مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد 28 (2)،106-113،2015

استحثاث البراعم العرضية من البادئات الورقية لنخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف نيرسي المزروعة خارج الجسم الحي

خيون علي محسن

مركز أبحاث النخيل، جامعة البصرة، العراق

المستخلص: في هذه الدراسة استعملت البادئات الورقية لنخيل التمر صنف نيرسي بهدف استحثاث البراعم العرضية منها، وقد استعملت أربعة أوساط غذائية مزودة بأملاح MS والسكروز وتراكيز مختلفة من منظمات النمو النباتية ومسحوق الفحم المنشط وسلفات الأدنين، وقد أشارت النتائج إلى مايلي: إن استحثاث البراعم العرضية من البادئات الورقية حصل عند الوسط الغذائي المزود بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ من السايتوكاينين BAP و1 ملغم.لتر$^{-1}$ من الاوكسين NAA بعد مرور ستة أشهر من الزراعة في الظلام وعند تعريض الزروعات إلى الإضاءة تحولت البراعم إلى نموات خضراء اللون التي استمر اكثارها عند نقلها إلى وسط خالٍ من مسحوق الفحم المنشط ومزود بتركيز 1 ملغم. لتر$^{-1}$ لكل من الاوكسين NAA والسايتوكينين BAP والتي حصلت لها استطالة عند نقلها إلى وسط خالي من منظمات النمو النباتية مع زيادة تركيز كبريتات الأدنين إلى 50 ملغم.لتر$^{-1}$ بإضافة مسحوق الفحم المنشط بتركيز 150 ملغم. لتر$^{-1}$ وتكونت جذور قوية على البراعم الخضرية (النبيتات) عند نقلها إلى وسط التجذير المزود بتركيز 0.5 ملغم. لتر$^{-1}$ NAA مع وجود مسحوق الفحم المنشط بتركيز 250 ملغم.لتر$^{-1}$.

الكلمات المفتاحية: نخيل التمر، البادئات الورقية، البراعم العرضية، خارج الجسم الحي.

المقدمة

تعتبر زراعة الأنسجة النباتية من أهم طرق إكثار النخيل نسبة للعدد الكبير الذي ينتج من عمليات الإكثار مقارنة بالطرق التقليدية ونظرا للرغبة في زيادة رقعة النخيل المزروعة وكذلك لتعويض النقص الحاصل في أعداد أشجار النخيل مما استوجب اللجوء إلى استخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية لتذليل الصعوبات، وبالنظر للصعوبات التي تواجه زراعة النخيل إلا انه بالإمكان تطبيق هذه التقانة في إكثاره وقد بدأت المحاولات الجادة في العقد السابع من القرن الماضي والمستمرة حتى يومنا هذا وانحصرت معظم معاملات الإكثار على تكوين الأجنة الخضرية somatic embryogenesis وأشار بعض الباحثين إلى أن هذه الطريقة غير آمنة للاستعمال المستمر لمنظمات النمو النباتية (5). لذلك لجأ الباحثون إلى استعمال طريقة تكون الأعضاء (التبرعم) Organogenesis وفي هذه الطريقة يتم زراعة أجزاء نباتية صغيرة Explants متمثلة بالبراعم الطرفية Lateral buds والبراعم الابطية Auxiliary buds والبادئات الورقية Leaves primordial والبراعم الزهرية Flower buds في أوساط غذائية صناعية معلومة التركيب لتوجيه نمو هذه المنفصلات نحو تكوين براعم عرضية والتي يتم الاستمرار في إكثارها للحصول على أعداد كثيرة من النباتات دون

المرور بمرحلة الكالس وتتيح هذه الطريقة في الحفاظ على المكونات الوراثية وبالنتيجة النباتات الناتجة تكون مشابهة للام وراثيا (2، 6، 9). وتمكن Al-Maarri and Al-Ghamidi (4) من استحثاث البراعم الجانبية من القمم النامية لخمسة أصناف من نخيل التمر (صفري، زهدي، ارزيز، المزروعة خارج الجسم الحي باستعمال وسط غذائي يتكون من أملاح MS وتراكيز مختلفة من منظمات النمو النباتية بغياب مسحوق الفحم المنشط إذ تكونت البراعم الخضرية بمدة زمنية تراوحت من 4–6 أشهر وبعد نقل البراعم المتكونة إلى وسط مزود بتركيز 0.02 ملغم.لتر$^{-1}$ من الـ NAA مع زيادة تركيز كبريتات الأدنين استطالت البراعم والتي كونت جذور قوية تأقلمت بنجاح مع الظروف الخارجية. وتكونت البراعم الخضرية مباشرة من البراعم الطرفية لنخيل التمر صنف زغلول المزروع خارج الجسم الحي على وسط غذائي مزود بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ 2-ip و 1 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA (7).

ونظرا لقلة الدراسات في هذا المجال أجريت هذه الدراسة لغرض استحثاث البراعم العرضية من البادئات الورقية لنخيل التمر صنف نيرسي المزروعة خارج الجسم الحي.

المواد وطرائق العمل

أجريت هذه الدراسة في مختبر الزراعة النسيجية التابع إلى مركز أبحاث النخيل في جامعة البصرة للفترة من تشرين الأول 2013 ولغاية كانون الثاني 2015.

المادة النباتية

جلبت فسائل نخيل التمر صنف نيرسي بعمر ثلاث سنوات من ناحية الشرش في قضاء القرنة شمال محافظة البصرة، شرحت تصاعديا حتى الوصول إلى القمة النامية ومن ثم استخرجت القمة النامية (لوحة، 1) وقد أزيلت أوراقها الأولية (لوحة، 2) ووضعت في محلول مانع للأكسدة المتكون من حامض الاسكوربيك وحامض ألستريك بتركيز 150 ملغم. لتر$^{-1}$ لكل منهما وتركت في الثلاجة لحين أجراء عملية التعقيم السطحي.

