 | 12.5 |
| SOD | 8 | 6 | 2 | 25 |
| LAP | 2 | 2 | 0 | 00 |
| | | صنف رزيز | | |
| EST | 11 | 10 | 1 | 9.1 |
| SOD | 6 | 5 | 1 | 16.67 |
| LAP | 2 | 2 | 0 | 00 |

التوالي. وقد اختلف النامي في الأحساء عن مثيله النامي في القطيف باحتوائه على الحزم ذات قيمة RF: (0.78، 0.82، 0.86)، وانفصل مستخلص صنف رزيز النامي في الأحساء والقطيف إلى 18 و16 حزم، على التوالي. وقد اختلف النامي في الأحساء عن مثيله النامي في القطيف باحتوائه على الحزمتين ذاتا قيمة RF: (0.08، 0.15)، كما اختلفت الأصناف النامية في الأحساء حيث اختلف صنفا شيشي ورزيز عن صنف خلاص باحتوائهما على الحزم ذات قيمة RF: (0.10، 0.15، 0.35، 0.39)، واختلف صنف شيشي عن صنفي خلاص ورزيز باحتوائه على الحزمة ذات قيمة RF: (0.38)، واختلف صنف رزيز عن صنفي خلاص وشيشي باحتوائه على الحزمتين ذات قيمة RF: (0.18، 0.50)، كما اختلفت الأصناف النامية في القطيف حيث اختلف صنفا شيشي ورزيز عن صنف خلاص باحتوائهما على الحزمة ذات قيمة RF: (0.10)، واختلف صنف شيشي عن صنفي خلاص ورزيز باحتوائه على الحزمتين ذات قيمة RF: (0.08، 0.15)، واختلف صنف رزيز عن صنفي خلاص وشيشي باحتوائه على الحزم ذات قيمة RF: (0.18، 0.35، 0.39، 0.50).




**شكل 6.** يبين حزم أل TSE المستخلصة من الجذور للأصناف النامية في الأحساء والقطيف (خلاص الأحساء=HK، خلاص القطيف=QK، شيشي الأحساء=HS، شيشي القطيف=QS، رزيز الأحساء=HR، رزيز القطيف=QR).

## المناقشة

يشير Gottlieb (1977) إلى أن أنماط الحزم الأنزيمية تفضل على التحليل الظاهري في تفسير الاختلافات الوراثية لأنها تعطي معلومات أكثر دقة عن التحليل الوراثي (Hamrick and Godt, 1990)، ويذكر Saker, *et al.* (2000) أن أي تغير في الشكل الظاهري للنبات يجعلنا نتوقع تغيراً على المستوى الجزيئي. ويلاحظ مما سبق أن الأصناف اختلفت في تحفيز المورثات الخاصة بالنظم الأنزيمية وذلك باختلاف الصنف وباختلاف الموقع، وبالتالي يتميز كل صنف بظهور حزم أنزيمية بصورة تختلف عن الصنفين الآخرين ولم يظهر توافق تام للصنف الواحد في الموقع والموقع الآخر كما لم يظهر توافقًا تامًا للأصناف الثلاثة في الموقع الواحد. ويستدل من ظهور حزمة أنزيمية في مستخلص أحد الأصناف على وجود المورث الخاص بهذه الحزمة في هذا الصنف. وبحسب تميز صنف ما عن مثيله في الموقع الآخر أو عن الصنفين الآخرين في الموقع بظهور حزمة ما أو غيابها تكون إمكانية استخدام هذه الحزمة كواسم وراثي للتمييز بين الأصناف. ويلاحظ من نتائج هذه الدراسة أن مستخلصات الوريقات والجذور أظهرت تعددًا شكليًا للنظم الأنزيمية في الصنف الواحد من خلال نموه في الموقعين وقد تراوحت نسبة التعدد الشكلي ما بين 9.1 % لـ EST في وريقات صنف رزيز و 25 % لـ SOD في وريقات صنف شيشي. وقد يدل التعدد الشكلي للنظم الأنزيمية على وجود اختلاف في التركيب الوراثي بين الأصناف ذلك أن الإنزيمات هي انعكاس لفعل الجينات (الجبوري، 1988). وبالتالي فهي منتج مباشر للفعل الجيني. وقد بينت دراسة أخرى تناولت تحليل البصمة الوراثية في الأصناف الثلاثة ذاتها وجود اختلافات وراثية بين أفراد من الصنف الواحد النامي في موقعين مختلفين (العيسى، 2006)، كما قد يرجع الاختلاف سواء في أعداد أو أنواع أو نشاط النظم الإنزيمية إلى تأثير البيئة على النشاط الجيني. ومن هذا التنوع في النظم الإنزيمية بفعل العوامل البيئية ما أشار إليه Salem, *et al.* (1999) حين بلغت نسبة التعدد الشكلي 83%، وذلك في دراسة تناولت أربعة نظم إنزيمية في 29 صنف مختلف من أصناف نخيل التمر، حيث أشار إلى أن المستويات العالية من التنوع الوراثي في أصناف نخيل التمر إنما تعكس خواصها التاريخية والبيئية. ومن ذلك الاختلاف في خدمة النبات كالتسميد ونحوه حيث من المعروف أن للتغذية المعدنية دور في سلوكية النبات وفي نشاطه الوراثي (Mitton, 1998، Silvertown, 1998، Wareing, and Philips, 1985، Salisbury and Ross, 1978، Huffaker and Peterson, 1974، Meyer and Anderson, 1965، الصالح، 1998).

