إنتـــاج نـبـاتـي

مجلة جامعة الملك سعود، م٢٥، العلوم الزراعية (٢)، ص ص ٨٩-١٠٢، الرياض (٢٠١٣م/١٤٣٤هـ)

الإكثار الدقيق لنخيل التمر .*Phoenix dactylifera* L صنف أم الدهن بطريقتي تكوين الأجنة الخضرية وإنتاج البراعم العرضية من أنسجة الكالس المستحث من الأجزاء الزهرية

أحمد ماضي، وحيد المياحي

مركز أبحاث النخيل – جامعة البصرة

البصرة- العراق

(قدم للنشر في ١/ ١/ ١٤٣٢هـ؛ وقبل للنشر في ٥/ ٤/ ١٤٣٣هـ)

الكلمات المفتاحية: النورة الزهرية، الكالس، الأجنة الخضرية، البراعم العرضية، نخيل التمر.

ملخص البحث. أظهرت الدراسة أن الشماريخ المستأصلة من الأغاريض الزهرية (غير الناضجة) من أشجار نخيل التمر صنف أم الدهن والمزروعة على وسط MS المزود بـ ١٠٠ ملجم/ لتر من 2,4-D مع 3 ملجم / لترiP2 حفز نشوء الكالس بنسبة ٦٢,٥٪ للأنسجة الزهرية المولدة للكالس الأولي، والذي كان مصدراً جيداً لتكوين الأجنة الخضرية وإنتاج النبيتات منها مقارنة بمعاملات الدراسة الأخرى وان نقل الكالس إلى الوسط الغذائي المكون من التوليفة (٢,٥ ملجم/ لتر 2iP و ١ ملجم / لتر NAA) حفز نشوء البراعم العرضية وتضاعفها معنويا، و بلغت النسبة المئوية لأنسجة الكالس المولدة للبراعم العرضية (٧٥٪) وعدد البراعم فيها (١١ برعماً/ أنبوب مزروع بالكالس). كما أوضحت الدراسة أن أفضل وسط لنمو وتطور النموات الخضرية حصل مع زيادة تركيز ألـ NAA إلى ٢ ملجم/ لتر ، وخفض تركيز 2iP إلى ١ ملجم/ لتر ، كما شجع هذا الوسط تطور واستطالة النموات الخضرية وتحفيز تكوين الجذور عليها مقارنة بمعاملات الدراسة الأخرى .

المقدمة

تُعد نخلة التمر. *Phoenix dactylifera* L من أقدم الأشجار التي عرفها الإنسان، وهي من أهم أشجار الفاكهة في الشرق الأوسط (Letuze *et al.*,1998) . تنتمي نخلة التمر إلى العائلة Arecaceae ، وتتميز بتنوع وجودة أصنافها التي تصل إلى أكثر من ٦٠٠ صنف في العراق (البكر ، ١٩٧٢) . إلا أن أعداد النخيل المزروعة في العراق أخذت بالتناقص نتيجة الإهمال والدمار الذي سببته

الحروب التي مرَّ بها البلد، والتي أدت إلى تخريب آلاف الهكتارات من بساتين النخيل، وعليه فقد اقتضت الضرورة إيجاد طريقة إكثار خضرية سريعة من أجل التوسع في زراعة نخيل التمر لتلافي هذا التدهور والاستفادة من التطبيقات العملية لزراعة الخلايا والأنسجة النباتية ، تستخدم زراعة الأنسجة في الإكثار الواسع للنخيل لما توفره هذه التقانة من مزايا وإمكانات واعدة (Ahloowalia and Prakash ,2004).

وإن انتخاب الجزء النباتي الذي سوف يكون مصدراً للإكثار الدقيق يجب أن يمتاز بقابليته العالية للتمايز الشكلي وأن تكون أنسجته ذات طبيعة خضرية لضمان تطابق النباتات الناتجة مع أمهاتها فضلاً عن توافره وسهولة تعقيمه. إن العديد من أصناف النخيل تمتاز بقلة إنتاجها للفسائل وارتفاع أسعارها علاوة على أن الكثير من الأصناف قد تجاوزت مرحلة إنتاج الفسائل، وخاصة النادرة منها والمهددة بالانقراض، ويمكن الحصول على برعم طرفي واحد فقط وعدد قليل من البراعم الجانبية من فسيلة واحدة، إلا أن استئصال هذه البراعم يعني التضحية بفسيلة كاملة . وكحلٍّ لهذه المشكلات بدأ التفكير في استغلال الشماريخ الزهرية Spikes الموجودة ضمن النورة الزهرية Inflorescence لنخيل التمر لقابليتها على إعطاء مظاهر نمو متعددة واستغلال ذلك في استخدامها كمصدر آخر أو بديل للأجزاء النباتية المزروعة والمستأصلة من الفسيلة، إذ تمتاز هذه الطريقة بكونها لا تسبب أي ضرر للشجرة الأم فضلاً عن وفرتها . وتهدف هذه الدراسة إلى تطوير طريقة إكثار نخيل التمر من الأجزاء الزهرية.

