تأثير تركيز أملاح الـMS والسكروز في تكوين البراعم الجانبية لنخيل التمر صنف الساير المكثرة نسيجياً (*Phoenix dactylifera* L.)

عقيل عبود سهيم الخليفة أسامة نظيم جعفرالمير خيرالله موسى عواد الجابري

مركز أبحاث النخيل / جامعة البصرة

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مختبر الزراعة النسيجية التابعة لمركز أبحاث النخيل في جامعة البصرة لمعرفة تأثير تركيز الأملاح اللاعضوية (أملاح الـ MS) والسكروز في تكون البراعم الجانبية لنخيل التمر صنف الساير خارج الجسم الحي . استعمل لتنفيذ هذه الدراسة أرباع البرعم القمي (Shoot tip) المستحصل عليه ا من فسائل (Offshoots) نخيل التمر صنف الساير وبعمر(2–3) سنة، اختبرت عدة تراكيز من أملاح الـMS وهي (نصف القوة و قوة كاملة(المقارنة) و قوة ونصف و ضعف القوة) كما اختبرت عدة تراكيز من السكروز وهي (30 (المقارنة) و 40 و 50 و 60) غرام / لتر. كما جهزت الأوساط الغذائية ب مسحوق الفحم المنشط (Activated charcoal) 1 غم/لتر والاكار 7 غم/لتر وكذلك بـ 3 ملغم/لتر Naphthalene acetic acid(NAA) و10 ملغم/لتر2-Isopentenyl adenine(2iP) حضنت الزروعات تحت الظلام لمدة أربعة اشهر ثم نقلت تحت شدة إضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة يومياً وأجريت عملية إعادة الزراعة لها كل أربعة أسابيع وبينت نتائج الدراسة ما يلي:

1 - أظهرت الدراسة إن استخدام أملاح الـ MS بالتركيز قوة ونصف أدى إلى التقليل من المدة الزمنية اللازمة لتكون البراعم الجانبية إذ بلغت (187.6) يوم ،كما ساعد تكون أعلى معدل لعدد البراعم الجانبية وبلغ(4.8)برعماً بالمقارنة مع استخدام التراكيز الأخرى.
2 - وجد من النتائج إن تركيز السكروز 40 غم /لتر قد تفوق معنوياً في تقليل المدة اللازمة لتكون البراعم الجانبية وبلغت (190.5) يوم بالمقارنة مع التراكيز الأخرى كما أدى إلى تكون البراعم الجانبية بأعلى معدل وبلغ (4.8) برعماً.
3 - بينت النتائج إن استخدام أملاح الـMS بالتركيز قوة ونصف مع السكروز بالتركيز 40 غم /لتر أدى إلى تقليل المدة الزمنية لتكون البراعم الجانبية إذ بلغت (174) يوم ،فضلاً عن تكون البراعم بأعلى معدل وبلغ (7.3) برعماً.

المقدمة

تعتبر تقانة الزراعة النسيجية من التقانات المهمة في إكثار العديد من النباتات ،إذ بدأت المحاولات الأولى لإكثار نخيل التمر بهذه التقانة في مطلع السبعينيات من القرن الماضي حيث تركزت الأبحاث والدراسات في ذلك العقد في البحث عن أفضل الأوساط الغذائية اللازمة لزراعة الجزء النباتي الأمثل وتحديد الظروف الملائمة لتطور الزروعات النسيجية (Al-Wasel,2001).

يعد الوسط الغذائي أحد أهم العوامل المؤثرة في نجاح الزراعة النسيجية إذ تأتي أهميته في تامين العناصر اللازمة لنمو وتطور الجزء المزروع

وتستعمل أملاح MS(أملاح موراشيجي وسكوج) في الوسط الغذائي لتجهيز الجزء النباتي أو النسيج المزروع بالعناصر الأساسية التي يحتاجها ، ومن المعروف إن الأنسجة والخلايا المزروعة ليس لها القدرة على تصنيع غذائها معتمدة كلياً على ما يتوفر لها في الوسط من عناصر غذائية جاهزة وان عدم الدقة في أضافتها إلى الوسط أو حذفها منه يؤدي إلى حدوث تسمم أو تثبيط نمو الجزء المزروع(مازن،1997).

