تأثير عمر الفسيلة ونوع الجزء النباتي وموعد تجهيزه في تكون البراعم الجانبية لنخيل التمر صنف الساير خارج الجسم الحي

احمد رشيد عبد الصمد

مركز أبحاث النخيل / جامعة البصرة

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مختبر الزراعة النسيجية التابعة لمركز أبحاث النخيل في جامعة البصرة لمعرفة تأثير عمر الفسيلة ونوع الجزء النباتي وموعد تجهيزه في تكون البراعم الجانبية لنخيل التمر صنف الساير خارج الجسم الحي . استعمل لتنفيذ هذه الدراسة أرباع البرعم القمي (Shoot tip) والمنطقة تحت المرستيمية و البراعم الأبطية (Axillary buds) المستحصل عليها من فسائل (Offshoots) نخيل التمر صنف الساير وبأعمار مختلفة(1 و2 و3 و4) سنوات، والتي زرعت في أوساط غذائية صلبة متكونة من أملاح MS (قوة كاملة)ومسحوق الفحم المنشط (Activated charcoal)(1 غم/لتر)و الاكار بتركيز (7 غم/لتر) والمزودة بـ 3 ملغم/لتر Naphthalene acetic acid (NAA) و10 ملغم/لتر 2-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. إن انسب عمر للفسيل ملائمة للزراعة النسيجية كان بعمر (3 و2) سنة إذ قلت النسبة المئوية لتلوث الأجزاء النباتية واسمرارها وكذلك حفز على تكوين البراعم الجانبية بأقل مدة زمنية وبلغت(168 و175) يوم على التوالي.
2. أظهرت الدراسة إن استخدام أرباع البرعم ألقمي قد أدى إلى التقليل من نسبة التلوث والاسمرار إلى أدنى مستوى ،كما ساعد على تحفيز تكوين البراعم الجانبية بمدة قصيرة نسبياً بلغت(178) يوم بالمقارنة مع استخدام البراعم الابطية أو المنطقة تحت المرستيمية.
3. وجد من خلال الدراسة إن انسب موعد لتجهيز الأجزاء النباتية للزراعة النسيجية كان في شهر (تشرين الأول) الموعد الشتوي ،إذ أدى إلى تقليل نسبة التلوث والاسمرار بمعدلات كبيرة كما أدى إلى تكون البراعم الجانبية بمدة زمنية قدرها (168) يوم وبالمقارنة مع موعد التجهيز خلال شهر أيار (الموعد الصيفي).

المقدمة

تعد تقانة زراعة الأنسجة النباتية من الطرق الحديثة الهامة في إكثار النباتات ويمكن إن تكون البديل عن طرائق الإكثار التقليدية ، ولهذه التقانة تطبيقات هامة في مجال الإكثار الخضري إذ تسمح بالحصول على إعداد كبيرة من النباتات المتشابهة من الناحية الوراثية وذات النوعية الجيدة والخالية من الإمراض(المعري،1995)

يشتمل إكثار النخيل بالتبرعم عدة مراحل هي الزراعة الأولية و بداية تكون البراعم ومن ثم إكثارها وتكوين النموات الخضرية واستطالتها وتجذيرها وأخيرا التقسية والنقل إلى ظروف الحقل الطبيعية(Beauchesne *et al*.1982 و Zaid,1993)

يتحدد نجاح الزراعة الأولية بعدة عوامل منها ما هو متعلق بتركيب الأوساط الغذائية ومنها ما هو متعلق بالحالة الفيزيولوجية للنبات ألام ومنا متعلق بالعوامل المناخية(الحرارة و الإضاءة) الواجب توفرها في غرفة النمو(El-Sabrout,2002).

