إكثار نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف الخضراوي بطريقة التحفيز المباشر للبراعم مخبريا

أحمد ماضي وحيد المياحي[1]

ملخص

أجريت هذه الدراسة لبحث مدى استجابة التحفيز المباشر لتكوين البراعم من الاجزاء النباتية المستأصلة من فسائل نخيل التمر صنف الخضراوي ، حيث وصفت تفاصيل الاكثار كاملة بدءاً من نشوء ونمو العينات المزروعة وحتى اقلمة النبيتات والنقل الى اصص التربة. وقد اظهرت الاجزاء النباتية المختلفة المزروعة في وسط MS المزود بالتوليفة المكونة من (IBA) Indol-3-butyricacid و 6-benzyladenine(BA) وبالتراكيز 4 و1 مغ/لتر على التوالي تحفيزها على النمو وتطورها وان اعادة زراعة هذه الاجزاء على وسط التضاعف المكون من التوليفة (4.02iP+2.0BA+0.5NAA) مغ/لتر حفز نشوء البراعم وتكاثرها التي ادت إعادة زراعتها الى تطورها وتكون الافرع الخضرية. ومتابعة لعملية الاكثار بالتضاعف الخضري نقلت الافرع الخضرية التي تبلغ اطوالها2.5 سم فأكثر الى وسط التجذير المزود"Naphthalen acetic acid(NAA) بالتراكيز 0.1 و 0.5 و1.0 مغ/لتر الى زيادة نسبة تجذير النموات الخضرية التي تراوحت بين 70-80% وساهم الوسط المزود بـ 0.1 مغ/لتر NAA في الحصول على افضل نوعية للجذور كما نجحت النباتات بعد اقلمتها خارج الانابيب باستخدام البرلايت:البيتموس بنسبة 2:1.

الكلمات الدالة: زراعة الأنسجة (*In vitro*)، البراعم الجانبية ، نخيل التمر . منظات النمو .

المقدمـة

يعد نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. من الاشجار وحيدة الفلقة (Monocotyledon) ثنائية المسكن(Dioecious). ويحتل النخيل مكانه خاصة في اكثر من 40 بلدا في العالم ويعد العراق من أقدم مواطن النخيل، حيث يشغل النخيل فيه مساحة تقدر 101.500 الف هكتار وعدد الاشجار المثمرة 7.878.000 نخلة والانتاج 432.000 طن وصادرات التمور 22910 طن (المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 2007) .

تعد طريقة اكثار النخيل بالفسائل هي الطريقة المثلى، إلا أن الأعداد التي يمكن الحصول عليها قليلة خاصة في الأصناف المرغوبة والنادرة، وبذلك فإنها لا تلبي الحاجة الحصول على أعداد كبيرة من الفسائل وإنشاء بساتين النخيل.اتجه الباحثون إلى استخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية في الإكثار الخضري لنباتات عديدة ومنها نخيل التمر(Tisserat, 1988; Taha *et al.*, 2001; 2004 Zouine and El-Hadrami,). وشهد القرن الماضي تطورا تقنيا وعلميا، وكانت إحدى نتائجه التوصل الى تقانات يمكن استعمالها في الاكثار الخضري الدقيق من خلال زراعة الانسجة الى الحد الذي يمكن فيه زراعة مختلف الاجزاء النباتية على اوساط غذائية والحصول على نباتات كاملة فضلا عن استعمالها في مجالات بحثية وتطبيقية، منها: تربية النبات وتحسينه وانتاج شتلات خالية من الاصابات المرضية والاكثار السلالي السريع ويعد الاخير من التطبيقات ذات الاهمية الكبيرة والرئيسة لتقانة زراعة الانسجة(Aurelia *et*

[1] مركز ابحاث النخيل والتمور – جامعة البصرة– البصرة – العراق.
amw_mw@yahoo.com

تاريخ استلام البحث 2012/7/3 وتاريخ قبوله 2013/3/26.

© 2014 عمادة البحث العلمي/ الجامعة الأردنية. جميع الحقوق محفوظة.

al., 2007). وتعد طريقة الاكثار بالانسجة بوساطة الاجنة الخضرية مهمة في اكثار النباتات، الا أن التغيرات الوراثية من الممكن ان تحدث في النباتات المنتجة في بعض النباتات ذوات الفلقة الواحدة التي تسبب بعض الاخطار (Corley *et al*., 1986).

