مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2010) ــ المجلد (26) ــ العدد 2 ــ الصفحات: 97-110

تأثير الحمض الأميني ونترات الفضة في نمو البراعم العارضة لنخيل التمر وتكاثرها (*Phoenix dactylifera* L.) صنف الشويثي المكثرة بزراعة أنسجتها مخبرياً (*In Vitro*)

أحمد ماضي وحيد المياحي[1]

الملخص

إن استعمال العبوات المغلقة في الزراعة النسيجية ضرورية لتجنب التلوث، إلا أن ذلك يسبب تراكم الغازات داخلها ومنها غاز الإثيلين، إذ إن زيادة تراكم هذا الغاز يثبط نمو الأنسجة، كما يسبب الحصول على نبيتات ضعيفة وشاذة، لذا بات البحث عن استعمال بعض المواد الكيمياوية ضرورياً للتغلب على هذه المشكلات، فقد أدت إضافة الحمض الأميني الغلوتامين بتركيز 50 ملغم/ لتر إلى وسط التبرعم الخاص بإكثار نبيتات نخيل التمر صنف الشويثي المزروعة مخبرياً (*In Vitro*) إلى زيادة معنوية في عدد البراعم العارضة "adventitious buds" وهي البراعم التي تظهر من غير مواقعها الطبيعية حيث بلغت 7.0 براعم، كما أن تجهيز الوسط الغذائي بتراكيز مختلفة من نترات الفضة وهي 1.5، 3، 5 ملغم/ لتر قد حفز أنسجة الكالس الأولي على التبرعم، وأظهر التركيز 3 ملغم/ لتر منه تفوقه المعنوي في الحصول على أعلى معدل لعدد البراعم العارضة المتكونة إذ بلغ 9.2 برعماً مقارنة بالمعاملات الأخرى بما فيها معاملة الشاهد التي سجلت أقل عدد من البراعم المتكونة والتي بلغت نحو 6.8 برعماً. فيما أظهر التركيز5 ملغم/ لتر تفوقه المعنوي في كل من أطوال النموات الخضرية نحو 9.27 سم والنسبة المئوية للتجذير نحو 83.34% وفي أعداد الجذور المتكونة نحو 5.2 جذراً مقارنة بالمعاملات الأخرى. وأوضحت الدراسة التشريحية وجود آلية خاصة يتم فيها تمايز أنسجة الكالس الأوليprimary callus، إذ يتحول بعض الخلايا إلى خلايا مرستيمية سريعة الانقسامات والتي تحفز نشوء العقد، وتبين أنّ الاستمرار بزراعة الكالس الأولي على وسط التبرعم قد حفز نشوء البراعم العارضة من المنطقة السطحية والمناطق المطمورة داخل أنسجة الكالس الأولي المتكونة.

الكلمات المفتاحية: زراعة الأنسجة، نترات الفضة، نخيل التمر، الحمض الأميني.

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

The Effect of Amino Acids and Silver Nitrate in the Growth and Organogenesis of Adventitious Buds for Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Showaithy by *in vitro*

A. M. W. AL-Mayahi [1]

ABSTRACT

The use of closed vessels in tissue culture is essential to avoid contamination, but that causes the accumulation of gases such as ethylene, as an increase in the accumulation of this gas inhibits the growth of tissue and cause plantlets get weak and abnormal, so this research is to use certain chemical substances to overcome those problems, by the addition of the amino acid glutamine at concentration of 50 mg/L. to the organogenesis medium for showaithy cultivate cultured *in vitro* to increase the number of adventitious buds formed to 7.0 buds, and the media supplemented with different concentrations of silver nitrate 1.5, 3, 5 mg/L. This may stimulate tissue primary callus on budding, showed at concentration 3 mg/L. silver nitrate a Significant superiority on number of adventitious buds, as was the about 9.2 buds compared to other treatments, including the study is treated as neutral with the lowest number of buds formed about 6.8 buds. The concentration of 5 mg/L silver nitrate showed Significant superiority in all cultures on shoot length 9.27 cm and the percentage rooting 83.34% and in the number of roots formed 5.2. The anatomical study of the mechanism of primary callus differentiation, where some cells convert to meristem of cells with rapid divisions and that stimulate the emergence of the nodules, and appear that a continuation of primary callus reculture on same medium may stimulate the emergence adventitious buds on the surface areas and embeded within the tissues of the formed callus.

Key words: Tissue culture, Silver nitrate, Date palm, Amino acid.

[1] Date Palm Research Center, University of Basrah, Al-Basrah, Iraq.

المقدمة

تعدّ نخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. واحدة من بين أهم أشجار الفاكهة مستديمة الخضرة في عدد من بلدان العالم. ويعتقد أن أصل نخيل التمر يعود إلى منطقة الخليج العربي، ومن المحتمل أنها نشأت في جنوبي العراق (Wrigley,1995).

