تكوين البراعم العرضية من كالس الشماريخ الزهرية غير الناضجة لنخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) خارج الجسم الحي

صالح محسن بدر[1] مكي علوأن الخفاجي[2] حسام سعد الدين محمد خيرالله[2]

[1] الهيئة العامة للبحوث الزراعية، وزارة الزراعة

[2] قسم البستنة كلية الزراعة، جامعة بغداد

الخلاصة

أُجري البحث لدراسة إمكأنية إستعمال أجزاء مختلفة من الشماريخ الزهرية غير الناضجة وبمراحل تطورية مُختلفة لصنفي نخيل التمر برحي ومكتوم كأجزاء نباتية لإستحثاث الكالس وتكوين البراعم العريضة لغرض إكثارها خارج الجسم الحي. بينت النتائج أن افضل نسبة مئوية لإستحثاث أنسجة الكالس نتجت من زراعة قطع الشماريخ الزهرية بطول 0.5 سم مفصولة من طلعات بطول 8-10 سم ومزروعة في وسط MS المحور المحتوي على 100 مايكرومول 2,4-D و10 مايكرومول 2ip بلغت 70 و40% لصنفي الدراسة مكتوم وبرحي على التوالي، بلغ أعلى مُعدل للوزن الطري للكالس 286.3 ملغم عند نقل كالس الصنف مكتوم الى نفس الوسط السابق. أما تكوين البراعم العرضية من الكالس دلت النتائج أن أعلى نسبة للزروعات التي كونت براعم بلغت 80% وبمُعدل عدد براعم بلغ 16.4 بُرعم عند زراعة الكالس في وسط MS المحتوي على 10 مايكرومول 2ip و5.0 مايكرومول NAA، وزاد الوسط السائل المُتحرك من عدد البراعم المتكونة من الكالس بلغت 24.8 بُرعم للصنف مكتوم والذي إختلف معنوياً عن الصنف برحي 11.2 بُرعم بعد 43 يوم من الزراعة. وبالنسبة لإستطالة الأفرع أوضحت النتائج افضلية التركيزين80 و 100 ملغم/لتر من كبريتات الأدنين المُضافة الى الوسط بلغت 4.52 و4.41 سم للصنفين برحي ومكتوم على التوالي. نستنتج من هذه النتائج إمكأنية إستعمال الشماريخ الزهرية غير الناضجة المفصولة من أشجار بالغة في الاكثار الدقيق لنخلة التمر صنفي برحي ومكتوم.

IN VITRO ADVENTITIOUS BUD FORMATION FROM THE CALLUS INDUCED ON IMMATURE INFLORESCENCE OF DATE PALM (*Phoenix dactylifera* L.)

Saleh M. Bader[1] Maki A. Al-Khafaji[2] Hussam S. M. Khierallah[2]

[1]State Board for Agriculture Researches, Ministry of Agriculture, Iraq.
[2]Horticulture Department, College of Agriculture, University of Baghdad

ABSTRACT

This research was conducted to study the possibility of using different parts of immature inflorescence of date palm cvs. Barhi and Maktom at different developmental stages as explants in order to induce callus formation, adventitious buds formation and elongation of these buds. Results showed that the best percentage of the *in vitro* response to callus formation reached 40 and 70% for Barhi and Maktom respectively from spike segments with 0.5cm excised from 8-10cm spath and cultured on modified MS medium supplemented with 100µM 2,4-D with 10.0µM 2ip. The highest callus fresh weight (286.3mg) was achieved on the same above medium. Results also indicated that 80% of the cultures gave 11.2 and 24.8 buds for Barhi and Maktom respectively. This was achieved when callus was transferred to a liquid shaking medium supplemented with 10.0µM 2ip and 5.0µM NAA after 43 days for Maktom cv. Shoot elongation occurred after the addition of various concentrations of adenine sulfate. The highest shoot length (4.52)cm occurred in Maktom cv. with 100mg/L of adenine sulfate and 4.41cm in Barhi cv. with 80mg/L. Accordingly, it is possible to use immature inflorescences excised from adult date palm trees for the micropropagation of Barhi and Maktom cvs.

Keywords: Date palm, *In vitro* culture, Callus, Inflorescence.

