مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2010) ــ المجلد (26) ــ العدد 2 ــ الصفحات: 129-145

تأثير بعض معاملات الإكثار المخبري الدقيق لنسيج نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف «القنطار» في نضج الأجنة الخضرية وإنتاج النبيتات

وحيد المياحي[1] و أحمد ماضي[1]

الملخص

أُجري هذا البحث لدراسة مدى استجابة نخيل التمر صنف "القنطار" للإكثار بالأنسجة بطريقة تشكل الأجنة الخضرية (الجسمية) باستخدام أرباع البراعم القمية والبراعم الإبطية والبادئات الورقية كمستزرعات أولية (Explants). بيّنت هذه الدراسة تفوق نسيج أرباع البراعم القمية في النسبة المئوية لنشوء الكالس الأولي، في حين سجلت البراعم الإبطية أقل نسبة للاستجابة، كما بينت هذه الدراسة أن أعلى نسبة من الأجنة الناضجة المستزرعة حصلت على الوسط المزود بتراكيز مختلفة من الفيتامينات Pyridoxine-Hcl و Thiamin-Hcl و Nicotinic acid و Myo-inositol و Biotin وعلى التوالي 1.0 و5.0 و1.0 و100 و1.0 مغ/لتر لكل منها وبإضافة $^3/_4$ تركيز أملاح MS. وتميز الوسط الغذائي المزود بتركيز كامل من أملاح MS وبإضافة 1 مغ/ لتر NAA بتفوقه في كل من النسبة المئوية لتجذير النموات الخضرية وأعداد الجذور المتكونة وأطوالها مقارنة بالمعاملات الأخرى. في حين تميز الوسط المزود بـ $^1/_4$ تركيز أملاح MS بعدم تحفيزه نشوء أي من الجذور على النباتات.

الكلمات المفتاحية: زراعة الأنسجة مخبرياً (*In Vitro*)، الأجنة الجسمية (الخضرية)، نخيل التمر.

[1] مركز أبحاث النخيل والتمور، جامعة البصرة، العراق.

Effect of Some Micropropagation Treatments of Date Palm *Phoenix Dactylifera* L. cv. "Quntar" On The Maturation of Somatic Embryos and The Formation of Plantlets

W. AL-Mayahi[1] and A. Madi[1]

ABSTRACT

This study was conducted on the date palm cv. Quntar, in order to study its response to the propagation by tissue culture through somatic embryogenesis by using quarters of the apical and whole axillary buds and leaf primordial explants. The study showed superiority of the apical buds in the percentage of the initial induction primary callus, axillary buds were registered the lowest rate of response. While the highest percentage of mature embryos on the medium which supplemented by view vitamins which were (Pyridoxine and Thiamin-Hcl and Nicotine and Myo-inositol and Biotin) at concentrations (1.0 and 5.0 and 1.0, 100, 1.0) mg/ L, respectively, with a $^{3}/_{4}$ of MS salts MS strengths. The medium supplied with full strength MS salts with 1 mg / l NAA showed superiority in the root percentage, root numbers and length in comparison with the others treatments .While the medium with a $^{1}/_{4}$ MS salts inhibit any root induction of plantlets.

Key words: Tissue culture (*In vitro*), Somatic embryo, Date palm**.**

[1] Date Palm Research Center, Basrah Univ. Basrah, Iraq .

المقدمة

تعدُّ نخلة التمر *hoenix dactylifera* L. من الأشجار المباركة التي ورد ذكرها في آيات كثيرة من القرآن الكريم، كما تعدّ نخلة التمر مصدراً اقتصادياً كبيراً وغذائياً جيداً لكون ثمارها غنية بالسكريات والفيتامينات والعناصر المعدنية والطاقة، كما أنها تدخل في العديد من الصناعات الغذائية (حسب البكر،1972).

ونظراً إلى الصعوبات التي تواجه إكثار النخيل بالطرائق التقليدية التي تتمثل بقلة أعداد الفسائل المتكونة على الشجرة الأم ، كما أن إكثار النخيل بالفسائل يكون بطيئاً إذ يجب أن تبقى الفسائل متصلة بالشجرة الأم مدة تراوح بين 2-3 سنوات حتى تكون مجموعة جذرية متطورة قبل فصلها، علاوة على أن فصل الفسائل عملية مكلفة ومجهدة وتحتاج لعناية كبيرة للحفاظ على منطقة الفصل دون تلوث فضلاً عن التفاوت الكبير في نسبة نجاح الفسائل المزروعة في التربة. فقد اتجه العلم إلى استخدام تقنية زراعة الأنسجة مخبرياً (*In Vitro*) كوسيلة حديثة لإكثاره واتبع إكثار نخيل التمر بزراعة أنسجته مخبرياً بطريقة تحفيز الكالس وإنتاج الأجنة الخضرية من قبل العديد من الباحثين مثل (Sudhersan *et al*.,1993; Letouze *et al*.,1998; Eshraghi *et al*., 2005; Eke *et al*., 2005). كما تستعمل هذه الطريقة في الوقت الحاضر في الإكثار التجاري من قبل عدة شركات عالمية متخصصة في هذا المجال (Amin, 2001). تتطلب الخلايا النباتية المكثرة بزراعة النسيج مخبرياً تزويدها بالعناصر المعدنية الكبرى والصغرى فضلاً عن مجموعة من الفيتامينات منها الثيامين Thiamin-Hcl وحمض النيكوتين Nicotinic acid والبيريدوكسين Pyridoxine-Hcl والبيوتن Biotin (Gamborge and Shyluk,1981). وعموماً تزود أغلب الأوساط الغذائية المستخدمة في زراعة الأنسجة بالفيتامينات لكونها من المركبات النيتروجينية التي تسهم في تحفيز النمو (Bhojwani and Razdan,1983). وقد أظهرت الدراسة التي أجريت على مجموعة من الفيتامينات وهي البيريدوكسين- Hcl وحمض النيكوتين وبنتوثينيت الكالسيوم Calcium-Pantothenate والبيوتن وجود 0.5 مغ/لتر من الثيامين- Hcl كمعاملة ثابتة في تكوين الأجنة الخضرية المتكونة على الكالس الجنيني لنخيل التمر صنف البرحي المزروع نسيجياً في المخبر تفوق الوسط المزود بفيتامين البيريدوكسين في كل من عدد الأجنة الخضرية بمعدل 65 جنيناً وبلغت النسبة المئوية للإنبات 65% (محسن وآخرون، 2006). وقد أدت إضافة الفيتامينين البيوتن والبيريدوكسين-Hcl بتركيز 2 مغ/لتر إلى كل منهما إلى تقصير المدة اللازمة لتكون الأجنة الخضرية والحصول على أعلى معدل لوزن الأجنة المتكونة، كما حققت المعاملات ذاتها تفوقاً في أطوال الأجنة (سعد، 2008). تستخدم طريقة تحفيز نشوء الأجنة الخضرية في إكثار العديد من النباتات ومن ضمنها