وقد اشارت الدراسات الى امكانية تحفيز التفرعات الجانبية من الاجزاء النباتية المستأصلة من اصناف مختلفة من نخيل التمر، الا ان تلك الدراسات اختلفت في نوع السايتوكاينين المضاف وتركيزه الى الوسط الغذائي (Zaid,1984 ؛Tisserat, 1984). وقد ذكر(1986) Beauchesne *et al*., ان زراعة الاجزاء النباتية في الوسط الغذائي المزود بـ2 مغ/لتر اوكسين(Naphthoxy acetic acid (NOA و1مغ/لتر المزود(Naphthalen acetic acid(NAA و1 مغ/لتر Indol acetic acid (IAA) و0.5 مغ/لتر(BAP) 6-benzyladenine و1 مغ/لتر (Isopentenyl adenine 2iP) و1 مغ/لترKinetin حفز تكون البراعم. فيما اظهرت الدراسة التي قام بها Al- Maarri and Al-Ghamdi (1997) على خمسة اصناف من نخيل التمر وهي (الخلاص ، والهلالي، والصفري، والزهدي والرزيز) ان بداية تكون البراعم حصل على وسط MS المزود بـ1 مغ/لتر لكل من BAP و NAA و IAA و2 مغ/لترKinetin، وبعد6-8 عمليات نقل ازداد تكون البراعم وضوحا، ومتابعة لعملية الاكثار، ونقلت النموات الخضرية المتكونة الى وسط الاستطالة ومن ثم الى وسط التجذير. وبينت الدراسة التي قام بها(Al-Kaabi *et al*., 2001) ان اعلى نسبة من البراعم المتولدة سجلت عند الوسط المزود بـ1.6 مغ/لتر Indol acitic acid (IAA) او 0.4 مغ/لتر لكل من NAA وIAA مع اضافة 3.2 مغ/لتر(Isopentenyl adenine(2iP او1.6 مغ/لترBAP، وان اكبر عدد من البراعم المتمايزة تكون من اضافة 0.8 مغ/لترIAA الى وسط الاكثار الذي يحتوي على 3.2 مغ/لتر2iP. واظهرت الدراسة التي قام بها الخليفة (2009) أن تغطيس ارباع البراعم القمية بالتركيز 10 مغ/لتر2iP لمدة 10 دقائق قد ادت الى الحصول على اعلى معدل من البراعم الجانبية عند زراعتها على الوسط الغذائي المزود بـ 5 مغ/لتر2iP، في حين أن بعض الدراسات لم تحدد نوع السايتوكاينين المستخدم وتركيزه الذي شجع حدوث التضاعف. وفضلا عن ذلك تواجه تطبيق زراعة الانسجة صعوبة نجاح اقلمة النبيتات المنقولة التي تسبب حدوث نسبة عالية من الموت تصل الى 50% من مجموع النبيتات (Zaid and De-Wet, 2002). وتهدف هذه الدراسة الى وضع التفاصيل كاملة لاكثار نخيل التمر صنف الخضراوي بطريقة الاستحثاث المباشر للبراعم الجانبية من الأجزاء النباتية المزروعة خارج الجسم الحي عبر اختيار التركيبة المناسبة لوسط النمو واثرها في تطور الزروعات وسرعة نشوء البراعم وصولا الى انتاج النبيتات واقلمتها.

المواد وطرائق العمل

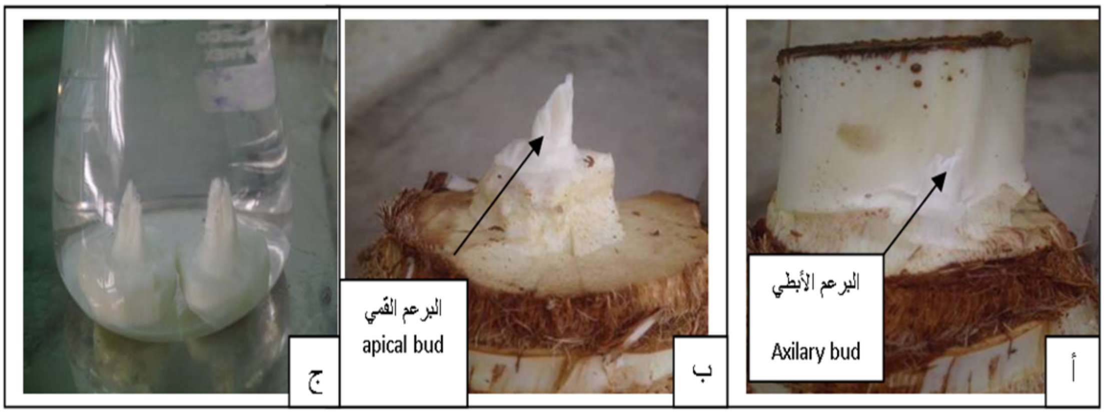
تم تنفيذ هذا البحث في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لمركز أبحاث النخيل والتمور في جامعة البصرة للفترة من 2011/2/1−2012/3/31 حيث استؤصلت البراعم الطرفية (Shoot tip) والبراعم الإبطية (Axillary buds) والبداءات الورقية (Leaf primordial) مع جزء من نسيج الجمارة من فسائل نخيل التمر صنف الخضراوي التي تتراوح أعمارها بين (3-4) سنوات كما هو موضح في الشكل (1) والمزروعة في منطقة ابي الخصيب التي تقع في القسم الشرقي من محافظة البصرة، وعلى الجانب الغربي لشط العرب، ويتقاطع عندها خط الطول48.18^{o} شرقا ودائرة عرض30.12^{o}. وضعت الأجزاء المستأصلة في محلول مضاد للأكسدة "Antioxidant Solution" الذي يتكون من 100مغ/لتر حامض الستريك و150 مغ/لتر حامض الأسكوربك لإيقاف عملية الأكسدة ومنع اسمرار الأنسجة المراد زراعتها وتراكم المواد الفينولية على أسطحها أجريت عملية التطهير السطحي للأجزاء النباتية بوضعها في محلول هيبوكلورايت الصوديوم التجاري (5.25% مادة فعالة) بتركيز 20%(حجم:حجم) وإضافة قطرة واحدة من المادة الناشرة "Tween-20" الى كل 100 مل مع التحريك بين مدة واخرى خلال 20 دقيقة ، وبعد ذلك استخرجت الأجزاء النباتية من محلول التعقيم وغُسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات وتمت هذه العملية داخل حجرة انسياب الهواء الطبقي (Laminar Air Flow (Cabinet المعقمة مسبقا بكحول الإيثانول بتركيز 70%. وزع الوسط الغذائي (MS) والموصوفة من (Murashige and Skoog, 1962)

بواقع25 سم^3 لكل أنبوبة اختبار وغُطيت الأنابيب بالقطن الطبي ومن ثم بورق الألمنيوم Aluminum foil وعُقم الوسط تعقيماً بخارياً في جهاز التعقيم البخاري Autoclave على درجة حرارة 121م° وتحت ضغط 1.05 كغم/سم^2 لمدة 15 دقيقة. وزرع كل ربع برعم طرفي في داخل أنبوبة زجاجية بينما زرعت البراعم الأبطية والبداءات الورقية كاملة وأضيف إليها المواد المبينة في الجدول 2 وذلك خلال مراحل نمو وتطور الزروعات. اختبرت عدة اوساط غذائية MS خلال مراحل النشوء وتضاعف الافرع الجانبية في التجارب الاولية وقد استخدمت فيها اوكسين Naphthalen acetic acid (NAA) والسايتوكاينين 6-benzyladenine (BA) و(Isopentenyl adenine (2iP، وقد اضيفت منظمات النمو الى الوسط الغذائي اما بصورة منفردة اوتمت اضافتها معا في Flasks حجم 500 سم^3 نوع Pyrex لكل معاملة كما هي موضحة في الجدول (1) .

