تأثير راشح الفطر *Trichoderma harzianum* وبعض منظمات النمو ونوع الجزء النباتي وتداخلاتها في تكوين البراعم الجانبية لنخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) صنف الأشقر خارج الجسم الحي

محمد عبد الرزاق حميد عقيل عبود سهيم الخليفة محمد حمزة عباس

مركز أبحاث النخيل /جامعة البصرة

الخلاصة:

أجريت هذه الدراسة في مختبر ات الزراعة النسيجية التابعة لمركز أبحاث النخيل في جامعة البصرة لمعرفة تأثير تراكيز مختلفة من راشح العزلة المطفرة من الفطر التضادي *Trichoderma harzianum* (كبديل للاوكسينات) و نوع الجزء النباتي ومنظم النمو السايتوكاينين (2ip وBA) وتداخلاتها في تكوين البراعم الجانبية لنخيل التمر صنف الأشقر خارج الجسم الحي.

وبينت نتائج الدراسة ما يلي:

١ -وضوح التأثير الايجابي لرواشح الفطر *T. harzianum* في تقليل النسبة المئوية للاسمرار في الأجزاء النباتية المعامل بها، والتي كانت ٥٣.٣ % في معاملة المقارنة لتنخفض وبشكل معنوي إلى ٣٦.٦% في معاملة الراشح ٢٠%، كما أدت معاملة الراشح ٣٠% إلى تقليل المدة الزمنية اللازمة لتكوين البراعم الجانبية والتي بلغت ٢٠٦.٦ يوماً.

٢- إن لنوع الجزء النباتي المستخدم تأثيرا معنوياً في النسبة المئوية لاسمرار الأجزاء النباتية وكذلك التحفيز على تكوين البراعم الجانبية ،ولوحظ إن استخدام أرباع البرعم ألقمي أدى إلى تقليل المدة الزمنية لتكوين البراعم بالمقارنة مع استخدام المنطقة تحت المرستيمية أو البراعم الابطية، فضلاً عن ارتفاع معدل عدد البراعم المتكونة عند استخدام أرباع البرعم ألقمي ، وأن لنوع السايتوكاينين المستخدم ضمن مكونات الوسط الغذائي الأثر الفعال في تحفيز تكوين البراعم ال جانبية من حيث تقليل المدة الزمنية اللازمة وعدد البراعم المتكونة ، و إن زراعة البراعم الجانبية المتكونة على أوساط غذائية تحوي على السايتوكاينين الـ 2iP وبتركيز ٢ ملغم/لتر حفز على الحصول على اعلى معدل لعدد البراعم الجانبية.

الكلمات المفتاحية: *Trichoderma harzianum*، نخيل التمر، زراعة الأنسجة، منظمات النمو النباتية.

المقدمـــة:

تعد الزراعة النسيجية من التقانات الحديثة وا لمستخدمة لإكثار عديد من النباتات التي تعود إلى عائلات نباتية مختلفة إذ تمكن الباحثون في معظم دول العالم من تسخير هذه التقانة للإكثار الواسع للنباتات.وقد أثبتت تقانة زراعة الأنسجة كفاءتها من حيث عدد النباتات المنتجة من نبات واحد ومطابقة النباتات الناتجة لأصولها وراثيا (Al-Ghamidi,1993;Al-Wesal,2001). يتم إكثار النخيل نسيجياً إما عن طريق تكوين الأعضاء (توالد الأعضاء Organogenesis) من القمة النامية والبراعم الابطية (ابحمان وآخرون، ٢٠٠١) أو تكوين الأجنة الجسمية Somatic embryogenesis عن طريق المرور بمرحلة الكالس والذي تتكون منه الأجنة الخضرية وذلك بزراعة أنسجة النبات في أوساط غذائية صناعية معقمة (Tisserat,1988).

بدأت المحاولات الأولى لإكثار نخيل التمر بهذه التقانة في مطلع السبعينيات إذ تركزت الدراسات في ذلك العقد على البحث عن أفضل الأوساط الغذائية اللازمة لزراعة الجزء النباتي الامثل وتحديد الظروف الملائمة لتطور الزروعات النسيجية. إن الاهتمامات في زراعة القمم النامية والبراعم الابطية قد بدأ في أوائل السبعينيات في محاولات لتوجيه نموها نحو التضاعف الخضري و منذ ذلك الحين بدأ التركيز على تطوير نتائج البحث العلمي واتجه الباحثون لزراعة أجزاء حية مختلفة من الفسائل والنخيل البالغ على أوساط غذائية مختلفة بهدف توجيه نمو تلك الأجزاء نحو التكشف والت ضاعف أو استحثاث الكالس ألجنيني وصولا إلى نباتات كاملة قابلة للنقل والعيش تحت الظروف الطبيعية (Tisserat,1988).

و تعد منظمات النمو النباتية كالاوكسينات والسايتوكاينينات من أهم مكونات الوسط الغذائي المؤثر ة في إنجاح الزراعة النسيجية، وتؤدي الاوكسينات دوراً أساسيا في تكوين الكالس وتطوره إلى أجنة خضرية وإنباتها ومن أهمها 2-4-D (dichloro phenoxy acetic acid) , 1- (NAA) naphthalene acetic acid بينما تعد السايتوكاينينات من العوامل المهمة في استحثاث البراعم الجانبية والعرضية ومنها Benzyladenine (BA) و2iP(Isopentenyladenine) (Tisserat,1988).