جنس النخيل *Phoenix*, كما أن تقليص المدة التي تطلبها الأنسجة خلال مراحل نموها يعدُّ من الأمور المهمة في زراعة الأنسجة. وسرعة الحصول على أجنة ناضجة يعكس مدى نجاح الإكثار بهذه الطريقة، إذ يتطلب الحصول على أجنة ناضجة إعادة زراعتها عدة مرات على أوساط غذائية خاصة بتحفيز نمو تلك الأجنة ونضجها بغية زيادة نسبة الإنبات والتي بدورها تعطي فرصة أكبر في الحصول على نبيتات في وقت مبكر وبأعداد كبيرة. (المياحي، 2008)، علاوة عن تجنب التغيرات التي قد تحدث نتيجة لتكرار الزراعة. لذا هدف هذا البحث إلى تحديد تراكيز أملاح الوسط الغذائي في مراحل نمو الأجزاء النباتية كلّها وتحديد متطلبات الأنسجة من الفيتامينات التي من شأنها تحفيز نضج الأجنة بأقل عدد من مرات إعادة الزراعة وبما تضمن الحصول على أعداد كبيرة من النباتات المطابقة لنبات الأم True-to-type في مدة قصيرة والتي يمكن اعتمادها في إكثار النباتات على نطاق واسع.

مواد البحث وطرائقه

1- المادة النباتية

نُفذ هذا البحث في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لمركز بحوث النخيل في جامعة البصرة خلال موسم النمو 2008-2009، حيث استؤصلت البراعم الطرفية (Shoot tip) والبراعم الإبطية (Axillary buds) والبادئات الورقية (Leaf Primoridia) من فسائل نخيل التمر صنف "القنطار" التي تراوح أعمارها بين (3-4) سنوات، حيث يعد هذا الصنف من أصناف النخيل المتوسطة النضج والتي تزرع في منطقتي شط العرب وجنوبي العراق، جذع النخلة مائل للنحافة، السعف كثيف وطويل مقوس، الخوص قصير وعريض والأشواك كثيرة وكبيرة، فضلاً عن كونه من الأصناف الممتازة فإن ثماره تتميز بلون عسلي في مرحلة الرطب يتغير لونها إلى اللون الذهبي القاتم في مرحلة التمر وبقوام خال من الألياف وبنكهة مرغوب فيها، وتؤكل ثماره في مرحلتي الرطب والتمر (البكر، 1972).

2- التطهير السطحي

وضعت الأجزاء المستأصلة في محلول مضاد للأكسدة الذي يتكون من 150 مغ/ لتر حامض الستريك و100 مغ/ لتر حامض الأسكوربك (Zaid, 1984). أجريت عملية التطهير السطحي للأجزاء النباتية بوضعها في محلول هيبوكلورايت الصوديوم التجاري (5.25% مادة فعالة) بتركيز 20% (حجم:حجم) مع إضافة قطرة واحدة من المادة الناشرة "Tween-20" إلى كل 100مل مع التحريك بين مُدة وأخرى خلال 20 دقيقة، بعدها استخرجت الأجزاء النباتية من محلول التعقيم وغُسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات وتمت هذه العملية داخل حجرة انسياب الهواء الطبقي"Laminar Air Flow Cabinet".

3- الوسط الغذائي المستخدم

قُسّم البرعم الطرفي إلى أربعة أجزاء طولياً وزرع كل ربع برعم طرفي في داخل أنبوبة زجاجية معقمة، بينما زرعت البراعم الإبطية والبادئات الورقية كاملة، وسدت فوهات الأنابيب المزروعة بالقطن الطبي وغُلفت أعناقها بأوراق الألمنيوم واحتوت أنابيب الزراعة على الوسط الغذائي المكون من أملاح Murashige and Skoog, 1962 وأضيف إليها المواد التالية بالتركيز (بالمغ/لتر): فوسفات الصوديوم (170)، سلفات الأدنين (40)، سكروز (30000)، ميزاينوسيتول (100)، ثيامين (0.5)، مسحوق الفحم المنشط (2000) والأجار(6000). ولتحفيز الأجزاء النباتية على تكوين الكالس الأولي زودَ الوسط بأوكسين 2.4-D بتركيز 40 مغ/ لتر و2iP بتركيز 3 مغ/ لتر، وحُضنت المستزرعات في الظلام المستمر وفي درجة حرارة (27±1) مْ. قُيّمت استجابة الأجزاء النباتية من خلال المتابعات اليومية للمستزرعات لحساب النسب المئوية لكل من "البراعم الطرفية والبراعم الإبطية والبادئات الورقية" المكونة للكالس الأولي، وبعد الحصول على الكالس الأولي بكمية كافية جرت إعادة زراعته على أوساط غذائية جديدة والتي كانت تجرى كل ستة أسابيع، مع تحضين المستزرعات في درجة حرارة (27±1)مْ وشدة إضاءة "1000" لوكس وبمعدل "16" ساعة يومياً. حيث حفز ذلك تكون الكالس الجنيني بعد الزراعة الثانوية الثانية أي بعد 8-10 أسابيع من الزراعة الأولية.