جدول (1): منظمات النمو المستخدمة خلال مراحل النشوء وتضاعف الافرع الخضرية.

رقم التوليفة	نوع التوليفة (التركيز مغ/لتر)
1	معاملة المقارنة (خالية من منظمات النمو)
2	0.5 NAA
3	4.0 2iP
4	4.0 BA
5	4.0 2iP + 0.5 NAA
6	4.0 BA + 0.5 NAA
7	4.0 2iP +2.0 BA +0.5 NAA

واختبرت تراكيز مختلفة من الفيتامينات والكلوتامين، ووجد ان مضاعفة الفيتامينات Pyridoxine وBiotin وNicotinic acid مع إضافة الكلوتامين بتركيز 100 مغ/لتر كان مؤثرا بشكل ايجابي في زيادة التفرعات الجانبية، كما هو موضح في الجدول (1). زرعت الاجزاء النباتية على وسط الزراعة وحضنت في الظلام المستمر في المراحل الاولية من الزراعة،عملية اعادة الزراعة كانت تجرى كل 6 اسابيع، بعدها نقلت الاجزاء النباتية المتطورة الى وسط الاكثار وحضنت الانابيب المزروعة تحت ظروف الإضاءة بمعدل 16 ساعة ضوئية و8 ساعات ظلام، وشدة إضاءة 1000 لوكس، ونُظمت الفترة الضوئية بوساطة منظم كهربائي Timer وعلى درجة حرارة27 ±1^{o}م ورطوبة 35-40، وكانت عدد المكررات 12 مكرر/معاملة في تجارب تاثير نوع النسيج البراعم القمية والابطية و24 مكرر/معاملة للبادئات الورقية اما تجارب تأثير التوليفات المختلفة لمنظمات النمو النباتية في نشوء البراعم الجانبية فقد استخدم 5 مكررات /معاملة ، ومتابعة لعملية الإكثار بعد تكون البراعم الجانبية وتكاثرها نقلت الأفرع التي تبلغ اطوالها2.5سم فأكثر الى وسط التجذير وهي المرحلة الأخيرة من مراحل الإكثار داخل الانابيب، وقد اختبرت عدة تراكيز من اوكسينNAA (0.0 و0.1 و 0.5و1.0) مغ/لتر بوجود 0.01 مغ/لترBA مع إضافةز1.0غم/لتر من الفحم المنشط وبدونه وحضنت الزروعات تحت ظروف الإضاءة والحرارة نفسها المذكورة آنفا، وقد استخدمت عشر مكررات/معاملة، وجمعت النتائج بعد مرور(60–75) يوما من الزراعة، وتضمنت النسبة المئوية للتجذير وعدد الجذور واطوالها (سم).



شكل (1). مراحل تشريح فسيلة نخيل التمر صنف ألخضراوي وصولا للبرعم القمي .
(أ) البرعم الأبطي (ب) البرعم القمي (ج) البراعم القمية المستأصلة من فسائل النخيل

مقياس الرسم أ و ب (586×470) ج(461×200).

جدول (2). الأوساط الغذائية المستخدمة في إكثار نخلة التمر صنف الخضراوي بطريقة الاستحثاث المباشر للبراعم الجانبية .

مكونات الوسط	وسط الزراعة (أ)	وسط الإكثار والتضاعف (ب)	وسط التجذير (ج)
MS salt	قوى كاملة	قوى كاملة	قوى كاملة
Thiamin HCI (mg/L)	1	2	0.5
Inositol (mg/L)	100	100	100
Pyridoxine (mg/ L)	1	2	1
Biotin (mg/L)	1	2	0.5
Nicotinic acid (mg/L)	1	2	-
Glutamine HCI (mg/L)	100	100	-
Adenine sulfate (mg/L)	40	40	40
NAA (mg/L)	-	0.5	0.1
IBA (mg/L)	4	-	
BA (mg/L)	1	2.0	0.01
2iP (mg/L)	-	4.0	-
Sucrose (g/L)	30	30	40
Agar (g/L)	6	6	6
PVP (g/L)	2	0.5	-

الاقلمة والنقل الى تربة الاصص

هنالك عدة خطوات يجب أجراؤها عند نقل النبيتات من انابيب الزراعة الى اصص التربة، ومنها: غسل النباتات الناتجة من زراعة الانسجة غسلا جيدا بالماء الجاري للتخلص من بقايا الوسط الغذائي الملتصق على النباتات للسيطرة على التلوث والمحافظة على النباتات المنقولة من الجفاف، ويجب ان تكون النباتات المنقولة ذات مجموع جذري عال، وتمت مُتابعة تعقيم النبيتات من خلال وضعها في محلول يحتوي على المبيد الفطري