أن المقدرة العالية لأنواع الفطر التضادي *Trichoderma* spp. على تشجيع نمو الأجزاء النباتية والنباتات المعامل بها قد تمت الإشارة إليه في عديد من المصادر سيما مع النوع *T. harzianum* (علوان، ١٩٩٦، فياض، ١٩٩٧ ، عباس، ١٩٩٨) ولقد فسرت هذه المقدرة التحفيزية بمقدرة الفطر

التضادي على إنتاج وإفراز المواد الشبيهة بمنظمات النمو و منظمات النمو Auxins and auxin-like compounds، فقد أشار Hoyos-Carvajal *et al.* (2009) في دراستهم لعزلات مختلفة من الفطر *T. harzianum* إلى أن معظم العزلات المدروسة تميزت بمقدرتها الجيدة على إفراز منظمات النمو ومن أهمها إلـ IAA (Indole Acetic Acid)، وهذا ما أثبتته دراسة Sofo *et al.* (2012). لذا هدفت الدراسة الحالية للإفادة من مقدرة العزلة المطفرة من الفطر التضادي *T. harzianum* والتي بينت نتائج عباس وحميد (٢٠٠٦) مقدرتها على إنتاج أندول حامض الخليك وبمستويات فاقت الـ ١٠٠% عنها في العزلة البرية من الفطر نفسه من خلال تأثير رواشحها كبديل للاوكسينات وتداخلاتها مع السايتوكانينات ونوع الجزء النباتي المستخدم في تحفيز تكوين البراعم الجانبية لصنف الأشق المكثر نسيجياً.

المواد وطرائق البحث:

نفذت هذه الدراسة في مختبرات الزراعة النسيجية التابع لمركز أبحاث النخيل والتمور- جامعة البصرة خلال عام ٢٠١٠ -٢٠١٢م.

استئصال الأجزاء النباتية:

استخدمت في هذه التجربة فسائل نخيل التمر صنف الأشقر إذ تم قلع عدد من الفسائل Offshoots بعمر أربعة سنوات (وزن الفسيلة ٧ كغم) من بساتين منطقة أبي الخصيب في محافظة البصرة، شرحت الفسائل بواسطة سكين وأزيلت أو راقها وأليافها تصاعدياً ، اس تؤصل البرعم القمي apical bud (الجمارة) والذي يبدو بهيئة جسم هرمي بارتفاع ١٠ ملم وقطر قاعدة ١٠ ملم مع طبقة لحمية بحدود ١ ملم تقريباً تساعد على تماسك الأوراق، كما تم استئصال البراعم الابطية وكذلك أخذت مقاطع من الطبقة تحت البرعم القمي (الطبقة تحت المرستيمية) بسمك ٥ مليمتروبعد استئصال الأجزاء النباتية تم وضعها في محلول مضاد للأكسدة Antioxidant Solution والذي يتكون من ١٠٠ ملغم /لتر من حامض الاسكوربيك Ascorbic Acid و ١٥٠ ملغم/لتر من حامض الستريك Citric Acid. حفظت الأجزاء النباتية في الثلاجة على درجة ٥ °م لمدة ٢٤ ساعة لحين أجراء عملية التعقيم السطحي (Tisserat,1988).

التعقيم السطحي للأجزاء النباتية Surface Sterilization:

أجريت عملية التعقيم السطحي للأجزاء النباتية بعد إخراجها من المحلول المضاد للأكسدة وقسمت البراعم القمية والطبقة تحت المرستيمية إلى أربعة أجزاء متساوية قدر الإمكان بواسطة مشارط وملاقط معقمة في حين تركت البراعم الابطية بدون تقسيم ووضعت الأجزاء النباتية في وعاء زجاجي يحتوي على القاصر التجاري (الكلوركس) ٢٠% حجم/حجم يحتوي على هيبوكلورايت الصوديوم Sodium Hypochlorite مضافاً إليه قطرة واحدة من المادة الناشرة Tween 20 لكل ١٠٠ سم^{٣} من المحلول مع الرج والتحريك بين الحين والأخر ولم دة ١٥ دقيقة. وبعدها استخرجت الأجزاء النباتية من محلول التعقيم وغسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات. تمت هذه العملية على منضدة انسياب الهواء الطبقي Laminar air flow cabinet المعقمة مسبقاً بالايثانول ٧٠% والفورمالديهايد المخفف بالماء المقطر المعقم (بكري،١٩٩٤).

تحضير الوسط الغذائي Preparation of nutrient medium

يتكون الوسط الغذائي من مجموعة الأملاح اللاعضوية لوسط MS (Murashige,1974) وحضر ت هذه الأملاح بالمختبر على شكل محلول أساس Stock solution يتكون من خمس مجوعات (Murashige and skooge,1962).