4- المعاملات:

ــ دراسة تأثير استخدام تراكيز مختلفة من أملاح (MS) وتوافقات مختلفة من الفيتامينات في نضج الأجنة الخضرية

نُقل الكالس الجنيني إلى وسط (MS) مع المواد المذكورة أنفاً عدا إضافة الفيتامينات، حيث اختبرت عدة توافقات من الفيتامينات بحثاً عن تأثيرها في نضج الأجنة الخضرية (الجدول 1).

الجدول (1) التوافقات (التراكيز) المستخدمة من الفيتامينات في وسط MS.

الفيتامين	نوع التوافقات (التركيز مغ / لتر)		
	توافق 1	توافق 2	توافق 3
Pyridoxine	1.0	1.0	1.0
Thiamin-Hcl	0.5	1.0	5.0
Nicotinic acid	1.0	1.0	1.0
Myo-inositol	100	100	100
Biotin	0.1	0.5	1.0

كما اختبرت عدة مستويات كمية من أملاح (MS) وهي ($^1/_4$ و$^1/_2$ و$^3/_4$ وتركيز كامل) لدراسة تأثيرها في نضج الأجنة الخضرية. ودرست العلاقة بين التراكيز المختلفة

للأملاح المذكورة والتراكيز المختلفة للفيتامينات في نضج الأجنة الخضرية. ويستدل عادة على نضج الأجنة الخضرية لنخيل التمر من خلال زيادة حجمها، كما أنّ مظهرها الأبيض الكريمي غير الشفاف والممزوج بخضرة دليل نضجها. وقد استخدم 12 مكرراً في كل معاملة. حُضنت المستزرعات للشروط ذاتها المذكورة سابقاً. ولابد من الإشارة هنا إلى أن التخفيفات شملت المجاميع الخمسة وهي النترات والكبريتات والهاليدات والموليبدات والحديد المخلبي المضافة إلى الوسط الغذائي، كما أن كل توافق من متوافقات الفيتامينات استخدمت في تراكيز أملاح كلّها MS $^1/_4$ و$^1/_2$ و$^3/_4$ وتركيز كامل.

ــ دراسة تأثير التراكيز المختلفة من أملاح MS وNAA في التجذير

عُزلت النموات الخضرية وزرعت على الأوساط الغذائية المزودة بعدة تراكيز من أملاح (MS) وهي $^1/_4$ و$^1/_2$ و$^3/_4$ وتركيز كامل، كما جُهز الوسط الغذائي بعدة تراكيز من NAA وهذه التراكيز هي 0.0 و0.5 و1.0 و2.0 مغ/ لتر، لدراسة التأثيرات المختلفة لأملاح (MS) وتراكيز NAA كل على حدة والتداخلات فيما بينهما في النسبة المئوية للتجذير وأعداد الجذور المتكونة وأطوالها وقد استُخدمت عشرة مكررات من الأنابيب المزروعة بالنموات الخضرية لكل معاملة في تجربة النسبة المئوية للتجذير وستة مكررات في تجربتي أعداد الجذور المتكونة وأطوالها. وحُضنت المستزرعات في الشروط ذاتها المذكورة سابقاً.

– القراءات والتحليل الإحصائي

نفذت تجربة تأثير نوع الجزء النباتي في النسبة المئوية للاستجابة كتجربة بسيطة وحسب التصميم العشوائي الكامل، أمّا بقية التجارب فنفذت كتجارب عاملية وحسب التصميم العشوائي الكامل، وأجريَ اختبار الفرق بين المتوسطات باستخدام أقل فرق معنوي معدل (R.L.S.D) وبمستوى احتمال 5% اعتماداً على الباحثين الراوي وخلف الله، (1980).

النتائج والمناقشة

1- استجابة الأجزاء النباتية لتكوين الكالس

سجلت البراعم القمية المزروعة على الوسط الغذائي المزود بـ 40 مغ/ لتر من 2.4-D و3 مغ/ لتر من 2iP تفوقاً في حجم البراعم (الأجزاء النباتية المزروعة) مقارنة بالبادئات الورقية والبراعم الإبطية، في حين سجلت الأخيرة (ج) أقل تطوراً في حجم البراعم (الشكل1). وتميزت الأجزاء المزروعة بالزيادة في الحجم (الطول والقطر) واستمر نمو وتطور الأجزاء المزروعة، حيث بدأ الكالس بالظهور وكان واضحاً بالعين المجردة وبلون أبيض كريمي وبمظهره الهش (الشكل2أ). كما اتضح من دراسة تأثير

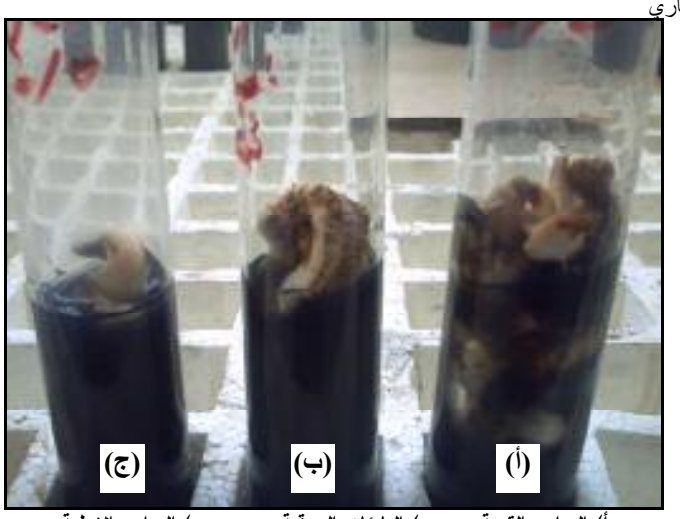
الأجزاء النباتية في النسبة المئوية لتحفيز نشوء الكالس الأولي تفوق البراعم القمية المزروعة على الوسط الغذائي المزود بـ 40 مغ/ لتر2.4-D و3 مغ/ لتر2iP وبنسبة 73.34% حيث تطلبت 37 يوماً، تلته البادئات الورقية حيث بلغت النسبة المئوية لتحفيز نشوء الكالس الأولي فيه 53.34 % وتطلبت مدة 69 يوماً، فيما سجلت البراعم الإبطية أقل نسبة للاستجابة إذ بلغت 33.34% وتطلبت مدة 73 يوماً (جدول 2).