تُشير الإحصائيات الخاصة بنخلة التمر إلى انخفاض في أعداد هذه الشجرة في مناطق زراعة النخيل كلّها في العراق ولاسيّما محافظة البصرة، فقد تراجع العدد فيها إلى نحو مليوني نخلة مقارنة بأعدادها السابقة والبالغ نحو 13 مليون نخلة (حسب إحصائيات وزارة الزراعة العراقية، 2004). إن استعمال الفسائل هي الطريقة الشائعة في إكثار أصناف النخيل للأغراض التجارية، إلا أن هناك كثيرا من الصعوبات التي تواجه إكثار النخيل بهذه الطريقة، منها قلة أعداد الفسائل المتكونة على النخلة الأم في مدة محدودة من حياة الشجرة "مرحلة الحداثة" (Popenoe,1973). ومن أجل التوسع التجاري في زراعة أصناف النخيل المختلفة لابد من إيجاد طريقة إكثار خضريه سريعة. فقد أثبتت تقنية زراعة الأنسجة كفاءتها من حيث وفرة النباتات المنتجة وتجانسها في أثناء مدة زمنية قصيرة، فضلاً عن مطابقتها من حيث التركيب الوراثي مع نبات الأم الذي أُخذت منه "True-to-type"، وخلوها من المسببات المرضية والحشرية، فضلاً عن إمكانية إكثار النباتات على مدار السنة (Al-Wasel, 2001; Ahloowalia *et al.*, 2004). إن الزراعة داخل العبوات المغلقة يؤدي إلى نمو غير طبيعي للأنسجة النباتية والحصول على نباتات شاذة نتيجة لتراكم الغازات داخلها كغاز الإثيلين، إذ ينتج هذا الغاز بوساطة الأنسجة والنباتات المزروعة، وقد تبيّن أن تراكم غاز الإثيلين في عبوات الزراعة المغلقة للبطاطا يحدد نمو الأنسجة وتطورها ويضعفها، وكذلك نشوء النباتات فيها، كما يثبط نموها (Turhan, 2004). وأظهرت الدراسات السابقة أهمية تزويد الوسط الغذائي بنترات الفضة لما تقوم به من دور في خفض غاز الإثيلين وتحفيز نمو الأفرع وتكاثرها في كثير من الأنواع النباتية. فقد أوضح (Gerats *et al.*, 1988) أن الإثيلين يثبط تكاثر الأفرع في نبات البطونية إلا أنّه يمكن التخلص من تأثير التثبيط بإضافة نترات الفضة. كما حصل (Chi *et al.*, 1990) على النتيجة نفسها حين إضافة نترات الفضة إلى الوسط الخاص بإكثار نبات الملفوف *Brassica olaracea*. كما أدى استعمال نترات الفضة بتركيز 60 مايكرومول إلى زيادة إنتاج أفرع نبات اللوبيا *Vigna Sinensis* (Brar *et al.*, 1999). على الرغم من قدرة الخلايا على بناء متطلباتها من الأحماض الأمينية إلا أن الأوساط الغذائية كثيراً ما تُزوَد بالأحماض الأمينية لتحفيزها نمو الخلايا وتشجيع نمو النبيتات (Mohamed, 1996). وأشار Finer and Naja, (1998) إلى دور الأحماض الأمينية في تحفيز الأفرع الخضرية وتكوينها. ورغم تعدد الدراسات

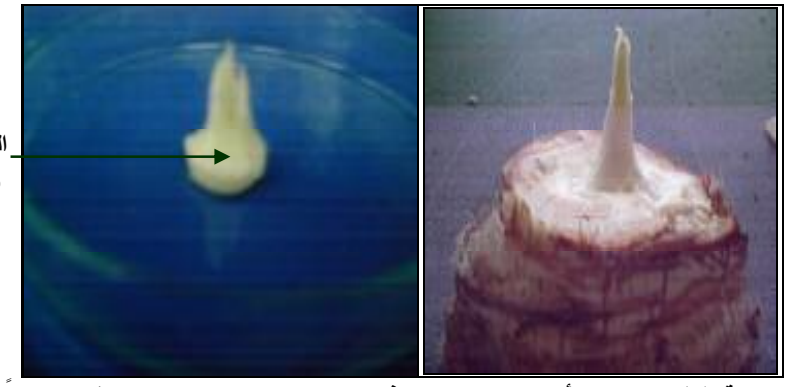
المتعلقة بالأحماض الأمينية إلا أن غالبيتها تركزت حول دورها في نمو أنسجة الكالس Callus والأجنة الخضرية وتطورهما Somatic embryos للنباتات المكثرة بزراعة أنسجتها مخبرياً (*In Vitro*).

لتركيب الوسط الغذائي أهمية كبيرة في نمو النباتات المكثرة نسيجياً وتطورها إذ إنّه يعكس مقدار نجاح الإكثار بهذه التقانة، لذا فإن هدف البحث هو دراسة تأثير نوع الحامض الأميني "الغلوتامين والبرولين" كلٌ على حدة، واختبار نترات الفضة "$AgNo_3$" في نمو الأنسجة النباتية وأثرها في تحفيز تكاثر أفرع نبات نخيل التمر صنف الشويثي بزراعة أنسجتها مخبرياً (*In Vitro*).

