اقلمه نبيتات صنفين من نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) بتقانة زراعه الانسجه

اسامة نظيم جعفر المير نائل سامي جميل

مركز ابحاث النخيل جامعة البصرة

العراق

الخلاصه :

اجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لمركز ابحاث النخيل/جامعة البصرة للفترة (٢٠٠٩ – ٢٠١٠) بهدف اقلمة صنفين من نخيل التمر النادر في البصرة(البرحي والقنطار) ،اخذت ارباع البراعم الطرفية Shoot tips من فسائل بعمر ٣ سنوات وزرعت في وسط غذائي موراشيجي وسكوك (MS) الصلب بقوى كاملة والمزود بـ ٣٠ ملغم/لتر نفتالين حامض الخليك NAA و٣ ملغم/لتر من السايتوكاينين 2ip و٣غم/لتر من الفحم المنشط Activated Charcoal و٣٠غم/لتر من السكروز واضيف فيتامين الـ Biotin و Thiamin-Hcl و Pyridoxine بتركيز ١ ملغم/لتر كما اضيفت مادة كبريتات الادنين بتركيز ٤٠ ملغم/لتر و اورتو فوسفات الصوديوم الحامضية بتركيز ١٧٠ ملغم/لتر و ١٠٠ ملغم/لتر من الـ Meso-inosetol واضيف الـ Agar بتركيز ٧غم/لتر وحضنت الزروعات في غرفة النمو على درجة حرارة ٢٧±٢ م° وعلى شدة إضاءة ١٠٠٠ لوكس ولفتر ١٦ ساعة إضاءة و ٨ ساعات ظلام واجريت الزراعة الثانوية Sub-Culture كل ٤ اسابيع لحين تكون الكالس ثم تم تغيير نوعية الوسط الغذائي لغرض تحفيز تكون البراعم العرضية وقد بينت نتائج الدراسة ما يلي:

١ إن استخدام منظم النمو النباتي نفتالين حامض الخليك بتركيز ٣٠ ملغم/لتر كان له الاثر المعنوي في معدل الوزن والمدة اللازمة لظهور الكالس الاولي، فقد تكون الكالس الاولي في صنف البرحي بعد ١٠٢ يوم، في حين تكون في صنف القنطار بعد ٧٢ يوم،كما ازداد معدل وزن الكالس بعد ٨ اسابيع ليصل إلى ٤٠٦ و ٤٢٠ ملغم لصنفي البرحي والقنطار على التوالي عند استخدام التركيز ٤٠ ملغم/لتر وبدون فارق معنوي عن التركيز ٣٠ ملغم/لتر.

٢ لوحظ إن استخدام التركيز ٢ ملغم/لتر من نفتالين حامض الخليك مع ٤ ملغم/لتر من 2ip كان له الاثر المعنوي في تقليل المدة اللازمة لظهور البراعم العرضية،فقد تكونت البراعم العرضية في صنف البرحي بعد ١٢٣.١٧ يوم، في حين اختلفت المدة مع صنف القنطار إذ

تكونت البراعم العرضية بعد ٩٤.١٨ يوم عند استخدام ١ ملغم/لتر من نفثالين حامض الخليك مع ٤ ملغم/لتر من 2ip .

٣ بعد إجراء عملية استطالة البراعم العرضية وتجذيرها فقد تمت اقلمة النبيتات داخل المختبر وفقد بينت نتائج البحث إن استخدام الوسط الزراعي المكون من الرمل والبيتموس بنسبة١:٢ ادى إلى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنبيتات المتاقلمة فقد بلغت ٧٠ و ٩٠ % لصنفي البرحي والقنطار على التوالي، في حين انخفضت النسبة إلى ٣٠ و ٤٠% عند استخدام الوسط الزراعي المكون من الرمل فقط ولصنفي البرحي والقنطار على التوالي.

٤ اتضح من النتائج إن النبيتات التي تم الحصول عليها لصنف القنطار هي افضل واقوى من مثيلاتها من صنف البرحي إذ اتسمت بقوة اوراقها وعدم فقدانها للرطوبة بشكل سريع مع مثيلاتها من صنف البرحي ، كما إن نبيتات صنف القنطار اتصفت بامتلاكها جذور سميكة وحاوية على جذور ثانوية.

المقدمه :

يعد نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. احد اشجار دوات الفلقة الواحدة monocotyledon التي تنتمي إلى العائلة النخيلية Arecaceae وتعتبر نخلة التمر Date Palm من اقدم الاشجار التي عرفها الإنسان إذ يعود تاريخها إلى اكثر من (٤٠٠٠) سنة قبل الميلاد حيث اهتم بها البابليون والاشوريون وكانت مقدسة عند السومريين ,إذ تعد من اشجار الفاكهة المهمة واحد روافد الاقتصاد الاساسية للملايين من الناس في منطقة الشرق الاوسط (البكر ،١٩٧٢ , Letouze, *et al.* 1998)

تعد الزراعة النسيجية من التقانات الحديثة لإكثار العديد من النباتات التي تعود إلى عائلات نباتية مختلفة وتمكن الباحثون في معظم دول العالم من تسخير هذه التقانة للإكثار الواسع للنباتات.وقد اثبتت تقانة زراعة الانسجة كفاءتها من حيث وفرة النباتات التي يمكن إنتاجها من اصل نبات واحد ومطابقة النباتات الناتجة لاصولها من حيث الثبات الوراثي (Al-Wasel, 2001; Al-Ghamidi, 1993). يتم إكثار النخيل نسيجيا إما بواسطة تكشف الاعضاء (توالد الاعضاء) (Organogenesis) من القمة النامية والبراعم الابطية (Drira, 1983) او بواسطة تكوين الاجنة الجسمية (Somatic embryogenesis) عن طريق المرور بمرحلة الكالس والذي تتكون منة الاجنة الخضرية ودلك من خلال زراعة انسجة النبات في اوساط غذائية صناعية معقمة (Sudhersan, *et al.* 1993 وابحمان واخرون، ٢٠٠١).