يعتبر عمر النبات ألام عاملا محددا لإكثار كثير من النباتات بواسطة الزراعة النسيجية ،وبشكل عام تقل قدرة الأجزاء النباتية على الإكثار كلما زاد عمر النبات ألام ،ورغم ذلك فان اثر عمر النبات ألام يظهر بقدرة الأجزاء النباتية على الاستجابة للنمو(المعري والغامدي،1998)

يعد اختيار نوع الجزء النباتي و الموعد المناسب لتجهيزه لغرض الزراعة النسيجية لنخيل التمر من العوامل المهمة لنجاح المرحلة الأولى لتأسيس المزرعة النسيجية.إن احتواء البراعم الطرفية والأجزاء المرستيمية على الهرمونات الداخلية وفعالية إنزيمات الأكسدة تكون مختلفة طوال السنة ويؤثر ذلك على حدوث ظاهرة الاسمرار عند الزراعة النسيجية(Al-Bakir, *et al* .1989 وبكري،1994)

تستخدم عدة أجزاء نباتية للزراعة خارج الجسم الحي مثل(البرعم ألقمي والبراعم الابطية ومباديء الأوراق والأنسجة تحت المرستيمية)وتختلف هذه الأجزاء في استجابتها للنمو وتكوين مباديء البراعم أو تكوين الكالس (Vermandi and Navarro,1997 و Jasim,2002 و محسن،2007).

المواد وطرائق العمل.

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

استئصال الأجزاء النباتية.

استخدمت في هذه التجربة فسائل نخيل التمر صنف الساير حيث تم قلع عدد من الفسائل Offshoots تراوحت أعمارها بين (1 و2 و 3 و 4)سنوات من بساتين منطقة أبي الخصيب في محافظة البصرة،وبموعدين(موعد صيفي خلال شهر أيار و موعد شتوي خلال شهر تشرين الأول). شرح ت الفسائل بواسطة سكين وأزيلت أوراقها وألیافها تصاعدیاً ، استأصل البرعم ألقمي Shoot Tip (الجمارة) والذي يبدو بهيئة جسم هرمي بارتفاع (10 ملم) وقطر قاعدة (10 ملم) مع طبقة لحمية (1 ملم) تقريباً تساعد على تماسك الأوراق (Tisserat, 1988) كما تم استئصال البراعم الابطية وكذلك أخذت مقاطع من الطبقة تحت المرستيمية بسمك (5 مليمتر)(الطبقة الموجودة أسفل البرعم ألقمي مباشرا) وبع د استئصال الأجزاء النباتية 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} لمدة 24 ساعة لحين أجراء عملية التعقيم السطحي.

التعقيم السطحي للأجزاء النباتية Surface Sterilization .

أجريت عملية التعقيم السطحي للأجزاء النباتية بعد إخراجها من المحلول المضاد للأكسدة وقسمت البراعم القمية والطبقة تحت المرستيمية إلى أربعة أجزاء متساوية قدر الإمكان بواسطة مشارط وملاقط معقمة في حين تركت البراعم الابطية بدون تقسيم ووضعت الأجزاء النباتية 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(18).

3-3 تحضير الوسط الغذائي Preparation of nutrient medium .

تكون الوسط الغذائي من مجموعة الأملاح اللاعضوية وكما موصوفة من قبل (Murashige and skoog,1962)تحضر هذه الأملاح بالمختبر على شكل محلول أساس(Stock solution) المتكونة من خمس مجاميع مضافا إليها المواد المذكورة في جدول(1).استعملت أنابيب اختبار بحجم (2.5 18)سم احتوت على 20سم^{3} من الوسط الغذائي وتم ضبط الرقم الهيدروجيني على pH(5.7)وتضمنت التجربة زراعة الأجزاء النباتية بواقع عشرة مكررات لكل معاملة .حضنت الزروعات بدرجة حرارة 27 ± 1 م^{0} تحت الظلام لمدة أربعة اشهر ثم نقلت تحت شدة إضاءة 1000 لوكس لمدة

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

المادة		الكمية (غم/لتر)
السكروز	Sucrose	30

0.170	اورثو فوسفات الصوديوم الحامضية Sodium hydrogen ortho phosphates	
0.100	Meso inositol	ميزو اينو سيتول
0.040	Adenine sulphates	كبريتات الأدنين
0.0005	Thiamine-HCL	ثيامين-HCL
0.001	Biotin	بايوتين
0.001	Nicotine amide	نيكوتين آمايد
1 2	Activated charcoal (PVP) Polyvinyl pyrilodine	فحم منشط أو
7	Agar	آكار
0.003	Naphthalene acetic acid	NAA
0.010	Isopentenyl adenine	2IP