المقدمة

نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) ينتمي إلى العائلة النخيلية Arecaceae وهي أشجار أُحادية الجنس ثُنائية المسكن تنتشر زراعتها في العراق والوطن العربي وتحتل موقعاً متميزاً لما تمتاز به من قيمة إقتصادية وغذائية وجمالية وتأريخية وإجتماعية. يكثر النخيل تقليدياً بالبذور أو بالفسائل. وبسبب عدم التجأنس الوراثي للنخيل فأن النباتات الناتجة من زراعة البذور تكون غير مطابقة للصنف وفي معظم الأحوال تكون رديئة النوعية وتعطي أشجار مذكرة بنسبة 50% تقريباً (1) أما الإكثار بالفسائل فهي الطريقة التقليدية لكن الإعداد التي يمكن الحصول عليها قليلة وخاصة في الأصناف المرغوبة والنادرة وعملياً فأنها لا تُلبي الحاجة للحصول على أعداد كبيرة من الفسائل وأنشاء بساتين النخيل ولذلك وظفت تقنية زراعة الأنسجة النباتية كطريقة مسأندة وقد تكون بديلة للإكثار بالفسائل إضافة إلى مزاياها الكثيرة ويُمكن أن تُلبي الحاجة إلى أنتاج أعداد النخيل المطلوبة. ومُنذ المُحاولات الأولى لإكثار النخيل بزراعة الأنسجة من قبل(2) وحتى الوقت الحاضر يتوضح إتجاهين رئيسيين في طرق الإكثار، الأول عن طريق تكوين البراعم العرضية والأفرع مباشرةً على الأنسجة والأعضاء المزروعة والثأني عن طريق تكوين الأفرع العرضية أوالأجنة الجسمية من أنسجة الكالس المُستحث تكوينه من الأنسجة المزروعة. وقد لجأ الباحثون في العقود الثلاثة المُنصرمة إلى زراعة أجزاء نباتية متنوعة لتحقيق هذا الغرض، ويُعد البُرعم الطرفي والبراعم ألأُبطية وأنسجة الجُمار وبادئات الأوراق المفصولة من فسائل بعمر(3–4 سنوات) من أكثر الأجزاء النباتية إستعمالاً في برامج الإكثار(3). أن إستعمال البُرعم الطرفي والبراعم ألأُبطية يعني التضحية بفسيلة كاملة من أجل فصل هذه البراعم كما تمتازالعديد من أصناف النخيل بقلة أنتاجها من الفسائل وإرتفاع أسعارها علاوة على تجاوزها مرحلة إنتاج الفسائل وخاصة النادرة منها والمهددة بالأنقراض. لذلك إتجه الباحثون الى إستعمال الشماريخ (Spikes) الموجودة ضمن النورة الزهرية (Inflorescence) للنخيل كمصدر بديل للأجزاء المزروعة والمفصولة من الفسيلة وتمتاز الطريقة بكونها لا تُسبب أي ضرر للشجرة الأُم مع وفرة في مصدر الأجزاء النباتية إضافة إلى إكثار الأصناف الجيدة المُهددة بالإنقراض (4 ,5) ونظراً للحاجة المُتزايدة لفسائل النخيل من الأصناف المرغوبة فقد هدفت الدراسة إلى إكثار نخيل التمر خُضرياً بواسطة زراعة الأنسجة النباتية بإستعمال الشماريخ الزهرية غير الناضجة وتكوين البراعم العرضية ثم إستطاتها لتكوين الأفرع.

المواد وطرائق العمل

الأجزاء النباتية وتعقيمها سطحياً

أُختيرت أشجار بعُمر15 سنة من الصنفين برحي(Barhi) ومكتوم(Maktom). أُخذت الطلعات (Spathes) المُحتوية على الشماريخ الزهرية غير الناضجة خلال الأسبوع الثأني من شهر شباط، وُوضعت داخل محلول مُضاد للأكسدة مُكون من خليط حامض الستريك تركيز150ملغم/لتر وحامض الاسكوربيك تركيز 100 ملغم/لتر (3). أُختبرت ثلاث مراحل تطورية للطلعات الأنثوية من صنفي الدراسة لغرض دراسة إستجابتها إستناداً إلى (5). تم تحديد طول الطلعة والشماريخ الزهرية كمعيار لتحديد مرحلتها التطورية. قُسمت الطلعات المفصولة الى ثلاثة مراحل الأُولى شملت طلعات بطول 8–10سم وطول الشماريخ الزهرية داخل الطلعات 3-5 سم والمرحلة
الثأنية طلعات بطول 18-20 سم وطول الشماريخ الزهرية 6-8 سم أما المرحلة الثالثة فكأنت الطلعات بطول –30 28 سم وطول الشماريخ الزهرية 12-13سم (شكل1). أُختبرت أجزاء نباتية مُختلفة تُمثل أجزاء النورة الزهرية لمعرفة الجزء الأكثر إستجابة (الشكل2) تمثلت في قطع الشماريخ الزهرية المحتوية على 2-4 من مبادئ الأزهار بطول 0.5 سم التي رُمزلها بالحرفS، وتلك التي أُزيلت منها مبادئ الأزهار وبطول 1.0 سم والتي رُمزلها بالحرف P، وشرائح من حامل النورة بشكل شرائح بسمك 2 – 3 ملم وبأبعاد 0.5 x 0.5 سم ورُمز لها بالحرف F. عُقمت الطلعات الزهرية داخل منضدة إنسياب الهواء الطبقي إذ تم رشهُ بالكحول الاثيلي بتركيز 70% ثم غُمرت بمحلول كلوريد الزئبق بتركيز 0.1% لمدة 10 دقائق مع إضافة ثلاث قطرات من المادة الناشرة Tween 20، أُجرى بعدها غسل الطلعات ثلاث مرات بالماء المُقطر المُعقم ولمُدة خمس دقائق لكل مرة. نُقلت بعدها الى أطباق بتري مُعقمة وأُزيلت أغلفة الطلعة وفُصلت الشماريخ الزهرية بعناية نُقلت بعدها الى أطباق جديدة.

الوسط الغذائي

يتكون الوسط الغذائي من مجموعة الأملاح اللاعُضوية الكبرى والصغرى لوسط MS (6) مضافاً أليه بالملغم/لتر(Thiamine -HCl 1.0- و Pyridoxine -HCl 1.0 و Nicotinic acid 1.0 Glyci 2.0 و50 كبريتات الادنين و100Myo-Inositol و170 $KH_2PO_4.2H_2O$ و200 Glutamine و30000 سكروزو 2000 فحم نباتي فعال و1000 Polyvinylpyrolidone PVP) أُضيفت مُنظمات النمو النباتية للوسط حسب الهدف من التجربة، خُلطت المواد السالفة الذكر جيداً وعُدل الرقم الهيدروجيني (pH) الى 5.7 وبعدها أُضيف 8.0 غم/لترAgar وسُخن الوسط لحين تجأنس الوسط ووُزع في أنابيب إختبار بأبعاد 25 x 150 ملم أو دوارق مخروطية سعة 250 سم^3. عُقمت الأوساط الغذائية بجهاز المُعقم البخاري على درجة 121 م^o وضغط 1.04 كغم/سم^2 لمدة 20 دقيقة.