أوضح .Al-Maarri and Al-Ghamidi(1997) إن لتراكيز أملاح MS دوراً فعالاً في تحفيز تكون البراعم الجانبية من القمم النامية ، إذ بين إن زراعة القمم النامية على أوساط غذائية حاوية على أملاح MS بتراكيز مختلفة (نصف القوة ، قوة كاملة ،قوة ونصف) أعطت نتائج متفاوتة لنخيل التمر صنف الهلالي .

وفي دراسة قام بها حميد(2001) استعمل فيها توليفة من تراكيز أملاح MS (قوة كاملة، ضعف القوة ، ثلاث مرات من القوة) أوضح إن استعمال أملاح MS بضعف القوة أدت إلى زيادة تحفيز تكون البراعم ، في حين لم يلاحظ تكون البراعم عند استعمال ثلاث مرات من القوة الأصلية في نخيل التمر صنف المكتوم.

كما تشير معظم المصادر إلى استعمال السكروز كمصدر للطاقة من قبل العديد من الباحثين الذين حصلوا على نتائج جيدة في استجابة الأجزاء النباتية المزروعة لنخيل التمر خارج الجسم الحي(Mater,1986;Omar, *et al.*1992) .

وأوضح المعري والغامدي(1998)إن رفع نسبة السكروز أدى إلى رفع نسبة تكون البراعم الجانبية من القمة النامية المزروعة على وسط MS إذ بين إن استخدام التركيز 70 غم/لتر من السكروز قد رفع معدل تكون البراعم من القمة النامية بالمقارنة مع التركيز 30 غم / لتر. وبين حميد(2001) إن رفع نسبة السكروز في الوسط الغذائي إلى 45 غم/لتر اثر بشكل معنوي في تحفيز تكون البراعم على القمة النامية لصنف المكتوم .

المواد وطرائق العمل

نفذت هذه الدراسة في مختبر الزراعة النسيجية التابع لمركز أبحاث النخيل –جامعة البصرة خلال العام 2008م .

استئصال الأجزاء النباتية.

استخدمت في هذه التجربة فسائل نخيل التمر صنف الساير حيث تم قلع عدد من الفسائل Offshoots تراوحت أعمارها بين (2–3) سنوات من بساتين منطقة أبي الخصيب في محافظة البصرة، شرح ت الفسائل بواسطة سكين وأزيلت أوراقها وأليافها تصاعدياً حتى الوصول إلى البرعم ألقمي Shoot Tip (قلب الفسيلة) والذي يبدو بهيئة جسم هرمي واستأصل بارتفاع (10 ملم) وقطر قاعدة (10 ملم) مع طبقة لحمية (1 ملم) تقريباً تساعد على تماسك الأوراق وبع د استئصال البرعم ألقمي والبراعم الابطية تم وضعها في محلول مضاد للأكسدة (Antioxidant Solution) والذي يتكون من (100) ملغم /لتر من حامض الاسكوربيك (Ascorbic Acid) و (150) ملغم/لتر من حامض الستريك (Citric Acid). حفظت الأجزاء النباتية في الثلاجة على درجة 5 م ^{o} لحين أجراء عملية التعقيم السطحي لمدة 24 ساعة.

التعقيم السطحي للأجزاء النباتية Surface Sterilization .