بدات المحاولات الاولى لإكثار نخيل التمر بهذه التقانة في مطلع السبعينيات حيث تركزت الابحاث والدراسات في دلك العقد على البحث عن افضل الاوساط الغذائية اللازمة لزراعة الجزء النباتي الامثل وتحديد الظروف الملائمة لتطور المزروعات النسيجية. إن الاهتمامات في زراعة القمم النامية والبراعم الابطية قد بدات في اوائل الثمانينات في محاولات لتوجيه نموها نحو التضاعف الخضري (Sharma, *et al*. 1986; Tisserat, 1981). ومن دلك الحين بدا التركيز على تطوير نتائج البحث العلمي واتجه الباحثون لزراعة اجزاء حية مختلفة من الفسائل والنخيل البالغ على اوساط غذائية مختلفة بهدف توجيه نمو تلك الاجزاء نحو التكشف والتضاعف او استحثاث الكالس الجنيني وصولا إلى نباتات كاملة قابلة للنقل والعيش تحت الظروف الطبيعية (الصفدي، ١٩٩٥).

وقد تطورت إلية تنفيذ الإكثار بزراعة الانسجة وواكبت التطور العلمي والتقني خلال العقدين الاخيرين وتوسعت فوائدها التطبيقية كثيرا وخاصة في مجال تحسين النباتات والحصول على سلالات جديدة،ففي عام ١٩٩٢ تم إنتاج اكثر من ١٥٠الف نخلة في المملكة المغربية(المعري،١٩٩٥).

ورغم التقدم الحاصل في زراعة الانسجة النباتية والحصول على نتائج جيدة عن طريق الإكثار بواسطة الاجنة الخضرية المتكونة من الكالس الجنيني الا ان الكثير من المشاكل والصعوبات لا زالت تواجه إكثار النخيل بهذه الطريقة ومن اهم تلك المشاكل هي:

١.حدوث تغيرات وراثية(Somaclonal Variation)في النباتات الناتجة وذلك بسبب استعمال تراكيز عالية نسبيا من منظمات النمو النباتية .حيث اشارت الدراسات التي قام بها كل من Sudhersan and Abu-El-Nil (2004) و Zaid andDeWet,(2005) إن نخيل التمر الناتج من الزراعة النسيجية عن طريق الإكثار بواسطة تقانة الاجنة الخضرية عبر الكالس الجنيني المتكون من زراعة البراعم القمية او البراعم الابطية قد احتوى على تغيرات وراثية من حيث المطابقة مع الصنف الاصلي الماخوذ منه وكذلك من حيث صفات التمار الفيزيائية والكيميائية.

٢.محدودية عدد الأجنة الخضرية وتلاصقها واندماجها في خلايا الكالس وتعرضها للتلف عند التجزئة وبالتالي فقدانها.

٣.اثبتت الدراسات السابقة ان نسبة انبات الاجنة الخضرية المكونة من نسيج الكالس تتراوح مابين(صفر ٥٠%) حسب الصنف والمعاملات المستخدمة وهي نسبة منخفضة تسبب خسارة لا تقل عن ٥٠% في احسن الحالات(Anjaran *et al.,*1995).

لدلك فان الدراسة الحالية تهدف إلى ما ياتي:

١.زراعة البراعم القمية والابطية لفسائل نخيل التمر"صنف البرحي ولقنطار" خارج الجسم الحي لغرض الحصول على الكالس الاولي ومن ثم إكثاره تحت ظروف الزراعة النسيجية.

٢.تحديد افضل توليفة من منظمات النمو النباتية (الاوكسينات والسايتوكاينينات) في تحفيز نشوء البراعم العرضية من انسجة الكالس.

٣ إنتاج نبيتات صالحة للاقلمة لصنفين من نخيل التمر النادر في البصرة وهما البرحي والقنطار ودلك عن طريق تكوين البراعم العرضية من كالس الصنفين المذكورين.

المواد وطرائق العمل :

استئصال الاجزاء النباتيه:

استخدمت في هذه التجربة فسائل نخيل التمر صنف البرحي حيث تم قلع عدد من الفسائل Offshoots تراوحت اعمارها بين (٢ ٣) سنوات من بساتين منطقة ابي الخصيب في محافظة البصرة، شرحت الفسائل بواسطة سكين وازيلت اوراقها واليافها تصاعديا حتى الوصول إلى البرعم القمي Shoot Tip (قلب الفسيلة) والذي يبدو بهيئة جسم هرمي واستاصل بارتفاع (١٠ ملم) وقطر قاعدة (١٠ ملم) مع طبقة لحمية (١ ملم) تقريبا تساعد على تماسك الاوراق (Tisserat, 1988) وخلال التشريح تم استئصال البراعم الابطية Lateral buds الواقعة في اباط الاوراق وبالتحديد تلك البراعم المتحورة إلى براعم خضرية والتي يبلغ طولها من (٣ ١٠) ملم وعرضها من (٣ ٧) ملم وتم استبعاد البراعم الصغيرة غير المتحورة ، وبعد استئصال البرعم القمي والبراعم الابطية تم وضعها في محلول مضاد للاكسدة (Antioxidant Solution) والذي يتكون من (١٠٠) ملغم /لتر من حامض الاسكوربيك (Ascorbic Acid) و (١٥٠) ملغم/لتر من حامض الستريك (Citric Acid). حفظت الاجزاء النباتية في الثلاجة على درجة ٥ م ^{o} لحين اجراء عملية التعقيم السطحي لمدة ٢٤ ساعة.