إستحاث أنسجة الكالس

جرى إختبار تأثير إضافة الأوكسينين 2,4- Dichlorophenoxy Acetic Acid 2,4-D وAcetic Acid NAA Naphthalene وبالتراكيز 0 ,100,50,25 أو200 مايكرومول وبوجود السايتوكاينين N^6–isopentenyl 2 ip adenine وبتركيز 15 ما يكرومول الى الوسط الغذائي في إستحثاث الكالس وإكثاره قيس الوزن الطري للكالس الناتج بعد 12 إسبوع من التحضين في الظلام وبدرجة حرارة 27± 1°م.

نشوء البراعم العرضية وإستطالتها

أُختبرتأثير التداخل بين NAA و 2ip وبالتراكيز 0 , 1.0, 5.0, .100 أو 15.0 مايكرومول بتجربة عاملية لتحديد تراكيز تحفيز نشوء وتطور البراعم العرضية من أنسجة الكالس المُستحث للصنف مكتوم. كما أُختبرت ثلاث حالات فيزيائية للوسط الغذائي هي الوسطُ شبه الصلب المحتوي على الأكار (8) غم/لتر والوسط السائل الثابت (Stationary) والوسط السائل المُتحرك (Agitated) بعد وضع أوعية الزراعة في جهاز الهزاز (Orbital Shaker) وبواقع 40 ضربة/ دقيقة. زُرع 100 ملغم من الكالس لكل مكرر وبواقع عشر مكررات لكل مُعاملة وحُضنت الزروعات على درجة حرارة 27± 1°م وشدة إضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة يومياً. سُجلت مدة أول ظهورللبراعم العرضية، سُجلت النتائج بعد مرور 12 إسبوعاً مع مُراعاة إعادة الزراعة (Reculture) للزروعات بعد 6 أسابيع الأولى من الزراعة. نُقلت البراعم العرضية المتكونة من كالس قطع الشماريخ الزهرية إلى أوساط غذائية مُجهزة بتراكيز مختلفة من كبريتات الأدنين (0, 20, 40 ,60, 80 أو 100) ملغم /لتر حُضنت الزروعات في الإضاءة حسب ما ذكر سابقاً وسُجلت النتائج المُتعلقة بطول النموات الناتجة (سم) بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة.

التحليل الإحصائي

صُممت التجارب بإستعمال التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design، CRD إذ تضمن قسم من التجارب عاملين والقسم الآخر ثلاث عوامل حسب الهدف من التجربة، وحُللت النتائج بإستعمال البرنامج الإحصائي Genestat الإصدار 8.1 لعام 2005 وقورنت المتوسطات حسب إختبار أقل فرق معنوي LSD Least significant Differences على مستوى إحتمال 5%.

النتائـج والمناقشـة

إستحثاث وإكثار الكالس

تُوضح النتائج المُبينة في الجدولين (1و2) أن للتراكيز المختلفة من 2,4-D والمرحلة التطورية للشماريخ الزهرية تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية لإستحثاث الكالس لصنفي الدراسة برحي ومكتوم، فيما لم يكن لنوع الجزء النباتي تأثيراً معنوياً في هذه الصفة. بلغت النسبة المئوية لإستحثاث الكالس 20 و36.7% للصنفين برحي ومكتوم على التوالي عند إضافة 100 مايكرومول من 2,4-D وبوجود 15.0 مايكرومول من 2ip والتي إختلفت معنوياً عن مُعاملة المقارنة (بدون 2,4-D) في الصنف برحي ولكنها لم تختلف عن التركيز الأعلى وهو150 مايكرومول إذ أنخفضت إلى 15.6% وعن التركيز الأقل وهو50 مايكرومول إذ كأنت 12.2%، أما الصنف مكتوم فقد إختلفت النسبة المئوية لإستحثاث الكالس عند التركيز 100 مايكرومول معنوياً عنها عند باقي التراكيز المُستعملة بما فيها مُعاملة المقارنة التي إنخفضت النسبة المئوية لإستحثاث الكالس فيها إلى 21.1% عند التركيز 50 مايكرومول والى 15.6% عند التركيز 150 مايكرومول. أما بالنسبة لتأثير المرحلة التطورية للشماريخ الزهرية في النسبة المئوية لإستحثاث الكالس للصنف برحي تفوقت طول الطلعة من 8-10سم معنوياً بلغت النسبة 18.3%. أماالمرحلة الثالثة التي يكون فيها طول الطلعة من 28-30سم فأعطت6.7% والتي لم تختلف معنوياً عن المرحلة الثأنية التي تكون فيها الطلعات بطول 18-20سم، أما الصنف مكتوم فقد تفوقت المرحلة الأولى معنوياً

وأعطت أعلى مُعدل للنسبة المئوية لإستحثاث الكالس بلغ 26.7% وإختلفت عن المرحلة الثأنية التي أعطت 15.8% وعن المرحلة الثالثة 15.5%. أما بالنسبة للجزء النباتي المُستعمل فعلى الرغم من عدم وجود فروقات معنوية بين أنواعه ولكلا صنفي الدراسة يُلاحظ تفوق قطع الشماريخ بطول 0.5 سم (S) على بقية الأجزاء المُستعملة وأعطت نسبة مئوية لإستحثاث الكالس بلغت 15.8 و 22.5% للصنفين برحي ومكتوم على التوالي، شكل (3-a). وإنخفضت نسبة الإستجابة إلى 11.7 و18.3% للصنفين عند إستعمال قطع حامل النورة (F)، أما إستعمال قطع الشماريخ بدون ازهار(P) وبطول 1سم فقد أعطت أقل مُعدل للنسبة المئوية لإستحثاث الكالس بلغ 8.3 و 14.2% للصنفين على التوالي.