16 ساعة يومياً.سجلت مدة أول ظهور للبراعم الجانبية وجمعت نتائج البراعم المتكونة من الزراعة حيث تم دراسة تأثير عمر الفسيلة ونوع الجزء النباتي وموعد تجهيزه في الصفات التالية:-

1 -النسبة المئوية لتلوث الأجزاء النباتية.حسب المعادلة التالية

$$\text{النسبة المئوية للتلوث} = \frac{\text{عدد الأنابيب الملوثة}}{\text{عدد الأنابيب الكلي}} \times 100$$

2- النسبة المئوية للاسمرار(موت الأجزاء النباتية)= $\frac{\text{عدد الأجزاء النباتية الميتة}}{\text{عدد الأجزاء النباتية الكلي}} \times 100$

3- الفترة الزمنية اللازمة لتكون البراعم الجانبية

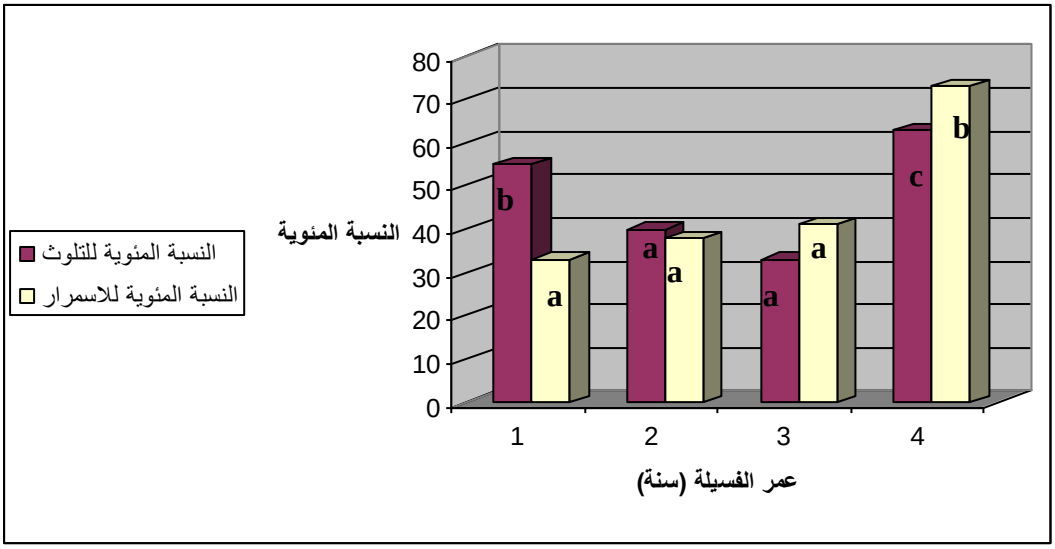
التحليل الإحصائي.

صممت التجربة حسب التصميم العشوائي الكامل 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

تأثير عمر الفسيلة في تلوث الأجزاء النباتية واسمرارها وتكون البراعم الجانبية.

تبين النتائج الموضحة في الشكل (1) وجود فروقات معنوية في النسبة المئوية لتلوث الأجزاء النباتية واسمرارها وعمر الفسيلة إذ وجد انخفاض نسبة التلوث للأجزاء النباتية المستأصلة من فسائل بعمر ثلاث سنوات وبفارق غير معنوي عن الفسائل بعمر سنتان ،في حين ارتفعت نسبة تلوث الأجزاء النباتية المستأصلة من فسائل بعمر أربع سنوات وسنة واحدة.كما يبين الشكل انخفاض نسبة اسمرار وموت الأجزاء النباتية المستأصلة من فسائل بعمر سنة وسنتان وثلاث سنين وبفارق معنوي عن الفسائل بعمر أربع سنوات.