تحضير راشح الفطر التضادي *Trichoderma harzianum*

حضر الوسط الغذائي Czapex dox agar المتكون من المواد كما مبين في الجدول (Eaton and Greenberg, 1988):

Sodium nitrate 2.00 g/l	**Sucrose 30.00 g/l**
Magnesium sulphate 0.500 g/l	**Dipotassium phosphate 1.00 g/l**
Ferrous sulphate 0.010 g/l	**Potassium chloride 0.500 g/l**
Final pH (at 25°C) 7.3±0.2	**Agar 15.00 g/l**

ووزع في دوارق مخروطية حجم ٢٥٠ مل بمعدل ١٠٠ مل لكل دورق ،عقم في جهاز التعقيم البخاري ولقحت الدوارق بعد تعقيمها باقراص قطر كل منها ٠.٥ سم من الوسط الغذائي PDA(Potato Dextrose Agar) النامية عليه الفطر التضادي ،حضنت الدوارق في الحاضنة في درجة حرارة ٣٠ $^{\circ}$م لمدة عشرة ايام مع الاخذ بنظر الاعتبار رج الدوارق يوميا.

رشحت الدوارق بعد نهاية فترة التحضين خلال ورق ترشيح نوع Whatman واعيد الترشيح والتعقيم البارد باستعمال ورق ترشيح قطر ثقوبه ٠.٤٥ ملي مايكرون بمساعدة جهاز التفريغ الهوائي.

حضر الوسط الغذائي ووزع في انابيب اختبار بمعدل ٢٥ مل لكل انبوبة وعقم الوسط في جهاز التعقيم البخاري وبعد التعقيم اضيف راشح الفطر التضادي المعقم بالترشيح الدقيق الى الوسط بالتراكيز ٠و١٠ و٢٠ و٣٠ و٤٠%.

تحفيز نشوء البراعم الجانبية:

لغرض تحفيز نشوء البراعم الجانبية من الأجزاء النباتية المختلفة تم أجراء التجارب الآتية:

١- زرعت الأجزاء النباتية على أوساط غذائية حاوية على تراكيز مختلفة من السايتوكاينين 2iP أو BA بتركيز٠، ١، ٢، ٣ ملغم/لتر لكل منهما بوجود NAA بتركيز ١ ملغم/لتر.

٢- استخدم راشح الفطر التضادي *T. harzianum* كمصدر للاوكسينات ،إذ تم زراعة الأجزاء النباتية على أوساط غذائية حاوية على راشح الفطر بالتراكيز ٠و١٠ و٢٠ و٣٠ و٤٠%.بوجود السايتوكاينين 2ip بتركيز ٢ ملغم/لتر.

كذلك احتوى الوسط الخاص بتحفيز نشوء البراعم الجانبية على المواد الهبيرة في الجدول(١).

جدول(١) تركيز المواد المضافة إلى الوسط الغذائي الخاص بنشوء البراعم

المـــادة	الكمية (غم/لتر)
السكروزSucrose	٣٠
اورثو فوسفات الصوديوم الحامضية Sodium hydrogen ortho phosphates	٠.١٧٠
ميزو اينو سيتول Meso inositol	٠.١٠٠
كبريتات الأدنين Adenine sulphates	٠.٠٤٠
ثيامين -Thiamine-HCL HCL	٠.٠٠٠٥
بايوتين Biotin	٠.٠٠١
نيكوتين آمايد Nicotine amide	٠.٠٠١
بولي فينايل بايرودين Polyphenile pyrodene	٢
آكار Agar	٧

استعملت أنابيب اختبار بحجم ٢.٥×١٨ سم احتوت على ٢٥سم^{٣} من الوسط الغذائي. وتم ضبط الرقم الهيدروجيني pH على (٥.٧) وتضمنت التجربة زراعة الأجزاء النباتية بواقع عشرة مكررات لكل معاملة. حضنت الزروعات بدرجة حرارة ٢٧±١ $^{\circ}$ م في الظلام لمدة أربعة اشهر ثم نقلت تحت شدة إضاءة ١٠٠٠ لوكس لمدة ١٦ ساعة يومياً . سجلت مدة أول ظهور للبراعم الجانبية وجمعت نتائج البراعم المتكونة من الزراعة إذ أعيدت زراعتها كل أربعة أسابيع.

تم دراسة نوع الجزء النباتي ونوع وتركيز منظم النمو الـ 2iP أو BA وتاثير راشح الفطر في الصفات التالية:-

1- النسبة المئوية للاسمرار (موت الأجزاء النباتية) = $\frac{\text{عدد الأجزاء النباتية الميتة}}{\text{عدد الأجزاء النباتية الكلي}} \times ١٠٠$

2-الفترة الزمنية اللازمة لتكون البراعم الجانبية /يوم.

٣-عدد البراعم الجانبية المتكونة.

التحليل الإحصائي.

صممت التجربة حسب التصميم العشوائي الكامل Design Completely Randomized (C.R.D) وبمعدل عشر مكررات لكل معاملة، أجريت معاملات منظمات النمو ومعاملات راشح الفطر التضادي كتجارب مستقلة واختبرت المعنوية بين المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي معدل Revised least significant differences test (R.L.S.D) وبمستوى احتمال ٥% (الراوي وخلف الله ،١٩٨٠).