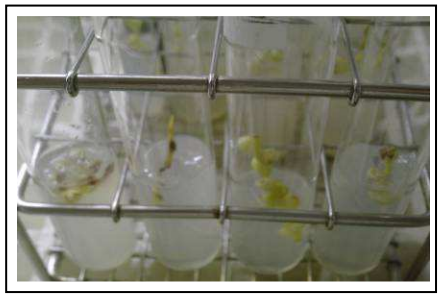
المواد وطرائق العمل

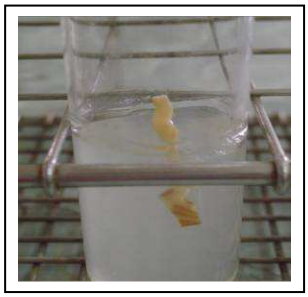
استؤصلت الطلعات الأنثوية غير الناضجة من نخيل التمر صنف" أم الدهن" بأعمار ١٧ و٢٥ و٣٠ يوماً (الشكل رقم ١أ) ، حيث يعد صنف أم الدهن من الأصناف النادرة متأخرة النضج التي تزرع في منطقة البصرة جنوب العراق وتتميز ثماره بلونها الأصفر المشوب بشقرة وبطعم حلو المذاق كما تتميز بليونة لحمها (البكر ، ١٩٧٢) . بهدف الحصول على زريعات خالية من التلوث أجريت عملية التعقيم، والتي بدأت بمسح الغلاف الزهري بالكحول الإثيلي بتركيز ٧٠٪. بعدها أزيل غلاف الطلعة واستخرجت الشماريخ الزهرية Spikes واستؤصلت البادئات الزهرية منها (الشكل رقم ١ ب) . وضعت الأجزاء المستأصلة في محلول مضاد للأكسدة " Antioxidant Solution" لمدة دقيقتين والذي يتكون من ١٥٠ مغ / لتر حامض الستريك و١٠٠ مغ / لتر حامض الأسكوربك لإيقاف عملية الأكسدة ومنع اسمرار الأنسجة المراد زراعتها وتراكم المواد الفينولية على أسطحها ، وتمت متابعة عملية التعقيم السطحي للأجزاء النباتية (البادئات الزهرية) بوضعها في محلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز ١٪ حجماً : حجم، وأضيف إليه قطرة واحدة من المادة الناشرة " Tween-20" لكل ١٠٠مل، ولمدة ٣ دقائق مع التحريك المستمر.

بعدها استخرجت الأجزاء النباتية من محلول التعقيم وغُسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات، وتمت هذه العملية داخل منضدة انسياب الهواء الطبقي " Laminar Air Flow Cabinet " المعقمة مسبقا باستعمال كحول الإيثانول والفورمالدهيد المخفف بالماء المقطر المعقم.

زرعت البراعم الزهرية في أنابيب زجاجية معقمة ، وسدت فوهتها بالقطن الطبي ، وغلفت أعناقها بأوراق الألمنيوم (الشكل رقم١ ج)، واحتوت أنابيب الزراعة على الوسط الغذائي المكون من أملاح (MS) والموصوفة من قبل (Murashige and Skoog , 1962) والمكونة من العناصر الكبرى والصغرى والحديد المخلبي مع المواد التالية ملجم/ لتر: حامض النيكوتين (٠,٣) ، الثيامين (٠,٠٥) البيوتين (٠,٠٥) ، الجلايسين (٢) ،الجلوتامين (١٠٠) ، الإينوسيتول (١٠٠) ، السكروز (٣٠,٠٠٠) ، بولي فينايل بايرودين (٢٠٠٠) ، أجار أجار (٥٠٠٠) ، كما زود الوسط بمنظمات النمو، وفقاً لمعاملات الدراسة ومرحلة النمو وكانت عملية إعادة زراعة الأجزاء الزهرية تجري شهرياً إلى أوساط جديدة، وتدون الملاحظات عند كل مرة تجرى فيها عملية إعادة زراعة.

الشكل رقم (١أ) الطلعة الأنثوية المستأصلة من نخيل التمر" ام الدهن". الشكل رقم (١ب). الشماريخ الزهرية المستأصلة من طلعة النخيل" ام الدهن" .





الشكل رقم (١ج). الشماريخ الزهرية المأخوذة بأطوال ١ سم والمزروعة داخل الوسط الغذائيMS المعد لاستحثاث الكالس .

١- اختبار عدة تراكيز من أوكسين 2-4,D وعمر النورة وتأثيرها على تكوين الكالس الأولي

زُرعت الأجزاء الزهرية في وسط MS المزود بعدة تراكيز من الأوكسين 2,4-D وهذه التراكيز هي (٠,٠ و٥٠ و١٠٠ ملجم / لتر) بوجود 3 ملجم / لتر من 2iP ، كما اختبرت عدة مراحل تطورية للنورة الزهرية في الاستجابة على استحثاث الكالس ، وهي على التوالي (١٧ و٢٥ و٣٠) يوماً . وبعد الزراعة في الأوساط المذكورة حُضنت

الزروعات على درجة حرارة (27 ± 1)° م، وتحت الظلام المستمر، وكانت إعادة الزراعة تجري شهرياً واستخدم ستة عشر مكرراً لكل معاملة. تم تقييم الاستجابة من خلال إجراء متابعة الزروعات لحساب النسبة المئوية للأجزاء الزهرية المكونة للكالس. وبعد الحصول على الكالس الأولي نُقل جزء منه إلى الوسط الخاص بتحفيز الكالس الجنيني وتكوين الأجنة الخضرية، بينما نقل الجزء المتبقي من الكالس الأولي إلى وسط تحفيز البراعم العرضية.