يعدّ 2.4-D من أكثر الأوكسينات فعالية في تحفيز نشوء الكالس من أنسجة نخيل التمر (Abo-El-Nil,1986). وإنّ السبب وراء تفوق أرباع البراعم القمية مقارنة بالبادئات الورقية والبراعم الإبطية في إنتاج الكالس قد يعود إلى القطع سواء أكان عن طريق إزالة البادئات الورقية أو قطع القمة نفسها حيث حفز ذلك تكوين الكالس (Yadav *et al*., 2001). أوقد يعود اختلاف المحتوى الداخلي للأجزاء النباتية من الأوكسينات سبب تفوق البراعم القمية.

الجدول (2) تأثير نوع الجزء النباتي المزروع من فسائل نخيل التمر صنف القنطار في النسبة المئوية للاستجابة وتكوين الكالس الأولي .

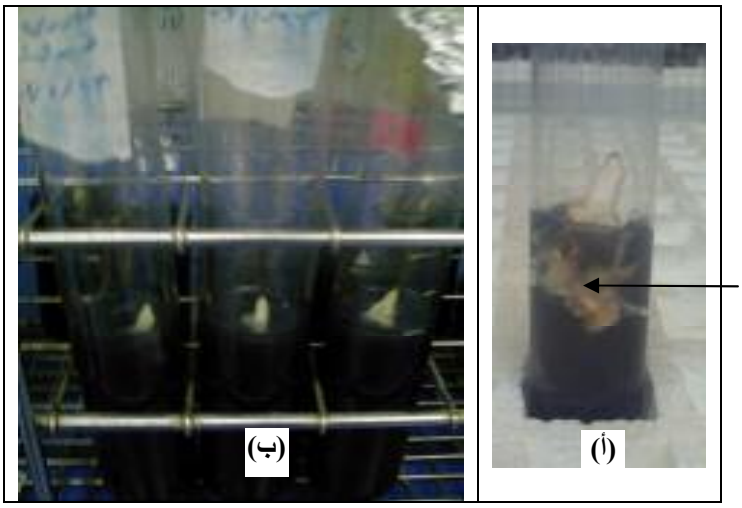
Explant type نوع النسيج النباتي المستخدم	النسبة المئوية للاستجابة (%) "تكوين الكالس"	المدة اللازمة لظهور الكالس(يوم)
البراعم القمية	473.3 a*±6.67	a73
البراعم الإبطية	433.3 c ± 6.67	73 b
البادئات الورقية	453.3 b ±6.67	69 b

* المعدلات التي يتبعها الحرف نفسه أو الأحرف لاتختلف عن بعضها معنويا على مستوى احتمالية 5%.
± الخطأ المعياري



أ) البراعم القمية ب) البادئات الورقية ج) البراعم الإبطية

الشكل (1) تأثير نوع الجزء النباتي المزروع في تحفيز الكالس الأولي لنخيل التمر صنف القنطار.



الشكل (2) تأثير مكونات وسط الزرع في تحفيز نشوء الكالس الأولي

(أ) تحفيز الكالس الأولي من أرباع البراعم القمية المزروعة على الوسط المزود بـ 40 مغ/ لتر من 2.4-D و3 مغ/ لتر من2iP حفز نشوء الكالس بعد مضي 37 يوماً من الزراعة

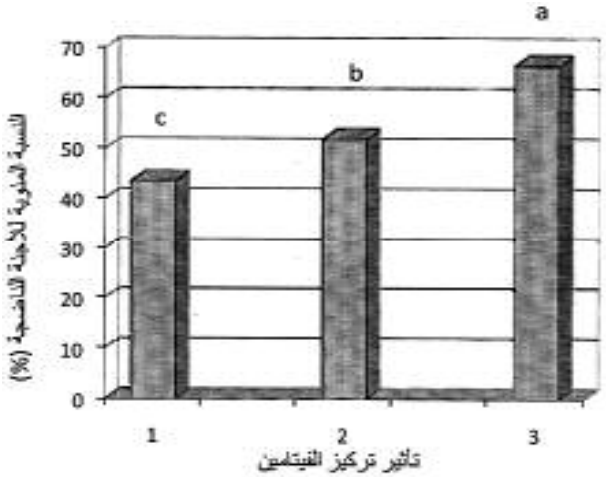
(ب) انعدام نمو وتطور أرباع البراعم القمية المزروعة على الوسط غير المزود بمنظمات النمو.

2- تأثير استخدام تراكيز مختلفة من أملاح MS والفيتامينات في نضج الأجنة الخضرية

تُظهر الأشكال (3 و4 و5) تأثير التراكيز المختلفة لكل من الفيتامينات وأملاح (MS) والتداخل فيما بينهما في النسبة المئوية للأجنة الناضجة والناتجة من البراعم القمية لصنف "القنطار" حيث يلاحظ من الشكل (3) أن أعلى نسبة مئوية للأجنة الناضجة قد سجلت على الوسط المزود بالتوافق (3) من الفيتامينات والتي بلغت نحو 66.67 %، فيما سجلت أقل نسبة مئوية للأجنة الناضجة على الوسط المزود بالتوافق (1) من الفيتامينات حيث بلغت نحو 43.75 %. وفيما يخص تأثير تراكيز أملاح MS تشير النتائج في الشكل (4) إلى وجود فروق معنوية بين المستويات المختلفة لأملاح (MS) بالنسبة المئوية للأجنة الناضجة، فقد أظهرَ الوسط الغذائي المزود بالتركيز $^3/_4$ من أملاح MS تفوقه المعنوي بالنسبة المئوية للأجنة الناضجة والتي بلغت نحو 69.45 % مقارنة ببقية المستويات، تلاه الوسط المزود بتركيز كامل من الأملاح المذكورة حيث بلغت النسبة المئوية للأجنة الناضجة فيه نحو 61.11 %، في حين سجلت أقل نسبة للأجنة الناضجة على الوسط المزود بـ $^1/_4$ التركيز من أملاح MS حيث بلغت نحو 33.34%.

