

## الظواهر والتغيرات الوراثية في فسائل وأشجار نخيل التمر النسيجية

أ.د.عبدالباسط عودة ابراهيم

نخلة التمر كغيرها من النباتات تتكاثر بطريقتين هما التكاثر الجنسي (البذري) والتكاثر الخضري عن طريق الفسائل ومن طرق الاكثار الخضري الحديثه هي تقنية زراعة الأنسجة التي تنتج نباتات مشابهة ومطابقة للام وراثيا، وبنيت هذه التقنية على نظرية أساسية وهي أن كل خلية نباتية حية يمكن أن تتطور إلى نبات كامل إذا تم وضعها في ظروف ملائمة سواء من البيئة الغذائية أو من الإضاءة والحرارة، وتزرع هذه الخلية في أنابيب اختبار أو أوعية خاصة .استخدمت هذه التقنية في الاكثار الواسع لنخلة التمر وقد استخدمت طريقتين رئيسيتين في المختبرات المنتجة للغراس النسيجية وهي تكون الاجنة الجسمية

(Somatic embryogenesis) حيث يتكون الجنين الجنسي مباشرة من الأنسجة المستعملة أو أن يسبق تكون الجنين الجنسي خلايا (الكالس) وهي أنسجة غير متشكلة، وهذه الخلايا مأخوذة من الجمارة (البرعم القمي) أو ما يسمى القمة النامية في النخلة، وطريقة التبرعم او تكشف الاعضاء ( Organogenesis ) وهي التعضد أو التبرعم وهاتان طريقتان إما أن يتم تحفيز البراعم الأساسية الموجودة في الجمار في آباط الأوراق على أن تتضاعف وتعطي براعم، أو أن يتم تشجيع الأنسجة البراعم أو الجمار على أن تكون نموات خضرية عرضية، كلتا الطريقتين طرق تجارية سائدة، ولكن الشائع منها الأجنة الجسدية وهي الأسهل، لإنتاج اعداد كبيرة من الغراس بينما التبرعم أو التعضد هي طريقة تجارية ينصح بها الكثير ولكنها صعبة ومقتصرة على مختبرات محدودة عالميا.

تتطلب تقنية الاكثار بالزراعة النسيجية الدقة والمهارة من الشخص الذي يعمل فيها تجنباً لحالات التلوث لأن الأعضاء والخلايا تزرع على أوساط غذائية معقمة وخالية من أي مصادر ميكروبية أو كائنات دقيقة بحيث يستطيع النبات أن ينمو على الوسط الغذائي الذي يتم تحديده حسب حاجة النبات وحسب نوعه ومصدره، والوسط غذائي يتكون من عناصر غذائية كبرى وصغرى وفيتامينات وهرمونات ومصدر الطاقة (السكر) وأحيانا مصادر مانعة للتأكسد مثل الفحم المنشط، هذه المكونات تستحث نمو الخلايا حتى ينمو النبات في مراحل مختلفة، تتطلب هذه التقنية إعادة الاستزراع المتتابع اوما يسمى إعادة الاستزراع المتنامي حتى يستطيع النبات في مراحل مختلفة أن يحصل على غذاء متوافر في كل مرحلة، والنبات يحضن في بيئة يتم التحكم فيها بدرجة الحرارة وشدة الإضاءة وفترات الإضاءة للمراحل المختلفة حتى ينمو النبات وتتكون

الأوراق و الجذور ، وقد سجلت الكثير من التباينات أو النمو غير الطبيعي على نخيل الأنسجة حيث تم توثيق (12) حالة او ظاهرة تغاير على نخيل الأنسجة مختلفة تماما عما هو موجود، فقد لوحظت اختلافات وراثية بنسب عالية بعضها وصل إلى 100 % وتشوهات خضرية وصلت نسبة عالية .ومن هذه الاختلافات الغير طبيعية في نخيل الأنسجة منها (فشل التلقيح والتأخر في ظهور الطلع وتقرم الفسائل ، والعديد من الحالات الشاذة) التي سيتم التطرق لها بالتفصيل ومعرفة اسبابها وكيفية حدوثها .