التعقيم السطحي للاجزاء النباتيه *Surface Sterilization* .

اجريت عملية التعقيم السطحي للاجزاء النباتية بعد إخراجها من المحلول المضاد للاكسدة وجزئت البراعم القمية إلى اربعة اقسام متساوية قدر الإمكان بواسطة مشارط وملاقط معقمة (Mater,1986) وتركت البراعم الابطية على هيئتها ووضعت مع ارباع البراعم القمية في وعاء زجاجي يحتوي على القاصر التجاري(الكلوركس) (٢٠%) حجم/حجم محتوي على هيبوكلورايت الصوديوم (Sodium Hypochlorite) مضافا إليه قطرة واحدة من المادة الناشرة (Tween 20) لكل (١٠٠ سم^{٣}) من المحلول مع الرج والتحريك بين الحين والاخر ولمدة (١٥) دقيقة وبعدها استخرجت الاجزاء النباتية من محلول التعقيم وغسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات تمت هذه العملية على منضدة انسياب الهواء الطبقي (Laminar

(air flow cabinet) المعقمة مسبقا بالايثانول ٧٠% والفورمالديهايد المخفف بالماء المقطر المعقم (Omar, *et al* .1992; Tisserat, 1991).

تحضير الوسط الغذائي *Preparation of nutrient medium*:

يتكون الوسط الغذائي من مجموعة من الاملاح اللاعضوية (Murashige and Skoog, 1962) وتعرف باملاح الـMS وتحضر هذه الاملاح بالمختبر على شكل محلول اساس(Stock solution) المتكونة من خمس مجاميع وكما موضحة في جدول(١) و التي تحضر بالشكل الاتي:

يتم تحضير محاليل الاصل وذلك بوزن عناصر كل مجموعة على حدة وتذاب في دورق حجمي سعة (١٥٠ سم^{٣}) Volumetric flask يحتوي ٥٠ سم^{٣} من الماء المقطر ولعمل (١٠ لتر) تضرب عناصر كل مجموعة لكل لتر في ١٠ وتوزن وتذاب في الماء المقطر ويكمل الحجم إلى ١٠٠ سم^{٣} وتحفظ في الثلاجة. وحضرت الاوساط الغذائية بالاعتماد على (Murashige and Skoog, 1962)

جدول(١) تركيز الاملاح اللاعضويه لوسط الـــMS

المجموعه	اسم المادة	التركيب الكيماني	الكميه (غم/لتر)
النترات Nitrates	نترات الامونيوم Ammonium nitrates	NH_3NO_3	١.٦٥٠
	نترات البوتاسيوم Potassium nitrates	KNO_3	١.٩٠٠
الكبريتات Sulphates	كبريتات المغنيسوم Magnesium sulphate	$MgSO_4.7H_2O$	٠.٣٧٠
	كبريتات المنغنيز Manganese sulphates	$MnSO_4.H_2O$	٠.٠١٦٩
	كبريتات الخارصين Zinc sulphates	$ZnSO_4.7H_2O$	٠.٠٠٨٦
	كبريتات النحاس Cupric sulphates	$CuSO_4.5H_2O$	٠.٠٠٠٠٢٥
الـــ P.B.Mo	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين Potassium di Hydrogen	KH_2PO_4	٠.١٧٠
	حامض البوريك Boric Acid	H_3BO_3	٠.٠٠٦٢
	مولبيدات الصوديوم Sodium Molybdate	$NaMoO_4.2H_2O$	٠.٠٠٠٢٥
الهاليدات Halies	كلوريد الكالسيوم Calcium Chloride	$CaCl_2.2H_2O$	٠.٤٤٠
	ايوديد البوتاسيوم Potassium Iodide	KI	٠.٠٠٠٨٣
	كلوريد الكوبلت Cobalt Chloride	$COCl_2.6H_2O$	٠.٠٠٠٠٢٥
الحديد المخلبي	كبريتات الحديدوز المائية Ferrous Sulphate	$FeSO_4.7H_2O$	٠.٠٢٧٨٤
	المادة المخلبية بشكل ملح ثنائي الصوديوم Ethylene diamine tetra Acetic Acid	Na_2EDTA	٠.٠٣٧٢٤

المصدر Murashige and Skoog,1962

جدول(٢) تراكيز المواد المضافة إلى الوسط الغذائي الخاص بنشوء الكالس

اسم المادة		الكميه (عم/لتر)
سكروز	Sucrose	٣٠
اورتو فوسفات الصوديوم الحامضية	Sodium hydrogen Ortho phosphate	٠.١٧٠
ميزوانيستول	Mesoinositol	٠.١٠٠
كبريتات الادنين	Adenine Sulphate	٠.٠٤٠
ثيامين	Thiamine –HCl	٠.٠٠٠٥
فحم منشط متعادل	Neutralized activated charcoal	٣

استحثات الكالس الاولي :

تاثير الاوكسين NAA في نشوء الكالس :

تم دراسة تاثير الاوكسين NAA بالتراكيز (صفر،،٢٠،٣٠،٤٠)ملغم/لتر في تحفيز نشوء الكالس الاولي من الاجزاء النباتية . زرعت ارباع البراعم القمية والبراعم الابطية في الوسط الغذائي الصلب المتكون من املاح الـMS والمواد المذكورة في جدول (٢) . كما احتوى الوسط الغذائي على السايتوكاينين 2ip بتركيز ٣ ملغم/لتر، تمت الزراعة على منضدة انسياب الهواء الطبقي التي تم تعقيمها قبل موعد الزراعة . وبعد الانتهاء من عملية زراعة الاجزاء النباتية (Explants) حضنت الزروعات في غرفة النمو Growth Chamber في الظلام وعلى درجة حرارة ٢٧ ±١ م^{o} اجريت عمليات إعادة الزراعة Reculture مرة كل اربعة اسابيع ولحين تكون الكالس الاولي (Jasim, 2000;El-Hammady, *et al*. 1999) .