النتائـج:

بينت النتائج الموضحة في الجدول (١) تأثير نوع الجزء النباتي ومنظم النمو وتركيزه في نسبة اسمرار الاجزاء النباتية المستخدمة إذ لوحظ إن استخدام أرباع البرعم القمي ساعد على تقليل نسبة اسمرار الجزء النباتي إلى اقل مستوى بالمقارنة مع استخدام البرعم الابطي او ال منطقة تحت المرستيمية .كما لوحظ من الجدول نفسه ان استخدام السايتوكاينين الـ 2ip تفوق معنويا في تقليل النسبة المئوية لاسمرار للاجزاء النباتية مقارنة مع استخدام الـBA .وكذلك تبين أن استخدام التركيز ١ ملغم /لتر من الـ 2ip قلل من اسمرار الاجزاء البناتية مقارنة م ع التراكيز الأخرى ومعاملة المقارنة، في حين لم يختلف معنوياً عن التركيزين ٢ و ٣ ملغم /لتر من الـ 2ip، مع تسجيل نتائج

مماثلة في معاملة الـ BA .أما بالنسبة لتأثير التداخل فلوحظ أن استخدام أرباع البرعم القمي مع التراكيزالمستخدمة من الـ2ip وكذلك الـ BA أدى إلى تقليل نسبة اسمرار الاجزاء النباتية وبفارق معنوي عن بقية التداخلات الاخرى في حين لوحظ ارتفاع نسبة الاسمرار عند استخدام الاجزاء البناتية الاخرى وبجميع التراكيز المستخدمة.

جدول(١) تأثير نوع الجزء النباتي ونوع وتركيز منظم النمو السايتوكاينين في النسبة المئوية لاسمرار الأجزاء النباتية المستخدمة في الزراعة النسيجية

نوع الجزء النباتي	تركيز الـ2ip ملغم / لتر				معدل الجزء النباتي	تركيز الـ BA ملغم / لتر				معدل الجزء النباتي
	٠	١	٢	٣		٠	١	٢	٣	
أرباع البرعم ألقمي	٢٠.٠	١٠.٠	٢٠.٠	٢٠.٠	a١٧.٥	٣٠.٠	٢٠.٠	٢٠.٠	٢٠.٠	a٢٢.٥
المنطقة تحت المرستيمية	٦٠.٠	٤٠.٠	٥٠.٠	٥٠.٠	b٥٠.٠	٧٠.٠	٤٠.٠	٥٠.٠	٥٠.٠	b٥٢.٥
البرعم الابطي	٨٠.٠	٥٠.٠	٦٠.٠	٧٠.٠	c٦٥.٠	٨٠.٠	٦٠.٠	٦٠.٠	٦٠.٠	c٦٥.٥
معدل التركيز	c٥٣.٣	a٣٣.٣	b٤٣.٣	b٤٦.٦		c٦٠.٠	a٤٠.٠	b٤٣.٣	b٤٣.٣	
معدل نوع المنظم	a٤٤.١٢					b٤٦.٦٥				

*الأحرف المختلفة دلالة على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ٠.٠٥

R.L.S.D للتداخل بين نوع الجزء النباتي وتركيز منظم النمو 2ip = 6.48

R.L.S.D للتداخل بين نوع الجزء النباتي وتركيز منظم النمو BA= 6.62

بينت النتائج الموضحة في الجدول (٢) كفاءة إضافة راشح الفطر التضادي ***T. harzianum*** ضمن مكونات الوسط الغذائي ونوع الجزء النباتي المستخدم في تقليل النسبة المئوية للاسمرار سيما مع التركيز ٢٠% والذي أدى إلى خفض النسبة المئوية للاسمرار إلى أدنى مستوى لها بالمقارنة مع معاملة السيطرة والتراكيز الأخرى. في حين لوحظ إن استخدام أرباع البرعم القمي أدى إلى تقليل النسبة المئوية للاسمرار بالمقارنة مع استخدام المنطقة تحت المرستيمية أو البراعم الابطية .كما يبين التداخل وجود فرق معنوي واضح عند استخدام أرباع البرعم القمي والتركيز ٢٠% من راشح الفطر في تقليل النسبة المئوية لاسمرار الأجزاء النباتية إلى أدنى مستوى لها بالمقارنة مع التداخلات الأخرى ومعاملة السيطرة.

جدول(٢) تأثير راشح الفطر*T. harzianum* و نوع الجزء النباتي في النسبة المئوية لاسمرار الأجزاء النباتية المستخدمة في الزراعة النسيجية.