(Benlate) بتركيز 500 مغ/لتر لمدة (15) دقيقة (شكل2). ثم زُرعت النبيتات في أصص أقطارها "9"سم تحوي على خليط التربة المكونة من البيرلايت والدبال المتحلل Peatmoss بنسبة 2:1 (حجماً:حجم)، عُقمت خلطات التربة داخل جهاز التعقيم البخاري (Autoclave) بطريقة تعقيم الأوساط الغذائية نفسها التي مرَ ذكرها سابقاً، وبعد زراعة النبيتات في الأصص تمت متابعة سقي النبيتات بالماء المقطر ورشها "بربع التركيز من أملاح الـ"MS"، وكانت تُجرى عملية الري كل (3-4) أيام حسب الحاجة، واعتمادا على مستوى رطوبة التربة مع رش النبيتات بالمبيد الفطري Benlate بتركيز (500) مغ/لتر مرة واحدة أسبوعياً. وغطيت الأصص بأغطية زجاجية لمدة شهر واحد مع ضرورة رفعها بين فترة وأخرى حيث ان عملية رفع الغطاء في بداية النقل تستمر لفترة45–60 دقيقة، ومع تقدم الأقلمة تزداد فترات رفع الغطاء وهذه العملية يجب ان تتم بصورة تدريجية. ولدفع النباتات للتأقلم بصورة تدريجية مع ظروف الوسط الخارجي استبدلت الأغطية الزجاجية بأخرى بلاستيكية مثقبة شفافة حيث استمرت عملية التغطية شهرا واحدا أيضا، حيث إن اجراء عملية التهوية ضرورية لخفض نسبة الرطوبة النسبية حول النبيتات الذي بدوره يؤدي الى زيادة نسبة النبيتات المنقولة نتيجة لتطور وظائف الثغور (Stomata) والسيطرة على الماء المفقود، ووضعت في درجة 25±2 مْ وإضاءة 16 ساعة يومياً، وبعد ذلك رفعت الأغطية بشكل كامل، وكان عدد النباتات المنقولة من انابيب الزراعة الى اصص التربة عشرين نباتاً.

شكل (2). غسل وتعقيم النبيتات بعد استخراجها من انابيب الزراعة بغية نقلها الى تربة الاصص

مقياس الرسم (482×652)

تصميم التجربة والتحليل الإحصائي

نفذت التجارب حسب التصميم العشوائي الكامل(CRD) واختبرت المعنوية بين المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي معدل L.S.D اعتمادا على المرجع (الراوي وخلف الله، 1980).

النتائج والمناقشة

نمو العينات المزروعة وتطورها

أظهرت الدراسة ان أنسجة القمة النامية المزروعة على وسط MS المزود بمنظمي النمو IBA بتركيز 4 مغ/لتر+BA بتركيز 1 مغ/لتر سجلت اعلى معدل استجابة بلغت 55.56 % وبهذا تفوقت معنويا مقارنة بالبراعم الابطية والبداءات الورقية (جدول 3) حيث ازداد حجم الأجزاء النباتية وبدأت البداءات الورقية بالتفتح، وحصل ذلك بعد مرور 3-4 اسابيع من الزراعة، حيث بلغ طول النسيج 7.26 ملم، أما متوسط قطرها فقد بلغ 4.6 ملم. ونتيجة للتحضين تحت ظروف الظلام المستمر أصبحت الأنسجة المزروعة ذات لون ابيض ناصع (شكل 3). وبناء على ما أظهرته الدراسة من وجود اختلاف في استجابة الأجزاء النباتية المختلفة على النمو أظهرت البراعم القمية استجابة واضحة على النمو من خلال تحفيز نمو الأوراق مقارنة بالبراعم الابطية والبداءات الورقية التي فشل نمو الكثير منها، كما تعرض عدد كبير منها الى التلون باللون البني وماتت في النهاية. تتفق هذه الدراسة مع ما ذكره(Tisserat, (1987 من ان البراعم القمية هي الأكثر استجابة للتضاعف الخضري مقارنة ببقية الأجزاء النباتية الأخرى.

جدول (3). تأثير نوعية الاجزاء النباتية في إكثار نخيل التمر صنف الخضراوي بالتبرعم .

نوع النسيج	النسبة المئوية للتلوث (%)	النسبة المئوية للاسمرار (%)	النسبة المئوية للاستجابة على النمو (%)
القمة النامية	16.67 a	10.00 a	55.56 a
البراعم الابطية	41.67 b	28.57 b	20.00 b
البداءات الورقية	37.50 b	40.00 b	11.12 b

* المتوسطات التي يتبعها الحرف نفسه أو الأحرف لاتختلف عن بعضها معنوياً على مستوى احتمالية 5% .

شكل (3). نمو البراعم القمية المزروعة في الوسط الغذائي المزود بـ 4 مغ/لتر IBA و 1 مغ/لتر BA في الظلام المستمر.

مقياس الرسم (482×652)

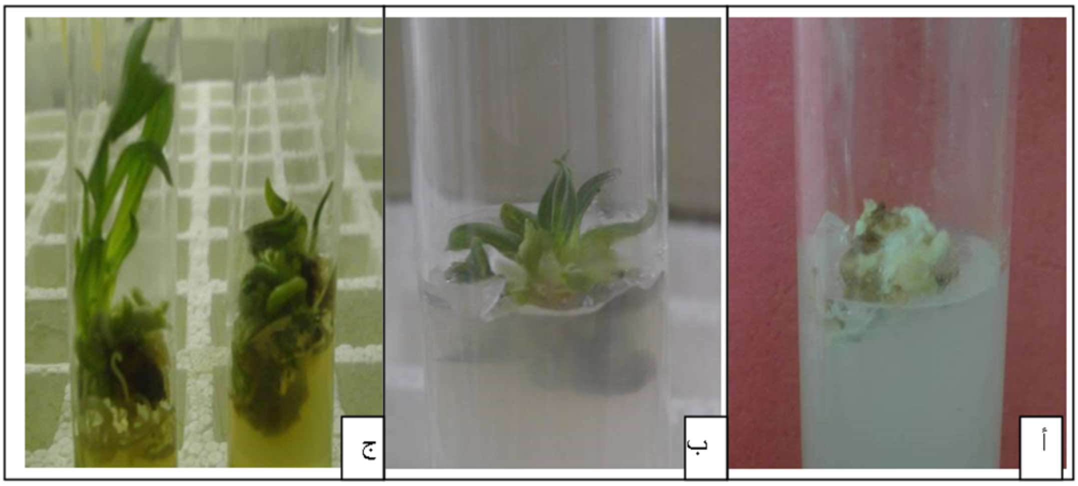
تحفيز وإكثار البراعم واستطالتها .