لوحظ أن حزم أل GOT ظهرت منخفضة بصفة عامة في محتواها من الإنزيم. وكان قد لوحظ ظهور حزم في عينات أحد الأصناف لكلا الموقعين الأحساء والقطيف دون أن تظهر هذه الحزم في عينات الأصناف الأخرى، مما قد يوحي بأنها مناسبة للاستخدام في التمييز بين الأصناف لولا أن هذه الحزم ظهرت خفيفة في محتواها من نشاط الإنزيم. كما لوحظ ظهور حزمة ما في عينة أحد الأصناف النامية في موقع وغيابها من عينة ذات الصنف في الموقع الآخر، مما قد يشير إلى تداخل العامل البيئي مع العامل الوراثي، مما يلزم أخذ ذلك في الاعتبار عند استخدامه للتمييز بين الأصناف. وتتفق هذه الدراسة في الجملة مع ما توصل إليه

باحثون آخرون (Majourhat, 1999 .Bendiab *et al.* 1998، Al-Helal, 1992,1988، Salman, *et al.* 1988، Torres and Tisserat, 1980 الجبوري، 1988) في إمكانية استخدام أل GOT كأحد المفاتيح الإنزيمية (Key Enzymes) للتمييز بين أصناف النخيل، كما تتفق مع ما توصل إليه Torres and Tisserat (1980) في إمكانية استخدام إنزيمات ال GDH كأحد المفاتيح الإنزيمية (Key Enzymes) للتمييز بين أصناف النخيل لولا انخفاض نشاط هذا الأنزيم في معظم عينات هذه الدراسة. والاختلاف بين الأصناف في النشاط الأنزيمي لبعض الحزم، كما يشير Al-Helal (1992) يجعل من غير الممكن استخدام هذه الحزم كمفاتيح إنزيمية في حين يشير Ladizinsky and Hymowitz (1979) إلى أن التغير في كثافة الحزم التي تظهر على الجل هي الصفة التي تستخدم غالبًا في إظهار الاختلافات بين الأنواع.

## المراجع باللغة العربية

**إبراهيم، عاطف محمد ؛ وخليف، محمد نظيف حجاج** (1998) نخلة التمر زراعتها، رعايتها، وإنتاجها في الوطن العربي. منشأة المعارف، الإسكندرية، مصر.

**البكر، عبد الجبار** (1972) نخلة التمر ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعتها وتجارتها. مطبعة العاني، بغداد، العراق.

**الجبوري، عبد الجاسم محيسن جاسم** (1988) التحليل الأنزيمي لحبوب لقاح أ فحل نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L . مجلة نخلة التمر 6 (2): 341 – 358.

**خليفة، طاهر؛ جوانة، محمد زيني ؛ السالم، محمد إبراهيم؛ و الدريفيس، عبد العزيز** (1985) مناطق انتشار أصناف النخيل بالمملكة العربية السعودية. منظمة الأغذية والزراعة في الأمم المتحدة و وزارة الزراعة والمياه، الرياض، المملكة العربية السعودية.