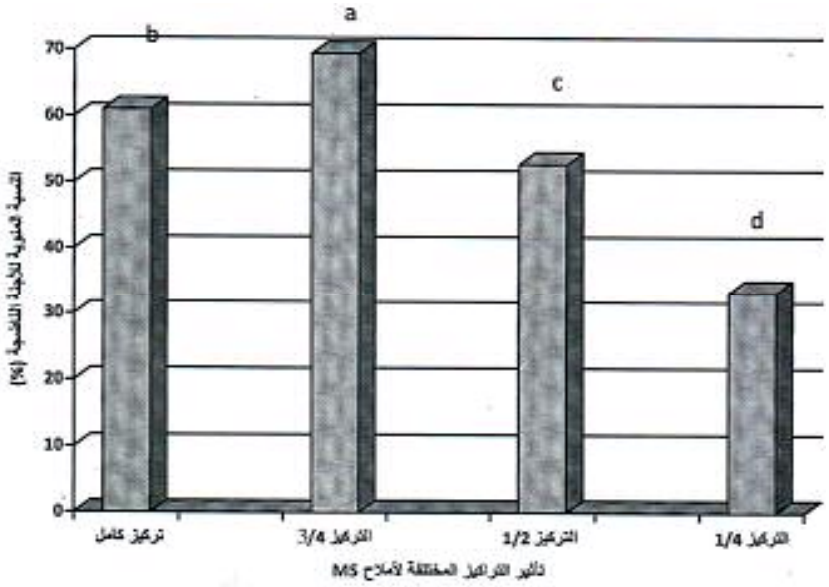
ومن دراسة التأثير المشترك للتوافقات المختلفة للفيتامينات وتراكيز أملاح MS يتضح من (الشكل 5) التفوق المعنوي للتداخل بين التوافق (3) من الفيتامينات و$^3/_4$ التركيز

لأملاح MS في النسبة المئوية للأجنة الناضجة مقارنة بالمعاملات الأخرى إلا أن التحليل الإحصائي لم يظهر فروقاً معنوية بينها ومعاملة التداخل المكونة من التوافق (3) من الفيتامينات والتركيز الكامل لأملاح MS ، فيما سجلت معاملة التداخل المكونة من التوافق (1) من الفيتامينات و$^1/_4$ التركيز لأملاح MS أقل نسبة للأجنة الناضجة والتي بلغت نحو 25% (شكل6).

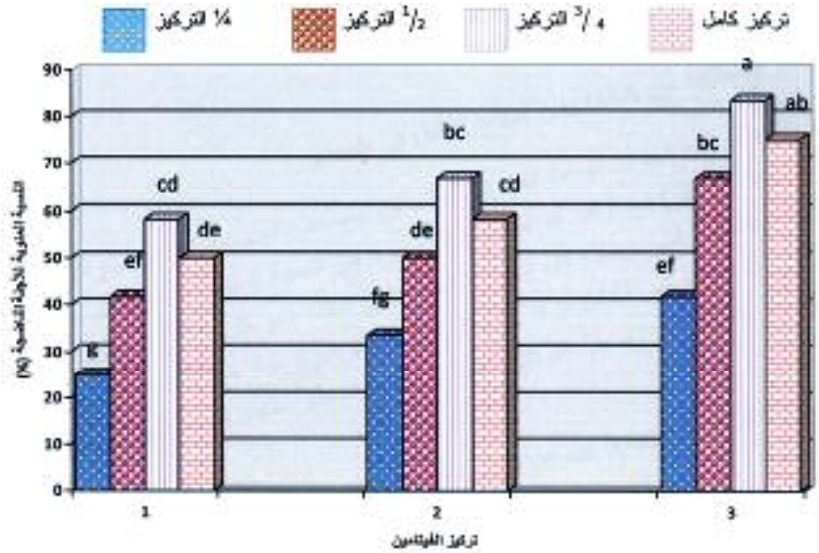


الشكل (3) تأثير التراكيز المختلفة من الفيتامينات في النسبة المئوية للأجنة الناضجة.

وعموماً تعدُّ طريقة تشكل الأجنة الجسمية (الخضرية) الطريقة الأكثر اتباعاً في إكثار نخيل التمر، كما يعدُّ الحصول على أجنة ناضجة عاملاً مهماً في الإنتاج التجاري نظراً إلى أن انخفاض نسبة الأجنة يسبب انخفاضاً في نسبة الإنبات والذي بدوره يؤثر سلباً في عدد النباتات الناتجة. وتشير النتائج إلى ضرورة تزويد الأوساط الغذائية بالتراكيز المناسبة من الفيتامينات لضمان الحصول على الأجنة الخضرية الناضجة، ويؤكد تفوق التركيز الثالث من الفيتامينات أهمية زيادة تركيز كل من الفيتامينين Thiamin-Hcl وBiotin، وأن وجود مقادير كافية من الفيتامينات قد تنعكس بصورة أفضل على الأداء الجيد للعمليات الحيوية داخل أنسجة الأجنة الخضرية لنخيل التمر (شكل6) حيث تنشط الفيتامينات تفاعلات الأيض المختلفة والتي بدورها تؤدي إلى تسريع انقسام البادئات المرستيمية للأجنة الخضرية، وهذا يتم عبر مشاركة الفيتامينات في عمليات الأيض المختلفة لتجهيز الطاقة بشكل ATP والتي تحتاجها خلايا الجنين المرستيمية مسببة بذلك تسريع تمايز الأجنة الخضرية، كما أن إضافة الفيتامينات بشكل مجموعات لها تأثير وقائي ومنشط للأنسجة النباتية المزروعة (المعري، 1995). كما تعدّ أملاح MS عاملاً مهماً في الوسط الغذائي لكونها تسهم بتزويد النسيج النباتي المزروع بالعناصر الغذائية الأساسية.