نوع الجزء النباتي	تركيز راشح الفطر %					معدل الجزء النباتي
	٠	١٠	٢٠	٣٠	٤٠	
أرباع البرعم ألقمي	٤٠	٤٠	٣٠	٥٠	٥٠	٤٢.٠
المنطقة تحت المرستيمية	٦٠	٦٠	٤٠	٦٠	٨٠	٦٠.٠
البرعم الابطي	٦٠	٦٠	٤٠	٨٠	٨٠	٦٤.٠
معدل التركيز راشح الفطر	٥٣.٣	٥٣.٣	٣٦.٦	٦٣.٣	٧٠.٠	

R.L.S.D (0.05) لمعدل الجزء النباتي = ٦.٥٢ R.L.S.D(0.05) لمعدل التركيز للاسمرار = ٤.٨٤

R.L.S.D(0.05) لمعدل التداخل = ٤.٩٨

لوحظ من نتائج الجدول (٣) إن لنوع الجزء النباتي المستخدم تأثيرا معنويا في المدة اللازمة لتكوين البراعم الجانبية إذ أعطت معاملة أرباع البرعم القمي براعم جانبية بمدة زمنية 176.3 يوماً وبفارق معنوي عن استخدام المنطقة تحت المرستيمية التي كونت البراعم بمدة 196.6 يوماً في حين لوحظ أن تكون البراعم عند استخدام البراعم الابطية كان بعد ٢٥٢.٥ يوماً. أما بالنسبة لنوع منظم النمو فتبين أن استخدام الـ 2ip حفز تكوين البراعم الجانبية بمدة زمنية ١٩٣.٣ يوم وبفارق معنوي عن استخدام الـ BA .كما سجل إن استخدام التركيز ١ ملغم /لتر أدى إلى تكوين البراعم و بفارق غير معنوي عن استخدام تركيز ٢ ملغم /لتر من الـ 2ip وبفارق معنوي عن التركيزين ١ و٢ من الـ BA . كما بين الجدول إن استخدام أرباع البرعم ألقمي مع التركيز ٢ ملغم / لتر ولكلا النوعين من منظم النمو السايتوكاينين أعطى براعم جانبية بمدة زمنية قليلة نسبيا وبفارق معنوي عن التداخلات الأخرى.

جدول(٣) تأثير نوع الجزء النباتي ونوع وتركيز منظم النمو السايتوكاينين في المدة اللازمة لتكون البراعم الجانبية / يوم

نوع الجزء النباتي	تركيز الـ2ip ملغم / لتر				معدل الجزء النباتي	تركيز الـ BA ملغم / لتر				معدل الجزء النباتي
	٠	١	٢	٣		٠	١	٢	٣	
أرباع البرعم ألقمي	--	١٨٦.٠	١٦٠.٣	١٦٨.٦	a١٧١.٦	--	١٨٦.٦	١٦٨.٤	١٨٨.٣	a١٨١.١
المنطقة تحت المرستيمية	--	١٩٠.٦	١٨٤.٠	٢٠١.٦	b١٩٢.٠	--	١٩٤.٦	١٨٨.٨	٢١٠.٤	b١٩٧.٩
البرعم الابطي	--	--	٢٢١.٠	٢٤٠.٠	c٢٣٠.٥	--	--	٢٢٨.٦	٢٤٤.٨	c٢٣٦.٧
معدل التركيز	--	a١٨٨.٣	a١٨٨.٤	b٢٠٣.٤		--	a١٩٠.٦	a١٩٥.٢	b٢١٤.٥	
معدل نوع المنظم	a١٩٣.٣					b٢٠٠.١				

*الاحرف المختلفة دلالة على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ٠.٠٥

R.L.S.D للتداخل بين نوع الجزء النباتي وتركيز منظم النمو 2ip = 4.88

R.L.S.D للتداخل بين نوع الجزء النباتي وتركيز منظم النمو BA= 4.26

يتضح من الجدول(٤) ان لراشح الفطر التضادي تأثيرا معنوياً في المدة الزمنية اللازمة لتكون البراعم الجانبية إذ أدى استخدام التركيز ٣٠% من راشح الفطر ضمن مكونات الوسط الغذائي إلى تكون البراعم الجانبية بمدة زمنية بلغت ٢٠٦.٦ يوماً وبفارق معنوي عن التراكيز الاخرى المستخدمة ومعاملة المقارنة التي لم يلاحظ تكون أي براعم جانبية عند استخدامها او استخدام التركيز ١٠%. في حين أشارت نتائج الجدول إلى إن التداخل بين تركيز راشح الفطر ٣٠% و استخدام أرباع البرعم القمي أدى إلى تكون البراعم الجانبية بمدة زمنية بلغت ١٨٥.٣ يوماً وبفارق معنوي عن التداخلات الاخرى ، بينما لم يسجل أي تكون للبراعم الجانبية عند معاملة المقارنة والتركيز ١٠% ولجميع التداخلات.