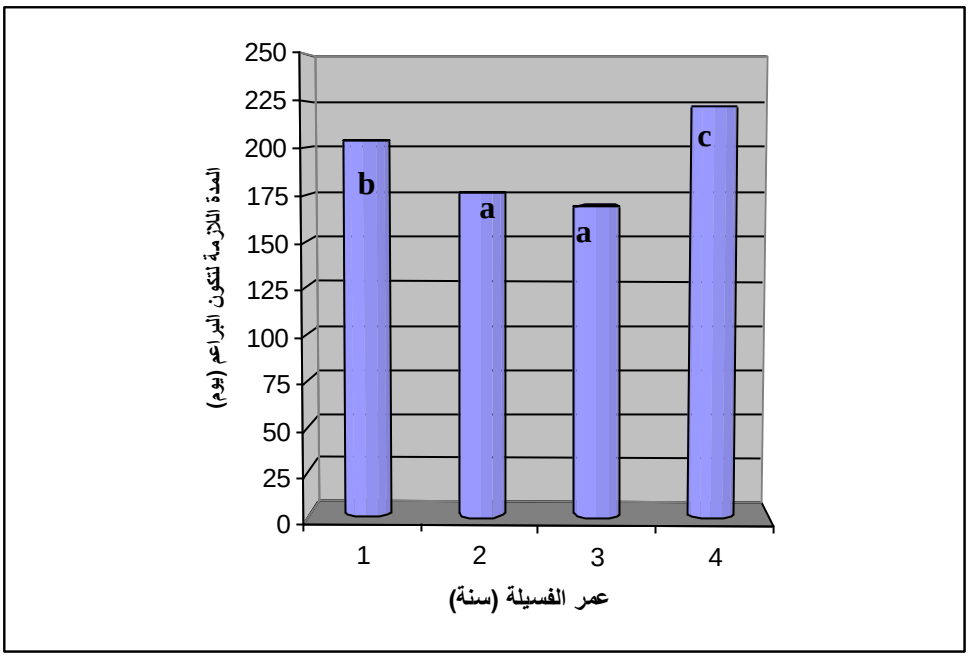


شكل (1) تأثير عمر الفسيلة في تلوث الأجزاء النباتية واسمرارها.

الأحرف المختلفة دلالة على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 .

أظهرت نتائج الشكل (2) وجود فروقات معنوية في المدة اللازمة لتكون البراعم الجانبية وعمر الفسيلة لنخيل التمر صنف الساير.إذ تبين انخفاض المدة الزمنية لتكون البراعم للأجزاء النباتية المستأصلة من فسائل بعمر ثلاث سنوات وبفارق غير معنوي عن الفسائل بعمر سنتين إذ بلغت (169 و 176) يوم على التوالي.في حين ارتفعت المدة الزمنية لتكون البراعم الجانبية للأجزاء النباتية المستأصلة من فسائل بعمر أربع سنوات وبلغت (222) يوم وبفارق معنوي عن الفسائل بعمر سنة واحدة إذ بلغت (204) يوم.

إن استجابة الأجزاء النباتية للنمو وتكوين المنفصلات النباتية في الزراعة خارج الجسم الحي يتأثر بعدة عوامل من بينها عمر النبات ألام المأخوذ منه الأجزاء النباتية المراد زراعتها وكذلك يعتمد على محتوى تلك الأجزاء النباتية من المواد الهرمونية الداخلية والمواد الفينولية ونشاط إنزيمات الأكسدة وخاصة إنزيم البيروكسيديز(peroxidase (POD) وبولي فينول اوكسيديز polyphenol oxidase (PPO) فقد وجد إن استخدام فسائل نخيل التمر بعمر تراوح بين (2-3) سنة وبحجم (5-7) كغم أعطى أعلى استجابة للنمو وتكوين مباديء البراعم الجانبية (المعري والغامدي،1998 و Zaid,1993)



شكل (2) تأثير عمر الفسيلة في المدة اللازمة لتكون البراعم الجانبية .

الأحرف المختلفة دلالة على وجود فرو قات معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 .

جدول(2) تأثير نوع الجزء النباتي في النسبة المئوية لتلوث الأجزاء النباتية واسمرارها والمدة الزمنية لتكون البراعم الجانبية

نوع الجزء النباتي	النسبة المئوية للتلوث	النسبة المئوية للاسمرار	المدة الزمنية لتكون البراعم الجانبية (يوم)
أرباع البرعم القمي	a 24.45	a 31.29	a 178
برعم إبطي	c 56.74	b 42.44	b 218
المنطقة تحت المرستيمية	b 40.25	c 58.10	--
R.L.S.D	8.74	9.82	12.66

الأحرف المختلفة دلالة على وجود فرو قات معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 .