٢- اختبار NAA و2iP وتأثيرها على تحفيز البراعم العرضية من أنسجة الكالس الأولي

أجريت دراسة تراكيز مختلفة من NAA (٠,٠ و٠,٥ و ١,٠ و٢,٠ ملجم / لتر) مع استخدام عدة تراكيز من 2iP (٠,٠ و١,٠ و١,٥ و٢,٥ ملجم / لتر) في تجربة عامليه بعاملين، لبحث تأثيرها في نشوء وتضاعف البراعم العرضية، وتكوين الأفرع الخضرية من أنسجة الكالس الأولي. زُرع١٠٠ملغم من الكالس لكل مكرر، وبواقع ١٢ مكرراً لكل معاملة، وحضنت الزروعات بدرجة حرارة٢٧ ± ١° م وشدة إضاءة ١٠٠٠ لوكس لمدة ١٦ساعة يومياً، أخذت النتائج بعد مرور ١٠ أسابيع، ويتكون وسط الزراعة من أملاح (MS) والمواد المذكورة سابقا.

٣- مرحلتا الاستطالة والتجذير

متابعةً للإكثار بطريقة تكوين البراعم العرضية أظهرت التجارب ضرورة فصل البراعم والنموات الخضرية ونقلها إلى وسط آخر بغية تطور البراعم التي بقيت مغلقة ولم تتفتح بشكل كامل على الرغم من إعادة زراعتها على وسط جديد له نفس مكونات الوسط الذي نشأت فيه، وكذلك تحفيز استطالة النموات المزروعة فيه وتكوين الجذور عليها؛ لذا اختبرت عدة تراكيز من الأوكسينين NAA و IBA كلٌّ على حده بوجود ١ ملجم/لتر من2iP كمعاملة ثابتة وكانت التراكيز المستخدمة بالملجم/ لتر كالتالي: (١) معاملة المقارنة " الخالية من منظمات النمو" (٢) NAA ٠,١ (٣) NAA ١,٠ (٤) NAA ٢,٠ (٥) IBA ٠,١ (٦) IBA ١,٠ (٤) IBA ٢,٠ ملجرام/لتر.

٤- تصميم التجربة والتحليل الإحصائي

نُفذت تجارب الدراسة كتجارب عامليه وحسب التصميم العشوائي الكامل، وأجريَ اختبار الفرق بين المتوسطات باستخدام أقل فرق معنوي معدل (R.L.S.D) وبمستوى احتمال ٥٪ اعتماداً على المرجع (الراوي وخلف الله، ١٩٨٠م).

النتائج والمناقشة

تأثير 2-4,D وعمر النورة الزهرية في تحفيز الأجزاء الزهرية على تكوين الكالس الأولي.

أظهرت الدراسة قدرة الأجزاء الزهرية على النمو والتطور. وفقا لتوليفات منظمات النمو وتراكيزها المستخدمة. ومن خلال متابعة الزروعات بينت الدراسة حدوث حالات انتفاخ وتضخم للأجزاء الزهرية المزروعة في الأوساط الغذائية مع زيادة تراكيز الأوكسين المستخدمة. إن حدوث مثل هذه الحالات دليل أو إشارة جيدة على النمو والتحفيز على استحثاث الكالس.

وبينت الدراسة التفوق المعنوي للوسط الغذائي المزود ١٠٠ ملجم/ لتر 2,4-D في التحفيز على استحثاث الكالس الذي تكون بعد 10 أسابيع من الزراعة ، وكان الكالس المنتج هشًّا ذا لون أبيض مصفر . كما كان لعمر الأزهار تأثير معنوي في الاستجابة على استحثاث الكالس الجنيني، حيث أظهرت الأجزاء الزهرية المأخوذة بعمر ١٧ يوماً تفوقاً معنوياً مقارنة بالأجزاء الزهرية المأخوذة بعمر٢٥ و٣٠ يوماً، وأظهرت الأخيرة أقل استجابة لاستحثاث الكالس (الجدول رقم ١) .

كما تُظهر النتائج في الجدول نفسه التأثير المشترك للتداخل بين تراكيز 2,4-D وعمر الأجزاء الزهرية في الاستجابة لاستحثاث الكالس ، حيث يتضح التفوق المعنوي للأنسجة الزهرية المأخوذة بعمر ١٧ سم والمزروعة في الوسط المزود بـ ١٠٠ ملجم / لتر 2,4-D في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس، والتي بلغت ٦٢,٥٪ مقارنة بالمعاملات الأخرى، فيما بلغت أقل نسبة للاستجابة عند معاملات التداخل بين التركيز صفراً 2,4-D مع كافة الأجزاء الزهرية المزروعة والمأخوذة بالفترات المختلفة، حيث بلغت نسبة الاستجابة فيها صفراً.