جدول(٤) تأثير راشح الفطر التضادي و نوع الجزء النباتي في المدة اللازمة لتكون البراعم الجانبية / يوم

نوع الجزء النباتي	تركيز راشح الفطر %					معدل الجزء النباتي
	٠	١٠	٢٠	٣٠	٤٠	
أرباع البرعم ألقمي	--	--	b ٢٠٣.٦	a ١٨٥.٣	e ٢٣٩.١	a ٢٠٩.٣
المنطقة تحت المرستيمية	--	--	d ٢٢٢.٦	c ٢١٤.٣	--	b ٢١٨.٤
البرعم الابطي	--	--	e ٢٤٠.٦	d ٢٢٠.٣	--	c ٢٣٠.٤
معدل التركيز	--	--	b ٢٢٢.٢	a ٢٠٦.٦	c ٢٣٩.١	

أظهرت نتائج الجدول (٥) إن لنوع الجزء النباتي المستخدم تاثيرا معنويا في معدل عدد البراعم الجانبية المتكونة إذ لوحظ أن استخدام أرباع البرعم القمي ادى الى تكون اعلى معدل لعدد البراعم وبلغ ٣.٤ برعما وبفارق معنوي عن استخدام المنطقة تحت المرستيمية او البرعم الابطي ،في حين لم يلاحظ اي فرق معنوي بين استخدام الـ 2ip و استخدام الـ BA .كما لوحظ إن لتركيز منظم النمو اثرا معنوياً وايجابياً في معدل عدد البراعم المتكونة اذا بينت نتائج الجدول نفسه ان استخدام التركيز 2 ملغم/لتر ادى الى تكون اعلى معدل لعدد البراعم المتكونة ولكلا النوعين من السايتوكاينين بالمقارنة مع استخدام التركيز ١ ملغم /لتر.

اما بالنسبة لتاثير التداخل فان استخدام ارباع البرعم القمي مع التركيز ٢ ملغم/لتر من الـ 2ip اعطى اعلى معدل لعدد البراعم المتكونة وبلغت ٦.٤ برعما تلته المعاملة نفسها للـ BA والتي أعطت ٤.٨ برعما مقارنة مع التداخلات الاخرى ومعاملة السيطرة.

جدول(٥) تأثير نوع الجزء النباتي ونوع وتركيز منظم النمو السايتوكاينين في معدل عدد البراعم الجانبية المتكونة

نوع الجزء النباتي	تركيز الـ2ip ملغم / لتر				معدل الجزء النباتي	تركيز الـ BA ملغم / لتر				معدل الجزء النباتي
	٠	١	٢	٣		٠	١	٢	٣	
أرباع البرعم ألقمي	٠	4.3	6.4	4.8	a ٣.٨	0	3.2	4.8	4.2	a٣.١
المنطقة تحت المرستيمية	0	0	3.2	2.4	b ١.٤	0	0	2.6	1.8	b١.١
البرعم الابطي	0	0	2.3	1.4	b ٠.٩	0	0	2.0	1.2	b٠.٨
معدل التركيز	e0	c1.4	a3.9	b2.8		e0	c1.0	a3.1	b2.4	
معدل نوع المنظم	2.02					1.37				

*الاحرف المختلفة دلالة على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ٠.٠٥

R.L.S.D للتداخل بين نوع الجزء النباتي وتركيز منظم النمو 2ip = 0.48

R.L.S.D للتداخل بين نوع الجزء النباتي وتركيز منظم النمو BA= 0.56

كما بينت النتائج الموضحة في الجدول (٦) أن تكون البراعم الجانبية عند الزراعة على اوساط غذائية حاوية على تراكيزمختلفة من راشح الفطر التضادي قد ازدادت وبشكل معنوي عند استخدام أرباع البرعم القمي وكان ٢.٠٦ برعما وبفارق معنوي عن استخدام المنطقة تحت المرستيمية والبراعم الابطية التي انخفض بها عدد البراعم الى اقل عدد بلغ ١.٠٤ و ٠.٧٢ برعما، على التوالي، في حين لوحظ أن الوسط الحاوي على التركيز ٣٠% من راشح الفطر اعطى اعلى معدل لعدد البراعم المتكونة وبلغ ٣.٣ برعما تلاه في التاثير التركيز ٢٠% وبلغ ٢.٤ برعما وانخفض المعدل عند التركيز ٤٠% في حين لم يلاحظ أي تكون للبراعم الجانبية عند التركيز ١٠% ومعاملة المقارنة.

اما بالنسبة لتاثير التداخل فسجل أن استخدام أرباع البرعم القمي مع التركيز ٣٠% من راشح الفطر اعطى اعلى معدل لعدد البراعم المتكونة وبلغت ٤.٨ برعما بالمقارنة مع التداخلات الاخرى في حين لم يلاحظ أي تكون للبراعم عند التركيز ١٠% من راشح الفطر ومعاملة المقارنة.

جدول(٦) تأثير راشح الفطر التضادي ونوع الجزء النباتي في معدل عدد البراعم الجانبية المتكونة

نوع الجزء النباتي	تركيز راشح الفطر %					معدل الجزء النباتي
	٠	١٠	٢٠	٣٠	٤٠	
أرباع البرعم ألقمي	e ٠	e ٠	b ٣.٥	a ٤.٨	c ٢.٠	a ٢.٠٦
المنطقة تحت المرستيمية	e ٠	e ٠	c ٢.١	b ٣.١	e ٠	b ١.٠٤
البرعم الابطي	e ٠	e ٠	d ١.٦	c ٢.٠	e ٠	c ٠.٧٢
معدل التركيز	d ٠	d ٠	b ٢.٤	a ٣.٣	c ٠.٦	

المناقشـة:

أوضحت نتائج التجارب المختبرية لمختلف مؤشرات النمو في زراعة الأنسجة التأثير الايجابي لرواشح الفطر *T. harzianum* في دعمها للمؤشرات المدروسة ومنها تقليل نسبة الاسمرار وزيادة تكوين البراعم الجانبية وتقليل المدة اللازمة لتكونها. ويتأتى هذا التأثير التحفيزي عن مقدرة الفطر التضادي على إفراز منظمات النمو Growth regulators مثل أندول حامض الخليك Indole-3- acetic acid (IAA) وبعض الإنزيمات المحللة والهرمونات الذي قد يعود سبب انخفاض نسبة اسمرار الأجزاء النباتية المزروعة على الاوساط الحاوية عليها، وكذلك لتحفيز استجابة الأجزاء النباتية على النمو، كما أوضح عباس و حميد (٢٠٠٦) مقدرة عزلات مختلفة من الفطر *T. harzianum* على أنتاج منظم النمو أندول حامض الخليك (IAA)، إذ تمكن الباحثان من استخلاص IAA من راشح الفطر المذكور بتراكيز عالية سيما في العزلة المطفرة من الفطر نفسه مقارنة بالعزلة البرية وبمستويات تجاوزت الـ ١٠٠%.

ومن الجدير بالذكر انه قد تمكن العديد من الباحثين من عزل مركبات الايض الثانوية Secondary metabolites من عزلات مختلفة من الفطر *T. harzianum* لها تأثيرات شبيهة بتأثيرات الاوكسينات Auxin-like compounds (Vinale *et al.*, 2008 a) فقد تمكن Vinale *et al.* (2008 b) من عزل المركب 6-*n*-pentyl-*6H*-pyran-2- one (6PP) من راشح مستعمرة الفطر *T. harzianum* وتم اختبار كفاءته في تشجيع نمو العديد من النباتات، لتشير نتائجهم إلى مقدرة هذا المركب على تحفيز النمو ليكون كمادة شبيهة بالاوكسينات.

أما عن ظاهرة نشوء البراعم الجانبية من الأنسجة المزروعة خارج الجسم الحي فهي من الظواهر التي سجلت في العديد من النباتات ومن بينها النخ يل فان هناك بعض المصادر التي أشارت إلى إمكانية استحثاثها خارج الجسم الحي (مازن،١٩٩٧وحميد، ٢٠٠١ وJasim,2002) وبناءاً على نتائج هذه الدراسة فقد تم التوصل إلى التركيز المناسب من منظمات النمو النباتية (السايتوكاينينات) بوجود الاوكسين (NAA) بتركيز (١ ملغم/لتر). إن مصدر البراعم الجانبية المتكونة ه ي الخلايا المعرضة للوسط الغذائي وإن هذه الخلايا تفقد تمايزها Dedifferentiation وتعود إلى الحالة المرستيمية ومن ثم تستعيد تمايزها Redifferentiation بفعل مكونات الوسط الغذائي والظروف البيئية المحيطة بها إلى مناطق مرستيمية تأخذ شكلها المنتظم باتجاه التطور إلى ما يسمى بالمرستيمات الأولي Promerstemoids كما وصفها Thorpe (1978)، والتي تتطور وتنمو إلى براعم لها التكوين الشكلي Morphogenesis نفسه للبراعم الموجودة في آباط الأوراق (Torrey,1967).

لذا توصي الدراسة الحالية إلى اعتماد راشح مستعمرة العزلة المطفرة من الفطر التضادي *T. harzianum* كبديل للاوكسينات وأرباع البرعم القمي والتوكيز ٢ ملغم/لتر من الـ 2ip وتداخلاتها في برنامج زراعة الأنسجة لصنف نخيل التمر الأشقر.

المصادر:

ابحمان ،العربي و انجاران ،محمد والبوجرفاوي، محمد (٢٠٠١). تكنولوجيا الزراعة النسيجية وأهميتها في إكثار نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. .المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة –شبكة بحوث وتطوير النخيل. نشرة إرشادية العدد(٣) دمشق ،٢٠٠١.

بكري، خالد علي إبراهيم (١٩٩٤). دراسة بعض العوامل المؤثرة على إنتاج وتطوير نسيج الكالس في نخيل البلح باستخدام طرق زراعة الأنسجة . رسالة ماجستير–كلية الزراعة بمشتهر –جامعة الزقازيق، فرع بنها –جمهورية مصر العربية.

حم يد، مح مد خزع ل (٢٠٠١). إكثار بعض أصناف نخيل التم ر *Phoenix dactylifera* L. خضرياً باستخدام تقانة زراعة الأنسجة. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة–جامعة بغداد.

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

عباس، محمد حمزة (١٩٩٨). دراسة مرض تعفن البذور وموت بادرات نبات الحنطة المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* في منطقة البصرة . رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة ، ٨٨ صفحه.

عباس، محمد حمزة وحميد، محمد عبد الرزاق (٢٠٠٦). تحسين إنتاج أندول حامض ألخليك من عزلتين مطفرتين من الفطر *Trichoderma harzianum* باستخدام الاشعه فوق البنفسجية . مجلة أبحاث البصرة (العلميات)، العدد ٣٢ ، الجزء الثاني: ٢٧ – ٣١.