تم حساب المدة اللازمة لظهور الكالس الاولي من اجزاء نباتية مختلفة.اخذت القراءات كل اربعة اسابيع واعتمد الوزن الطري مؤشرا على النمو.

مرحله إكتار الكالس:

بعد تكون الكالس تم تقطيعه وإعادة زراعته على وسط MS نفسه الحاوي على(٣٠ ملغم/لتر) من الـ NAA و(٣ملغم/لتر) من الـ2iP ودلك لغرض إكتاره وزيادة كميته ،استعملت في الزراعة الدوارق المخروطية حجم ١٠٠ سم ^{٣} استمرت عملية إكتار الكالس لمدة

(١٢) اسبوعا عند درجة حرارة ٢٧ ±١ م^{o} في الظلام واجريت عملية إعادة الزراعة كل اربعة اسابيع (AL-Khayri and AL-Bahrany,2001) .

تحفيز نشوء البراعم العرضية من الكالس :

لغرض تحفيز نشوء البراعم العرضية من الكالس ومضاعفة هذه البراعم لاحقا دون المرور بمرحلة الاجنة اللاجنسية وذلك لتجنب احتمال حصول تغايرات وراثية نتيجة استخدام تراكيز عالية نسبيا من منظمات النمو النباتية لدا تم اجراء التجارب الاتية:

تاثير توليفات مختلفه من الاوكسين والسايتوكاينينات:

تم دراسة تاثير الاوكسين NAA بالتراكيز (صفر،١،٢،٣) ملغم/لتر بوجود احد السايتوكاينينات 2iP بالتراكيز (صفر،٢ ، ٤ ، ٦) ملغم/لتر لكل منها في تحفيز تكوين البراعم العرضية.واجريت كل توليفة كتجربة عامليه مفردة.

تكون الوسط المستعمل من املاح MSمضاف إليها المواد المذكورة في جدول رقم(٣)

جدول(٣) تراكيز المواد المضافة إلى الوسط الغذائي الخاص بنشوء البراعم

المادة	الكمية (غم/لتر)
السكروز Sucrose	٣٠
اورتو فوسفات الصوديوم الحامضية Sodium hydrogen ortho phosphates	٠.١٧٠
ميزو اينو سيتول Meso inositol	٠.١٠٠
كبريتات الادنين Adenine sulphates	٠.٠٤٠
تيامين HCL Thiamine-HCL	٠.٠٠٠٥
بايوتين Biotin	٠.٠٠١
نيكوتين امايد Nicotine amide	٠.٠٠١
فحم منشط Activated charcoal	٠.٢٥
او Polyvinyl pyrilodine (PVP)	٢
اكار Agar	٧

استعملت انابيب اختبار بحجم (٢.٥×١٨)سم احتوت على ٢٠مل من الوسط الغذائي وتم ضبط حموضة الوسط على pH(٥.٧)وتضمنت التجربة زراعة ١٠٠ملغم من الكالس الاولي بواقع خمسة مكررات لكل معاملة .حضنت الزروعات بدرجة حرارة ٢٧ ± ١ م^{0} وشدة اضاءة ١٠٠٠ لوكس لمدة ١٦ ساعة يوميا .سجلت مدة اول ظهور للبراعم العرضية وجمعت نتائج البراعم المتكونة وإعدادها بعد ستة اشهر من الزراعة حيث تم إعادة الزراعة لها كل ستة اسابيع وحسبت المدة اللازمة لتكون البراعم العرضية وعددها وتضاعفها.

تجربه تاثير الاوساط الزراعيه في اقلمه نبيتات نخيل التمر صنف البرحي:

تم عمل اربعة من الاوساط الزراعية(خلطات التربة) وعلى النحو الاتي:

١ رمل

٢ بيتموس اجنبي(المجهز من شركة كالينوس اللتوانية)

٣ رمل وبيتموس بنسبة١:١

٤ رمل وبيتموس بنسبة ١:٢

غسل الرمل جيدا بالماء الجاري لثلاث مرات ومن ثم تم غسله بالماء المقطر وبعد عمل الخلطات ادخلت إلى جهاز التعقيم وعقمت كما دكر سابقا في تعقيم الاوساط الغذائية تم اخرجت وتركت لتاخذ درجة حرارة الغرفة .

اخرجت النبيتات من الانابيب وكانت حاوية على ورقتين ومجموع جدري بطول ٥ سم وغسل المجموع الجدري بالماء الجاري لإزالة بقايا الوسط الغذائي تم بالماء المقطر ووضعت النبيتات في محلول يحتوي على المبيد الفطري Benlate بتركيز٠,٥غم/لتر ولمدة ١٠ دقائق.

نقلت النبيتات إلى دورق حجمي سعة ٥٠٠ سم^{٣} يحتوي على نصف القوى من املاح MS ولمدة خمسة ايام علما إن الدورق الزجاجي تمت تغطيته بدورق زجاجي اكبر لاجل زيادة الرطوبة حول النبيتات.

