التقييم المورفولوجي، الكيموحيوي والجزيئي لأربعة تراكيب وراثية لجنس البندانس

بحث مقدم لنيل درجة دكتوارة فلسفة في علوم زراعة المناطق الجافة

(علوم البساتين)

إعداد

سليمان بن تركي بن صلاح المطيري

اشراف

د. أحمد عبد الله باخشوين

أ.د. أحمد إبراهيم القبيعي

قسم زراعة المناطق الجافة

كلية الارصاد والبيئة وزراعة المناطق الجافة

جامعة الملك عبد العزيز

جدة ـ المملكة العربية السعودية

جماد الاخر ١٤٣٨هـ (مارس ٢٠١٧م)

المستخلص بالعربي

تهتم هذه الدراسة بالتوصيف المورفولوجي، الفسيولوجي والجزيئي لأربعة تراكيب وراثية لجنس البندانس (الكادي) وهي *Pandanus tectorius var* 'Utilis و *Pandanus tectorius var* 'Variegata' و *Pandanus dubius* تم الحصول عليها من المشاتل المحلية بجدة ، المملكة العربية السعودية وأما *Pandanus odoratissimus* التي تنمو بشكل طبيعي في ثلاث مناطق مختلفة من المملكة العربية السعودية وهي وادي حلي – قرية الصلب - , و العارضة , و العيدابي . وأجريت التجارب خلال الفترة من ٢٠١٥-٢٠١٦ في مختبر زراعة الأنسجة النباتية ومعمل التكنولوجيا الحيوية النباتية، قسم زراعة المناطق الجافة، كلية الأرصاد والبيئة وزراعة المناطق الجافة، جامعة الملك عبدالعزيز. أجريت الخصائص المورفولوجية والتشريحية باستخدام ثلاثة أنواع من الأوراق ، الأوراق القديمة والمتوسطة والجديدة من ١٥ شتلة *Pandanus* من كل نوع. وتم إجراء التوصيف الجزيئي باستخدام عينات من الحمض النووي المعزولة من أوراق جديدة من ٥ شتلات من كل نوع. واستخدمت تقنية تفاعل البلمرة للحمض النووي متعدد الأشكال بإستخدام ٦٠ بادئة قليل النوكليوتيد عشوائية للتمييز بين أنواع نخيل الباندانوس. وقد وضعت التجارب في تصميم عشوائي باستخدام ٤ مكررات. وأظهرت نتائج التوصيف الشكلي ان نوع *Pandanus tectorius var Utilis* انتجت اوراق طويلة مقارنة بالأنواع الأخرى وسجلت الأوراق متوسطة العمر (الأوراق الموجودة في الطبقات الوسطى من تاج النبات) أعلى طول. وقد لوحظ أعلى اتساع لأوراق لنوع *Pandanus tectoruis var Variegata* حيث كانت الأوراق الجديدة الصغيرة ومتوسطة العمر الأوسع مقارنة بالأنواع الأخرى. إضافة إلى ذلك، أظهرت الأوراق المتوسطة لهذا النوع سماكة أعلى تليها الأوراق القديمة. أيضاً، وجد أن أوزان الأوراق الطازجة والجافة للأوراق متوسطة العمر كانت الأعلى مقارنة بالأنواع الأخرى. وقد حققت أوراق الأنواع المحلية *Pandanus Odoratissims* أعلى محتوى من الكلوروفيل، حيث حققت الأوراق متوسطة العمر أعلى محتوى من الكلوروفيل مقارنة بالأوراق القديمة والصغيرة حديثة النمو. وكان أعلى محتوى للكلوروفيل ب في الأوراق متوسطة العمر للنوع *Pandanus Odoratissims*، تليها الأوراق متوسطة العمر للنوع *Pandanus tectoruis var Variegata*. أيضاً، وجد أن الأوراق الصغيرة حديثة النمو تحتوي على أعلى نسبة من النيتروجين والبوتاسيوم، وأوراق النوع*Pandanus tectoruis var Variegata* تحتوي على أعلى نسبة من الفسفور. وفيما يتعلق بالتوصيف التشريحي لأنواع Pandanus ، أظهرت النتائج أن أعلى سماكة لبشرة

الأوراق كانت للأوراق المتوسطة من نوع *Pandanus tectoruis var Variegata* والأوراق المتوسطة والقديمة من نوع *Pandanus tectorius var Utilis*. وأعلى عدد من الثغور وجدت على سطح الأوراق الصغيرة الحديثة من النوع *Pandanus Odoratissims*، في حين كان عدد الثغور الأقل الأوراق القديمة من النوع *Pandanus tectoruis var Variegata*. وتضمنت الأوراق القديمة من النوع *Pandanus Odoratissims* أعلى طول نسيجي والأوراق المتوسطة من النوع *Pandanus tectorius var Utilis* تحتوي على أقل طول نسيجي. وكان أقصى سمك نسيجي في الأوراق القديمة من *Pandanus dubius*. وفيما يتعلق بالتوصيف الجزيئي لأنواع Pandanus باستخدام تقنية تفاعل البلمرة للحمض النووي متعدد الأشكال , كشفت النتائج عن وجود تباين بين ١٩ أنماط متعددة الأشكال لأنواع Pandanus المراد دراستها. وساهم تحديد موقع التعدد الشكلي (OPC-01) في تعريف الجينوم لأنواع Pandanus التي تم دراستها ويتضمن ٤٨٠ زوج من القواعد النكليوتيدية. وقد اعتبر الجين (OPK-10-250) كعلامة تعريف لأنواع Pandanus التي تم دراستها. حيث كان الجين (OPT-4-120) مخصص للنوع *Pandanus dubius* والجين (OPF-02-320) مخصص للنوع *Pandanus odoratissimus* و الجين (OPC-01-180) ذو علاقة وطيدة بالحمض النووي للأنواع *Pandanus odoratissimus* و *Pandanus tectorius var 'Utilis* والجين (OPF-02-600) مخصص للأنواع *Pandanus odoratissimus* و *Pandanus dubius* والجين (OPE-08-430) مخصص للأنواع *Pandanus dubius* و *Pandanus tectorius var 'Utilis*. تم العثور على أوجه تشابه عالية بين الأنواع *Pandanus dubius*و *Pandanus tectorius var 'Variegata'* بمقدار (٠,٣٤٦) و *Pandanus tectorius var 'Utilis* و *Pandanus tectorius var 'Variegata'* بمقدار (٠,٣٤٦).