أجريت عملية التعقيم السطحي للأجزاء النباتية بعد إخراجها من المحلول المضاد للأكسدة وجزئت البراعم القمية إلى أربعة أقسام متساوية قدر الإمكان بواسطة مشارط وملاقط معقمة وتركت البراعم الابطية على هيئتها ووضعت مع أرباع البراعم القمية في وعاء زجاجي يحتوي على القاصر التجاري(الكلوركس) (20%) حجم/حجم محتوي على هيبوكلورايت الصوديوم (Sodium Hypochlorite) مضافاً إليه قطرة واحدة من المادة الناشرة (Tween 20) لكل (100 سم^{3}) من المحلول مع الرج والتحريك بين الحين والأخر ولمدة (15) دقيقة وبعدها استخرجت الأجزاء النباتية من محلول التعقيم وغسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات تمت هذه العملية على منضدة انسياب الهواء الطبقي (Laminar air flow cabinet) المعقمة مسبقاً بالايثانول 70% والفورمالديهايد المخفف بالماء المقطر المعقم (Tisserat, 1991).

تحضير الوسط الغذائي Preparation of nutrient medium .

يتكون الوسط الغذائي من مجموعة من الأملاح اللاعضوية الموصوفة من قبل(Murashige and Skoog, 1962) وتعرف بأملاح الـMS وتحضر هذه الأملاح بالمختبر على شكل محلول أساس(Stock solution) المتكونة من خمس مجاميع وكما موضحة في جدول(1)

جدول(1) تركيز الأملاح اللاعضوية لوسط الـ"MS"

المجموعة	اسم المادة	الرمز الكيمائي	الكمية(ملغم/لتر)
النترات Nitrates	نترات الامونيوم Ammonium nitrate	NH_4NO_3	1650
	نترات البوتاسيوم Potassium nitrate	KNO_3	1900
الكبريتات Sulphates	كبريتات المغنيسوم المائية Magnesium sulphate	$MgSO_4.7H_2O$	370
	كبريتات المنغنيزالمائية Manganese sulphates	$MnSO_4.H_2O$	16.9
	كبريتات الخارصين المائية Zinc sulphates	$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
	كبريتات النحاس المائية Cupric sulphates	$CuSO_4.5H_2O$	0.025
الـ P.B.Mo	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين Potassium di Hydrogen	KH_2PO_4	170
	حامض البوريك Boric Acid	H_3BO_3	6.2

	مولبيدات الصوديوم المائية Sodium Molybdate	$NaMoO_4.2H_2O$	0.25
Halides الهاليدات	كلوريد الكالسيوم المائية Calcium Chloride	$CaCl_2.2H_2O$	440
	ايوديد البوتاسيوم Potassium Iodide	KI	0.83
	كلوريد الكوبلت المائية Cobalt Chloride	$COCl_2.6H_2O$	0.025
الحديد المخلبي	كبريتات الحديدوز المائية Ferrous Sulphate	$FeSO_4.7H_2O$	27.84
	المادة المخلبية بشكل ملح ثنائي الصوديوم Ethylene di Amine tetra Acetic Acid	Na_2EDTA	37.24

جدول(2) تركيز المواد المضافة إلى الوسط الغذائي الخاص بتكون البراعم

المادة		الكمية (غم/لتر)
السكروز	Sucrose	30
اورثو فوسفات الصوديوم الحامضية	Sodium hydrogen ortho phosphates	0.170
ميزو اينو سيتول	Meso inositol	0.100
كبريتات الأدنين	Adenine sulphates	0.040
ثيامين-HCL	Thiamine-HCL	0.0005
فحم منشط	Activated charcoal	1
آكار	Agar	7

استعملت أنابيب اختبار بحجم (2.5×18)سم احتوت على 20مل من الوسط الغذائي وتم ضبط حموضة الوسط على pH(5.7) بواقع خمسة مكررات لكل معاملة .حضنت الزروعات بدرجة حرارة 27 ± 1 م^{0}تحت الظلام لمدة أربعة اشهر ثم نقلت تحت شدة إضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة يومياً .سجلت مدة أول ظهور للبراعم الجانبية وجمعت نتائج البراعم المتكونة وإعدادها بعد ستة أشهر من الزراعة حيث تم إعادة الزراعة لها كل أربعة أسابيع.

تأثير تراكيز مختلفة من أملاح MS في تكون البراعم الجانبية.