الشكل (4) تأثير التراكيز المختلفة لأملاح MS في النسبة المئوية للأجنة الناضجة .



الشكل (5) التأثير المشترك للتداخل بين تراكيز الفيتامينات وأملاح MS في النـــسبة المئويـــة للأجنة الناضجة.

الشكل (6) نمو الأجنة الخضرية: الجزء العلوي يمثل الأجنة النامية في الوسط المزود بالتركيز (1) من الفيتامينات و$^1\backslash_4$ التركيز من أملاح موراشيجي وسكوك، في حين يمثل الجزء السفلي الأجنة النامية في الوسط المزود بالتركيز(3) من الفيتامينات و$^3\backslash_4$ التركيز من أملاح موراشيجي وسكوك.

3- تأثير التراكيز المختلفة من NAA ومن أملاح (MS) في التجذير.

تشير النتائج في الجدول (3) إلى أن الوسط المزود بالنفثالين حمض الخليك (NAA) تراكيزه المستخدمة كافة 1 و0.5 و2 مغ/ لتر قد حققت تفوقاً معنوياً في النسبة المئوية لتجذير النموات الخضرية مقارنة بمعاملة الشاهد التي سجلت أقل نسبة للتجذير والتي بلغت نحو 17.5%، فيما أظهرت الأوساط المزودة بأملاحMS (التركيز الكامل و¾ التركيز و½ التركيز) تفوقاً معنوياً في النسبة المئوية للتجذير مقارنة بالوسط المزود بـ $^1/_4$ التركيز الذي انعدم فيه التجذير حيث بلغت نسبة التجذير فيه صفر.

الجدول (3) تأثير التراكيز المختلفة من أملاح (MS) وتراكيز NAA والتوافقات فيما بينهما في النسبة المئوية لتجذير نموات النخيل صنف القنطار المكثرة نسيجياً.

المعدل	تراكيز أملاح (MS)				تراكيز NAA
	تركيز كاملة	$^3\backslash_4$	$^1\backslash_2$	$^1\backslash_4$	(مغ/ لتر)
17.5 b	30 b	30 b	10 bc	0 c	**0.0**
67.5 a	90 a	90 a	90 a	0 c	**0.5**
67.5 a	90 a	90 a	90 a	0 c	**1.0**
55.0 a	70 a	70 a	80 a	0 c	**2.0**
	70 a	**70 a**	**67.5 a**	**0.0 b**	**المعدل**

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

وحققت التأثيرات المشتركة للتداخل بينNAA عند التراكيز 0.5 و1 و2 مغ/ لتر وأملاح MS بالتراكيز 1 و¾ و½ تفوقاً معنوياً في النسبة المئوية للتجذير مقارنة بمعاملات التداخل لكل من الأوساط غير المزودة بـ NAA والحاوية على أملاح MS وبتراكيزها كلّها، ومع معاملات التداخل لـ NAA وبتراكيزه كلّها و¼ التركيز من أملاح MS بما فيها معاملة الشاهد (جدول3).

ويتضح من الجدول (4) التفوق المعنوي للوسط المزود بـ 1 مغ/ لتر NAA من حيث أعداد الجذور وأطوالها مقارنة بمعاملات الدراسة الأخرى بما فيها معاملة الشاهد التي سجلت أقل عدد من الجذور والتي بلغت نحو 0.33 جذراً، كما تميزت بانخفاض معدل أطوال الجذور المتكونة فيها والتي بلغت نحو 1.25 سم. في حين أظهر الوسط الغذائي المزود بالتركيز الكامل من أملاح MS تفوقه المعنوي لكل من أعداد الجذور المتكونة وأطوالها، كما تميز الوسط المزود بـ $^1/_4$ التركيز من أملاح MS بعدم تسجيله أية تحفيز لإعطاء الجذور، حيث انعدمت نسبة الاستجابة فيها.

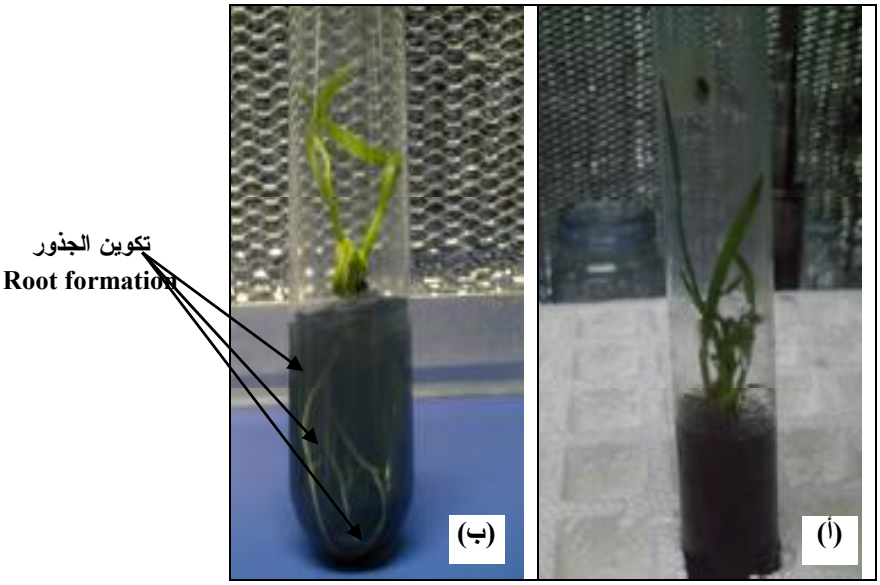
وأظهر التأثير المشترك للتداخل بين تراكيز أملاح MS والتراكيز المختلفة لمنظم النمو NAA التفوق المعنوي للوسط الغذائي المزود بالتركيز الكامل من أملاح MS و1 مغ/لتر NAA في كل من أعداد الجذور وأطوالها مقارنة ببقية التداخلات، تلاه الوسط المزود بـ 1 مغ/ لتر NAA مع $^3/_4$ التركيز من أملاح MS، في حين أدى التأثير المشترك للتداخل بين تراكيزNAA كلّها و$^1/_4$ التركيز من أملاح MS إلى عدم تحفيز تجذير النموات الخضرية المزروعة فيها (جدول 4).