Morphological, Biochemical and Molecular Evaluation for four genotypes of the genus *Pandanus*

By

Soliman Turki S Almutire

A thesis submitted for the requirements of the Degree of PhD of Science in Arid Land Agriculture

(Horticulture sciences)

Supervised by
Dr. Ahmed Abdullah Bakhashwain
Prof. Dr. Ahmed Ibrahim AlQubiee

Arid Land Agriculture Department
Faculty of Meteorology, Environment and
Arid land Agriculture Department
King Abdulaziz University
Jeddah - Saudi Arabia
1438H- 2017G

Abstract

The present study considered the morphological, anatomical and molecular characterizations of four *Pandanus species*, *Pandanus tectorius var 'Utilis', Pandanus tectorius var 'Variegata'* and *Pandanus dubius* were obtained from the local market in Jeddah, Saudi Arabia), and *Pandanus odoratissimus* naturally grown from three different regions of Saudi Arabia. The experiments were conducted during 2015-2016 in the Lab of Plant Tissue Culture and the Lab of Plant Biotechnology, Department of Arid Land Agriculture, Faculty of Meteorology, Environment and Arid Land Agriculture, King Abdulaziz University. Morphological and anatomical characterizations were conducted using three leaves types, old, medium and new leaves of 15 *pandanus* seedlings of each species. Molecular chrachtarization was conducted using DNA samples isolated from new leaves of 5 seedlings of each species. RAPD-Based PCR technique and 60 random oligonucleotide primers were used to differentiate between Pandanus species. The experiments were laid out in Completely Randomized Design (CRD) using 4 replicates. The results of morphological characterizations revealed that *Pandanus tectoruis var Utilis* produced leaves with the highest length and ley number of medium age (leaves found in the meddile layers of plant crown) registered the highest length. Highest leaves breadth was observed for *Pandanus tectoruis var Variegata* and medium age leaves and new young leaves were the widest leaves. Medium leaves of *Pandanus tectoruis var Variegata* revealed highest thickness followed by old leaves of *Pandanus tectoruis var Variegata*. Highest leaves fresh and dry weights were found for medium age leaves. Leaves of the local *Pandanus species* (*Pandanus Odoratissimus*) attained highest Ch a contents, and medium age leaves attained highest Ch a contents as compared to old and new young leaves. For Ch b highest contents were found in leaves of medium age of *Pandanus Odoratissimus*, followed by medium leaves of *Pandanus tectoruis var Variegata*. The new young leaves revealed highest contents of N(%) and

(K%), and leaves of *Pandanus tectoruis var Variegata* contained highest percentage of P. Regarding anatomical characterization of *Pandanus species*, the results revealed that medium leaves of *Pandanus tectoruis var Variegata* and medium and old leaves of *Pandanus tectoruis var Utilis* comprised the highest thickness of epidermis. Highest number of stomata found on surface of new young leaves of *Pandanus Odoratissimus*, while old leaves of *Pandanus tectoruis var Variegata* comprised least number of stomata. Old leaves of *Pandanus Odoratissimus* comprised highest length of spinney and medium leaves of *Pandanus tectoruis var Utilis* contained least spinney length. Maximum thickness of spinney found on old leaves of *Pandanus dubius*. Regarding molecular identification of *Pandanus species* using RAPD-Based PCR markers, the results revealed that a total of 19 polymorphic patterns were successful differentiated the four tested *panadanus species*. The RAPD specific locus OPC-01 identified the genomes of *Pandanus odoratissimus, Pandanus dubius* and *Pandanus tectorius* var '*Utilis* at a site of 480 bp. OPK-10-250 was considered as marker specific to *Pandanus dubius, Pandanus tectorius var 'Variegata'* and *Pandanus tectorius var 'Utilis* genomes. OPT-04-120 specific for *Pandanus dubius,* OPF-02-320 for *Pandanus odoratissimus,* OPC-01-180 was tightly linked to DNA samples of *Pandanus odoratissimus* and *Pandanus tectorius var 'Utilis*, OPF-02-600 was specific for *Pandanus odoratissimus* and *Pandanus dubius,* and OPE-08-430 was specific for *Pandanus dubius* and *Pandanus tectorius var 'Utilis*. High similarities were found between *Pandanus dubius* and *Pandanus tectorius var 'Variegata'* (0.346) and *Pandanus tectorius var 'Variegata'* and *Pandanus tectorius var 'Utilis* (0.346).