## الفصل الاول/ طرائق إكثار نخيل التمر

### 1 - الطريقة الجنسية (Sexual propagation) / زراعة البذور

### 2- الطرائق الخضرية (Vegetative Propagation)

#### ❖ الإكثار بالفسائل الارضية والهوائية Aerial(High) offshoot

#### ❖ الإكثار بزراعة الأنسجة

الزراعة النسيجية هي التقنيات التي تعتمد على زراعة أجزاء نباتية معينة تحت ظروف معقمة ولفترة محددة حتى يتم استجابة هذا النسيج أو الجزء النباتي ومواصفات الجزء النباتي المنزرع هي (توفره على مدار السنة/سهل الفصل عن النبات الأم دون اية اضرار /لديه القدرة على النمو والتمايز)، وعادة تمر هذه التقنية بعدة مراحل ابتداءً من فصل هذا النسيج من النبات الأم وزراعته على البيئة المغذية إلى مرحلة الحصول على نباتات كاملة لها القدرة على النمو في الحقل تحت الظروف البيئية الطبيعية ، وقد وصف هذه المراحل في بادئ الأمر العالم Murashige في عام 1974 حيث قسمها إلى ثلاث مراحل رئيسة تتعلق بالمرحلة التطورية التي يمر بها النسيج المنزرع في البيئة المغذية (مرحلة إنشاء المزرعة النسيجية ، مرحلة التضاعف على البيئة المغذية ، مرحلة تكوين الجذور) إلا أن هذه المراحل الثلاث أضيفت إليها حديثاً مرحلتان هامتان تتعلق إحداهما بإعداد النبات الأم ، والأخرى بتهيئة النباتات الناتجة من زراعة الأنسجة للأقلمة في ظروف الحقل الطبيعية وبهذا أصبحت المراحل التطورية التي تميز التكاثر بواسطة زراعة الأنسجة النباتية كالاتي :-

#### 1) إعداد النباتات الأم (الزراعة الأوليه ) Starting

#### 2) إنشاء المزارع النسيجية

3) التضاعف على البيئة المغذية

4) تكوين الجذور .

5) الأقامة .

ولكل من هذه المراحل متطلبات خاصة تختلف من مرحلة لأخرى وذلك للحصول على استجابة عالية للنسيج المنزرع .

## الفصل الثاني/ الخطوات الاساسية لتقانة الزراعة النسيجية

اختيار النبات الأم المناسب والسليم واختيار (الفسيلة) بحيث يكون محتوياً على الصفات الجيدة كافة

★ الخطوات العملية لزراعة الانسجه

اولا - تشريح الجزء النباتي (الفسيلة) بدقة ومهارة،

ثانيا - تعقيم الاجزاء النباتية

ثالثا - مانع الاكسدة

رابعا - تحضير الاوساط الغذائية

خامسا - الحموضة في الاوساط الغذائية pH

سادسا- الزراعة

سابعا -الأقامة

★ أهم الأجزاء المستعملة في إكثار النخيل بزراعة الأنسجة

★ اولاً/ ( الطريقة المباشرة) التبرعم الخضري (Direct organogenesis)

★ ثانيا / الأجنة الجسدية [Embryogenesis (الجسمية)]

★ ثالثاً/ استعمال الأنسجة الزهرية(الشماريح الزهرية)

★ رابعاً/ استعمال (الوريقات) الخوص

★ اهم مشاكل الزراعة النسيجية في المختبر.