تم زراعة النبيتات في الاوساط الزراعية وبواقع خمسة مكررات لكل معاملة في سنادين بقطر١٠سم ووضعت في حوض زجاجي بطول ١م وعرض٠,٥ م وبارتفاع ٠,٥ م وسقيت النبيتات بالماء المقطر حسب الحاجة فضلا عن سقيها كل عشرة ايام بربع القوة من املاح MS وبعد عشرة اسابيع حسبت النسبة المئوية للنبيتات المتاقلمة وكما يلي:

$$\text{النسبة المئوية للنبيتات المتاقلمة} = \frac{\text{عدد النبيتات المتاقلمة}}{\text{العدد الكلي للنبيتات}} \times ١٠٠$$

التحليل الإحصائي:

نفذت تجربة الوزن والمدة اللازمة لظهور الكالس كتجارب بسيطة وحسب التصميم العشوائي الكامل The Completely Randomized Design (C.R.D) واختبرت المعنوية بين المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي معدل Revised least significant differences test (R.L.S.D) وبمستوى احتمال ٥%.

نفذت تجارب الاوكسينات و تجارب السايتوكاينينات كتجارب عامليه وحسب التصميم العشوائي الكامل Factorial experiment conducted(C.R.D) واختبرت المعنوية بين المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي معدل Revised least significant differences test (R.L.S.D) وبمستوى احتمال ٥% (الراوي وخلف الله، ١٩٨٠).

النتائج والمناقشه :

استحثات نشوء الكالس :

تاثير الاوكسين NAA في الوزن الطري والمدة اللازمه لظهور الكالس :

توضح النتائج المبينة في الجدول (٤) إن المعاملة بالاوكسين (NAA) بتركيز ٣٠ ملغم/لتر ادت إلى زيادة معنوية في معدل الوزن الطري للكالس بعد ٨ اسابيع من تكونه والمدة اللازمة لتكون الكالس مقارنة ببقية التراكيز عدا التركيز ٤٠ ملغم/لتر فقد بلغ معدل الوزن الطري ٣٩٤و٤٠٩ ملغم لصنفي البرحي والقنطار على التوالي،في حين بلغت المدة اللازمة لتكون الكالس ١٠٢ و٧٢ يوم لصنفي البرحي والقنطار على التوالي.ومن النتائج الموضحة في الجداول وجد إن المدة اللازمة لنشوء الكالس على الاجزاء النباتية المزروعة خارج الجسم الحي اختلفت معنويا تبعا لتركيز الاوكسين المضاف إلى الوسط ،في حين لم يلحظ تكون الكالس في معاملة(المقارنة).

اتصف الكالس المتكون على الاجزاء النباتية في الاوساط الغذائية الحاوية على NAA و 2iP بلونه الابيض ومظهره الحبيبي واختلفت كميته الناتجة اعتمادا على تركيز الاوكسين المضاف إلى الوسط.إن الكالس بهذه المواصفات يعتبر كالس اولي ،كما ذكر ذلك Mater(1986) و Omar (1988) و Nazeri, *et al* (1993) و Jasim (1999) .وتتفق نتائج هذه الدراسة مع ما توصل إليه العديد من الباحثين إذ اشار كل من

El-Hammady (1999) و Jasim(2000) وسعد (٢٠٠١) إلى إن إضافة الاوكسين NAA بالتراكيز المرتفعة نسبيا اكثر من ٢٠ ملغم/لتر يحفز على تكون الكالس بدرجة اعلى من استعماله بتراكيز واطئة وخاصة بوجود السايتوكاينين 2iP في الوسط.

تركيز NAAملغم/لتر	الوزن الطري ملغم	المدة اللازمه لتكون الكالس(يوم)
(المقارنه)	----	----
٢٠	b٢٦٤	b١٣٢
٣٠	a٣٩٤	a١٠٢
٤٠	a٤٠٦	c١٨٦

جدول(٤) تاثير الاوكسين NAA في معدل الوزن الطري والمدة اللازمة لتكون الكالس لصنف البرحي

تركيز NAAملغم/لتر	الوزن الطري ملغم	المدة اللازمه لتكون الكالس(يوم)
(المقارنه)	----	----
٢٠	b٢٨٨	b٩٠
٣٠	a٤٠٧	a٧٢
٤٠	a٤٢٠	a٧٦

جدول(٥) تاثير الاوكسين NAA في معدل الوزن الطري والمدة اللازمة لتكون الكالس لصنف القنطار

الاحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال ٥% ضمن العمود الواحد.

تحفيز تكوين البراعم العرضيه من الكالس :

تاثير الاوكسين NAA والسايتوكاينين 2iP والتداخل فيما بينهما في المدة اللازمة لتكون البراعم العرضية.

من خلال دراسة تاثير التوليفات المختلفة من الاوكسينات والسايتوكاينينات في تحفيز نشوء البراعم العرضية من انسجة الكالس.اتضح من النتائج المبينة في الجدول(٦) إن افضل

معاملة للاوكسين NAA في تحفيز نشوء البراعم العرضية كانت عند التركيز (٢ملغم/لتر) إذ اعطى اقل مدة زمنية لتكوين البراعم وبلغت ١٥٠.٦٢و١٢٠.٧٢ يوما لصنفي البرحي والقنطار على التوالي والذي اختلف معنويا عن المعاملة بالتركيزين (١،٣ملغم/لتر) من الـNAA إذ بلغتا ١٦١.٤٤و١٤١.٦٣ يوم للتركيز ١ ملغم/لتر صنفي البرحي والقنطار على التوالي،في حين بلغت المدة ١٩٠.٥٥و١٤٣.٧٦ يوم للتركيز ٣ملغم/لتر لصنفي البرحي والقنطار على التوالي. في حين لم يلحظ تكون البراعم العرضية في معاملة المقارنة .