جدول(1): تأثير تراكيز مختلفة من الأوكسين 2,4 -D (بوجود 15 مايكرومول من 2ip) ونوع الجزء النباتي ومرحلته التطورية وتداخلاتها في النسبة المئوية لإستحثاث الكالس من الشماريخ الزهرية لنخيل التمر صنف برحي.

طول الطلعة (cm)	نوع الجزء النباتي*	2,4 -D (مايكرومول) 0	50	100	150	طول الطلعة × الجزء النباتي	مُعدلات طول الطلعة
10 - 8	F	0	20	30	20	17.5	18.3
	P	0	10	20	20	12.5	
	S	0	30	40	30	25.0	
20 -18	F	0	10	20	20	12.5	10.8
	P	0	10	10	10	7.5	
	S	0	20	20	10	12.5	
30 -28	F	0	0	10	10	5.0	6.7
	P	0	0	10	10	5.0	
	S	0	10	20	10	10.0	
قيمة L.S.D (0.05)		28.5				14.2	8.2
مُعدلات التراكيز		0.0	12.2	20.0	15.6	مُعدلات الجزء النباتي	
قيمة L.S.D (0.05)		9.5					
نوع الجزء النباتي × التركيز	F	0.0	10.0	20.0	16.7	11.7	
	P	0.0	6.7	13.3	13.3	8.3	
	S	0.0	20.0	26.7	16.7	15.8	
قيمة L.S.D (0.05)		16.4				n.s	
طول الطلعة × التركيز	10 - 8	0.0	20.0	30.0	23.3		
	20 -18	0.0	13.3	16.7	13.3		
	30 -28	0.0	3.3	13.3	10.0		
قيمة L.S.D (0.05) :		16.4					

***الجزء النباتي: F= قطع من حامل النورةP = قطع من الشماريخ بدون أزهاربطول 1سم**
S= قطع من الشماريخ بطول 0.5 سم

جدول (2): تأثير تراكيز مختلفة من الأوكسين2,4- D (بوجود 15 مايكرومول من ip2) ونوع الجزء النباتي ومرحلته التطورية وتداخلاتها في النسبة المئوية لإستحثاث الكالس من الشماريخ الزهرية لنخيل التمر صنف مكتوم.

الصنف	نوع الأوكسين	الوزن الطري للكالس (ملغم) التراكيز (مايكرومول) 0	25	50	100	200	الصنف × نوع الأوكسين	مُعدلات الصنف
برحي	2,4-D	106.3	147.3	162.5	188.2	174.6	155.8	148.0
	NAA	106.3	122.4	151.3	173.8	147.7	140.3	
مكتوم	2,4-D	104.8	166.8	212.3	286.3	174.5	188.9	176.8
	NAA	104.8	155.6	184.8	210.5	168.1	164.8	
قيمة L.S.D (0.05)		7.8					3.5	2.5
مُعدلات التراكيز		105.5	148.0	177.7	214.7	166.2	نوع الأوكسين	
قيمة L.S.D (0.05)		3.9						
نوع الأوكسين × التركيز	2,4-D	105.5	157.1	187.4	237.3	174.5	172.4	
	NAA	105.5	139.1	168.1	192.2	157.9	152.5	
قيمة L.S.D (0.05) :		5.5					2.5	
الصنف × التركيز	برحي	106.3	134.9	156.9	181.0	161.2		
	مكتوم	104.8	161.2	198.6	248.4	171.3		
قيمة L.S.D (0.05) :		5.5						

***الجزء النباتي: F= قطع من حامل النورةP = قطع من الشماريخ بدون أزهار بطول1سم S= قطع من الشماريخ بطول0.5 سم**

أما تأثير نوع الأوكسين المُضاف وتركيزه في إكثار الكالس المُستحث تكوينه من الأجزاء الزهرية لصنفي الدراسة فقد أظهرت النتائج المدرجة في الجدول (3) أن لنوع الأوكسين وتركيزه تأثيراً في الوزن الطري للكالس (ملغم) فقد أشارت النتائج إلى إختلاف الصنفين عن بعضهما في مُعدل الوزن الطري للكالس وتفوق الصنف مكتوم على الصنف برحي وبغض النظر عن نوع الأوكسين وتركيزه إذ بلغ مُعدل الوزن الطري للكالس 176.8 ملغم للصنف مكتوم و 148.0ملغم للصنف برحي. وكان لنوع الأوكسين المُضاف فقد تفوق 2,4-D معنوياً وبغض النظر عن تركيزه والصنف، وأعطى مُعدل وزن طري بلغ 172.4 ملغم في الوقت الذي بلغ 152.5 ملغم بإضافة NAA كما دلت النتائج على أن إضافة اي من الأوكسينين كان ضرورياً لزيادة ذلك الكالس إذ لوحظ أن إضافة 25 مايكرومول من الأوكسين وبغض النظرعن نوعه والصنف أدى إلى زيادة معنوية في الوزن الطري للكالس بلغت 148.0 ملغم وبلغ أعلى مُعدل للوزن الطري للكالس عند التركيز 100 مايكرومول وإنخفض بعد ذلك بزيادة التركيز إلى 200 مايكرومول إذ بلغ 166.2ملغم (شكل 3-b). دلت النتائج على أن للمرحلة التطورية للشماريخ تاثيراً واضحاً في نسبة إستحثاث الكالس إذ كأنت الأجزاء الزهرية الأكثر حداثة المفصولة من طلعات أقصر طولاً أكثر إستجابة لتكوين أنسجة الكالس من الأجزاء الأقل حداثة وهذا يُعزى إلى طبيعتها المرستيمية العالية من حيث صُغر حجم خلاياها وسُرعة إنقسامها، ولقلة مُحتواها من المواد الفينولية فضلاً عن قلة تلوثها بالأحياء المجهرية مما أنعكس على إستجابتها. لقد توصل العديد من الباحثين الى نتائج مُشابهة إذ أشار (7) إلى أهمية مصدر الأجزاء الزهرية ومرحلتها التطورية في تحديد نمط الإستجابة لهذه