من خلال اختبار التوليفات المختلفة لمنظمات النمو، أظهرت نتائج البحث التفوق المعنوي للتوليفة المكونة من(4.0 2iP +2.0BA +0.5 NAA) في معدل عدد البراعم الجانبية البالغ عددها 4.8 براعم شكل (4أ)، تلاه عدد البراعم المتكونة عند التوليفة (4.0 2iP+ 0.5) البالغ 3.2 فتوليفة (4.0 BA + 0.5 NAA) وقد بلغ عدد البراعم فيها 2.8 ، وعند عدم إضافة أيا من السايتوكاينين اواضافة NAA فقط، لم يحدث اي تضاعف للبراعم الجانبية جدول (4) وبدت الأجزاء المزروعة والمحضنة تحت ظروف الإضاءة تتغير الى اللون الأخضر، وبدأت البراعم الجانبية بالظهور من انسجة القمة النامية المتطورة والمزروعة على وسط MS المزود بالتوليفة 4.0 مغ/لتر2iP + 2.0 مغ/لترBA و0.5 مغ/لتر NAA بعد 14-16 اسبوعا من الزراعة على وسط ب جدول (2) . استمرت عملية إعادة زراعة البراعم التي كانت تجرى كل ستة اسابيع على وسط (ب) حتى تتطور البراعم وتكون الافرع الخضرية، وكان عدد الافرع الجانبية المتكونة في الوسط المزود بالتوليفة 4.0 مغ/لتر2iP+ 2.0 مغ/لترBA و0.5 مغ/لترNAA وقد اظهر تفوقا معنويا مقارنة بمعاملات الدراسة الأخرى؛ اذ تراوح بين 5-7 أفرع خضرية لكل نسيج نباتي (شكل 4 ب)(البيانات غير معروضة) .

جدول (4). تأثير التوليفات المختلفة لمنظمات النمو النباتية في نشوء البراعم الجانبية لنخيل التمر صنف الخضراوي المكثر مخبريا .

رقم التوليفة	نوع التوليفة (التركيز مغ/لتر)	متوسط عدد البراعم المتكونة
1	معاملة المقارنة (خالية من منظمات النمو)	1.0 d *
2	0.5 NAA	1.0 d
3	4.0 2iP	2.2 C
4	4.0 BA	1.8 c
5	4.0 2iP + 0.5 NAA	3.2 b
6	4.0 BA + 0.5 NAA	2.8 b
7	4.0 2iP +2.0 BA +0.5 NAA	4.8a

* المتوسطات التي يتبعها الحرف نفسه أو الأحرف لاتختلف عن بعضها معنوياً على مستوى احتمالية 5% .



شكل (4). مراحل اكثار نخيل التمر صنف الخضراوي بطريقة التحفيز المباشر للبراعم المزروعة على وسط MS المزود بـ 4.0 مغ/لتر 2+2 iP مغ/لترBAو0.5 مغ/ لتر)NAA. أ). نشوء البراعم الجانبية بعد 14 -16 اسبوعا من الزراعة على وسط اعلاه. (ب). توالد الأفرع الخضرية وتكاثرها بعد26-28 اسبوعا من الزراعة على الوسط اعلاه. (ج). استطالت الافرع الخضرية بعد34-36 اسبوعا من الزراعة على الوسط اعلاه.

مقياس الرسم. أ (652×482). ب (1176×837). ج ((138×102.

إن حصول الاستجابة من الانسجة المزروعة مخبريا التي تكون بتماس مع الوسط الغذائي تحدث نتيجة لاستفادة هذه الخلايا من الغذاء المتوافر في الوسط الغذائي الموجودة فيه ، وإن آلية التمايز الى براعم تتم من خلال تحول بعض الخلايا الى خلايا مرستيمية سريعة الانقسامات تؤدي الى مايطلق عليه (Meristimoids) التي تنمو وتتطور الى مرستيمات لها القدرة على إعطاء بداءات الجذور او بداءات السيقان التي تتطور لاحقا الى جذور وسيقان(Torrey, 1967). تسهم الاوكسينات في تكوين البراعم ونموها بالاشتراك مع السايتوكاينينات (Al-Khateeb *et al.*, 2002 ؛ Flick *et al.*, 1983). إن توالد البراعم الجانبية وتكاثرها لايعتمد على وجود الاوكسينات والسايتوكاينينات فحسب، بل يعتمد على نسبهما ضمن تركيبة الوسط الغذائي، حيث إن استحثاث البراعم الخضرية يتطلب تراكيز عالية نسبيا من السايتوكاينين مقارنة بتراكيز الاوكسين (Auge, 1984؛ Amin, 2001؛ Gabr and Tisserat, 1985). وقد يعزى السبب في تفوق التوليفة 4.0 مغ/لتر2.0+2iP مغ/لترBA و0.5 مغ/لتر NAA الى أنها حققت التوازن الهرموني المطلوب في حصول التضاعف الخضري، حيث تعتمد هذه الطريقة على تحفيز نمو وتطور البراعم الموجودة في آباط بداءات الأوراق من خلال القضاء على السيادة القمية للبرعم الطرفي وبذلك تحفز نمو التفرعات الجانبية .ان أهمية منظمات النمو في نمو وتطور البراعم يعزى الى الدور التي تقوم به السايتوكاينينات في نمو الخلايا وانقسامها خاصة تأثيرها في انقسام سايتوبلازم الخلايا، اما الاوكسينات فتشجع إضافتها على استطالة الخلايا وانقسامها من خلال تأثيرها في انقسام النواة (محمد ويونس، 1991). من جانب آخر، إن تزويد الوسط بالاوكسين بتركيز منخفض ضمن التوليفة المستخدمة في التضاعف الخضري حفز نمو الأفرع الجانبية وقلل من التأثيرات المرتفعة للسايتوكاينين المثبطة لاستطالة الافرع (Nehra and Kartha, 1994)، حيث تسهم الاوكسينات في التحفيز على استطالة النموات المتكونة عند استخدامها بتراكيز منخفضة (المعري، 1995). تتفق هذه الدراسة مع النتائج التي توصل اليها Jassim (2002) والخليفة (2009) اللذان أشارا إلى أهمية رفع نسبة التراكيز المستعملة من السايتوكاينين الى الاوكسين لتكوين البراعم العرضية او الجانبية من الأنسجة