كما تبين نتائج الجدول نفسه إن افضل تركيز من السايتوكاينين 2iP كانت عند المعاملة بالتركيز (٤ ملغم/لتر) مع صنفي البرحي والقنطار إذ بلغت ١٤٥.٨٧و ١١٣.١٥ يوم للصنفين على التوالي التوالي، كذلك لم يلحظ تكون البراعم العرضية في معاملة المقارنة.

إما فيما ، فاراتاثير التداخل بين الاوكسين الـNAA والسايتوكاينين الـ2iPفتشير النتائج الموضحة في الجدول ذاته إن استعمال (٢ملغم/لتر)من الـNAA و (٤ملغم/لتر)من الـ2iPاعطى اقل مدة زمنية لتكون البراعم العرضية في صنف البرحي إذ بلغت ١٢٣.١٧ يوما)بفارق معنوي عن جميع المعاملات ، في حين اعطت المعاملة بالـ ـ NAA بالتركيز (١ملغم/لتر) والـ2iP بالتركيز (٤ملغم/لتر)اقل مدة زمنية لتكون البراعم في صنف القنطار إذ بلغت (٩٤.١٨ يوما)، في حين لم يلحظ تكون البراعم العرضية عند معاملة المقارنة.

جدول (٦) تاثير الـ NAA والـ 2iP والتداخل بينهما في المدة اللازمة لتكون البراعم العرضية من الكالس(يوم) لصنف البرحي

تركيز الـNAA (ملغم/لتر)	تركيز الـ2iP (ملغم/لتر)				معدل الـNAA
	صفر(مقارنة)	٢	٤	٦	
صفر(مقارنة)	-				
١	-	١٩١.٥٠	١٣٦.١٩	١٥٦.٦٤	b١٦١.٤٤
٢	-	١٩٤.٦٠	١٢٣.١٧	١٣٤.١٠	a١٥٠.٦٢
٣	-	٢٠٤.٢٧	١٧٨.٢٥	١٨٩.١٥	c١٩٠.٥٥
معدل الـ2iP	-	c١٩٦.٧٩	a١٤٥.٨٧	b١٥٩.٩٦	

الاحرف المختلفه تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال ٥%

قيمة R.L.S.D للتداخل=٧.٧٣

جدول (٧) تاثير الـــ NAA والـــ 2iP والتداخل بينهما في المدة اللازمة لتكون البراعم العرضية من الكالس(يوم) لصنف القنطار

تركيز الـــNAA (ملغم/لتر)	تركيز الـــ2iP (ملغم/لتر)				معدل الـــNAA
	صفر(مقارنة)	٢	٤	٦	
صفر(مقارنة)	-	-	-	-	-
١	-	١٣٤.٤٧	٩٤.١٨	١٩٦.٢٤	١٤١.٦٣
٢	-	١٢٩.٥٦	١٠٤.١٢	١٢٨.٤٩	١٢٠.٧٢
٣	-	١٤٧.٢٥	١٤١.١٦	١٤٢.٨٩	١٤٣.٧٦
معدل الـــ2iP	-	b١٣٧.٠٩	a١١٣.١٥	c١٥٥.٨٧	

الاحرف المختلفه تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال ٥%

قيمة R.L.S.D للتداخل=٦.٤٣

يتضح من النتائج اعلاه تاثير تركيز السايتوكاينين إلى الاوكسين في نشوء البراعم العرضية من انسجة الكالس .وكما هو معروف فان للسايتوكاينينات تاثيرا كبيرا في نمو وانقسام الخلايا وخاصة تاثيرها في انقسام سايتوبلازم الخلايا.كما إن للاوكسينات تاثيرا في استطالة وانقسام الخلايا من خلال تاثيرها في انقسام النواة(محمد ويونس،١٩٩١)

إما بخصوص تاثير نسبة السايتوكاينين إلى الاوكسين في تحديد اتجاه نمو الخلايا والانسجة المزروعة .فعندما تكون نسبة السايتوكاينين إلى الاوكسين واطئة فيكون اتجاه النمو نحو تكوين الجذور،بينما عندما تكون عالية فتؤدي إلى تكون النموات الخضرية وفي حال التوازن بينهما يحدث انقسام للخلايا(Murashige,1974 و مازن،١٩٩٧).

إن نتائج هذه الدراسة تتفق مع الدراسات التي قام بها كل من Zaid,(1993) و Bekheet and Saker,(1998) و Jasim,(2002) و Sudhersan and Abu-El-Nil,(2004) الذين اشاروا إلى إن استعمال الاوكسينات بالتراكيز المنخفضة نسبيا ورفع نسبة التراكيز المستعملة من السايتوكاينينات ادى إلى تكون البراعم العرضية من انسجة الكالس في نخيل التمر ، فضلا عن ذلك إن رفع تراكيز الاوكسينات المضافة إلى الوسط الغذائي ادى إلى تكاثر الكالس ولم تتكون البراعم العرضية من انسجة الكالس المزروعة.

تعد ظاهرة نشوء البراعم العرضية من الانسجة المزروعة خارج الجسم الحي من الظواهر التي تم تسجيلها في العديد من النباتات.إما في النخيل فان هناك بعض المصادر التي تشير إلى استحثاثها (ابحمان واخرون ،٢٠٠١) . وبناءا على نتائج هذه الدراسة فقد تم التوصل إلى وسط ملائم لتشجيع تكونها ومن ثم تضاعفها لاحقا .إن مصدر البراعم العرضية المتكونة هو الخلايا المعرضة للوسط الغذائي إن هذه الخلايا تفقد تمايزها (Dedifferentiation) وتعود إلى الحالة المرستيمية ومن ثم يعاد تمايزها (Redifferentiation)بفعل مكونات الوسط الغذائي والظروف البيئية المحيطة بها إلى مناطق مرستيمية تاخذ شكلها المنتظم باتجاه التطور إلى ما يسمى بالمرستيمات الاولية(Promerstemoids)كما وصفها Torrey(1967).والتي تتطور وتنمو إلى براعم لها التكوين الشكلي (Morphogenesis) نفسه للبراعم الموجودة في ابـاط الاوراق(Thorpe,1978).