1. التلون البني (الاسمرار) [Browning]

2. الأنسجة الزجاجية (Tissue Vitrification)

3. تكون الكالس على البراعم

4. عدم قدرة الكالس على تكوين الأجنة
5. التلوث البكتيري
6. صعوبة الأقامة (Acclimatization stage)

## الفصل الثالث/ التباينات الوراثية في نخيل التمر النسيجي

في اشجار نخيل التمر النسيجي فقد ظهرت العديد من الظواهر والمشاكل غير الطبيعية نخيل التمر في عدد من البلدان العربية والأجنبية، الامر الذي ولد العديد من التساؤلات عن مصير هذا النخيل والتقنية المستخدمة في إكثاره وسبب تخوف لدى الكثير من كثير من المزارعين والمستثمرين في زراعة نخيل التمر النسيجي في بعض البلدان العربية مما تسبب في توقف بعض مشاريعها التنموية والاستثمارية في زراعة النخيل وقد اكدت تقارير علمية حدوث الاختلافات الوراثية في النباتات المنتجة عن طريق الكالس الجنيني وقد بين Tisserat، (1983) بضرورة متابعة شتلات النخيل النسيجية الناتجة من زراعة الكالس الجنيني ومقارنة الصفات الظاهرية لنموها الخضري ونوعية ثمارها مع النبات الام بعد الزراعة في الحقل ولفترة طويلة . ولوحظ ان الاكثار عن طريق الكالس وتمايزه الى اجنة جسمية او براعم عرضية ادى الى حدوث تغيرات وراثية في النباتات الناتجة بنسب اكبر من طريقة التكوين المباشر للأعضاء وهذا بفعل التحول من النمو المنتظم الى النمو غير المنتظم (Disorganized growth )، و اشار Gabr و Tisserat ، (1985) الى اهمية نقل نبيتات نخيل التمر المنتجة في الأنابيب وزراعتها في الحقل والانتظار حتى إزهارها وإثمارها، ولعدة مواسم، مع متابعة ورصد طبيعة طوري النمو الخضري والثمري واجراء تقييم لها والتأكد من ثبات الصفات الظاهرة والباطنة وصمودها وانتقالها عبر الفسائل المفصولة منها، ونصحا باستخدام طرق التكاثر المباشر بتحفيز نمو وتمايز البراعم الإبطية بزراعة البراعم الطرفية والجانبية او زراعة اجزاء خضرية ذات نمو نشط مفصولة من الصنف المراد إكثاره وتحفيز التكوين المباشر للأعضاء العرضية لضمان عدم حدوث تغيرات مختلفة عن الاصل ، ، ان معظم حالات الشذوذ او الاختلاف المظهري التي تحدث في النخيل النسيجي هي من هذا النوع .(الخطيب،2005).ويتوقف معدل حصول الطفرات او التغيرات الوراثية في النخيل النسيجي ونسبة حدوثها على عدة عوامل منها:

- 1) التركيب الوراثي ونوع الجزء النباتي المستخدم في الاكثار النسيجي.
- 2) طريقة الاكثار المستخدمة من قبل المختبر المنتج.
- 3) انواع وتراكيز منظمات النمو المستخدمة في الاوساط الغذائية.

- 4) معدل التضاعف وعدد مرات اعادة الزراعة وعمر الزروعات في المختبر.
- 5) طول فترة الاحتفاظ بالمزرعة النسيجية في المختبر.
- 6) طبيعة الصنف المستخدم في الاكثار النسيجي حيث لوحظ ان نسبة التغيرات تختلف من صنف لآخر وكذلك تختلف نسبة التغير في صفة معينة من صنف لآخر.