الأجزاء أثناء زراعتها خارج الجسم الحي. كذلك دلت النتائج على إختلاف إستجابة الأجزاء النباتية تبعاً لنوع الجزء النباتي إذ لوحظ تفوق قطع الشماريخ الزهرية بطول0.5 سم (S) على بقية الأجزاء النباتية وهي قطع حامل

النورة (F) وقطع الشماريخ بطول 1سم بدون ازهار(P) في إستجابتها لتكوين الكالس. وقد يُعزى ذلك إلى الطبيعة الفسيولوجية للخلايا المُكونة لهذه الأجزاء الزهرية وتركيبها التشريحي إذ تمتاز قطع الشماريخ بطول 0.5 سم بوجود مراكز مرستيمية تتمثل بالمبادئ الزهرية والتي تكون سريعة الإنقسام والتمايز إلى مبادئ الأعضاء الزهرية في حين تفتقر بقية الأجزاء إلى هذه المراكز وتميل خلاياها إلى الإستطالة أكثر من الإنقسام.

نشوء البراعم العرضية من الكالس

يتضح من النتائج أن النسبة المئوية لزروعات الكالس التي كونت براعماً عرضية وعددها لنخيل التمر صنف مكتوم قد إعتمد على التداخل بين تراكيز NAA و2ip، إذ يُلاحظ من الجدول(4)إن التركيز 5.0 مايكرومول من NAA وبغض النظرعن تراكيز2ip قد أعطت أعلى مُعدل للنسبة المئوية للزروعات التي كونت براعماً عرضية بلغ 36% والذي لم يختلف معنوياً عن التركيز الأقل وهو 1.0مايكرومول وعن مُعاملة المقارنة واللذين أعطيا مُعدل نسبة بلغ 24% لكل منهما في حين أنه إختلف معنوياً عن التراكيز الأعلى وهي 10.0 و15.0 مايكرومول وأعطى نسبة إستجابة بلغت 20 و6% على التوالي. أما عدد البراعم المُتكونة فقد تفوق التركيز 5.0 مايكرومول من NAA وبغض النظرعن تراكيز الـ2ip المُضافة إذ أعطى 7.6 بُرعم والتي إختلف معنوياً عن باقي تراكيز NAA وأعطى التركيز 15.0 مايكرومول أقل مُعدل لعدد البراعم المتكونة وبلغ 1.3 بُرعم. أما تراكيز2ip فيُلاحظ زيادة النسبة المئوية وعدد البراعم المُتكونة بزيادة تراكيزها وصولاً الى 10.0 مايكرومول، إذ يُلاحظ عدم تكون براعم عند مُعاملة المقارنة (بدون2ip) والتي لم تختلف معنوياً عن النسبة المئوية لتكوين البراعم عند التركيز 1.0 مايكرومول والذي أعطى 8% في حين كأنت أفضل نسبة هي 44% عند التركيز 10.0مايكرومول بعدها إنخفضت النسبة إلى 32% عند زيادة التركيز إلى 15.0 مايكرومول ولكنهما لم يختلفا عن بعضهما معنوياً. أما عدد البراعم المُتكونة فقد أعطى التركيز 10.0 مايكرومول أعلى مُعدل لعدد البراعم المتكونة بلغ 8.4 بُرعم والذي إختلف معنوياً عن باقي التراكيز المُستعملة وبضمنها مُعاملة المقارنة. أما التداخل بين تراكيز NAA و 2ip فقد اثر في زيادة النسبة المئوية لتكوين البراعم وكذلك عدد البراعم المُتكونة وبلغت أعلى نسبة للزروعات التي كونت براعم عرضية 80%عند التركيز 5.0 مايكرومول من NAA مع 10.0 مايكرومول من 2ip والتي إختلفت معنوياً عن باقي التداخلات لعدد البراعم المتكونة، أما عدد البراعم المتكونة فتُشير النتائج إلى أن أعلى مُعدل لعدد البراعم المتكونة قد بلغ 16.4 بُرعم عند التركيز 5.0 مايكرومول NAA مع 10.0 مايكرومول 2ip والذي إختلف معنوياً عن جميع تداخلات التجربة. فيما يخص تأثير الحالة الفيزيائية للوسط الغذائي في المدة الزمنية اللازمة لنشوء البراعم العرضية وعددها يُلاحظ من الجدول (5) أن تأثيرها كان معنوياً في تحسين عملية تكوين البراعم العرضية من الكالس لنخيل التمر صنفي برحي ومكتوم سواء من حيث زيادة عدد البراعم العرضية المتكونة أوبتقليل المدة الزمنية اللازمة لظهورها ورؤيتها بالعين المجردة، إذ أعطى الوسط الغذائي السائل المتحرك أعلى مُعدل لعدد البراعم المتكونة بلغ 18.0 بُرعم بعد 54 يوماً والتي إختلفت معنوياً عن الوسط شبه الصلب الذي بلغ 12.4 بُرعم بعد 71 يوماً، ويُلاحظ عدم تكون أي براعم في الوسط