تاثير الاوساط الزراعيه في افلمه نبيتات نخيل التمر صنف البرحي:

من نتائج جدول (١١) نستنتج إن لنوع الوسط الزراعي المستخدم في نمو النبيتات له اثر كبير في النسبة المئوية لنجاح النبيتات المتاقلمة حيث بينت النتائج تفوق الوسط المكون من الرمل والبيتموس بنسبة ١:٢وبفارق معنوي عن بقية المعاملات إذ بلغت نسبة النبيتات المتاقلمة و ٩٠٧٠% لصنفي البرحي والقنطار على التوالي ،في حين بلغت ٦٠و ٨٠% عند استخدام الوسط المكون من الرمل والبيتموس بنسبة ١:١ التي تفوقت معنويا عن معاملتي الزراعة في الوسط المكون من البيتموس او الرمل كل على حدة.

جدول(١١) تاثير نوع الوسط الزراعي في % لافلمه نبيتات نخيل التمر صنفي البرحي والقنطار

نوع الوسط	البرحي	القنطار
رمل	b ٣٠	b ٤٠
بيتموس	c ١٠	c ٢٠
رمل+بيتموس ١:١	a ٦٠	a ٨٠
رمل+بيتموس ١:٢	a ٧٠	a ٩٠

*الاحرف المتشابهة لا تختلف معنويا عند مستوى احتمال ٥% بالنسبة للعمود الواحد

إن ارتفاع النسبة المئوية للنبيتات المتاقلمة في الوسط المكوّن من البيتموس والرمل قد تعود إلى إن الرمل يحتوي على مسامات جيدة لنمو وانتشار الجذور فضلا عن كونه وسط جيد لتصريف الماء ويمنع اختناق النبيتات، كما إن وجود البيتموس كوسط مَغذي مع وسط جيد التهوية كالرمل يَعتبر جيد وملائم لنمو النبيت (Sharma *et al.*, 1991).

اما انخفاض النسبة في الوسط المكوّن من رمل فقط فيعود إلى إن الرمل ذو محتوى قليل من العناصر الغذائية فضلا عن كونه لا يحتفظ بالرطوبة، في حين على العكس يوفر وسط البيتموس العناصر الغذائية لكنه وسط غير جيد لنمو النبيتات، فقد وجد كلا من Sharon and Shankar(1998) إن الزراعة على وسط مكون الرمل والبيتموس يزيد من نسبة نجاح النبيتات المتاقلمة وبفارق معنوي عن الزراعة في وسط مكون من الرمل او البيتموس بصورة منفردة.

المصادر العربيه:

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

البكر،عبد الجبار(١٩٧٢). نخلة التمر ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعتها وتجارتها.مطبعة العاني.بغداد العراق .

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

المعري، خليل وجية (١٩٩٥) إكثار نخيل التمر بوساطة تقنية زراعة الانسجة النباتية، جامعة دمشق، كلية الزراعة.دمشق ١٩٩٥.

الصفدي ، بسام (١٩٩٥) . تقنية زراعة الانسجة وتطبيقاتها العلمية . الدورة التدريبية القومية حول غكثار تقاوي البطاطس بزراعة الانسجة – دمشق – الجمهورية العربية السورية . منشورات المنظمة العربية للتنمية الزراعية (AOAD) : ٢٥ – ٥٤ .

سعد، احمد عبد الله (٢٠٠١). تاثير نوع الوسط الغذائي والسايتوكاينين في نشـــوء الكـــالس وتكون الاجنة الخضرية في نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف الاشـــقر، رسالة ماجستير، قسم البستنة والنخيل، كلية الزراعة جامعة البصرة العراق.

مازن، احمد (١٩٩٧). اسس تطبيقات تكنولوجيا زراعة الانسجة النباتية، الدورة التدريبيـــة لزراعة الخلايا والاعضاء النباتية وتطبيقاتها، جامعة قطر –الدوحة.

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

المصادر الاجنبية

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

Al-Khayri, J.M. and Al-Bahrany, A.M.(2001).Silver nitrate and 2-isop-entyladenine promote somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera* L .).Sci.Hortic.89:290-298.

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.Vol 13.

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

Anjaran, M.; Bougerfaoui, M.; Cheick, R. and Aitchitt, M.(1995). Production de in vitro plants de palmier datter parla techniqed organogenesis *in vitro*. Experience marocaine Journeesinternationales surle palmier dattier dons agriculture oisenne pays mediter aniens –Elche Espagne: 25-27 Avril .

Bekheet,S.A.and Saker,M.M(1998).Direct and indirect shoot proliferation from shoot-tip explants of(*Phoenix dactylifera* L.) c.v. Zaghlool.*In Vitro* propagation of Egyption Date Palm .

Drira,N.(1983).Multiplication vegetative du palmier dattier(*Phoenix dactylifera* L.). par. La. Culture in vitro de bomgeons axillaries de femilles queen deivent CR A ead. Nel .Paris 296:10//1082.

El-Hammady, A. M.; Wanas , W. H.; Abu-Rawash, M. and Awad, A .A.(1999). Regeneration of date palm “sewy” cv. plantlets by somatic embryogenesis through callus with reference to the genetic

stability . in :pro.the Int. Conf. Date Palm ,Nov.1999.Assiut Univ.Egypt.:117-131.