**سقا، عبد الحفيظ محمد سعيد** (1998) الجغرافيا الطبيعية للمملكة العربية السعودية. دار كنوز العلم للنشر والتوزيع، جدة، المملكة العربية السعودية.

**الصالح، عبد العزيز عبد الرحمن** (1998) علم الخلية. دار الخريجي للنشر والتوزيع، الرياض، المملكة العربية السعودية.

**العيسى، عادل محمد** (2006) مقارنة فسيولوجية- بيئية بين ثلاثة أصناف من نخيل التمر في الأحساء والقطيف بالمملكة العربية السعودية. رسالة دكتوراه غير منشورة، جامعة الملك سعود، الرياض.

**مصلحة الأرصاد وحماية البيئة** (2003) التقارير اليومية، الدمام، المملكة العربية السعودية.

## المراجع باللغة الإنجليزية

**Al-Helal, AA** (1988) Amylase Isoenzymes and Protein of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Fruit, *Bot. Bull. Academia Sinica.* **29**: 239-244 .

**Al-Helal, AA** (1992) Electrophoretic Analysis of Three Selected Isoenzymes of Date Palm Pollen Grains , *Bot. Bull. Academia Sinica.* **33**: 241-246 .

**Al-Helal, AA** (1985) The use of Isoenzyme in the Study of Germination, Development and Breeding of Legumes, unpublished Ph.D. Thesis, University of Durham, Durham, UK.

**Allona, I, Saiz-Omenaca, JA, Casado, R,** and **Aragoncillo, C** (1996) Megagametophyte Salt-soluble Proteins as Genetic Markers in *Pinus pinaster Ait, Silvae Genetics* **45** (1): 21-24 .

**Angela, RP,** and **Taranto G** (2006) Assessment of the Genetic Variation in Italian Lentil Populations by Electrophoresis (SDS-PAGE) of Seed Storage Proteins, *PGR Newsletter FAO-IPGRI* **141**: 33-38.

**Asif, MI, Al-Tahir, O,** and **Al-Kahtani, MS** (1982) Inter-Regional and Inter-Cultivar Variations in Dates Grown in The Kingdom of Saudi Arabia, *Proc. of The First Symp. on The Date Palm, KFU.*, Al-Hassa **1**: 234 – 248 .

**Bendiab, K, Baaziz, M,** and **Majourhat, K** (1998) Preliminary Date Palm Cultivar Composition of Moroccan Palm Groves as Revealed by Leaf Isoenzyme Phenotypes, *Biochemical Systematics and Ecology* **26** (1): 71 - 82 .

**Davis, BJ** (1964) Disc Electrophoresis. II. Method and Application to Human Serum Proteins . *Ann. N Y Acad. Sci.* **121**: 404–427.

**Figliuolo, G,** and **Spagnoletti Zeuli, PL** (2006) A Nested Analysis to Detect Relationships Between Genetic Markers and Germplasm Classes of Durum Wheat, *PGR Newsletter FAO-IPGRI* **124**: 44-50 .

**Gottlieb, LD** (1977) Electrophoresis Evidence and Plant Systematic. *Ann. MO. Bot. Gard.* **46**:161-180 .

**Hamrick, JL,** and **Godt, RW** (1990) Allozyme Diversity in Plant Species in Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resaurces. *In:* **Brown, AHD, Clegg, MT, Kahler, AL,** and **Weir, BS, (eds)** *Sinuer Associates, Sunderland Mass*, pp 43-63 .

**Huffaker, RC,** and **Peterson, LW** (1974) Protein Turnover in Plants and Possible Means of its

Chromosomal Analysis of Tissue Culture Derived Date Palms, *The Date Palm Journal* **6**(2):355-470.

**Sergio, L, Di Venere, D, Cardinali, A,** and **Bianco, VV** (2005) Characterization of Artichoke Open Pollinated and Hybrid Cultivars by Protein Electrophoresis, *In:* **Bianco, VV, Calabrese, N,** and **Rubatztzky, V** (eds), *ISHS Acta Horticulturae ISHS 681*, IV International Congress on Artichoke, pp 381-390. Available at: http//www.actahort.org/books/681_53.htm

**Sharma, KD, Singh, BM, Sharma, TR,** and **Meenu, KGS** (2006) Molecular Analysis of Variability in *Podophyllum hexandrum* Royle-an Endangered Medicinal Herb of Northwestern Himalaya, *PGR Newsletter FAO-IPGRI* **124**: 57-61 .