مواد البحث وطرائقه

نُفذ هذا البحث في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لمركز بحوث النخيل والتمور في جامعة البصرة ، استؤصلت البراعم الطرفية Shoot tip كما هي موضحة في اللوحة (1) من فسائل نخيل التمر صنف الشويثي المزروعة في محافظة البصرة والتي تتراوح أعمارها بين (3–4) سنوات والمفصولة من أشجار تتراوح أعمارها بين 8 و10 سنوات، إذ يُعدُّ هذا الصنف من أصناف النخيل النادرة والمنتشرة زراعته في منطقتي سوق الشيوخ بمحافظة ذي قار ومحافظة البصرة جنوبي العراق وهو من الأصناف المتأخرة النضج، تتميز ثماره بلون أصفر مشوب بحمرة، لينة القوام، وقشرتها رقيقة ملتصقة باللحم، كما تتميز ثماره بطعم حلو المذاق وذات نوعية ممتازة، وتؤكل ثماره عند مرحلتي الرطب والتمر (الأنصاري والصالح، 2005). وضعت الأجزاء المستأصلة في محلول مضاد للأكسدة "Antioxidant Solution" الذي يتكون من 150 ملغم/لتر حمض الستريك و100 ملغم/لتر حمض الأسكوربك لإيقاف عملية الأكسدة ومنع اسمرار الأنسجة المراد زراعتها وتراكم المواد الفينولية على سطوحها (Zaid,1984). أجريت عملية التعقيم السطحي بعد تجزئة البراعم القمية إلى أربعة أجزاء متساوية (Mater, 1986) وذلك بوضعها في محلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 20% حجماً، وأضيف إليه قطرة واحدة من المادة الناشرة "Tween-20" لكل 100 مل مدة 20 دقيقة، بعدها استخرجت الأجزاء النباتية من محلول التعقيم وغُسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات، وأُجريت هذه العملية داخل منضدة انسياب الهواء الطبقي "Laminar Air Flow Cabinet" المعقمة مسبقاً باستعمال كحول الإيثانول والفورمالدهيد المخفف بالماء المقطر المعقم. وزرع كل ربع برعم طرفي في داخل أنبوبة زجاجية معقمة، وسدت فوهتها بالقطن الطبي، وغلفت أعناقها بأوراق الألمنيوم، واحتوت أنابيب الزراعة على الوسط الغذائي المكون من أملاح (MS) وهي عبارة عن خمس مجموعات من الأملاح اللاعضوية، وهي: النترات والكبريتات والهاليدات والموليبدات والحديد المخلبي

الموصوفة من قبل (Murashige and Skoog, 1962) وأضيفت إليها المواد الآتية بالتراكيز المثبتة بالملغم/لتر كما يأتي: فوسفات الصوديوم 170، سلفات الأدنين40، سكروز30000، ميزاينو سيتول 100، ثيامين 0.5، مسحوق الفحم المنشط 2000 وألاجار 6000. كما زود الوسط بمنظمي النمو α-Naphthalene acetic acid "NAA" (نفثالين حمض الخليك) بتركيز 30 ملغم/لتر و"Isopentenyl adenine 2iP (ايزوبنتنيل أدنين) بتركيز 3 ملغم/لتر، وقد حُضنت المستزرعات في الظلام المستمر، وفي درجة حرارة (27±1) مْ.



اللوحة (1) المراحل الأخيرة من تشريح فسائل نخيل التمر صنف الشويثي وصولاً إلى البرعم القمي.

وبعد تكون الكالس الأولي نُقلت إلى وسط التبرعم ووفقاً للمعاملات الآتية:

1- اختبار نوع الحمض الأميني "الغلوتامين والبرولين" في نمو البراعم العارضة وتكاثرها من أنسجة الكالس الأولي.

نُقل 50 ملغم من الكالس الأولي لنخيل التمر صنف الشويثي إلى كل أنبوب من أنابيب الزراعة المحتوية على (MS) مع المواد المذكورة سابقاً، كما زود الوسط بمنظمي النمو "NAA" بتركيز 1 ملغم/ لتر و2iP بتركيز 3 ملغم/لتر، وإضافة البيرودكسين بتركيز 0.5 ملغم/ لتر مع خفض تركيز الفحم المنشط إلى 500 ملغم/لتر، اختبرت المعاملات التي استعمل فيها الحمض الأميني الغلوتامين والبرولين كل على حدة وبتركيز 50 ملغم/ لتر لكل منهما، لبحث تأثيرهما في تكاثر البراعم العارضة، استخدمت ستة مكررات لكل معاملة، وحُضنت المستزرعات في درجة حرارة 27 ± 1X مْ وشدة إضاءة 1000 لوكس وبمعدل 16 ساعة ضوئية/يوم يعقبها 8 ساعات ظلام، وكانت عملية إعادة الزراعة تجرى مرة كل ستة أسابيع.

2- اختبار تأثير نترات الفضة $AgNo_3$ في نمو وتكاثر البراعم العارضة من أنسجة الكالس الأولي.

اختبرت عدة تراكيز من نترات الفضة 0، 1.5، 3، 5 ملغم/ لتر بحثاً عن تأثيرها في تحفيز تكوين البراعم العارضة من الكالس الأولي وتكاثرها لنخيل التمر صنف الشويثي المزروع مخبرياً *(In Vitro)*، يتكون وسط الزراعة من أملاح (MS) والمواد المذكورة في الفقرة (1) من مواد العمل وطرائقه مع إضافة الغلوتامين بتركيز 50 ملغم/ لتر، واستخدم 12 مكرراً لكل معاملة زرعت بالكالس الأولي، شروط التحضين وإعادة الزراعة كما ذكر في الفقرة السابقة.