تم دراسة تأثير تراكيز مختلفة من أملاح MS (نصف القوة،قوة كاملة(معاملة المقارنة)، قوة ونصف ،ضعف القوة) في تكون البراعم الجانبية.تم إضافة (1)ملغم/لتر من الاوكسين NAA و(10)ملغم/لتر من السايتوكاينين**2iP** وتم إضافة المواد المدرجة في الجدول (2) إلى الوسط الغذائي.

تأثير تراكيز مختلفة من السكروز في تكون البراعم الجانبية.

تم دراسة تأثير السكروز بالتراكيز (40،50،60) غم/لتر إضافة إلى معاملة المقارنة(30)غم/لتر .

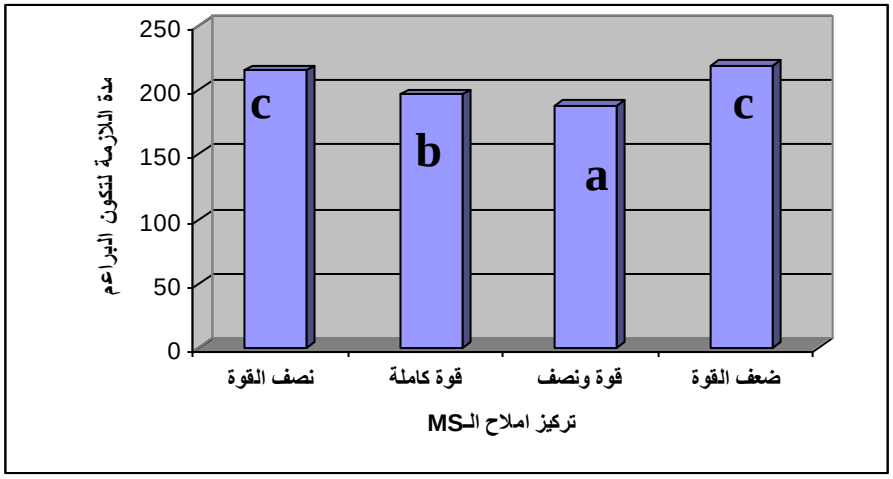
التحليل الإحصائي.

نفذت التجربة حسب 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 5%(الراوي وخلف الله، 1980).

النتائج والمناقشة

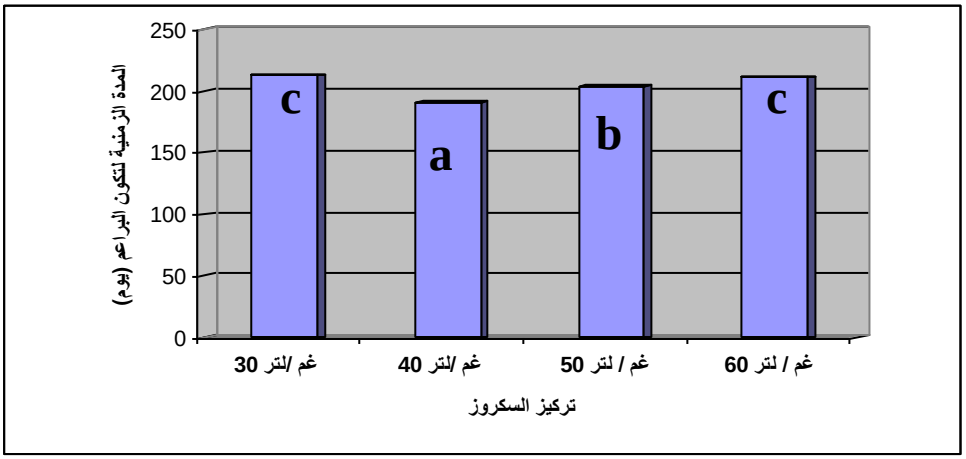
1 -المدة الزمنية اللازمة لتكون البراعم الجانبية.