Jasim,A.M.(1999). Response of different date palm cultures (*Phoenix dactylafera* L.) in vitro, Basrah J.Agric.Sci.,12(2):9-17.

Jasim,A.M. (2000). Production of somatic embryos of date palms (*Phoenix dactylifera* L.). *In vitro* by liquid media culture. J.Basrah ,Researchs ,.24 (1): 1-6.

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

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 regenerated plantlets by RAPD markers. In: 1st. Inter.Conf. Date Palms, Mar., 1998, Al-Ain , U.A.E.:158-167.

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

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

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

Nazeri,S.;Khoshkam,S.;Afshari,M.;Modiri,M.;Shakib,A.and Majidi,E.(1993). Somatic embryogenesis in date palm cv. Estamran and Kabkab. Seed and Plant 8:16-20.

Omar, M.S.(1988). Callus initiation asexual embryogenesis and plant regeneration in (*Phoenix dactylifera* L.).Date Palm J.6:265-275.

Omar, M.S.;Hameed, M.K. and Al-Rawi,M.S.(1992). Micropropagation of date palm (*Phoenix dactylafera* L.). in:pajaj,Y.P.S.ed.Biotechnology in agriculture and foresty Vol.18 High.tech. and micropropagation II.Springer – Verlag,Berlin,Headel.Berg , 471-492.

Sharma, D.R.; Chowdhury, J.B.; Neelam, R.Yand Chowdhury, V.K (1991).*In vitro* multiplication of female date palm (*Phoenix dactylifera*). Bulletin-de-la-Societe-Botanique-de-France,Actuali-te Botaniqes 137:3-4,15-23.paper presented at the symposium entitled impact of biotechnology in agriculture organized by the Botanical society of France.held at Amiens, France 10-12 July.

Sharon, M. and Shankar, P.C.(1998).Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf primordial of *Phoenix dactylifera cvYakubi* Indian J .Exper.Biol.Vol.36:526-529.

Sharma, D. R.;Dowra,S.andChowdhury,J.B. (1986). Regeneration of plantlets from somatic tissue of the date (*Phoenix dactylifera* L). Indian J. Exp.Biol.24:763-766.

Sudhersan , C.;Abu 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. Current science. 65:887-888.

Sudhersan , C.and Abu El-Nil,M.M.(2004).Axillary shoot production in micropagated date palm(*Phoenix dactylifera* L.) Current science.86(6).

Tisserat,B. (1981). Production of free living date palm through tissue culture. Date Palm J. 1(1):43-54.

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

Tisserat,B. (1991). Clonal propagation of palms. Plant tissue culture manual,C2:1-14.

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

Zaid,A (1993).Review of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L). Tissue Culture . In: 2nd .Symp.on date palm. March, 1993.KFU. Saudi Arabia, 67-75.

Zaid,A and De Wet,P.F (2005).Date palm propagation .date production support programme.F.A.O. corporate document repository.

Acclimation plantlets of the two cultivars of date palm (*Phoenix dactylifera* L.)By *in vitro*

Usama N.J.Al-meer **Nael Sami Jameel**

Date Palm Research Center
University of Basrah
Iraq

Summary:

This study was conducted in the laboratory of plant tissue culture research center of the palm / University of Basra to the production of plantlets acclimatized and subsequently for the two types of date palm is rare in Basra (Barhi and Kantar) through the formation of buds spin-off of the initial callus .

Took fourths of terminal buds Shoot tips of 3-year-old cuttings and planted in the media of diet and MS the forces of steel and supplied complete with 30 mg / L naphthalene acetic acid NAA and 3 mg / L 2ip and 3 g / liter of activated charcoal, 30 gm / liter of sucrose and added e vitamins Biotin and Thiamin-Hcl Pyridoxine at a concentration of 1 mg / L adenine sulphate was also added of close concentration of 40 mg / L and sodium ortho phosphate acid concentration of 170 mg / L and 100 mg / L of the Meso-inosetol and add the Agar concentration of 7 g / L and incubated at growth chamber on temperature of ،the 27c±2 intensity of light 1000 Lux and 16 hours after light and 8 hours darkness and were secondary Agriculture Sub-Culture every 4 weeks until the callus was then changed on the medium of for the purpose of stimulating the Buds incidental. Results of the study have shown the following :

1-The use of plant growth regulator Naphthalene acetic acid at concentration of 30 mg / L had an emotional impact in the rate of weight and time required for the initial appearance of callus, callus may be the first in a class Barhi after 102 days, while Kuntar be in a class after 72 days, as The average weight of callus after 8 weeks for up to 406 and 420 mg of Barhi Qantar, respectively, when using the focus 40 mg L and without focus on the moral difference 30 mg / liter .

2-It was noted that the use of concentration 2 mg / L of naphthalene acetic acid with 6 mg / L 2ip had an emotional impact in reducing the time required for the emergence of spin-off buds, buds, and formed a spin-off in class Barhi 134.10 after day, when they disagreed with the

term class Kuntar was formed as buds off after 94.18 the day when the use of 1 mg / L of naphthalene acetic acid with 4 mg / L 2ip .
3-After a protracted process of buds off and have been rooting plantlets acclimatization in the laboratory and the results of research have shown that the use of agricultural medium component of sand and peat moss by 1:2 led to a significant increase in the percentage of plantlets adapted amounted to 70 and 90% Barhi Qantar, respectively, while the percentage dropped to 30 and 40% when you use the agricultural medium component of sand only Barhi Qantar, respectively .
4-clear from the results that plantlets have been obtained for the class Kuntar is a better and stronger than those of class Barhi as strongly marked by its leaves and not to lose moisture quickly with those sorts of Barhi, and the plantlets class Kuntar has been characterized to possess a thick roots and the roots of the secondary container.