النباتية المزروعة خارج الجسم الحي لنخيل التمر.

التجذير

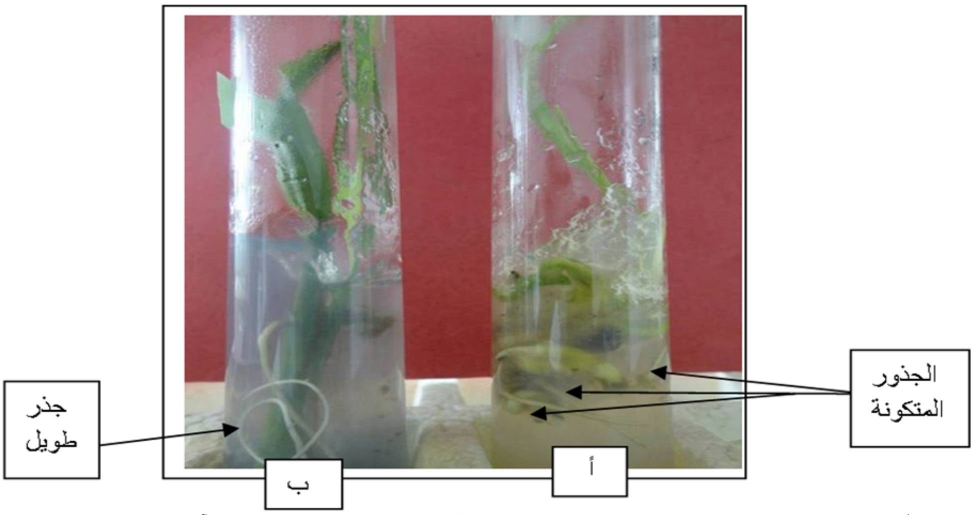
تعد مرحلة التجذير من المراحل المهمة في زراعة الانسجة ففيها يتم تكوين مجموع جذري على النموات الناتجة من التضاعف الخضري، وقد أوضحت النتائج ان الاوساط الحاوية جميعها على NAA (0.1 و0.5 و1.0) مغ/لتر مع إضافة الفحم او من غيره قد أعطت نسبة تجذير تراوحت بين 70-80%وبهذا حققت هذه المعاملات تفوقا معنويا مقارنة بمعاملة الشاهد التي سجلت ادنى نسبة تجذير بلغت 20% . وحول تأثير المعاملات المختلفة في معدل عدد الجذور وأطوالها فقد اظهرت معاملة 0.1 NAA من غير اضافة الفحم اعلى معدل لعدد الجذور المتكونة بلغ(4.5) جذر/نبيت شكل (5 أ)، فيما اعطت معاملة 0.1 NAA مع الفحم أعلى معدل لاطوال الجذور بلغ 4.9 سم شكل 5 ب (جدول 5) . ان اعتماد المعاملة 0.1 NAA من غير الفحم، لكونها اعطت نسبة تجذير عالية واعلى معدل لعدد الجذور، وتعد هذه مهمة لكونها تزيد من كفاءة الامتصاص حيث يعتمد نجاح زراعة النباتات في التربة على عدد الجذور المتكونة في النبات وقوة ارتباطها بالمجموع الخضري ، اما طول الجذور عند هذه المعاملة فهو مناسب من غير حدوث تكسر اوضرر للجذور عند نقل النباتات الى أصص التربة الصغيرة .

تؤدي الاوكسينات دورا فعالا في تكوين الجذور،حيث وجد ان اول انقسام للخلايا التي تكون بداءات الجذور(Root initiation) يعتمد على توفر الاوكسين في الوسط الغذائي (سلمان ،1988).كما ان لنوع الاوكسين وتركيزه اهمية في زيادة تجذير النموات الخضرية (Wang and Charles, 1991) وتعود اهمية الـ NAA في التجذير ويعود ذلك لامتلاكه عددا كبيرا من الاواصر المزدوجة، اضافة الى قصر السلسلة الجانبية الحامضية المرتبطة (محمد ويونس، 1991). إن تطور الجذور يشجع نسبة نجاح النباتات المنقولة الى دورها في الموازنة بين ماتفقده النبيتات من الماء وما تمتصه منه كما تعمل على امتصاص العناصر المعدنية من التربة للقيام بالفعاليات الحيوية المطلوبة (Diaz-Perez *etal.,* 1995). تتفق هذه الدراسة مع النتائج التي توصل اليها(1997) Al-Maarri and Al-Ghamdi حول تأثير الفحم او بدونه على تجذير نموات النخيل المكثرة مختبريا. وتتفق مع ما اورده حميد (2001) من إن إضافة NAA حفز تجذير النموات الخضرية مقارنة بالوسط غير المزود به.

جدول (5). تأثير NAA والفحم المنشط في تجذير النخيل صنف الخضراوي.