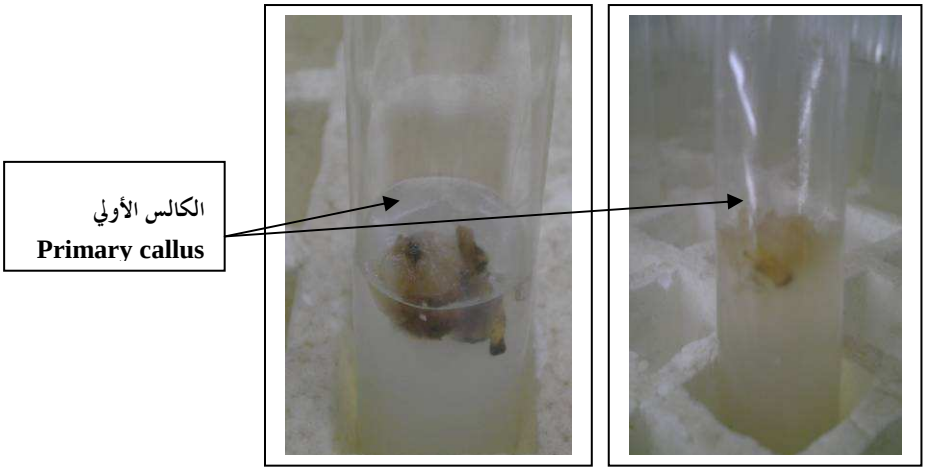
الجدول رقم (١). تأثير تراكيز الأوكسين 2,4-D وعمر الأجزاء الزهرية على النسبة المئوية للأنسجة الزهرية المولدة للكالس الجنيني لنخيل التمر صنف أم الدهن بوجود ٣ ملجم/ لتر 2iP.

تركيز الـ2,4-D (ملجم/ لتر)	النسبة المئوية للأجزاء الزهرية المكونة للكالس (٪)			المعدل
	عمر الأجزاء الزهرية (بالأيام)			
	١٧	٢٥	٣٠	
0.0	*0.0 C±0.0	0.0 C±0.0	0.0 C±0.0	0.0 C
50	43.75 b±5.15	31.25 b±3.18	6.25 c±1.19	27.08 b
100	62.5 a±4.28	37.5b±1.85	12.5c±2.33	37.5 a
المعدل	35.42 a	22.92 b	6.25 c	

* المتوسطات التي يتبعها نفس الحرف لا تختلف عن بعضها معنوياً واختلافها دلالة على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 5٪.
± الخطأ المعياري

تعود أهمية الأوكسين في الوسط الغذائي إلى تحفيز انقسام الخلايا ، حيث تعمل الأوكسينات على زيادة اصطناع الأحماض النووية " RNA"، ويقوم m-RNA بتوفير الطاقة وتنشيط عمل الإنزيمات المتعلقة بالنمو والتي يتسبب عنها طاقة ATP، والتي يتم استغلالها من قبل الأنسجة لغرض الانقسام والنمو (صالح ، ١٩٩١ ؛

المعري ، ١٩٩٥). إن نجاح تكوين الكالس يعتمد على زيادة تراكيز الأوكسين 2,4-D . حيث تسهم التراكيز المضافة إلى الوسط الغذائي في تنظيم فعالية أو وظيفة منطقة المرستيمات وبضمنها تحفيز الكالس سيما وان توالد الكالس يحصل من منطقة "المرستيمات" (Verdell *et al.*,1994). كما تعد المرحلة التطورية للنورة الزهرية أحد أهم العوامل المؤثرة في الاستجابة على نمو الزروعات المأخوذة منها ، وأن السبب وراء تفوق الأجزاء الزهرية المأخوذة بعمر ١٧ يوماً مقارنة بتلك المأخوذة بأعمار ٢٥ و٣٠ يوماً في الاستجابة على استحثاث الكالس الجنيني قد يعود إلى كون هذه الأجزاء ذو طبيعة مرستيمية عالية من حيث انقسامها وقلة محتواها من المواد الفينولية فضلاً عن انخفاض نسبة تلوثها بالأحياء المجهرية وهذا كله ينعكس على نسبة الاستجابة (الشكل رقم٢).



الشكل رقم (٢). استحثاث نسيج الكالس من الأجزاء الزهرية غير الناضجة المأخوذة بعمر ١٧ يوماً والمزروعة في الوسط الغذائي المزود بـ ١٠٠ ملجم / لتر 2,4-D و ٣ ملجم/ لتر من 2iP لصنف أم الدهن بعد 12 أسبوع من الزراعة في الظلام .

استحثاث وتكوين الأجنة الخضرية من الكالس الجنيني وإنباتها

فُصل الكالس الأولي المتكون من الأجزاء الزهرية وأُعيدت زراعته على أوساط غذائية تحتوي على ١٠ ملجم/ لتر 2,4-D تحت شدة إضاءة ١٠٠٠ لوكس ولمدة ١٦ ساعة ضوئية. حيث حفز ذلك نشوء أنسجة عقدية من الكالس الأبيض، وذلك بعد شهرين من الزراعة . وعند نقل الكالس الجنيني المتكون إلى أوساط غذائية تحوي على تراكيز منخفضة من أوكسين الـ NAA (٠,١ – ١,٠) ملجم/ لتر ومزودة بالفحم المنشط شجع تطور هذه العقد إلى أجنة خضرية. وحصل ذلك بعد شهرين من زراعة عقد الكالس الجنيني . تعتبر الأجزاء الزهرية من المصادر المهمة في تكوين وتطور الأجنة الخضرية ، والأوكسين ضروري في استحثاث تكوين الأجنة الجسمية من الأجزاء الزهرية لنخيل التمر.

حيث تعد التراكيز المنخفضة من أوكسين الـ"NAA" محفزة لنمو أكبر عدد من العقد الجنينية مقارنة بالتراكيز العالية منه التي شجعت نمو وانقسام خلايا الكالس الجنيني وإكثارها (Vermandi and Navaro, 1995). وبعد تكون الأجنة (الشكل رقم ٣) ، عُزلت الأجنة التي تتراوح أطوالها بين ١-٢ سم، وزرعت على وسط الإنبات المزود بنصف القوى من أملاح MS مع ٠,٥ ملجم / لتر من IBA، حيث شجع هذا الوسط إنبات الأجنة وتكوين النبيتات (الشكل رقم ٤).