3 - اختبار تأثير نترات الفضة $AgNo_3$ بحثاً عن تأثيرها في استطالة النموات الخضرية وتجذيرها.

فصلت النموات الخضرية المتكونة ونقلت إلى وسط الاستطالة والتجذير المكّون من أملاح MS، واختبار عدة تراكيز من نترات الفضة 0، 1.5، 3، 5 ملغم/ لتر بحثاً عن تأثيرها في استطالة النموات الخضرية وتجذيرها، على أن يحتوي الوسط الغذائي 1 ملغم /لتر NAA و1غم/ لتر من الفحم المنشط و45 غم/ لتر من السكروز. استخدمت ستة مكررات لكل معاملة، شروط التحضين وإعادة الزراعة كما ذكر في الفقرة (1).

وبعد الحصول على النبيتات المتجذرة في أنابيب الزراعة استخرجت منها وغُسلَ مجموعها الجذري بالماء الجاري للتخلص من بقايا الوسط الغذائي ثم بالماء المقطر، وتمت متابعة تعقيم النبيتات بوضعها في محلول يحتوي على المبيد الفطري البنليت بتركيز 500 ملغم/ لتر مدة 20 دقيقة. وتبعتها مرحلة زراعة النبيتات داخل أصص الزراعة المحتوية على خلطة التربة المكونة من البيرلايت والبيتموس بنسبة (2:1) وأقلمتها (حسب المياحي، 2008).

4 - الدراسة التشريحية

بهدف تحديد طبيعة النمو أُخذت عينات من أنسجة الكالس المتبرعمة، وطمرت الأجزاء المراد تقطيعها في قوالب خاصة باستخدام التجميد باستعمال جهاز التقطيع الثلجي "Freezing Microtome" أخذت النماذج المقطعة من سطح الشفرة ووضعت على شرائح زجاجية مهيأة في درجة حرارة الغرفة، وفُحصت هذه النماذج مباشرة بوساطة المجهر الضوئي ذي كاميرا نوع "Olympus".

5- تصميم التجربة والتحليل الإحصائي

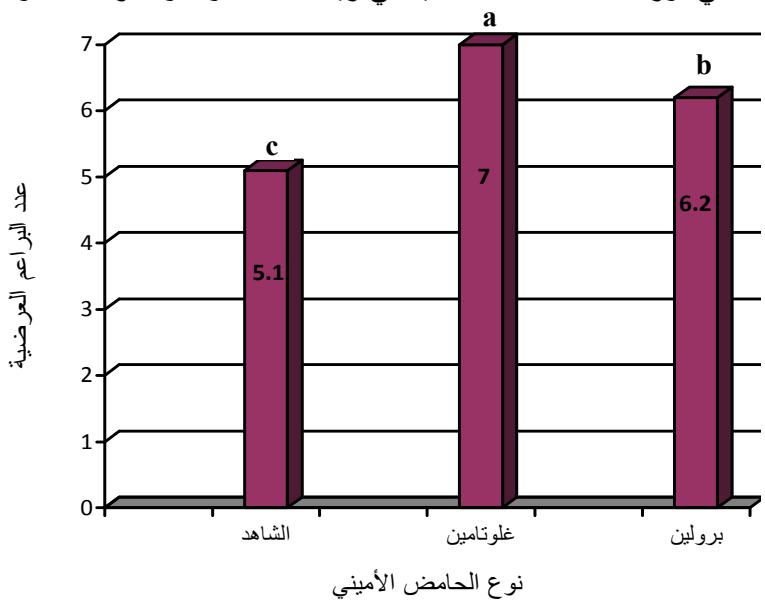
استخدم التصميم العشوائي الكامل لتجارب بسيطة وأجري اختبار الفرق بين المتوسطات استخدام أقل فرق معنوي معدل (R.L.S.D) عند مستوى احتمالية 5%. (الراوي وخلف الله ، 1980).

النتائج والمناقشة

1- تأثير نوع الحمض الأميني "الغلوتامين والبرولين" في نمو البراعم العارضة لأنسجة الكالس الأولي وتكاثرها.

يتضح من البيانات في الشكل (1) أن الوسط الغذائي المجهز بالحمض الأميني الغلوتامين أو البرولين كان له دور في زيادة عدد البراعم الخضرية مقارنة بمعاملة الشاهد، وأظهر الوسط المزود بالحمض الأميني الغلوتامين تفوقه المعنوي في الحصول على أعلى معدل لعدد البراعم الخضرية الذي بلغ نحو 7.0 براعم مقارنة بمعاملتي الشاهد ومعاملة الوسط المزود بـ 50 ملغم/ لتر برولين الذي بلغ عدد البراعم فيهما نحو 5.1 و6.2 برعماً على التوالي.

يُعدُّ تشكل الأحماض الأمينية من أهم مصادر النيتروجين العضوي، كما تُعدُّ من مصادر الطاقة لكونها تسهم في انقسام الخلايا ونموها وتكوين أنسجة جديدة (Glusman, 1992). وقد يعود السبب وراء تفوق الوسط الغذائي المزود بالغلوتامين إلى زيادة تكاثر البراعم العارضة لكونه المصدر الرئيسي للنيتروجين، كما أنه أكثر جاهزية للامتصاص من قبل النسيج النباتي، وربما تحتاجه أنسجة النخيل في زيادة معدل نموها وتكاثر هذا النمو.