علوان، صباح لطيف (١٩٩٦). السيطرة الحيوية للفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لذبول الحنطة باستخدام عزله غير ممرضه للفطر *R. solani* والفطر *Trichoderma harzianum* . مجلة البصرة للعلوم الزراعية، ٩ (٢) : ٤٥-٥١.

فياض، محمد عامر (١٩٩٧). استجابة تراكيب وراثيه مختلفة من زهرة الشمس *Helianthus annuus* L. للاصابه بالفطر *Macrophomina phaseolina* ودور بعض الطرق الاحيائيه في المقاومة. أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة، جامعة بغداد، ٩١ صفحه.

مازن، احمد (١٩٩٧). أسس تطبيقات تكنولوجيا زراعة الأنسجة النباتية، الدورة التدريبية لزراعة الخلايا والأعضاء النباتية وتطبيقاتها، جامعة قطر –الدوحة.

محمد،عبد العظيم كاظم و يونس،مؤيد احمد (١٩٩١).أساسيات فسيولوجيا النبات . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة بغداد–العراق.

Al-Ghamidi, A. S. (1993). True to type date palm *Phoenix dactylifera* L. production through tissue culture techniques, cv. Safry.3rd .*Symp. Date Palm, KFU.* Saudi Arabia, 1 :1-13.

Al-Wasel, A. S. (2001). Phenotypic comparison of tissue culture derived and conventionally propagated by offshoots date palm (*Phoenix dactylifera* L.).CV. Barhee Trees 1-Vegetative characteristics. *J. KSU. Agric. Sci*.13 (1). 65-73.

Eaton A. D., Clesceri L. S. and Greenberg A. E., (Ed.), 1998, Standard Methods for the Examination of Water and Waste water, 20th Ed., American Public Health Association. Washington, D.C.

Hoyos-Carvajal, L., Ordus, S. and Bissett, J.(2009). Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biologic. Control*, 51, 409-416.

Jasim, A.M. (2002). Budding of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L .) cv, Barhi *in vitro*. *Basrah Date Palm J*.2(1&2): 1-8.

Murashige, T. (1974). Plant propagation through tissue culture. *Ann. Rev. Plant Physiol*. 25:135-166.

Murashige, T.and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol*. 15:473-497.

Thorpe, T.A. (1978). Physiological and biochemical aspects of organogenesis *in vitro*. In: Thorpe, T.A. (ed.).Frontiers of plant tissue culture .Univ. Calgary, Alberta, Canada, 49-58.

Tisserat, B. (1988). Palm tissue culture. ARS-55, USDA, pp: 1-60.

Torrey, J.G. (1967). Development in flowering plant. The Macmillan Company, New York. pp 112-134.

Sofo, A., Tataranni, G., Xiloyannis, C., Dichio, B. and Scopa, A. (2012). Direct effect of *Trichoderma harzianum* strain T-22 on micropropagated shoots of GiSeLa6® (*Prunus cerasus* X *Prunus canescens*) rootstocks. *Environ. Experiment. Bot.* 76, 33-38.

Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Woo SL, Lorito M. (2008 a) *Trichoderm*a-plant-pathogen interactions. *Soil Biol Biochem* 40:1–10.

Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Babertti, M.J., Li, H., Woo SL, Lorito M. (2008 b). A novel role of *Trichoderma* secondary metabolites in the interaction with plants. *Physiol. Molec. Plant Pathol.*,72; 80-86.

The effect of *Trichoderma harzianum* culture filtrate, some growth regulators and the type of explants on adventitious buds formation of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) c.v Ashkar *in vitro*

Muhammed A Hameed Aqeel A.S. AL-Khalifa Mohammed H Abass
Date Palm Research Centre / Basra University

summary

The present study was conducted at the laboratories of tissue culture of the Date Palm Research Centre-Basra University to determine the effect of the interaction between the culture filtrate of the antagonistic fungus *Trichoderma harzianum* and the type of the explants, as well as the growth regulators on the formation of lateral buds of the date palm *in vitro*.

The results of the present study were as follow:

1-The obtained results approved the positive effect of the culture filtrate of the fungus *T. harzianum* in reducing the browning percentage of the treated callus, the percent was 53.3% in the control treatment and reduced up to 36.6% in the percent of 20% of the culture filtrate. The culture filtrate of 30% led to decrease the time requirements for the formation of lateral buds up to 206.6 days compared to other concentrations.

2- The results showed that the type of the explants had a significant effect on the following tested parameters: the percentage of browning; lateral bud formation and the time requirements for bud formation. The quarters of apical bud as explants showed the most promising results for the above-mentioned parameters compared to the area of the under meristem or auxiliary bud as explants. In addition, the types of cytokinins had a positive effect on the induction of the bud formation and decrease the time requirements for bud formation, especially with the concentration of 2 mg/l of 2ip.

Keywords: *Trichoderma harzianum*, Date Palm, Tissue culture, Growth regulators.