الشكل رقم (٣). الأجنة الخضرية المستحثة من الكالس الجنيني المزروع في الوسط المزود بـ ٠,١ ملجم / لتر NAA .

الشكل رقم (٤). إنبات الأجنة وإنتاج النبيتات في الوسط الحاوي على 0.5 ملجم / لتر IBA والمزود بنصف القوى من أملاح MS.

تأثير منظمات النمو في تحفيز البراعم العرضية وتضاعف الأفرع الخضرية المستحثة من أنسجة الكالس الأولي.

تشير البيانات في الجدولين رقمي (٢ و٣) إلى التفوق المعنوي لـ NAA عند التركيز ١,٠ ملجم / لتر في النسبة المئوية لأنسجة الكالس المولدة للبراعم العرضية (43.5 ٪) وأعدادها المسجلة والبالغ (٦,١٩) برعماً مقارنة بتراكيز الـ NAA الأخرى بما فيها التركيز صفر (الخالية من منظمات النمو) الذي سجل أقل نسبة وعدد للبراعم العرضية المتكونة

والبالغ (١٦,٦٧٪) و(٣,٤٦) برعماً على التوالي . أما عن تأثير 2iP فقد أظهر التركيز 2.5 ملجم/ لتر منه تفوقه في النسبة المئوية لأنسجة الكالس المولدة للبراعم العرضية وأعدادها المسجلة والبالغة (٤١,٦٧٪) و(٦,٣٣) برعما على التوالي ، و لم تظهر فروق معنوية بينه والتركيز١,٥ ملجم / لتر منه إلا أنهما تفوقا معنويا مقارنة بالتركيزين ٠,٠ و ١,٠ ملجم/ لتر من 2iP ، ولم يحفز الوسط الغذائي غير المزود بـ2iP للبراعم العرضية.

كما يتضح من البيانات في الجدولين (٢ و٣) ضرورة استخدام تراكيز عالية نسبياً من السايتوكاينين2iP مقارنة بتراكيز NAA ، وعند عدم إضافة السايتوكاينين إلى الوسط الغذائي لم يحدث استحثاث البراعم وتضاعف للنموات الخضرية عند كافة تراكيز NAA المستخدمة . في حين أدت إضافة 2.5 ملجم / لتر من 2iP إلى الوسط الغذائي المحتوي على ١ ملجم / لتر NAA إلى نشوء البراعم العرضية ، و بلغت النسبة المئوية لأنسجة الكالس المولدة للبراعم العرضية 75٪ وعدد البراعم فيها ١١ برعماً مع وجود فروق معنوية بينها والمعاملات الأخرى. وقد تطلب نشوء البراعم العرضية من أنسجة الكالس الأولي وتضاعفها ١٢ أسبوعاً.

إن تزويد الوسط الغذائي بكل من الأوكسينات والسايتوكاينينات عامل مهم في تحول الأجزاء الزهرية لنخيل التمر إلى الطور الخضري (Drira and Benbadis, 1985) وأن التوازن بين تراكيز الأوكسينات والسايتوكاينينات هي التي تحدد طبيعة نمط التمايز الخلوي ، وتكون الأعضاء خارج الجسم الحي ، حيث لوحظ توسع قطع الكالس وظهور أنسجة خضراء منتظمة النمو كانت منطلقاً لتكوين البراعم العرضية . ويتطلب استحثاث البراعم وتضاعف الأفرع تراكيز عالية نسبياً من السايتوكاينينات مقارنة بتراكيز الأوكسينات ، وأن تحفيز تكوين الأفرع سواء أكان ذلك عبر التكوين المباشر "directly" أم غير مباشرة " indirectly" من أنسجة الكالس يعتمد على التداخل بين الأوكسينات والسايتوكاينينات (Auge, 1984; Gabr and Tisserat 1985; Amin, 2001).

تتم آلية التمايز أنسجة الكلس البراعم العرضية من خلال تحول بعض الخلايا إلى خلايا مرستيمية سريعة الانقسامات والتي تؤدي إلى تكوين ما يطلق عليها بأشباه المرستيمات Merstimeoids التي تتطور فيما بعد إلى مرستيمات لها القدرة على إعطاء الجذور والسيقان (Thorpe,1978) وتتطلب أصناف النخيل المختلفة تحويرات في منظمات النمو المضافة إلى الوسط الغذائي بغية لتحسين استجابتها (Beauchesne,1982). وربما يعود السبب إلى تفوق التوليفة المكونة من (2.5 ملجم/ لتر 2iP مع ١,٠ ملجم / لتر NAA) إلى التوازن الهرموني المطلوب لتحفيز نشوء وتضاعف البراعم وتكوين الأفرع الخضرية من أنسجة الكالس الأولي لنخيل التمر صنف " أم الدهن".