الشكل (1) تأثير نوع الحامض الأميني في عدد البراعم العارضة المتكونة من نسيج كالس نخيل التمر صنف الشويثي بزراعة نسجها مخبرياً (*In Vitro*).

2- تأثير نترات الفضة $AgNo_3$ في نمو البراعم وتكاثرها العارضة من أنسجة الكالس الأولي.

توضح البيانات في الجدول (1) تأثير التراكيز المختلفة من نترات الفضة في تحفيز نشوء البراعم العارضة وتكاثرها وتوالد الأفرع الخضرية من أنسجة الكالس الأولي لنخيل التمر صنف الشويثي. فقد أظهرت الدراسة تفوق الأوساط الغذائية المزودة بنترات الفضة وبتراكيزه المستعملة كلّها في تحفيز البراعم العارضة وتكاثرها وتوالد الأفرع الخضرية من أنسجة الكالس الأولي مقارنة بمعاملة الشاهد. وأظهرَ الوسط الغذائي الحاوي على (NAA بتركيز 1 ملغم/ لتر و2iP بتركيز 3 ملغم/ لتر) والمزود بـ 3 ملغم/ لتر من نترات الفضة تفوقه في الحصول على أعلى نسبة من أنسجة الكالس الأولي المولدة للبراعم العارضة والبالغ نحو 66.67%، إلا أن التحليلات الإحصائية لم تظهر فروقاً معنوية بينها وبين النسب المئوية 58.34% لأنسجة الكالس المولدة للبراعم العارضة في كل من الوسط المزود بـ 1.5 و5 ملغم/ لتر من نترات الفضة، فيما أظهرت الأوساط المزودة بنترات الفضة تفوقها وبفروق معنوية مقارنة بمعاملة الشاهد التي بلغت النسبة المئوية لأنسجة الكالس الأولي المكونة للبراعم العارضة فيها نحو 41.67%. كما تظهر البيانات في الجدول (1) التفوق المعنوي للوسط الغذائي المزود بـ 3 ملغم/ لتر من نترات الفضة في الحصول على أعلى معدل لعدد البراعم العارضة المتكونة والبالغ 9.2 برعماً، في حين سجلت معاملة الشاهد أقل معدل لعدد البراعم العارضة المتكونة إذ بلغ 6.8 برعماً.

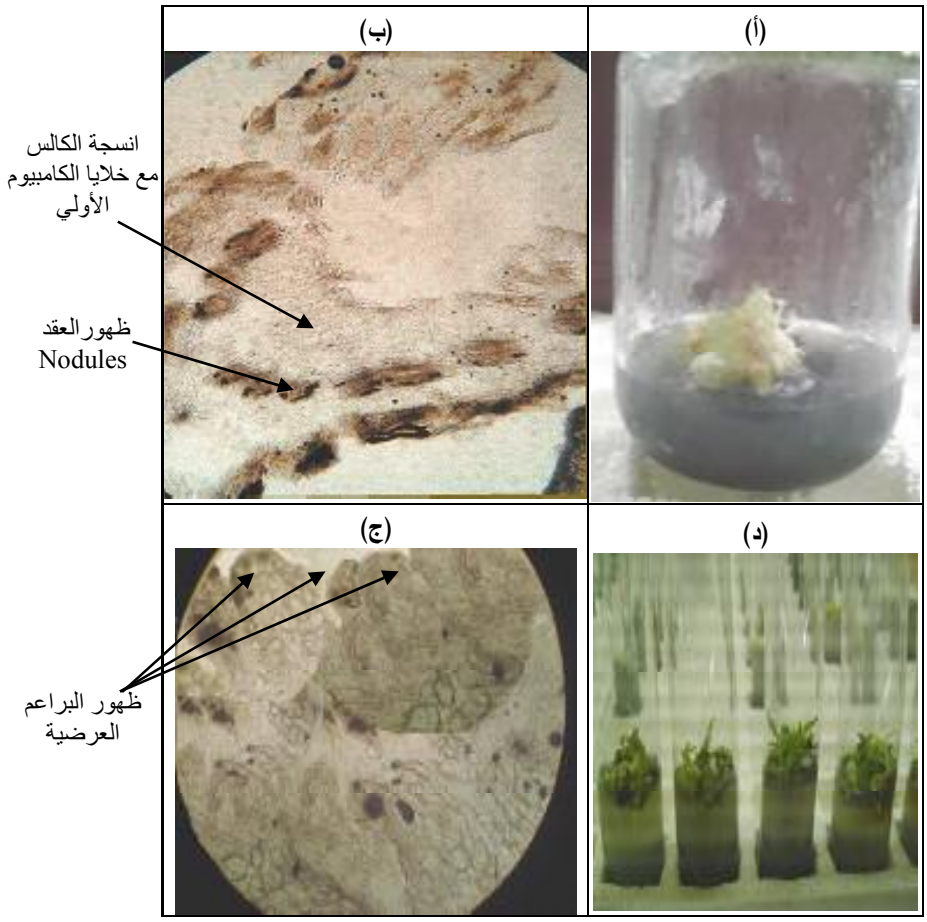
واتضح من خلال تتبع التطورات النسيجية المزروعة ظهور انتفاخات باتجاهات متعددة تطورت إلى ما يسمى ببادئات البراعم "Primoridia buds" (لوحة 2 أ)، وأدّى استمرار إعادة الزراعة في الأوساط الغذائية إلى تطور بعضها إلى براعم خضرية والتي بدورها أعطت أفرعاً خضرية (لوحة 2 د). تتميز الخلايا البرنشيمية بنشاطها المرستيمي الفعال ويحفز ذلك تكوين كتل من الخلايا غير المتمايزة تدعى بالكالس الأولي، واستمرار انقسام خلاياه ونموها يؤدي إلى زيادة تضخم أنسجته.