تبين نتائج الجدول(2) وجود فروقات معنوية في النسبة المئوية لتلوث الأجزاء النباتية واسمرارها ونوع الجزء النباتي المستخدم في الزراعة النسيجية وكذلك في المدة الزمنية اللازمة لتكون البراعم الجانبية ،إذ يلاحظ انخفاض نسبة التلوث عند استخدام أرباع البرعم ألقمي وبلغت(24.45 %) وبفارق معنوي عن نسبة التلوث في المنطقة تحت المرستيمية ،في حين ارتفعت نسبة التلوث في البراعم الابطية المستخدمة في الزراعة وبلغت(56.74 %).كما يلاحظ انخفاض النسبة المئوية لاسمرار الجزء النباتي عند استخدام أرباع البرعم ألقمي إذ بلغت (31.29 %) وبفارق معنوي عن النوعين الأخريين. كما أوضحت نتائج الجدول ننفسه إلى تكون

البراعم الجانبية باقل مدة زمنية ممكنة عند استخدام أرباع البرعم ألقمي كمادة للزراعة إذ بلغت (178 يوم) وبفارق معنوي عن المدة اللازمة عند استخدام البراعم الابطية التي بلغت (218 يوم) في حين لم تتكون البراعم الجانبية عند استخدام المنطقة تحت المرستيمية.

جدول(3) تأثير موعد تجهيز الجزء النباتي في النسبة المئوية لتلوث الأجزاء النباتية واسمرارها والمدة الزمنية لتكون البراعم الجانبية

موعد التجهيز	النسبة المئوية للتلوث	النسبة المئوية للاسمرار	المدة الزمنية لتكون البراعم الجانبية (يوم)
صيفي(شهر أيار)	b 40.48	b 43.94	b 220
شتوي (شهر تشرين الأول)	a 21.34	a 26.41	a 168
R.L.S.D	6.08	8.26	10.49

الأحرف المختلفة دلالة على وجود فرو قات معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 .

توضح نتائج الجدول (3) إن لموعد تجهيز الجزء النباتي تأثيرا هام في تقليل النسبة المئوية لتلوث الأجزاء النباتية واسمرارها وكذلك في تقليل المدة الزمنية اللازمة لتكون البراعم الجانبية .إذ تبين إن تجهيز الأجزاء النباتية خلال شهر تشرين الأول (الموعد الشتوي) أدى إلى تقليل النسبة المئوية لتلوث الأجزاء النباتية وبلغت (21.34%) وبفارق معنوي عن الموعد الصيفي،وكذلك أدى إلى خفض نسبة اسمرار الأجزاء النباتية إذ بلغت (26.41%) وبفارق معنوي عن الموعد الصيفي.كما يلاحظ من نتائج الجدول ذاته إلى إن تجهيز الأجزاء النباتية خلال الموعد الشتوي أدى إلى تقليل المدة الزمنية اللازمة لتكون البراعم الجانبية إذ بلغت (168 يوم) في حين ارتفعت المدة الزمنية خلال الموعد الصيفي وبلغت (220 يوم).

إن لنوع الجزء النباتي المستخدم في الزراعة النسيجية دورا مهم وفعال في الحد من تلوث الأجزاء النباتية وتلونها باللون البني (ظاهرة الاسمرار وموت الأجزاء النباتية) وكذلك فان موعد تجهيز الأجزاء النباتية يلعب دورا فعال في تقليل تلوث وتلون الزروعات النسيجية .فقد أشار El-Sabrout (2002) و محسن(2007) إلى انخفاض نسبة تلوث الأجزاء النباتية عند استخدام القمة النامية في الزراعة النسيجية وكذلك انخفضت نسبة الاسمرار وموت الأجزاء النباتية في حين ارتفعت النسبة عند استخدام البراعم الابطية ومباديء الأوراق . في حين أشار المعري والغامدي (1998) إن انسب موعد لتجهيز الأجزاء النباتية لغرض تحفيزها على التبرعم أو تكوين الكالس الجنيني هو شهر تشرين الثاني .وقد يعزى السبب في ارتفاع نسبة التلوث خلال اشهر الصيف إلى توفر الظروف الملائمة لنشاط وتكاثر الكائنات الدقيقة المسببة للتلوث في بساتين النخيل وربما اثر ذلك على فعالية التعقيم السطحي للأجزاء النباتية قبل زراعتها خارج الجسم الحي(سلمان، 1988).إما بالنسبة إلى ارتفاع نسبة الاسمرار فقد أكد Al-Bakir *et al.*(1989) و Booij *et al.*(1993) إن محتوى الأنسجة النباتية من المواد