**Sie, RS, Goran NJAK, Montagnon, C, Akaffou, DS,** and **Cilas, C** (2006) Assessing Genetic Diversity in a Germplasm Collection of Kola Trees (Cola nitida (Vent.) Schott and Indl.) Using Enzymatic Markers, *PGR Newsletter FAO-IPGRI* **143**: 59-64 .

**Silvertown, J** (1998) Plant Phenotypic Plasticity and Non-Cognitive Behaviour, *Trends in Ecology and Evolution* **13**:255-256.

**Torres, AM,** and **Tisserat, B** (1980) Leaf Isozymes as Genetic Markers in Date Palms , *Amer. J. Bot.* **67**(2): 162-167.

**Zecevic, B, Stevanovic, D, Mladenovic-Drinic, Konstantinov, K,** and **Jakovljevic, T** (1997) Seed Proteins as Genetic Markers in the Study of Phylogenetic Relations in Pepper, *In:* **Paroussi, D, Voyiatzis, EP (eds)** *ISHS Acta Horticulturae 579, II Balkan Symp. on Vegetables and Potatoes*. Pp 113-116. Available at: http://www.actahort.org/books/579/579_15.htm

**Wareing, PF,** and **Philips, IDG** (1985) *Growth and Differentiation in Plants*, Pergamon Press, New York, USA.

Ref. No. (2421
Rec. 03/11/2007
In-revised form: 24/11/2008

Regulation, *Ann. Plant Physiol.* **25**: 363- 392.

**Kanellis, AK,** and **Kalaitzis, P** (1992) Cellulase Occurs in Multiple Active Forms in Ripe Avocado Fruit Mesocarp , *Plant Physiol.* **98**: 530-534 .

**Huffaker, RC,** and **Peterson, LW** (1974) Protein Turnover in Plants and Possible Means of its Regulation , *Ann. Rev. Plant Physiology* **25**: 363-392 .

**Lachenaud, Ph, Sounigo, O,** and **Oliver, G** (2006) Genetic Structure of Guianan Wild Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Described Using Isozyme Electrophoresis *PGR Newsletter FAO-IPGRI* **139**: 24-30 .

**Ladizinsky, G,** and **Hymowitz, T** (1979) Seed protein Electrophoresis in Taxonomic and Evolutionary Studies , *Theor. Appl. Genet* **54**: 145-151 .

**Menzano, AR, Nodals, AAR, Roman, MI, Mayor, GZF,** and **Alfonso, LC** (2006) Morphological and Isoenzyme Variability of Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) Germplasm in Cuba , *PGR Newsletter FAO-IPGRI* **126** : 31-40 .

**Meyer, BM,** and **Anderson, DB** (1965) *Plant Physiology*, D. Van Nostrand Company, Inc., Princeton, New York, USA.

**Mitton, JB, Grant, MC,** and **Yoshino, AM** (1998) Variation in Allozymes and Stomatal Size in Pinyon (Pinus edulis, Pinaceae), Associated with Soil Moisture , *American J. of Botany* **85**(9): 1262-1265.

**Saker, MM, Becheet, SA, Taha, HS,** and **Fahmy, AS** (2000) Detection of Somaclonal Variations in Tissue Culture-Derived Date Palm plants Using Isoenzyme Analysis & RAPD Fingerprints, *Biologia Plantarum* **43**(3):347-351.

**Salem, OA, Sekka, H, Trifi, M, Rhouma, A,** and **Marrakchi, M** (1999) Genetic Diversity of Tunisian Date-Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Detected by Isoenzymes Markers, *In:* **Center for Environmental Studies (ed.)** *The International Conference on Date Palm*, Assiut Univ. Center for Environmental Studies, pp87-95.

**Salisbury, FB,** and **Ross, CW** (1978) *Plant Physiology*, 2nd. ed., Wadsworth Publishing Company Inc., Belmont, California, USA.

**Salman, RM, Al-Jiboury, AAM, Al-Quadhy, WK,** and **Omar, MS** (1988) Isozyme and