#### ❖ الدراسات الميدانية Field performance

العديد من الباحثين درسوا الحالات التي ظهرت على النخيل النسيجي ومنهم

(2005) Al-Kaabi and Zaid و (2006) Al-Mazroui *et al.* و الواصل (2006) وعوين (2006) الذي اشر الى حدوث نسبة من التغيرات مسجلة في دول مختلفه حيث سجلت في كاليفورنيا والاردن على نخيل المجهول وفي السعودية على البرحي والخلاص والسكريوالمجهول والعجوة وفي ناميبيا على صنف بومعانا فينيجريا فسجلت على صنف البرحي والسكري وعلى عدة اصناف في اليمن منها هلال ولولو وبو معان وخنيزي وخصاب وخلص وبرحي لكن اوسع وابرزها الدراسة المسحية للتباينات الوراثية في نخيل التمر النسيجي التي قام بها الواصل (2006) في المملكة العربية والسعودية والمملكة المغربية ي نظراً لوجود نخيل نسيجي بأعداد كبيرة في تلك الدولتين ولاختلاف التقنية المتبعة في إنتاجه ،في المملكة العربية السعودية أجريت الدراسة في منطقة القصيم احد أكبر مناطق زراعة النخيل في المملكة ولوجود عدد كبير من بساتين نخيل الأنسجة والتي تحتوي على أعداد كبيرة من أصناف نخيل التمر النسيجي ومن مختبرين مختلفين احدهما محلي والآخر أجنبي. كما أن النخيل النسيجي المزروع في المملكة العربية السعودية ناتج من طريقة الأجنة الجسدية. تم في هذه الدراسة تقييم النخيل النسيجي خضرياً وثمرياً وتسجيل الظواهر غير الطبيعية ونسبها وبعض المعلومات الهامة من قبل المزارع كمصدر النخيل وتاريخ الزراعة والعمليات الزراعية وطريقة التلقيح. وقد أجريت الدراسة خلال موسمين لضمان الحصول على نتائج دقيقة ،و شملت الأصناف ( برحي، سكري، خلاص، دقلة نور، نبتة سيف، مجهول).

سجلت الدراسة عدد من الظواهر الوراثية والمتمثلة بالتقزم وبطئ النمو ، التشوهات في الشكل الظاهري، انحناء القمة النامية، فقد الكلوروفيل، فشل الأزهار في تكوين الثمار (شيص)، وتعدد الكرابل. وتعتبر ظاهرة التقزم وبطئ النمو وتشيص الثمار وتعدد الكرابل هي اعلى حالات سجلت للتغيرات الوراثية وكما يلي:

- 1) تراوحت نسبة الشيص في أغلب الأصناف من 20-100% في البستان ، عدا صنفى المجهول والثوري التي لم يسجل عليهما ظاهرة الشيص. وتباينت الأصناف فيما بينها في نسبة حدوث الشيص حيث كانت الأعلى في البرحي ثم الخلاص ثم نبتة سيف، وبلغت نسبتها في بعض البساتين 100% . أظهرت الفسائل المفصولة من أمهات نخيل نسيجية لصنف البرحي نفس سلوك أمهاتها من حيث ظاهرة الشيص ونسبتها وتعدد الكرابل. حيث بلغت النسبة 70-80%،
- 2) التقزم وبطئ النمو فتراوحت نسبتها بين 2-25% حسب الصنف .
- 3) سجلت اعلى نسبة للتشوهات الخضرية وأنحاء القمة في صنف السكري (1-50%).
- 4) قدر عدد الكرابل في الكثير من أصناف النخيل النسيجي ما بين 4-9 كرابل.

بن عبدالله (2011) في دراسة على نخيل البرحي والمجهول المزروع ناميبيا وتركزت على 2700 نخله من صنف البرحي المنتج في مختبر DPD في بريطانيا و1846 نخله من صنف المجهول الوارد من عدد من المختبرات العالمية ،بين اهم التغيرات الحاصلة في الاشجار على النحو التالي:

- 1) كبر وتضخم حجم السعف
- 2) فشل العقد وتاخر الأثمار
- 3) التقزم والنمو البطيء
- 4) تشوه النمو ومظهر النخلة حيث بلغت التشوهات والتغيرات في صنف البرحي 3.2% بينما كانت في صنف المجهول 11.86%

وحدد اسباب التباينات الوراثية كما يلي:

- 1) استخدام التراكيز العالية من الاوكسينات وخاصة 2,4-D وNAA في استحثاث نشوء الكالس حيث تعمل هذه المنظمات في الوسط الغذائي كمطفرات (Mutagens) تعمل على احداث تغيرات من خلال تأثيرها على انقسام الخلايا وعدم انتظام النمو و حدوث التوالد الانتخابي لنوع معين من الخلايا .