تبين نتائج الشكل(1) دور الأملاح اللاعضوية (أملاح MS) في تحفيز تكون البراعم الجانبية لنخيل التمر صنف الساير المكثرة نسيجياً ،إذ تبين وجود فروقات معنوية بين تراكيز الأملاح في المدة الزمنية لتكون البراعم .إذ تفوق الوسط المجهز بالتركيز (قوة ونصف) في تكون البراعم بأقل مدة زمنية بلغت (187.6)يوم وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة (قوة كاملة)،في حين ارتفعت المدة الزمنية عند التركيز (ضعف القوة) وبلغت (219) يوم وبفارق غير معنوي عن المعاملة (نصف القوة).



شكل (1) تأثير تركيز أملاح MS في المدة الزمنية اللازمة لتكون البراعم الجانبية
الأحرف المختلفة دلالة على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 0.05

كما بينت نتائج الشكل (2) تأثير تركيز السكروز في تحفيز تكون البراعم الجانبية المكثرة خارج الجسم الحي إذ تفوقت المعاملة بالتركيز 40 غم / لتر في تكون البراعم الجانبية بأقل مدة زمنية وبلغت (190.5) يوم ،وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة 30 غم / لتر والتي بلغت(213) يوم والتي لم تختلف معنويا عن المعاملة بالتركيز 60 غم / لتر .



شكل (2) تأثير تركيز السكروز في المدة الزمنية اللازمة لتكون البراعم الجانبية

الأحرف المختلفة دلالة على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 0.05

جدول (1) تأثير التداخل بين تركيز أملاح MS و السكروز في المدة اللازمة لتكون البراعم الجانبية

تركيز أملاح الـ MS	تركيز السكروز غم / لتر			
	30	40	50	60
نصف القوة	223	196	207.6	232.3
قوة كاملة(المقارنة)	201.6	186	198	200.3
قوة ونصف	197	174	188.6	191
ضعف القوة	230.6	206	219	202.3
R.L.S.D	1.393			

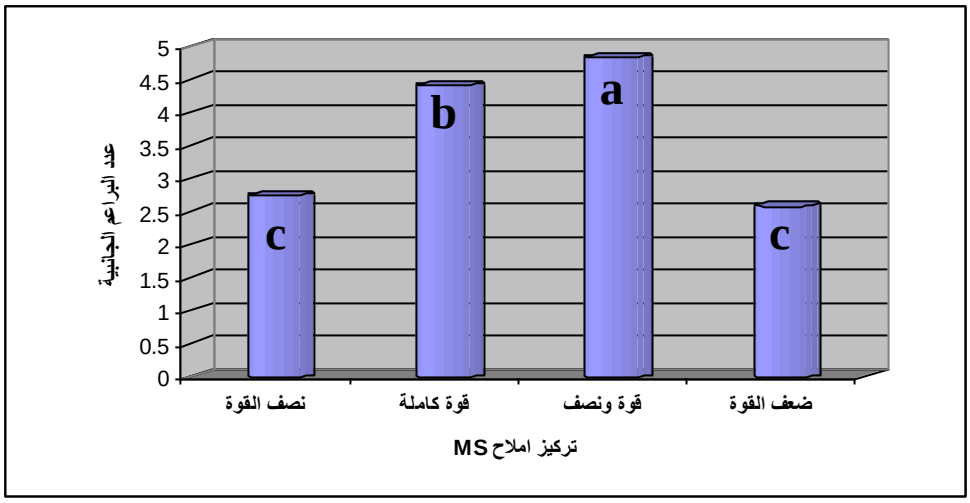
أما فيما يخص تأثير التداخل بين تركيز أملاح MS والسكروز في المدة اللازمة لتكون البراعم الجانبية إذ تبين من نتائج الجدول(1) إن المعاملة بالتركيز قوة ونصف من أملاح الـMS و40 غم/لتر من السكروز قد أدى إلى تكون البراعم الجانبية بأقل مدة زمنية إذ بلغت (174) يوم وبفارق معنوي عن التداخلات الأخرى.