إن عدم تكون البراعم العرضية من أنسجة الكالس المزروعة في أوساط غذائية خالية من منظمات النمو (معاملة المقارنة) أو تلك التي تحتوي على تراكيز مختلفة من NAA لوحده قد يعود إلى أن السايتوكاينينات ومنها الـ 2ip متطلب أساسي ومهم في نشوء البراعم العرضية والأفرع من أنسجة الكالس وأن وجود الأوكسين لوحده يثبط هذه العملية (Pierik, 1999). واتضح من خلال متابعة تضاعف النموات الخضرية داخل في وسط النشوء والتضاعف المزود بتراكيز عالية نسبياً من BA و 2iP مقارنة بتركيز NAA عدم تطور البراعم وقصر النموات الناتجة ، ويتطلب نقلها إلى وسط غذائي آخر يسمح بتطور واستطالة النموات الخضرية المتكونة.

الجدول رقم (٢). تأثير التراكيز المختلفة من NAA و2iP على النسبة المئوية لأنسجة الكالس المولدة للبراعم العرضية لنخيل التمر صنف" أم الدهن " في الأنابيب (معملياً).

تركيز الـــNAA (ملجم / لتر)	النسبة المئوية لأنسجة الكالس المنتجة للبراعم العرضية				المعدل
	تركيز الـــ2iP (ملجم / لتر)				
	0.0	1.0	1.5	2.5	
0.0	0.0g*±0.0	16.67fg±4.81	25.0ef±4.34	25.0ef±4.81	16.67 c
0.5	0.0g±0.0	25.0ef±4.81	33.34 de±4.81	50.0bc±4.34	27.08 b
1.2	0.0g±0.0	41.67cd±8.34	58.34b±4.81	75.0a±4.34	43.75 a
2	0.0g±0.0	25.0ef±4.34	33.34 de±4.34	16.67fg±4.81	18.75 c
معدل	0.00 c	27.08 b	37.50a	41.67a	

الجدول رقم (٣). تأثير التراكيز المختلفة منNAA و2iP في عدد البراعم العرضية لنخيل التمر صنف" أم الدهن " في الأنابيب (معملياً).

تركيز الـــNAA (ملجم / لتر)	عدد البراعم العرضية/ نسيج الكالس				المعدل
	تركيز الـــ2iP (ملجم / لتر)				
	0.0	1.0	1.5	2.5	
0.0	0.0g±0.0	4.5e±0.23	5.67cd±0.23	3.67f ±0.83	3.46 c
0.5	0.0g±0.0	5.34e±0.47	5.75cd±0.31	7.17b ±0.11	4.56 b
1.2	0.0g±0.0	6.20c±0.31	7.57b±0.17	11.0a±0.37	6.19 a
2	0.0g±0.0	4.34e±0.20	5.75cd±0.31	3.5f ±0.61	3.39 c
معدل	0.00c	5.09 b	6.18a	6.33a	

* المتوسطات التي يتبعها نفس الحرف لا تختلف عن بعضها معنوياً، واختلافها دلالة على وجود فروق معنوية بينها عند مستوى احتمالية 5٪ . ± الخطأ المعياري

الشكل رقم (٥). تحفيز نشوء وتضاعف البراعم الخضرية لنخيل التمر صنف أم الدهن من أنسجة الكالس الأولي المزروع في الوسط المزود ٢,٥ ملجم / لتر 2iP و ١,٠ ملجم / لترNAA.

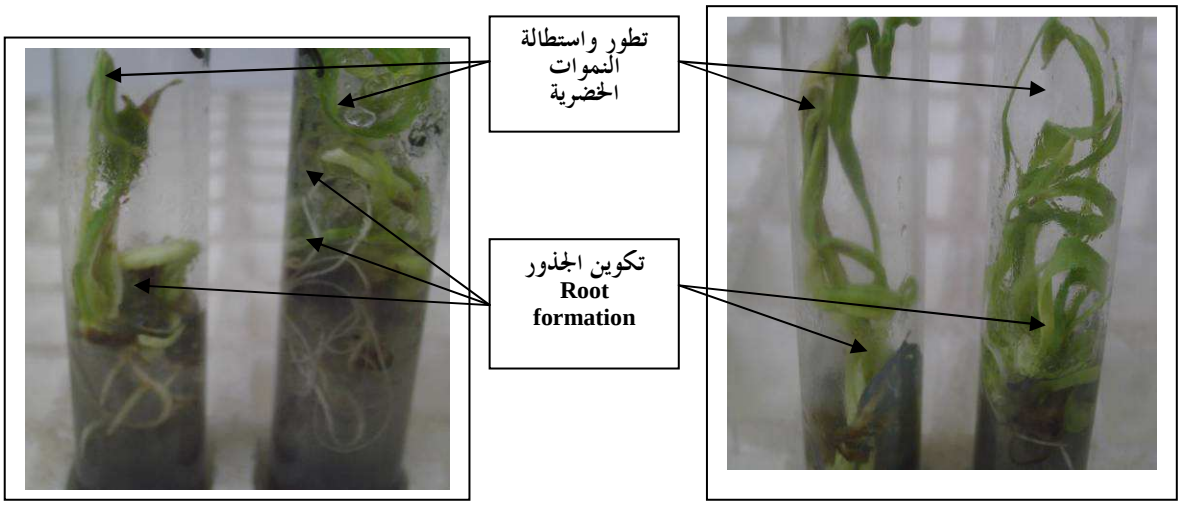
تأثير منظمات النمو على تطور واستطالة النموات الخضرية وتكين الجذور