الفينولية مختلف حسب الفترة من السنة وكذلك حسب موقع الجزء النباتي على النبات ألام ،واشارو إلى ارتفاع المواد المتعددة الفينولات في المناطق تحت المرستيمية وكذلك في البراعم الابطية ومباديء الأوراق.ويعزي معظم الباحثين سبب الاسمرار الحاصل في الأنسجة إلى أكسدة الفينولات المتعددة الموجودة بالأنسجة النباتية إلى كينونات تحت تأثير إنزيمات الأكسدة مثل إنزيم البيروكسيديز إذ دلت بعض التجارب إلى انخفاض نشاط إنزيم البيروكسيديز في فصل الشتاء وأول الربيع وارتفاع نشاطه في فصل الصيف(المعري والغامدي1998 و Booij *et al.*1993).

المصادر

بكري ،خالد علي إبراهيم (1994). دراسة بعض العوامل المؤثرة على إنتاج وتطوير نسيج الكالس في نخيل البلح باستخدام طرق زراعة الأنسجة.رسالة ماجستير–كلية الزراعة بمشتهر – جامعة الزقازيق فرع بنها –جمهورية مصر العربية.

الراوي، خاش ع محمود وخلف الله، محم د عبد العزيز(1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسس ة دار الكتب للطباعة والنشر، جامع ة الموصل.488 صفحة.

سلمان، محم د عباس(1988). أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية ،وزارة التعليم العالي والبحث العلمي–جامعة بغداد.

محسن،خيون علي(2007).إخلاف نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) صنف الشريفي من مختلف الأجزاء القمية خارج الجسم الحي.مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر.6(1):2007.

المعري، خليل وجيه (1995). إكثار نخيل التمر بوساطة تقني ة زراعة الأنسجة النباتية، جامع ة دمشق، كلي ة الزراعة.دمشق –الجمهورية العربية السورية.

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

Al-Bakir,A.Y.;Jarrah,A.Z.and Bader.S.M.(1989).Seasonal changes in auxin content and some oxidative enzymes activity of *in vitro*

cultured Date Palm tissue .J.Agric.and Water Resources Res.plant produ. 8(1):263-274.

Beauchesne,G.(1982).Vegetative propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by *in vitro* culture ,Proc.First Symposium on Date Palm ,King Faisal Univ. Saudi Arabia,pp.698-699.

Booij,I. ; Monfort,S. and Macheix,J.J.(1993).Relationships between peroxidase and budding in Date Palm tissue cultured *in vitro* .plant cell ,tissue and Organ culture .35:165-171.

El-Sabrout,M.B(2002).In vitro propagation of date palm (Phoenix dactylifera L.) CV. Zaghloul by direct organogenesis .J. of Agric.Scie.,July 2002,Vol27(7).

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

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

Vermandi, J. and Navaro,L. (1997).Influence of explants sources of adult date palm (*Phoenix dactylifera* L). on embyrogenic callus formation. Hort. Sci. J. 72(5):665-671.

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.

Effect of age of offshots and type, supplement time of explants on formation of lateral buds of date palm cv. Sayer *in vitro*

Ahmeed,R.Abdul-Sameed
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 age of offshots and type ,supplement time of explants on formation of lateral buds from quarter apical buds,sub meristemic regon and axillary buds of date palm offshoots c.v sayer. With different ages (1,2,3,4)years.

These explants were cultured on nutrient medium of (MS)salts full strength supplemented 30 g/l sucrose,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-The best age of offshots for tissue cultuer (2 or 3) years which was reduced contamination and browning of explants and formation of lateral buds in few period was reached (168,175) days respectively.

2-Used of the quarter apical buds which was reduced contamination and browning of explants and stimulated to formation of lateral buds in short period was reached (178) days. significant compared to the other explants.

3-**The best supplement time of explants for tissue culture was in (october) winter time, which was reduced contamination and browning of explants and formation of lateral buds in few period was reached (168) days. compared to the other supplement time.**