2) طول فترة استخدام الكالس وكثرة النقلات اي اعادة الزرع ( Number of subculture ) لها دور في حدوث التغيرات الجسمية .

3) ظروف المختبر وكفاءة ودقة العاملين

هناك العديد من الأبحاث التي رصدت تلك الظاهرة فى شتى بقاع عالم النخيل والتي انحصرت معظمها في الحالات التالية:

- فى عدم إزهار او اثمار النباتات فى مراحل متقدمة من العمر وصلت لأكثر من 12 عام بعد الزراعة،
- إنقطاع او قلة عدد الفسائل المنتجة،
- الفسائل مشوهة الأوراق،
- نباتات متقزمة خاصة فى سنوات عمرها الأولى،
- إنتاج اوراق غير مشابهة للأصل تغير فى حجم خوص ،
- فشل فى العقد.

وقد يختلط الأمر مع عمليات نصب باستخدام بادرات ناتجة من زراعة بذور وبيعها على انها شتلات ناتجة من الاكثار بزراعة الانسجة. لذا يجب ان تكون هناك شهادات بصمة وراثية وان يكون الشراء من مصادر موثوقة مع اخذ الضمانات من الشركة للتعويض فى حالة زيادة نسبة النباتات المغايرة عن النسبة المتعارف عليها والمسموح بها 5-10%.

#### ❖ اهم التغيرات الوراثية المسجلة على النخيل النسيجي

من خلال المتابعة والمناقشات مع المختصين تشير المعلومات الى انه عند التفكير باكثار صنف معين نسيجيا يجب عدم اخذ فسائل من نخلة ام اصلها نسيجي ويمكن القيام بذلك واخذ فسائل من ام نسيجية يكون مضى على اثمارها 15 سنة فاكثر للتأكد من الثبات الوراثي وعدم حصول اي تغيرات، كذلك ينصح بعدم استخدام الروايب الناتجة على فسائل ونخيل نسيجية في الاكثار النسيجي.

اولا- التغيرات في النمو الخضري(التشوهات الظاهرية /المورفولوجية)

- 1) ظاهرة التقزم Dwarfism
- 2) انحناء القمة النامية Shoot tip bending
- 3) النمو الخضري القوي Excessive Vegetative growth والتأخر في الإزهار لإثمار.
- 4) التغيرات في شكل السعف و الخوص
- 5) التواء في نصل السعف
- 6) التشوه والنمو غير الطبيعي لسعف (أوراق) الشتلات والفسائل النسيجية.
- 7) فقدان صبغة الكلوروفيل في الاوراق
- 8) كثرة تكون الرواكيب (الفسائل الهوائية )

### ثانيا -التغيرات في النمو الزهري

- 1) ظهور ثمار بكرية على النبيتات
- 2) فشل عقد الأزهار (شيص) Parthenocarpy
- 3) تعدد الكرابل
- 4) التشوهات في الطلع وشكل الشماريخ و حامل النورة الزهرية
- 5) انحناء وتعرج (Zigzag) الشماريخ.