توضح النتائج في الجدول رقم (٤) تأثير التراكيز المختلفة NAA و IBA بوجود ١ ملجم/ لتر من 2iP في تطور واستطالة النموات الخضرية وتكوين الجذور عليها ، وقد أظهرت الدراسة أن هنالك تبايناً بين الأوساط الغذائية المزودة بـ NAA و IBA في أطوال النموات الخضرية ونسب التجذير وعدد الجذور المتكونة وأطوالها ، و بلغ أعلى معدل معنوي لأطوال النموات الخضرية مقارنة بالمعاملات الأخرى (٧,٧١) سم عند الوسط المزود بـ ٢ ملجم/ لترIBA و بلغ أطوال النموات الخضرية من المعاملات الأخرى (٣,١٧) سم. أما الـNAA فكان أكثر كفاءة في تشجيع تجذير النموات الخضرية وأظهرت النموات المزروعة في الأوساط المزودة بـ NAA تفوقاً معنوياً في النسبة المئوية للتجذير وعدد الجذور المتكونة وأطوالها مقارنة بتلك المزروعة في الأوساط المزودة بـ IBA الخالية منه (معاملة المقارنة)، وكانت أعلى نسبة تجذير (75 ٪) عند الوسط المزود بـ٢ ملجم / لتر NAA و تفوقت هذه المعاملة معنوياً على المعاملات الأخرى بما فيها معاملة المقارنة . كما سجل التركيز ٢ ملجم/ لتر NAA تفوقاً معنوياً في كل من عدد الجذور(٤,٣٣ جذر) وأطوالها (٤,٨٣ سم) مقارنة بالمعاملات الأخرى (الجدول رقم ٤)، (الشكل رقم ٦).

الجدول رقم (٤). تأثير التراكيز المختلفة للأوكسينين NAA وIBA بوجود ١ ملجم/ لتر 2iP على تطور واستطالة النموات الخضرية وتكوين الجذور عليها والمتكونة من البراعم العرضية الناتجة من أنسجة الكالس لنخيل التمر صنف أم الدهن.

تراكيز الاوكسين (ملجم/ لتر)	طول النموات الخضرية (سم)	النسبة المئوية للنموات الخضرية المجذرة (٪)	عدد الجذور/ نمو خضري	طول الجذور/ نمو خضري (سم)
0.0 (المقارنة)	3.17 e*±0.24	8.34 c	0.25d±0.0	1.33c±0.29
0.5 NAA	3.10 e± 0.40	41.67 b	2.08c±0.5	2.50b±1.02
1.0 NAA	2.57 f±0.11	50.0 b	2.83b±0.7	3.0b±0.32
2.0 NAA	7.10 b±0.24	75.0 a	4.33a±0.9	4.83a±0.78
0.5 IBA	3.75 d±0.29	16.67 c	0.41d±0.0	3.0b±0.37
1.0 IBA	5.53 c±0.37	0.0 c	0.0d±0.0	0.0d±0.0
2.0 IBA	7.71 a±0.33	0.0 c	0.0d±0.0	0.0d±0.0

* المتوسطات التي يتبعها نفس الحرف لا تختلف عن بعضها معنوياً واختلافها دلالة على وجود فروق معنوية بينها عند مستوى احتمالية 5٪. ± الخطأ المعياري.



الشكل رقم (٦). تطور النموات الخضرية وتكوين الجذور عليها، والمتكونة من البراعم العرضية الناتجة من أنسجة الكالس لنخيل التمر صنف أم الدهن المكثرة خارج الجسم الحي عند الوسط المزود بـ ٢ ملجم / لتر NAA و١ ملجم / لتر 2iP.

الشكل رقم (٧). نبيتات النخيل المجذرة والجاهزة للأقلمة.

أسهمت هذه الطريقة في الإسراع من إكثار نخيل التمر خارج الجسم الحي من خلال اختزال مرحلتي الاستطالة والتجذير بمرحلة واحدة تضمن الحصول على نبيتات كاملة وجاهزة للأقلمة (الشكل رقم ٦ و٧). وقد كان لمنظمات النمو تاثير على عمليات النمو المختلفة، حيث تحفز الأوكسينات استطالة الخلايا ؛ و بالتالي النموات الخضرية، بينما تشجع السايتوكاينينات النمو العرضي للخلايا وذلك عند التراكيز المنخفضة (المعري، ١٩٩٥ ;Thorpe ,1981) .

وتعد مرحلة التجذير واحدة من أهم مراحل إكثار النخيل بزراعة الأنسجة، وأن نجاح التجذير يعتمد بالدرجة الأساس على الوسط الغذائي ومكوناته . أن تحفيز الخلايا على الانقسام وتكوين بادئات الجذور "Root Initials" يعتمد على توافر الأوكسين داخل الوسط الغذائي (سلمان، ١٩٨٨). كما يعد نوع الأوكسين المستخدم وتركيزه أحد أهم العوامل المؤثرة في زيادة تجذير النموات الخضرية لنخيل التمر المكثرة خارج الجسم الحي ; (Wang and Charles, 1991, Bhargava *et al*., 2003). إن الفقد الذي يحصل نتيجة نقل النبيتات من أنابيب الزراعة إلى أصص التربة سببه ضعف الجذور وجفافها عند أقلمتها (Fila *et al*.,1998) .

المصادر والمراجع

المراجع العربية

البكر،عبد الجبار . *نخلة التمر ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعتها وتجارتها*. مطبعة العاني. بغداد– العراق ، ١٩٧٢ م.

الراوي، خاشع محمود وخلف الله، محمد عبد العزيز. *تصميم وتحليل التجارب الزراعية*.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل ،(١٩٨٠) ، ٤٨٨ صفحة.