لوحة (1) مبادىء البراعم الجانبية لنخيل التمر صنف الساير على وسط غذائي مجهز بتركيز قوة ونصف من أملاح الـ MS و(40)غم سكروز

لوحة (2) تكون البراعم الجانبية لنخيل التمر صنف الساير على وسط غذائي مجهز بتركيز قوة ونصف من أملاح الـ MS و(40)غم سكروز

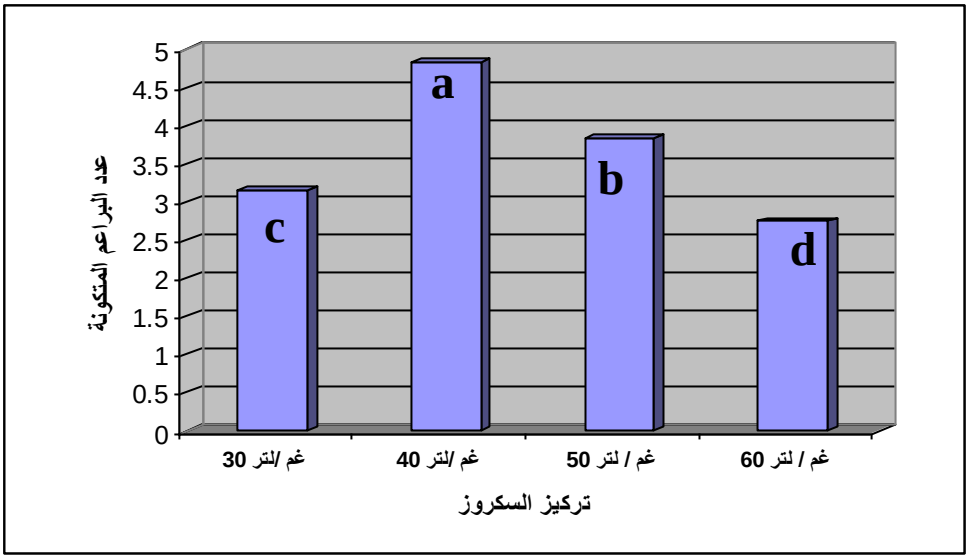
2 -عدد البراعم الجانبية المتكونة.

يوضح الشكل(3) تأثير أملاح MS في عدد البراعم المتكونة إذ وجد إن الوسط الغذائي المجهز بالتركيز (قوة ونصف) من أملاح MS أدى إلى تكون أعلى معدل لعدد البراعم الجانبية وبلغ (4.83)برعماً،وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة (قوة كاملة) والتراكيز الأخرى.في حين انخفض معدل عدد البراعم المتكونة عند التركيز (ضعف القوة) وبلغ (2.58)برعماً والذي لم يختلف معنوياً عن التركيز (نصف القوة).



شكل (3) تأثير تركيز أملاح MS في عدد البراعم الجانبية المتكونة
الأحرف المختلفة دلالة على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 0.05

كما أوضحت نتائج الشكل (4) تأثير تركيز السكروز في عدد البراعم الجانبية المتكونة إذ تفوقت المعاملة بالتركيز 40 غم / لتر في تكون أعلى معدل لعدد البراعم وبلغ (4.83) برعماً ،وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة 30 غم / لتر والتي بلغت(3.83) برعماً،في حين بلغ اقل معدل لعدد البراعم الجانبية عند المعاملة بالتركيز 60 غم / لتر إذ بلغ (2.75)برعماً.



شكل (4) تأثير تركيز السكروز في عدد البراعم الجانبية المتكونة
الأحرف المختلفة دلالة على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 0.05

جدول (2) تأثير التداخل بين تركيز أملاح MS و السكروز في عدد البراعم الجانبية

تركيز أملاح الـ MS	تركيز السكروز غم / لتر			
	30	40	50	60
نصف القوة	2.3	3.0	3.3	2.3
قوة كاملة(المقارنة)	3.6	6.3	4.6	3.0
قوة ونصف	3.0	7.3	5.0	3.0
ضعف القوة	2.6	2.6	2.3	2.6
R.L.S.D	0.619			

أما تأثير التداخل بين تركيز أملاح MS والسكروز في عدد البراعم الجانبية المتكونة تبين من نتائج الجدول(2) إن المعاملة بالتركيز قوة ونصف من أملاح الـMS و40 غم/لتر من السكروز قد أدى إلى تكون البراعم الجانبية بأعلى معدل إذ بلغ (7.3) برعماً وبفارق معنوي عن التداخلات الأخرى.