الجدول (1) تأثير التراكيز المختلفة من نترات الفضة في النسبة المئوية لأنسجة الكالس المتبرعمة وأعداد البراعم المتكونة لنخيل التمر صنف الشويثي بزراعة أنسجتها مخبرياً (*In Vitro*).

تراكيز نترات الفضة (ملغم/ لتر)	النسبة المئوية لأنسجة الكالس المتبرعمة (%)	عدد البراعم العرضية
معاملة المقارنة الشاهد (0)	*41.67 b	6.8 c
1.5	a58.34	7.6 b
3	a66.67	9.2 a
5	a58.34	7.8 b

* المعدلات التي يتبعها الحرف أو الأحرف نفسها لاتختلف عن بعضها معنوياً واختلافها دلالة على وجود فروق معنوية بينها وبين الشاهد، وعلى مستوى احتمالية 5%.

وأوضحت الدراسة التشريحية وجود آلية خاصة تتم من خلالها تمايز أنسجة الكالس الأولي إذ أدت تجزئة الكالس الأولي وزراعته في وسط التبرعم إلى تمايزه وتكوين مراكز للانقسام الفعال، حيث تتحول بعض الخلايا إلى خلايا مرستيمية سريعة الانقسامات، وإن المناطق المرستيمية تحفز نشوء العقد، إذ إن تكوين هذه العقد قد رافق المراحل المبكرة لتطور البراعم (لوحة 2ب)، والاستمرار بإعادة زراعة الكالس الأولي على وسط التبرعم قد شجع ظهور البراعم العارضة (لوحة 2ج)، وإن نشوء بادئات البراعم يحصل من المنطقة السطحية والمناطق المطمورة داخل الأنسجة في الكالس المتكاثر.



اللوحة (2) توالد نبيتات نخيل التمر صنف الشويثي بطريقة تحفيز نشوء البراعم العارضة وتكاثرها.
أ ود– تحفيز نشوء البراعم العارضة وتكاثرها وتكوين النموات الخضرية على الوسط الغذائي MS المزود بـــ (NAA بتركيز 1 ملغم/ لتر و2iP بتركيز 3 ملغم/ لتر) و3 ملغم/ لتر من نترات الفضة.
ب وج– مقطع طولي لأنسجة الكالس المتبرعمة وتظهر عليها العقد ونشوء البراعم العارضة.

وقد يعزى السبب حسب Kumar *et al.*, (1998) وراء الزيادة في تحفيز نشوء البراعم الخضرية وتكاثرها وتوالد الأفرع في الأوساط المزودة بنترات الفضة إلى دورها المثبط للإثيلين سواء أكان الناتج بوساطة أنسجة النبات المزروعة أو المتولد من لهب المصابيح المستخدمة في تعقيم فوهة الأنابيب، إذ يعمل الأخير على كبح تكاثر الأفرع وإنتاج البراعم. كما تعمل التراكيز العالية للإثيلين على زيادة فعالية أنزيم السليلولاز أو البكتيناز أوكليهما مما سبب تحطم الخلايا، ومن ثم فشل عمليات التطور اللاحقة (سلمان، 1988). وحسب Saltveit *et al.*,(1977) يمكن أن يعزى السبب في زيادة تحفيز البراعم وتكاثرها وتوالد الأفرع الخضرية إلى عنصر الفضة Ag^{+} الذي يقوم بتثبيط عمل الإثيلين عبر ارتباطه بالجزء الفعال للأنزيمات المحللة للخلايا (السليلولاز أو البكتيناز) ويثبط عملها مما نتجت عنه زيادة في النمو.

3- تأثير نترات الفضة في استطالة النموات الخضرية وتجذيرها .

من البيانات في الجدول (2) يتضح التفوق المعنوي للأوساط المزودة بنترات الفضة وبتراكيزها المستعملة كلّها وهي 1.5، 3، 5 ملغم/ لتر مقارنة بمعاملة الشاهد، وكان التركيز 5 ملغم/ لتر منه قد سجل أعلى معدل لأطوال النموات الخضرية، إذ بلغت نحو 9.27 سم وبهذا حققت تفوقاً معنوياً مقارنة بالتراكيز الأخرى عند مستوى 5%(لوحة 3أ).

كما يبيّن الجدول (2) التفوق المعنوي للوسط الغذائي المزود بـ 5 ملغم/ لتر من نترات الفضة مقارنة بالمعاملات الأخرى في كل من النسبة المئوية للتجذير، وعدد الجذور المتكونة والبالغة نحو 83.34% ونحو 5.2 جذراً على التوالي (لوحة 3 ب).