سلمان، محمد عباس. *أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية* ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي- جامعة بغداد، ١٩٨٨.

صالح، مصلح محمد سعيد. *فسيولوجيا منظمات النمو النباتية* . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .جامعة صلاح الدين. العراق . الطبعة الأولى، ١٩٩١.

المعري، خليل وجيه . *إكثار النخيل بوساطة تقنيات زراعة الأنسجة النباتية*. كلية الزراعة. جامعة دمشق، ١٩٩٥ .

المراجع الأجنبية

Ahloowalia, B. S. and Prakash, J. *Physical components of tissue culture technology. Low cost of option for tissue culture technology in developing countries.* Proc. Of atechnical Meeting, rganized by The Joint FAO/IAEA. (2004): 17-28.

Amin, T. "*In vitro* propagation of date palm (*Phoenix dactylifera L.*) by adventitive buds." Proc. 2nd Inter. Conf. On Date Palms Al-Ain, U.A.E. March (2001): 568-578.

Auge, R. "Les phenomenes physiolo-gigueslies larealisation *in vitro* desculture in: La Culture In Vitor Et Ses Aapplications Shorticales Ed. Technique Et Documentation". LA. VOISIER Paris, (1984). 152.

Babr, M. f. and Tisserat, B. "Propagating plams in vitro with special emphasis on the date palm *(Phoenix dactylifera L.)"* Sci. hort. (25) (1985): 255-265).

Beauchesne, G. "The vegetative propagation of date palm through tissue culture. In First Symposium on date palm". King Faisal Univ. Al-Hassa, Saudi Arabia, (1982): 698-700.

Benbadeis, A. "Multiplication vegetative du palmier datter *Phoenx dactylifera* L Par reversion. Enventure in vitro Diebacuches floraies depieds femelles" Plant Physio. (110))1985): 227-233.

Bhargava, S. C.; Saxena, S.N and Sharama, R. "*In vitro* multiplication *Phoenix dactylifera* L." J. Plant Bioch. Biotec. (12). (2003): 43-47.

Drira, N. and Benbadeis, A. "Multplication vegetative du palmier datter (*Phoenix dactylifera L.*) Par reversion, enventure *in vitro"*. Diebauches floraies depieds femelldes J. Plant Physio.

Fila, G.; Ghashghaie, J.; Hoarau, J. and Cornic, G. "Photosynthesis leaf conductance water relations Thorpe, T. A. Frontiers of Plant Tissue culture". Univ. Calgary, Alberta, Canda. (1978). 49-58.

Letouze, R.; Daguin, F; Satour; P.; Hamama L. and Marionate, F. "Somatic embryogenesis and mass micropropagation of date palm characterization and genetic stability of regenerated plantles by RAPD markers." In: 1st. Inter. Conf. Date Palms, Al-Ain U.A.E. March (1998): 158-167.

Murashig, T. and Shoog, F. A. "revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures". Physio Plant. (15). (1962): 473-497.

Pierik, R.L. *In Vitro* Culture of Higher Plants. Third Edition. Martinus Nijn off Publishers. Nether Lands 1999.

Thorpe, T. A. "Physiological and biochemical aspects of organogenesis *in vitro* In: of in vitro cultured grapevine root stock in relation to acclimatization. Physiol. Plant (102) (1998): 411-418.

Thorpe, T.A. *Plant tissue culture methods and application in Agriculture*. NewYork. Academic Press. 1981.

Verdeil, J. L.; Huet, C.; Grosde mange, F. and Buffard-Morel, J. "regenerati on from cultured immature inflorescences of conoconut *Cocos nucifera L.* Evidence for somatic embryogenesis "Plant Cell Reports. (13). (1994): 218-221.

Vermandi, J. and Navaro, L. "Histological study of somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera L.)"* In Vest. Agric. Prot. Veg., 10 (2). 1995.

Wang, P. J. and Charles, A. "Micropropagation through meristem culture In Biotechnology in Agriculture and Forestry." Vol. 17. Hightech and Micropropgation. Edited by Y.P.S. Bajaja Springer Verlag Berlin Heidelberg. (199): 32-52.

Micropropagation of Date Palm *Phoenix dactylifera* L. cv. Um Al-Dihin by Formation of Somatic Embryos and the Production of Adventitious Buds From Callus Induced from Flower Buds

Ahmed Madi and Waheed Al-Mayahi
Date Palm Research Center - University of Basrah
amw_mw@yahoo.com

(Received 1/1/1432H; accepted for publication 5/4/1433H)

Keywords: Inflorescence, Callus, Somatic embryogenesis, Adventitious buds, Date palm.

Abstract. The study showed that spikes excised from the immature inflorescence of date palm cv. Um Al-Dihin and cultured on MS medium supplied with 100 mg / L of 2,4-D with 3 mg / l 2iP gave 62.5% of the initial induced primary callus which was a good source for the formation of somatic embryos and eventually of plantlets as compared to other treatments . The transfer of callus to a medium composed of (2.5 mg / l 2iP and 1 mg / l NAA) stimulated the induction and multiplication of adventitious. The percentage of callus forming adventitious buds was 75% and the number of buds was (11 bud/callus) . The study also showed that the best medium for the growth and development of plantlets was achieved with increased concentration of NAA to 2 mg / L and decreased the concentration of 2iP to 1 mg / L. This treatment also stimulated development and elongation of shoots and formation of roots as compared with other treatments.