السائل الثابت. يُلاحظ أن الصنف مكتوم قد تفوق معنوياً على الصنف برحي إذ بلغ مُعدل عدد البراعم المتكونة له 13.7 بُرعم بعد 33 يوم في حين بلغ 6.5 بُرعم للصنف برحي بعد 49 يوم (شكل 3-c وd). أما التداخل فيُلاحظ أن أعلى مُعدل لعدد البراعم المتكونة بلغ 24.8 بُرعم في كالس الصنف مكتوم المزروع على الوسط السائل المُتحرك وهي نفس المُعاملة التي تم فيها الحصول على أقل مدة زمنية لتكوين البراعم وكأنت 43 يوماً وقد إختلفت معنوياً عن باقي التداخلات، ويُلاحظ أيضا عدم تكون أية براعم في الوسط السائل الثابت وبغض النظر عن الصنف إذ لوحظ بأن الكالس المزروع قد تدهور تدريجياً وتلون باللون البني وموته. يتضح من النتائج عدم تكون البراعم العرضية من أنسجة الكالس المزروعة في اوساط غذائية خالية من منظمات النمو (مُعاملة المقارنة) أو المحتويه على الأوكسين NAA لوحده وهذا يعود إلى أن السايتوكاينينات ومنها الـ 2ip هي متطلب أساسي ومهم في نشوء البراعم العرضية والأفرع على الأجزاء المزروعة مباشرة أومن أنسجة الكالس المُستحث من هذه الأجزاء وأن وجود الأوكسين لوحده يثبط هذه العملية (8) ودلت النتائج على أن نشوء البراعم العرضية يزداد عند إضافة الأوكسين NAA مع 2ip وبتراكيز مختلفة وأن أعلى مُعدلات نشوء هذه البراعم هي في الأوساط الغذائية المجهزة بتراكيز عالية من2ip وواطئة من NAA، وهذا يُعزى إلى الدورالذي يؤديه التوازن بين تراكيز هذين النوعين من منظمات النمو في تحديد نمط التمايز الخلوي وتكوين الأعضاء خارج الجسم الحي، إذ يؤدي وجود تراكيز عالية من السايتوكاينينات وواطئة من الأوكسينات في الوسط الغذائي إلى تكوين براعم خُضرية تنمو إلى افرع (9). وتُشير الدراسات الحديثة الى أن الأوكسين يعمل على تحفيز الجينات التي يقوم السايتوكاينين بالسيطرة على تعبيرها الجيني، وأن نواتج التعبير للجينات المُنظمة تؤدي دوراً أساسياً في العمليات البيولوجية مثل إنقسام الخلايا والتركيب الضوئي وتطور الكلوروبلاست وأيض العناصرالمغذية(10)، وتتفق هذه النتائج مع ماوجده (5). كما بينت النتائج أفضلية الوسط الغذائي السائل المتحرك على الوسطُ شبه الصلب في تحسين نشوء البراعم سواء من خلال زيادة عدد البراعم المتكونة أو بتقليل المدة الزمنية اللازمة لنشوء هذه البراعم، وهذا يُعزى إلى زيادة جاهزية المواد الغذائية وسهولة إمتصاصها من قبل أنسجة الكالس فضلاً عن التهوية الملائمة وبالتالي سُرعة نموها وإستجابتها لتكوين البراعم وتطورها لاحقاً (8) أما تدهور الكالس التدريجي في الوسط السائل الثابت فربما يُعزى إلى غمر أنسجة الكالس في الوسط السائل والذي ادى إلى نقصأن الأوكسجين المُجهز أليها وإختناقها مما تسبب في موتها. وتتفق هذه النتائج مع ما وجده (11) فقد إستعملا الوسط السائل المتحرك في مراحل إستحثاث نشوء الأجنة من الكالس في المعلقات الخلوية Cell Suspension Cultures. ودلت النتائج كذلك على إختلاف صنفي التجربة في النسبة المئوية لإستحثاث الكالس وتكاثره، وكذلك نشوء وتطور البراعم العرضية منه وهذا الإختلاف ربما يُعزى إلى الإختلاف في إحتياجاتهما من المتطلبات الغذائية والهرمونية لأحداث الإستجابة بسبب الإختلاف الوراثي بينهما.

تأثير كبريتات الادنين في إستطالة البراعم العرضية

لُوحظ من خلال التجارب الخاصة بتكوين البراعم عرضياً من أنسجة الكالس أن هذه البراعم قد إتصفت بأندماجها مع بعضها البعض وبكون الاوراق متداخلة، لذا تم نقل هذه الزروعات الى أوساط جديدة مجهزة بتراكيز مختلفة من كبريتات الأدنين. ويُلاحظ من الجدول (6) أن مُعدل طول النموات قد إزداد بزيادة تركيز