### ثالثا - التغيرات في الثمار

- 1) فقدان صبغة الكلوروفيل في الثمار
- 2) التباين في طول الشماريخ الثمرية
- 3) قصر حامل العنق (العرجون) ، و قصر الشماريخ في العذوق.
- 4) تغير اللون في الثمار
- 5) التغير في المحتوى الكيميائي للثمار
- 6) التغير في شكل وحجم الثمرة

### رابعا - الحساسية للإصابات المرضية والحشرية

## الفصل الرابع/ اسباب حدوث التغيرات الوراثية

- انواع الطفرات

اولا- الطفرات الكروموسومية Chromosomal mutation

ثانيا- الطفرات الجينية Genetic (point) mutation

❖ أسباب حصول التباينات الوراثية لفسائل النخيل المنتجة نسيجيا

(1) التقنية المستخدمة

(2) طول مدة بقاء النباتات وعدد مراحل الاكثار وزيادة عدد مرات الزراعة

(Number of Subcultures)

(3) نوع الجزء النباتي المستخدم في بداية مرحلة الإكثار

(4) عمر الفسائل ووقت فصل الفسائل من النبات الأم

(5) منظمات النمو

❖ ألية حدوث التغيرات الوراثية

وجود ثلاث انواع شائعة من التغيرات التي تحدث في مزارع الخلايا والانسجة النباتية هي:

(1) تغيرات في المادة الوراثية Genetic change

(2) التغيرات غير المتوارثة Epigenetic changes

(3) التغيرات الفسيولوجية physiological changes

❖ تأثير منظمات النمو على التغيرات في الزراعة النسيجية

❖ تأثير الأشعة فوق البنفسجية (UV) (Ultra-violet radiation)

❖ تأثير - اشعة أكس (X-ray) .و- اشعة كاما (Gamma ray) .

❖ الاهمية الاقتصادية للتغيرات الوراثية

مما لا شك فيه أن التغيرات التي سجلت على نخيل الأنسجة تختلف فيما بينها في نسبة حدوثها وأثارها الاقتصادية. وتعتبر ظاهرة فشل عقد الأزهار والنقرم والتشوهات الظاهرية خاصة انحناء القمة النامية في بعض الأصناف من أهم الظواهر التي تحدث أضرار اقتصادية. وبالرغم من تباين النتائج التي نشرها عدد من الباحثين لنسب حدوث تلك الظواهر وغيرها وأثارها السلبية. والسؤال الذي يطرح نفسه: ما هي معدل الطفرات الوراثية التي يمكن قبولها في نخيل الأنسجة؟. وللإجابة على هذا السؤال يجب أن يأخذ في عين الاعتبار النقاط التالية:

- 1) نخيل التمر من أشجار الفاكهة المعمرة والتي تأخذ من 4-5 سنوات لإزهارها وإثمارها بعد زراعتها في البستان.
- 2) التكاليف المادية للعمليات الزراعية التي يحتاجها نخيل التمر .
- 3) المطابقة مع الاصل مهمة جدا في الزراعة النسيجية لنخيل التمر لعدة اسباب منها ارتفاع سعر الغراس النسيجية وفي حالة عد المطابقة فذلك يعني خسارة مالية كبيرة للمزارع.
- 4) نخيل الأنسجة ينتج عدد كبير من الفسائل مقارنة بالنخيل ذو المصدر الفسيلي.
- 5) الفسائل الناتجة من أمهات نسيجية غير سليمة غالباً ما يسلك الكثير منها سلوك أمهاتها غير الطبيعية، خاصة ظاهرة فشل عقد الثمار (شيص).
- 6) ان حالات التباينات الوراثية السابقة الذكر لا يمكن التأكد من وجودها الا بعد عدة سنين من الزراعة في الحقل وبالتالي فان ذلك سوف يعرض مزارعي النخيل الى المخاطرة برأس المال و الجهود المبذولة، وبناء على ذلك فان النباتات المكاثرة نسيجيا وخاصة باستخدام تقنية الاجنة ( Embryogenesis ) يجب أن تخضع لتحاليل جينية دقيقة من أجل الكشف عن النباتات المغايرة ( Plants-off-type ) و استبعادها وذلك لضمان حقوق المزارعين و المستثمرين