ويتضح من النتائج تأثير تركيز أملاح الـ MS في تحفيز تكون البراعم الجانبية لنخيل التمر المكثر نسيجيا لما لها من دور مهم في نمو الأنسجة النباتية من خلال تأثيرها في عمليات البناء الغذائي والفعاليات الإنزيمية المختلفة(مازن،1997).

وقد يعزى تفوق المعاملة بالتركيز قوة ونصف من أملاح الـ MS وكذلك التركيز 40 غم/لتر من السكروز في تكون البراعم الجانبية وإنتاج أعلى معدل لعدد البراعم الى أهمية كل من العناصر اللاعضوية للأملاح موراشيجي وسكوج في تجهيز الجزء النباتي أو النسيج المزروع بالعناصر الأساسية التي يحتاجها.فضلاً عن وجود السكروز الذي يعد من أهم العوامل في مزارع الأنسجة النباتية وتكمن أهميته في احتواءه على الكاربون والذي يعد مصدراً للطاقة والتي تستخدم من قبل الأنسجة لغرض الانقسام ومراحل النمو المختلفة(Hennigar,1990 و Trigian and Gray,1999).

المصادر

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

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.

مازن، احمد (1997). أسس تطبيقات تكنولوجيا زراعة الأنسجة النباتية، الدورة التدريبية لزراعة الخلايا والأعضاء النباتية وتطبيقاتها، جامعة قطر –الدوحة.

المعري، خليل وجيه والغامدي، عبد الله صالح(1998).اثر موعد زراعة الأجزاء النباتية على إكثار النخيل صنف الهلالي بالأنسجة النباتية، إصدارات الندوة العلمية لبحوث المملكة المغربية –مراكش 16–18/شباط/1998.

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.

Hennigar, G.R.(1990). Drug chemical injury environmental.In;J.M. – kissane pathology, 9th .ed.the C.V. Mosby company,pp:162.

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

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

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

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

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

Trigian, R.M. and Gray,D.J.(1999). Plant tissue culture concept and laboratory exercises 2nd .ed .pp:454.

Effect of MS salts and sucrouse on formation of lateral buds of date palm cv. Sayer *in vitro*

Aqil,A.S.Al-khalifa Usama,N.J.Al-Meer Khearallah M. A. Al-Jabary
Date palm research center –Basrah University

Summary

This study was effectuated at Date Palm tissue culture laboratory. (Date Palm Research Center –Basrah University) to study the effect of of MS salts and sucrose on formation of lateral buds of date palm offshoots c.v sayer.The quarter apical buds was used which was obtained from offshots (2-3)years .different concentration of MS salts was teasted (half strength , full strength ,full half strength, dubel strength) and different concentration of sucrose(30,40,50,60) g/l. These explants were cultured on nutrient medium supplemented 1 g/l activated charcoal ,7 g/l agar ,3 mg/l NAA and cytokinins (2iP) 10 mg/l. Cultures were incubated in darkness for four months at 27±1 c^0 and sub cultured was done every four weeks then the culture was transfer to lights at 1000 lux at periods16 hours daily the results showed that:

1- Results showed that the use full half strength of MS salts was stimulated to formation of lateral buds in short period was reached(187.6) days and led to have higher number of lateral buds(4.8) compared to the other concentration.

2-Used of 40 g/l sucrose which was reduced the period to formation of lateral buds was reached (190.5) days. significant compared to the other concentration. and led to have higher number of lateral buds(4.8).

3-Results showed that the use full half strength of MS salts and 40 g/l sucrose which was reduced the period to formation of lateral buds was reached (174) days. significant compared to the other concentration. and led to have higher number of lateral buds(7.3).