الجدول (4) تأثير التراكيز المختلفة من أملاح (MS) وتراكيز NAA والتوافقات فيما بينهما في معدل أعداد الجذور المتكونة وأطوالها (سم).

تراكيز NAA (مغ/ لتر)	أعداد وأطوال الجذور	تراكيز أملاح (MS)				المعدل
		$^1/_4$	$^1/_2$	$^3/_4$	تركيزكامل	
0.0	**أعداد الجذور**	**0.00 g*±0.00**	**0.170.16f±**	**0.33 e±0.15**	**0.83 e±0.39**	**0.33 d**
	أطوال الجذور(سم)	0.00 i**±0.00**	1.00 h**±0.04**	1.66 gh**±.05**	2.33 fg**±0.32**	1.25 c
0.5	**أعداد الجذور**	**0.00 g±0.00**	**1.66 e±0.30**	**2.16 e±0.42**	**3.00 d±0.07**	**1.70 c**
	أطوال الجذور(سم)	0.00 i**±0.00**	2.83 ef**±0.04**	3.33 de**±0.08**	3.63 d**±0.7**	2.45 b
1.0	**أعداد الجذور**	**0.00 g±0.00**	**3.16 cd±0.83**	**4.00 b±0.42**	**5.00 a±0.10**	**3.04 a**
	أطوال الجذور(سم)	0.00 i**±0.00**	3.83 cd**±0.11**	5.16 b**±0.19**	6.10 a**±1.15**	3.77 a
2.0	**أعداد الجذور**	**0.00 g±0.00**	**1.83 e±0.25**	**3.33 cd±0.16**	**3.83 bc±0.38**	**2.92 b**
	أطوال الجذور(سم)	0.00 i**±0.00**	2.83 ef**±0.09**	3.90 cd**±0.65**	4.43 bc**±0.37**	2.79 b
المعدل	**أعداد الجذور**	**0.00 d**	**1.74 c**	**2.41 b**	**3.16 a**	
	أطوال الجذور(سم)	0.00 d	2.62 c	3.51 b	4.12 a	

* المعدلات التي يتبعها الحرف نفسه أو الأحرف لاتختلف عن بعضها معنويا على مستوى احتمالية 5%.
± الخطأ المعياري

يعتمد تحفيز الخلايا على الانقسام وتكوين مبادئ الجذور على توافر الأوكسين داخل الوسط الغذائي، إذ يحفز وجوده انقسام الخلايا وتكون بادئات الجذور Root Initials (سلمان، 1988). كما يُعد تركيز الأوكسين أحد أهم العوامل المؤثرة في زيادة تجذير نموات النخيل المكثرة بزراعة النسيج مخبرياً (Bhargava *et al.*, 2003; Wang and Charles 1991). إنّ معدل أطوال الجذور قد أخذت تتناقص مع زيادة تركيز الأوكسين من 1 مغ/ لتر إلى 2 مغ/ لتر، إذ إنّ التراكيز العالية والتي تفوق التراكيز المثالية تؤدي إلى تثبيط بادئات الجذور وتقلل عددها، كما تسهم أملاح موراشيج وسكوك بتزويد النسيج النباتي المزروع بالعناصر الغذائية الأساسية، فقد تميزَ الوسط المزود بالتركيز $^1/_4$ من الأملاح المذكورة بضعف وتدهور النموات الخضرية (الشكل8) فيهما مقارنة بالوسطين المزودين بتراكيز عالية منها (تركيز كامل و $^3/_4$ التركيز) (الشكل7).



الشكل (7) تجذير نموات نخيل التمر صنف القنطار المكثرة بزراعة النسيج مخبرياً(*In Vitro*).
(أ) نموات النخيل غير المجذرة.
(ب) نبيتات النخيل المجذرة المزروعة على تركيز كامل من أملاح MS و1 مغ/ لتر من NAA.

تتفق نتائج البحث مع ما ذكره كل من حميد (2001) والمياحي (2008) من أن استخدام النفثالين حمض ألخليك (NAA) بتراكيزه المستعملة كلّها أظهرت تفوقها في نموات النخيل المتجذرة مقارنة بمعاملة الشاهد.

الشكل (8) ضعف وتدهور نموات نخيل التمر صنف القنطار بزراعة النسيج مخبرياً (*In Vitro*) والمزروعة على الوسط المزود بـــ $\frac{1}{4}$ التركيز من أملاح MS.

4- الأقلمة acclimation

نُقلت النبيتات المجذرة والتي تراوح أطوالها بين 7-10 سم والحاوية على ورقتين على الأقل من أنابيب الزراعة، حيث غُسلت المجموعة الجذرية بالماء الجاري للتخلص من بقايا الوسط الغذائي وبعد ذلك بالماء المقطر، وتمت مُتابعة تعقيم النبيتات من خلال وضعها في محلول يحتوي على المبيد الفطري "Benlate" بتركيز 500 ملغم/ لتر مدة 15 دقيقة. ثم زُرعت النبيتات في أصص أقطارها "9"سم تحوي على خليط التربة المكونة من البيرلايت والدبال المتحلل Peat moss وبنسبة 2:1 (حجما: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 سقيها بالماء المقطر ورشها "بربع التركيز من أملاح الـ"MS"، وكانت تُجرى عملية الري كل 3-4 أيام حسب الحاجة واعتماداً على مستوى رطوبة التربة مع رش النبيتات بالمبيد الفطري (Benlate) بتركيز 500 ملغم/ لتر مرة واحدة أسبوعياً. وغطيت الأصص بأغطية زجاجية مدة شهراً واحداً مع ضرورة رفعها بين فترة وأخرى ولفترات قصيرة نسبياً، ولدفع النباتات للتأقلم وبصورة تدريجية مع ظروف الوسط الخارجي استبدلت الأغطية الزجاجية بأخرى بلاستيكية مثقبة شفافة حيث استمرت عملية التغطية شهراً واحداً أيضاً، ووضعت في درجة 25 مْ وإضاءة 16 ساعة يومياً، بعدها رفعت الأغطية ونقلت إلى البيت الزجاجي لكي تنمو ضمن ظروف الإضاءة الطبيعية (شكل9).