المعاملات التركيز (مغ/لتر)	النسبة المئوية للتجذير (%)	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور(سم)
0.0 (الشاهد) بدون NAA والفحم	20 b	0.2 d	4.5 a
0.1 NAA بدون فحم	80 a	4.5 a	4.1a
0.1 NAA مع الفحم	70 a	3.8 a	4.9 a
0.5 NAA بدون فحم	80 a	2.7 b	3.7a
0.5 NAA مع الفحم	80 a	1.9 bc	3.9 a
1.0 NAA بدون فحم	80 a	2.1 bc	1.9 c
1.0 NAA مع الفحم	80 a	1.7 c	2.8 bc

* المتوسطات التي يتبعها الحرف نفسه أو الأحرف لاتختلف عن بعضها معنوياً على مستوى احتمالية 5% .



شكل(5)ز تجذير نموات نخيل التمر صنف الخضراوي المكثرة مخبريا8-10اسابيع. (أ) NAA بتركيز 0.1 مغ/لتر بدون فحم. (ب) NAA بتركيز 0.1 مغ/لتر مع 1 غم/لتر فحم منشط .

مقياس الرسم أ و ب (837×1176)

الاقلمة والنقل الى تربة الاصص

توضح النتائج في الجدول(6) أن خلطة التربة المكونة من "البيرلايت والبيتموس بنسبة (2:1) لها الأثر في نجاح النبيتات المنقولة وتحسين نموها فيما بعد، حيث تشير النتائج الى ان هذه الخلطة قد حققت نسبة نجاح عالية في النبيتات المؤقلمة التي بلغت 85%.كما انعكس تأثير استخدام هذه الخلطة على معدل نمو النبيتات المزروعة الذي اتضح من خلال معدل أعداد الأوراق المتكونة 2.94 وأطوال ألنبيتات14.7 سم.وقد يُعزى السبب وراء ارتفاع نسبة النبيتات المؤقلمة النامية في الوسط المزود بخلطة التربة المكونة من البيرلايت والبيتموس بنسبة(2:1) الى أن البيتموس يمد النبيت ببعض حاجاته الغذائية كما أنه يحتفظ بالرطوبة، ويعمل على منع جفاف الوسط الزراعي، فضلاً عن موازنتة "PH" التربة التي تتراوح بين (6-8)(Sharma *et al.* ,1991 ; غالب، 1991 ; حميد، 2001) خاصة أن البيرلايت يتميز بخلوه من العناصر الغذائية، الأمر الذي انعكس أيجاباً على النسبة المئوية للنبيتات المؤقلمة وتحسين نموها(شكل 6) وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (المياحي، 2008) عند دراسته على أنواع مختلفة من خلطات التربة المختلفة.

جدول(6). تأثير خلطة التربة البيرلايت والبيتموس" بنسبة 2:1 (حجماً:حجم) في النسبة المئوية للأقلمة ونمو نبيتات نخيل التمر صنف الخضراوي المكثرة خارج الجسم الحي.

النسبة المئوية للاقلمة (%)	معدل عدد الاوراق	طول النبيتات (سم)
85	2.94	14.7

شكل(6). نبتة نخيل التمر صنف الخضراوي منتجة خارج الجسم الحي ومزروعة داخل الاصص تحتوي على البيرلايت والبيتموس بنسبة 2:1. مقياس الرسم (439×599).

الاستنتاجات

اظهرت هذه الدراسة كفاءة طريقة توالد نخيل التمر بطريقة التحفيز المباشر للبراعم الجانبية من غير المرور بمرحلة الكالس، وأهمية إضافة BA و2iP معا في تنبيه البراعم والافرع الجانبية وتكاثرها بوجود NAA بتركيز منخفض، كما ان زراعة الافرع الخضرية في أوساط التجذير المزودة بـ 0.1 مغ/لتر أسهمت في الحصول على نسبة تجذير تراوحت بين 70-80% كما ان الجذور المتكونة ذات نوعية جيدة، وقد انعكست ايجابا على نجاح اقلمتها وزراعتها بأصص التربة ، وبناء على النتائج المتحققة فان هذه الطريقة تعتبر مناسبة لإكثار نخيل التمر.

المراجع

المراجع العربية

حميد، محمد خزعل 2001 .إكثار بعض أصناف نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. خضرياً باستخدام تقانة زراعة الأنسجة . ***اطروحة دكتوراه*** ، كلية الزراعة – جامعة بغداد. 165 صفحة

الخليفة، عقيل عبود سهيم 2009. تبرعم نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف الحلاوي خارج الجسم الحي. ***مجلة الزراعة العراقية*** (عدد خاص). 14(6): 25-34.

الراوي، خاشع محمود وخلف الله ، محمد عبد العزيز1980. ***تصميم وتحليل التجارب الزراعية*** . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر،جامعة الموصل، 488 صفحة .

سلمان، محمد عباس 1988. ***أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية***، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي– جامعة بغداد .

غالب، حسام حسن 1990. ***تكاثر النبات – المبادئ والممارسات***. الجزء الأول– كتاب مترجم – مطابع دار الحكمة – جامعة البصرة – العراق.

محمد، عبد العظيم ويونس ، مؤيد احمد 1991. ***اساسيات فسيولوجيا النبات***، الجزء الثالث ، كلية الزراعة – جامعة بغداد – العراق.

المعري، خليل وجيه 1995. ***إكثار نخيل التمر بوساطة تقنية زراعة الأنسجة النباتية*** ،كلية الزراعة– جامعة دمشق.

المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 2007 . ***الكتاب السنوي للاحصائيات الزراعية***، 27.

المياحي ، احمد ماضي وحيد 2008. إكثار بعض أصناف نخيل التمر النادرة (*Phoenix dactylifera* L.) بتقانة زراعة الأنسجة . ***أطروحة دكتوراه*** . كلية الزراعة– جامعة البصرة . 130 صفحة .