كبريتات الادنين المُضافة وصولاً الى التركيز الأمثل 80 ملغم/لتر إذ بلغ 4.32 سم وبغض النظر عن الصنف ولم يختلف معنوياً عن الطول عند التركيز 100 ملغم/لتر الذي بلغ 4.18 سم ولكنه إختلف عن باقي مُعدلات الطول عند التراكيز الأقل وبضمنها مُعاملة المقارنة (بدون ادنين) التي اعطت أقل مُعدل لطول النموات بلغ0.87 سم. كما إتضح عدم وجود فرق معنوي بين مُعدلي الطول واللذأن بلغا 2.47 سم و 2.45 سم للصنفين برحي ومكتوم على التوالي. أما بالنسبة للتداخل بين الصنف وتراكيز كبريتات الأدنين فيُلاحظ أن أعلى مُعدل لطول النموات الناتجة قد بلغ 4.52 سم والذي أعطته نموات الصنف برحي المزروعة في وسط MS المحتوي على 100 ملغم/لتر من كبريتات الأدنين والذي لم يختلف معنوياً عن مُعدل طول نموات الصنف مكتوم في وسط محتوي على80 ملغم/لتر (شكل 3-e)، أما أقل مُعدل لطول النموات فقد كأن 0.86 سم والذي أعطته نموات الصنف برحي في وسط خالٍ من كبريتات الادنين (مُعاملة المقارنة). تُعزى هذه النتائج الى تأثيركبريتات الادنين في إتساع نصل الورقة وتحفيز إستطالة النموات (12) في ضوء النتائج التي تم التوصل اليها من خلال التجارب التي نفذت يمكن الإستدلال على إمكأنية إستعمال الشماريخ الزهرية غير الناضجة المفصولة من أشجار بالغة في الإكثار الدقيق لنخلة التمر، وخاصة الأصناف التي تعدت مرحلة أنتاج الفسائل، أو توظيف الطلعات الأولى للأشجارالفتية دون الحاجة الى إنتظار عدة سنين لظهور الفسائل وكبر حجمها مما يفتح آفاقاً واسعة في زيادة كفاءة الإكثار الدقيق وتقصير دورات التربية والتحسين لنخلة التمر.

جدول (3) : تأثير تراكيز مختلفة من الأوكسينين 2,4-D و NAA (بوجود 15 مايكرومول من 2ip) والصنف والتداخل بينهما في الوزن الطري للكالس المُستحث من الشماريخ الزهرية لنخيل التمر

الصنف	نوع الأوكسين	الوزن الطري للكالس (ملغم)				الصنف ×نوع الأوكسين	معدلات الصنف
		التراكيز (مايكرومول)					
		0	25	50	100		
برحي	2,4-D	200 106.3 174.6	147.3	162.5	188.2	155.8	148.0
	NAA	106.3 147.7	122.4	151.3	173.8	140.3	
مكتوم	2,4-D	104.8 174.5	166.8	212.3	286.3	188.9	176.8
	NAA	104.8 168.1	155.6	184.8	210.5	164.8	
قيمة L.S.D(0.05):				7.8		3.5	2.5
معدلات التراكيز		105.5 166.2	148.0	177.7	214.7	نوع الأوكسين	
قيمة L.S.D(0.05):				3.9			
نوع الأوكسين × التركيز	2 ,4-D	105.5 174.5	157.1	187.4	237.3	172.4	
	NNA	105.5 157.9	139.1	168.1	192.2	152.5	
قيمة L.S.D(0.05):				5.5		2.5	
الصنف × التركيز	برحي	106.3 161.2	134.9	156.9	181.0		
	مكتوم	104.8 248.4	161.2 171.3	198.6			
قيمة L.S.D(0.05):				5.5			

جدول (4): تأثير تراكيز مختلفة من NAA و2ip والتداخل بينهما في النسبة المئوية لزروعات الكالس التي كونت براعم عرضية وعدد البراعم المتكونة لنخيل التمر صنف مكتوم (تم زراعة 100 ملغم من الكالس لكل مكرر).

NAA (مايكرومول)	2ip (مايكرومول)					
	0.0	1.0	5.0	10.0	15.0	مُعدلات NAA
0.0	0	10	30	50	30	**24.0**
	0	3.2	5.7	9.0	4.8	**4.5**
1.0	0	10	30	40	40	**24.0**
	0	3.0	6.8	8.3	5.3	**4.7**
5.0	0	10	40	80	50	**36.0**
	0	5.2	8.8	16.4	7.4	**7.6**
10.0	0	10	30	40	20	**20.0**
	0	1.7	4.6	6.4	4.0	**3.3**
15.0	0	0	0	10	20	**6.0**
	0	0	0	2.1	4.4	**1.3**
L.S.D قيمة للتداخل (0.05)	33.4					14.9
	0.7					0.3
مُعدلات 2ip	**0**	**8.0**	**26.0**	**44.0**	**32.0**	
L.S.D قيمة (0.05)					14.9	
مُعدلات 2ip	**0**	**2.6**	**5.2**	**8.4**	**5.2**	
L.S.D قيمة (0.05)	**0.3**					

النسبة المئوية للزروعات التي كونت براعم عرضية

. مُعدل عدد البراعم العرضية المتكونة

جدول (5): تأثير الحالة الفيزيائية لوسط MS (المجهز بـ 10 مايكرومول 2ip و5 مايكرومول NAA) والصنف والتداخل بينهما في نشوء البراعم العرضية من كالس نخيل التمر (تم زراعة 100 ملغم من الكالس لكل مكرر).

الصنف	الحالة الفيزيائية للوسط الغذائي			مُعدلات الصنف
	شبه صلب	سائل ثابت	سائل متحرك	
برحي	84	0	65	49.7
	8.3	0	11.2	6.5
مكتوم	58	0	43	33.7
	16.4	0	24.8	13.7
قيمة L.S.D للتداخل (0.05)	4.1			2.3
	1.3			0.7
مُعدلات الحالة الفيزيائية	71.0	0	54.0	
	12.4	0	18.0	
قيمة L.S.D (0.05)	2.9			
	0.9			

مدة ظهور البراعم (يوم).

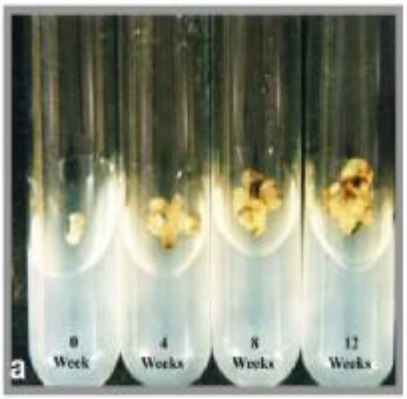
مُعدل عدد البراعم العرضية المتكونة

جدول (6): تأثير تراكيز مختلفة من كبريتات الادنين والصنف والتداخل بينهما في استطالة النموات المتوالدة من كالس نخيل التمر بعد 6 أسابيع من الزراعة.