الشكل (9) نبات نخيل التمر صنف القنطار بعد ثلاثة أشهر من عملية النقل إلى الأصص.

الاستنتاجات والتوصيات

1) تفوق البراعم القمية apical buds المزروعة على الوسط المزود بـ40 مغ/ لتر من 2.4-D و3 مغ/لتر 2Ip في النسبة المئوية لتحفيز نشوء الكالس الأولي مقارنة بالبادئات الورقية والبراعم الإبطية.
2) إمكانية الحصول على أعلى نسبة مئوية من الأجنة الناضجة عبر تزويد الوسط الغذائي بتراكيز مختلفة من فيتامينات البيريدوكسين- Hcl والثيامين- Hcl وحمض النيكوتين والميوانوسيتول والبيوتن وعلى التوالي 1.0 و5.0 و1.0 و100 و1.0 مغ/ لتر لكل منها وبإضافة $^3/_4$ تركيز أملاح MS .
3) تعدُّ إضافة نفثالين حمض الخليك NAA بتركيز 1 مغ/ لتر إلى وسط التجذير الحاوي على تركيز كامل من أملاح MS ضرورية في تجذير النمولت الخضرية لنخيل التمر صنف القنطار المكثرة نسيجياً.
4) ومن خلال النتائج المتحققة يمكن التوصية بضرورة تغيير تركيز أملاحMS وفقاً لمرحلة نمو وتطور النسيج المزروع مع تجنب تخفيفها إلى ربع التركيز.
5) تطبيق نتائج هذا البحث على تجارب أصناف أخرى من نخيل التمر ودراسة مقدار استجابتها بما يؤمن رفع كفاءة تطبيق برنامج الإكثار الواسع للنخيل.

الملحق (1) معدل الأجنة الجسمية الخضرية المتشكلة حسب تراكيز MS وتوافقات الفيتامينات المستخدمة.

تراكيز MS	توافقات الفيتامينات		
	1	2	3
¼	±4.81*25.0g	33.34fg±4.81	41.67ef±8.34
$^1/_2$	41.67ef±8.34	50.0de±4.81	66.67bc±4.81
$^3/_4$	58.34cd±4.81	66.67bc±4.81	83.34a±4.81
تركيز كامل	50.0de±4.81	58.34cd±0.0	75ab±4.81
RLSD	14.0		

* المعدلات التي يتبعها الحرف أو الأحرف نفسها لاتختلف عن بعضها معنوياً على مستوى احتمالية 5%.
± الخطأ المعياري

REFERENCES المراجع

البكر، عبد الجبار. (1972). نخلة التمر ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعتها وتجارتها. مطبعة العاني. بغداد- العراق.

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

الراوي، خاشع محمود وخلف الله، محمد عبد العزيز. (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل. 488 صفحة.

سعد، أحمد عبد الله. (2008). دراسة بعض المتطلبات الضرورية من الفيتامينات والأحماض الأمينية ومنظمات النمو والفحم المنشط في اكثار نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف البرحي خارج الجسم الحي. أطروحة دكتوراه، قسم البستنة والنخيل-كلية الزراعة-جامعة البصرة. 117 صفحة.

سلمان، محمد عباس. (1988). أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي- جامعة بغداد.

محسن، خيون علي؛ جاسم، عباس مهدي؛ كاظم؛ زينب محسن. (2006). تأثير بعض الفيتامينات في تطوير الكالس الجنيني وتكون الأجنة الخضرية وانباتها خارج الجسم الحي لنخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف البرحي. مجلة البصرة للعلوم الزراعية، 19(1) .43-51.

المعري، خليل وجية. (1995). اكثار النخيل بوساطة تقنيات زراعة الأنسجة النباتية. جامعة دمشق. كلية الزراعة. جامعة دمشق.

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

Abo El-Nil, M. (1986). Refining methods of date palm micro propagation. In: 2nd .symp.on date palm. March, 1986.KFU. Saudi Arabia. (1) :29-41.

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. March, 2001:568-578 .

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

Bhojwani, S. S. and Razdan, M. K. (1983). Plant tissue culture theory and practice. Elsevier pub . The Netherlands pp:502

Eke,C.; Akomeah.P. and Asemoto, O. (2005) . Somatic embryogenesis in date palm (*phoenix dactylifera* L.) from apical meristem tissue from "Zebia and Loko" landraces. Afri.J. Biotech.4(3):244-246 .

Eshraghi, P.; Zarghami, R.and Mirabdulbaghi, M. (2005). Somatic embryogenesis in two Iranian date palm cultivars .Afri. J. Biotech. 4 (11):1309-1312.

Gamborge, O. L. and Shyluk, J. P. (1981). Nutrition, media and characteristic of plant cell and tissue culture. In: Plant Tissue culture: Methods and Applications in Agriculture (T.A.Thorpe, ed), pp 21-44. Academic Press, NewYork.

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

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

Sudhersan, C., Abo El-Nil, M. M. and Al-Baize, A. (1993). Occurrencence of direct somatic embryogenesis on the sword leaf in *in vitro* plantlets of (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Barhee .Curr . Sci., 65:887-888.

Wang, P. J. and Charles, A. (1991). Micropropagation through meristem culture. In :Biotechnology in Agriculture and Forestry., Vol. 17. Hightech and Micropropgation. (Edited by Y. P. S. Bajaja), Pp:32-52. Springer Verlag Berlin, Eidelberg .

Yadav, N. R.; Yadav, R. C.; Chowdhury, V. K.and Chowdhury, J. B. (2001). Explant and cultivar response to in vitro clonal propagation of female date palm *Phoenix dactylifera* L. Proc. 2nd Inter. Con. on Date Palm Al-Ain,U.A.E March, 2001:491-499.

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.

Received	2009/11/12	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2010/06/29	قبول البحث للنشر