المراجع الأجنبية

Al-Kaabi, H. H., Rhiss, A. and Hassan, M. A. 2001. Effect of auxins and cytokinins on the *in vitro* production of date palm *Phoenix dactylifera* L. bud generative tissue and on the number of differentiated buds. Proc. 2nd Inter. Conf. On Date Palms Al-Ain, U. A. E. March, 2001:568-578.

Al-Khateeb, A. A. and Ali-Dinar, H. M. 2002. Date palm in Kingdom of Saudi Arabia: Cultivation, Production and processing Translation, authorship and Publishing Center, King Faisal University, Kingdom of Saudi Arabia, pp 188.

Al-Maarri, K. W. and Al-Ghamdi, A. S. 1997. Micropropagation of Five Date Palm Cultivars Through *in vitro* Axillary Buds Proliferation***. D. U. J. Agri. Sci.*** 13.

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

Auge, R.1984. Les phénomène physiologiques lies a La réalisation des culture *in vitro* In: La culture *in vitro* et ses applications horticoles Ed, Technique documentation. La Voisier Paris. pp: 152

Aurelia, S. J., Lusarkiewicz, P., Aleksandra, R. and Zygmunt, K. 2007. Influence of cultivar, explants source on *in vitro* growth of (*Cannabis Sativa* L.). ***Plant Genet***, 47:145-151.

Beauchesne, A., Zaid, A. and Rhiss, A. 1986. Meristematic

potentialities of bottom of young leaves to rapidly propagate date palm. Proceeding of the second symposium on date palm. March 1986. King Faisal University. (1): 87-94.

Corley, R. M. V., Lee, G. H., Law, A. M. and Wang, C. Y. 1986. Abnormal flower developement in oil palm clones. Planter-Kuala Lumpur. 62: 233-240.

Diaz-Perez, J. C., Shakel, K. A. and Sutter, B. 1995. Effect of *in vitro* formed roots and acclimation on water status and gas exchange of tissue cultured apple shoots. ***J. Amer. Soc. Hort. Sci***. 120: 435-440.

Flick, C. K., Evans, D. A. and Sharp, W. R. 1983. Organogenesis. In. Handbook of Plant Cell culture. Macmillan Publishing Company, New York. Gaber, M. F. and Tisserat, B.1985. Propagation palm *in vitro* with special emphasis on the ***date palm. Sci. Hort.*** 25: 255-262.

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

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

Nehra, N. S. and Kartha, K. K. 1994. Meristem and shoot tip culture: requirements and applications .In Plant Cell and Tissue Culture. Eda. Vasil, I. K. and Thorpe, T. A. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands. pp: 37-70.

Sharma, D. R., Chowdhury, J. B., Neelam, R. Y. and Chowdhury, V. K. 1991. *In vitro* multiplication of female date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Bulletin-dela-Societe-Botanique-de-France, Actualite Botanies 137: 3-4, 15-23 Presented at the Symposium Entitled Impact of Biotechnology in Agriculture Organized by the Botanical Society of France. Held at Amiens, France.

Taha, H. S., Bekheet, S. A. and Saker, M. M. 2001.Factors affecting *in vitro* multiplication of date palm. ***Biologia Plantarum.*** 44 (3): 431-433

Tisserat, B. 1984. Propagation of date palm by shoot tip culture. ***Hort Sci.*** 19: 230-231.

Tisserat, B. 1987. Palms. In Bonga ,J. M. Durazan, D. J. (Eds). Cell and Tissue culture in forestry, Nishoff. Dordrecht, Boston, Lancaster..3: 338-356.

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

Torrey, J. K. 1967. Development of flowering plant .The Marmillan Company. New York. p: 112-134.

Wang, P. J. and Charles, A. 1991. Micropropagation through meristem culture .In Bajaj, Y. P. S. (eds), Biotechnology in Agriculture and Forestay, Vol. 17 High-tech and Micropropagation. Springer. Verlag, Berlin, Heidelberg. pp: 32-52.

Zaid, A. 1984. *In vitro* browning of tissues and media with special emphasis to date palm cultures: A review. ***Date Palm J***., 3:269-275.

Zaid, A. and De-Wet, P. F. 2002. Date palm propagation, FAO, Rome. pp:156.

Zouine, J. and El-Hadrami, I. 2004. Somatic embryogenesis in *Phoenix dactylifera* L.: Effect of exogenous supply of sucrose on proteins, sugar, phenolics and peroxidases activities during the embryogenic cell suspension culture. ***J. Biotech.*** 3 (2): 114-118.

In vitro Propagation of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Khaddrawi by Direct Organogenesis

Ahmed Madi Waheed AL-Mayahi [1]

ABSTRACT

The present invistigation was conducted to study direct shoot initiation on date palm shoot (cv. Alkhaddrawi) from different explants source .The rsuults showed that different explants cultured on MS medium supplemented with Indol-3-butyricacid (IBA) and benzyladenine(BA) at 4.0 and 1.0 mg/L, respectively stimulated the growth of ex-plant and their development of combination 4.0 mg/L 2iP + 2.0mg/L BA + 0.5 mg/LNAA) stimulated the emergence and proliferation of axillary buds. Micoshoots (2.5 cm) were rooted on medium supplemented with naphthalene acetic acid "NAA " at 0.1, 0.5 or 1.0 mg / L. Moreover, rooting formation increased up to70-80% with the using of NAA. On other hand, medium supplemented with 0.1 mg/L NAA resulted the best root quality. Acclimatization increase percentage when rooting ex-plant transferred into soil pots composed of perlit and peat moss 1:2.

Keywords: Tissue Culture, Axillary Buds, Date Palm, Growth Regulators.

1) Date Palm Research Center- University of Basrah, Iraq.
amw_mw@yahoo.com
Received on 3/7/2012 and Accepted for Publication on 26/3/2013.