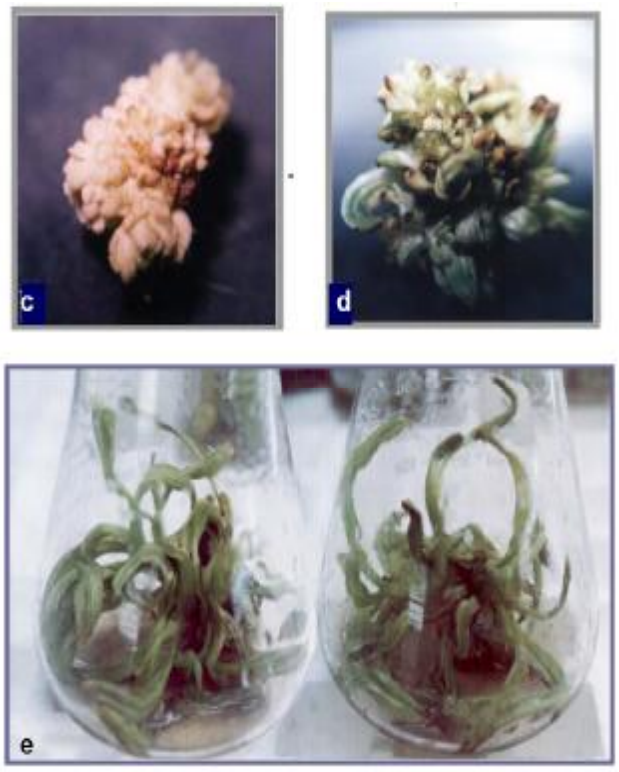
التركيز (ملغم/لتر)	مُعدل طول النموات (سم)		مُعدلات التراكيز
	برحي	مكتوم	
0	0.86	0.88	**0.87**
20	0.92	1.16	**1.04**
40	1.63	1.43	**1.53**
60	2.67	2.97	**2.82**
80	4.22	4.41	**4.32**
100	4.52	3.84	**4.18**
قيمة L.S.D(0.05)	0.26		0.18
مُعدلات الاصناف	**2.47**	**2.45**	
قيمة L.S.D(0.05)	0.10		

شكل(1): المراحل التطورية لطلعات الصنف برحي وحسب الأطوال المستعملة في التجربة.

شكل(2): الأجزاء الزهرية المستعملة في الدراسة: F= قطع من حامل النورة P= قطع من الشماريخ بدون أزهار بطول1 سم S= قطع من الشماريخ بطول 0.5 سم



شكل(3): توالد النبيتات من الاجزاء الزهرية لنخيل التمر a: تكوين الكالس بعد 12 اسبوعاً من الزراعة للصنف مكتوم b، c، d: نشوء وتطور البراعم العرضية من الكالس بعد 0، 6، 12 اسبوع على التوالي للصنف برحي e استطالة النموات الناتجة من البراعم المتكونة من كالس الصنف مكتوم في الوسط السائل المحتوي على 80 ملغم/لتر من كبريتات الادنين بعد 8 أسابيع من الزراعة.



المصـادر

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

2- Schroeder, C. A.(1970). Tissue Culture of Date Shoots and seedlings. *Date Growers Inst. Rep.,* 47:25-47.

3- Tisserat, B.(1991). Clonal Propagation of Palms. Plant Tissue Culture Manual C2:1-14.

4-أبحمأن، العربي(1999). الإكثار السريع للنخيل بإستعمال الأنسجة الزهرية. *وقائع المؤتمر الدولي عن نخيل البلح. نوفمبر1999. جامعة اسيوط- مصر، ص385-388.*

5-دريرة، نور الدين و الشعري، أنيسة والمصمودي، رجاء(1996). تحليل قدرات المبادئ الزهرية الأنثوية لنخيل التمربواسطة زراعة الأنسجة. إصدارت ندوة النخيل الثالثة بالمملكة العربية السعودية17-20 كأنون الثأني 1993م. دار المريخ للنشر. الجزء الأول ص161-170.

6- Murashige, T. and Skoog, F.(1962). A Revised Medium for Rapid growth and Bio assays with Tobacco Tissue Cultures, *Physiol. Plant.,* 15:473-497.

7- Drira, N.(1981). Multiplication Vēgētative et Micro Propagation du Palmier Dattier *Phoenix dactylifera* L. ā partir diorganes prelevēs sur la phase adult cultivēs (*in vitro*) Thēse pour le titre de Docteur de Specialitē. Facultē des Science de Tunis. 138pp.
8- Pierik, R. L.(1999). *In Vitro* Culture of Higher Plants. Third Edition. Martinus Nijnoff Publishers. Netherlands.
9- Skoog, F. and Miller, C. O.(1957). Chemical Regulation of Growth and Organ Formation in Plant Tissue Cultured *in vitro, Symp. Soc. Exp. Biol.*, 9:118-131.
10- Schmülling, T.; Schäfer, S.; and Romanov, G.(1997). Cytokinins as Regulators of gene expression. *Physiol. Plant.*, 100(3):505-513.
11- Bhaskaran, S. and Smith, R. H.(1992). Somatic Embryogenesis from shoot tip and Immature Inflorescence of *Phoenix dactylifera* L. CV Barhee. *Plant Cell Reports*, 12:22-25.
12- George, E. F. and Sherrington, P. D.(1993). Plant Propagation by Tissue Culture. Second Edition. Exegetics Ltd. England.