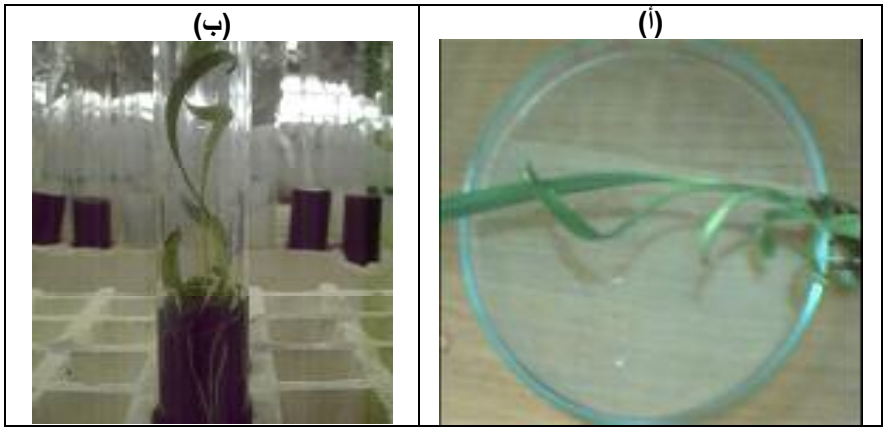
الجدول (2) تأثير التراكيز المختلفة من نترات الفضة في أطوال النموات الخضرية (سم) والنسبة المئوية للتجذير (%) وعدد الجذور المتكونة لنخيل التمر صنف الشويثي المكثرة بزراعة أنسجته مخبرياً (*In Vitro*).

تراكيز نترات الفضة (ملغم/ لتر)	أطوال النموات الخضرية (سم)	النسبة المئوية للتجذير (%)	أعداد الجذور
معاملة الشاهد (0)	* d2.17	66.67 b	3.50 c
1.5	3.63 c	50.0 c	3.50 c
3	7.10 b	66.67 b	4.4 b
5	9.27 a	83.34 a	5.2 a

* المعدلات التي يتبعها الحرف أو الأحرف نفسها لاتختلف عن بعضها معنوياً واختلافها دلالة على وجود فروق معنوية بينها وبين الشاهد وعند مستوى احتمالية 5%.

إن استعمال مثبط الإثيلين ليس تأثيره منصباً فقط على تحفيز تكاثر الأفرع بل امتد ليشمل استطالة النموات الخضرية وتحفيزها على التجذير، وتُعدُّ مرحلة التجذير المرحلة الأخيرة من مراحل النمو داخل أنابيب زراعة النسيج وهي من المراحل المهمة في إكثار النبيتات مخبرياً، كما أنها تحدد نجاح برنامج الأقلمة من عدمه.

ويمكن أن يعزى السبب وراء تفوق التركيز 5 ملغم/ لتر من نترات الفضة، في الحصول على أعلى معدل لأطوال النموات الخضرية وتحفيزها على التجذير إلى أن إنتاج الإثيلين يزداد مع تقدم نمو النبيتات داخل أنابيب الزراعة المغلقة، الأمر الذي يتطلب تراكيز أعلى من نترات الفضة (المثبطة للإثيلين) لكبت هذه الزيادة .

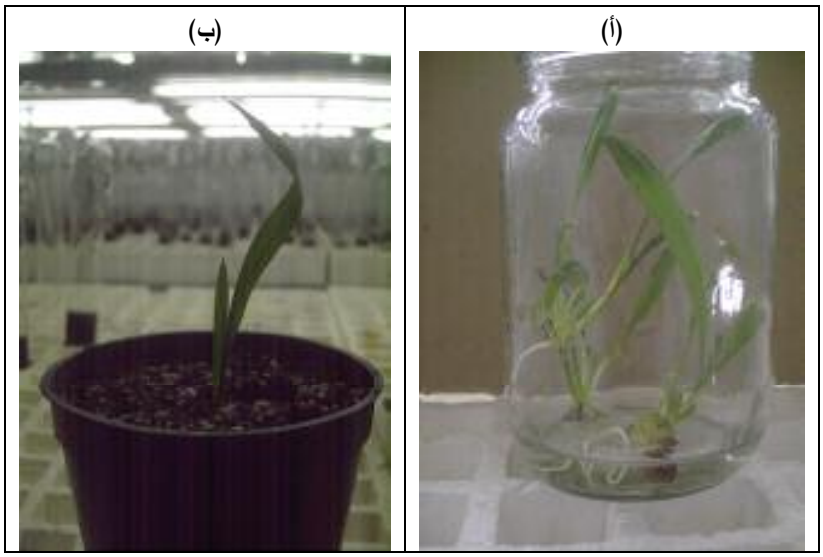


اللوحة (3) تجذير النموات الخضرية المكثرة بطريقة تحفيز نشوء البراعم العارضة.

أ – فصل النموات الخضرية بغية تجذيرها.

ب– نبيتات نخيل التمر المجذرة داخل الوسط الغذائي المزود بـ 5 ملغم/لتر من "نترات الفضة" و1 ملغم/لتر NAA.

تمت متابعة عملية الإكثار النسيجي بنقل النبيتات المتجذرة التي تتراوح أطوالها بين 7–10 سم والحاوية على ورقتين على الأقل إلى أصص التربة المحتوية على خلطة التربة المكونة من البيرلايت والبيتموس بنسبة (2:1) بعد تعقيمها (كما مر ذكره في مواد البحث وطرائقه) (لوحة 4)



اللوحة (4) نقل النبيتات المتجذرة من أنابيب الزراعة إلى الأصص بغرض أقلمتها.

أ – إخراج النبيتات المتجذرة من أنابيب الزراعة بغرض أقلمتها بعد غسلها وتعقيمها.
ب – نبيتات نخيل التمر داخل أصص الزراعة المحتوية على خلطة التربة المكونة من البيرلايت والبيتموس بنسبة (2:1) بعد ثلاثة أشهر من الزراعة.

الاستنتاجات والتوصيات

1. تعدُّ إضافة الحمض الأميني الغلوتامين بتركيز 50ملغم/ لتر إلى وسط التبرعم ضرورية لزيادة عدد البراعم العارضة المتكونة.
2. إمكانية الحصول على أكبر عدد من البراعم العارضة من أنسجة الكالس المزروعة عبر تزويد الوسط الغذائي بـ 3 ملغم/ لتر من نترات الفضة، مع ضرورة زيادة تركيزها في مرحلة التجذير إلى 5 ملغم/ لتر.
3. توصي الدراسة بتدعيم وسط MS عبر إضافة الغلوتامين ونترات الفضة إلى وسط التبرعم لتحفيز تكاثر البراعم العارضة في زراعة النسيج مخبرياً لصنف النخيل الشويثي.
4. تطبيق نتائج هذا البحث على تجارب أصناف أخرى من نخيل التمر واستخدام أوساط سائلة وصلبة.

REFERENCES المراجع

الراوي، خاشع محمود وخلف الله، محمد عبد العزيز. (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعيـــة. 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 والبحـــث العلمي- جامعة بغداد.

المياحي، احمد ماضي وحيد. (2008). إكثار بعض أصناف نخيل التمر النادرة (*Phoenix dactylifera L.*) بتقانة زراعة الأنسجة. أطروحة دكتوراه، قسم البستنة والنخيـــل – كليـــة الزراعـــة- جامعـــة البصرة. 130 صفحة.

الأنصاري، ندى عبد الأمير؛ الصالح، عباس أحمد. (2005). مصور الأصناف العراقية من نخيـــل التمـــر. الجزء الأول. مطبعة العزة. بغداد – العراق 234 صفحة.

وزارة الزراعة. (2004). إحصائيات وزارة الزراعة، مديرية زراعة محافظة البصرة، مطبوعـــات غيـــر منشورة.

Ahloowalia, B. S.; Prakash, J.; Savangilkar, V. A; and Savangilkar, C. (2004). Plant tissue culture. Low cost of option for tissue culture technology in developing countries .proceeding of a technical Meeting, Organized by the Joint FAO / IAEA. 3-10.

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

Brar M. S.; Moor, M. J; Al-Khayri, J. M.; Morelock, T. E. and Anderson, E. J. (1999). Ethylene inhibitors promote *in vitro* shoot and root regeneration of cowpeas (Vigna unguiculata) *in vitro* Cellular Dev. Biol.Plant 35;222-225.

Chi, C.; Barfield, D. G.; G. A.; Sim, G. A. and Pua. (1990). Effect of $AgNo_3$ and AVG on in vitro shoot organogenesis from seedling explants of recalcitrant *Brassica genotype*. Plant Cell Rep., 9:195-198.

Finer, H.; and Naja, W. (1998). Plant Cell tissue and culture. Amino acid V-15,125-136 .

Gerats, A. G.; Keye, C.; Collins, C. and Malmburg, R. L. (1988). Polyamine level in *petunia* genotypes with untransformed and transformed floral morphologies . Plant Physiol., 86;390-393.

Glusman, K. F. (1992). In brosynthesis and molecular regulation of amino acid in plants (B.K.singh;H.E. Flores and J.C.Shannon eds).pp217-228.Amercan Society of Plant Physiologists, Maryland .

Kumar, P. P.; Lakshman, P. and Thorb, T. A. (1998). Regulation of morphogenesisin plant tissue culture by ethylene in in vitro Cell. Dev. Biol. Plant 43:94-103.

Mater,A.A. (1986). In in vitro propagation of (*Phoenix dactylifera* L.). Date Palm J. 4:137-152.

Mohamed, M. S. (1996). Biochemical studies on fenugreek by using tissue culture techniques M.sc. Thesis , Fac. Agric.Cairo.Univ.Egypt.

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

Popenoe, P. I. (1973). The date palm field research project, Coconut Grove, Miami, P274.

Saltveit, M. E.; Bradford, K. J. and Dilley D. R. (1977). Silver ion inhibitor ethylene synthesis and action in ripening fruits. Plant Physiol., 59(Suppl.) :45.

Turhan, H. (2004). The effect of silver nitrate (Ethylene inhibitor) on in vitro shoot development in potato (*Solanum tuberosum* L.)

Wrigley, G. (1995). Date palm In: J.Smart and Simonds (Eds). Evolution of Crope plants 2nd edition Longman, London :399-403.

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	**2009/08/13**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2010/05/24**	**قبول البحث للنشر**