لوحة (1): القمة النامية.

لوحة (2): البادئات الورقية

التعقيم السطحي للأجزاء النباتية

بعد استخراج الأجزاء النباتية من المحلول المانع للأكسدة وضعت في محلول التعقيم المتكون من هيبوكلورات الصوديوم 20% حجم إلى حجم مع إضافة قطرة واحدة من المادة الناشرة Tween-20 لكل 100 سم^3 من المحلول ومع الرج والتحريك لمدة 20 استخرجت البادئات الورقية وغسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات للتخلص من مادة التعقيم وبعدها زرعت على الوسط الغذائي المعد مسبقا، وقد أجريت هذه العملية داخل كابينة الزرع المعقمة جيدا بالايثانول 70% والفورمالديهايد.

2-الوسط الغذائي

تكون الوسط الغذائي من المواد المذكورة في جدول (1) على أساس ملغم.لتر$^{-1}$ وعند تحضير لتر واحد من الوسط الغذائي وضع 700 مل من الماء المقطر في دورق حجمي سعة 1000 مل موضوع على سخان كهربائي مزود بخلاط مغناطيسي تم إضافة 4.4 غم من أملاح MS (12) والمنتج من شركة Phytotechnology Lab Com إلى الدورق المعد لتحضير الوسط الغذائي لأن الكميةالسابقة تمثل قوة كاملة أما بالنسبة إلى منظمات النمو النباتية فقد تم اذابت الاوكسين NAA في 5 سم^3 من هيدروكسيد الصوديوم والسايتوكاينينBAP في 5 سم^3 من حامض الهيدروكلوريك قبل إضافتهم إلى الوسط الغذائي علما أن تركيز المحلولين هو 0.1 عياري وتم إضافة المواد الأخرى المذكورة في جدول (1) عدا الاكار عدلت حموضة الوسط الغذائي بوساطة جهاز pH Meter وضبطت درجة حموضة الوسط على 5.7-5.8 من خلال معايرة الوسط بمحلولي هيدروكسيد الصوديوم وحامض الهيدروكلوريك بتركيز 0.1 عياري ثم أضيف الاكار وسخن الوسط لغاية درجة 95 م^o وزع الوسط بواقع 20 مل لكل أنبوبة اختبار قياس 2.5 ×18 سم وسدت فوهة الأنابيب بالقطن الطبي ومن ثم بورق الألمنيوم وبعدها عقم الوسط الغذائي وأدوات الزراعة تعقيما بخاريا في جهاز المعقام Autoclave على درجة حرارة 121 ^{o}م وضغط 1.05 كغم. سم$^{-2}$ لمدة 20 دقيقة.

زراعة الأجزاء النباتية

وتمثل استحثاث البراعم العرضية من البادئات الورقية عدة مراحل:

أ-الزراعة الأولية

بعد الانتهاء من تعقيم البادئات الورقية زرعت في الوسط الغذائي رقم (1) والمذكورة تفاصيله في جدول (1)، بعد الانتهاء من الزراعة وضعت الزر وعات في الظلام وعلى درجة حرار ة 27±1 مْ مع مراعاة عمليات إعادة الزراعة Reculture على الوسط نفسه مرة كل ستة أسابيع أبقيت الزروعات على هذا الوسط لحين ظهور البراعم العرضية.

جدول (1): الوسط الغذائي المستخدم في الدراسة.

مكونات الوسط الغذائي ملغم. لتر $^{-1}$	رقم الوسط الغذائي			
	1	2	3	4
أملاح MS	قوة كاملة	قوة كاملة	قوة كاملة	قوة كاملة
سكروز	30000	30000	3000	3000
ارثروفوسفات	170	170	200	200
ميوانيسيتول	100	100	100	100
سلفات الأدنين	30	30	50	50
ثيامين HCl	0.5	0.5	0.5	0.5
كلايسن	4	4	5	5
كلوتامين	200	200	200	200
بيرودوكسين	1	1	1	1
نيكوتين	1	1	1	1
الفحم المنشط	1500	0	0.150	0.250
مسحوق الاكر	6000	6000	6000	5000
نفتالين حامض ألخليكNAA	1	1	0	0.5
بنزيل امينو بيورينBAP	3	1	0	0.1
pH حموضة الوسط	5.7	=	=	=

ب-إكثار البراعم العرضية

بعد ظهور البراعم العرضية على البادئات الورقية تم نقلها إلى الوسط الغذائي رقم (2) المذكورة تفاصيله في الجدول (1) فقد عرضت الزروعات إلى الإضاءة بشدة 1000 لوكس ولمدة 16 ساعة. يوم$^{-1}$ بعد نقلها على ذلك الوسط مباشرة مع مراعاة عمليات إعادة الزراعة Subculture مرة كل أربعة أسابيع لغرض إكثار البراعم العرضية.

ج- استطالة البراعم الخضرية

البراعم المتكونة في المرحلة السابقة تم نقلها إلى الوسط الغذائي رقم (3) الموصوف في الجدول (1) أبقيت الزر وعات على هذا الوسط لمدة أربعة أشهر.

د- التجذير

بعد وصول النبيتات إلى ارتفاع 5-8 سم تقريبا نقلت إلى الوسط الغذائي رقم (4) المذكورة تفاصيله في الجدول (1) ولمدة أسبوعين ثم نقلت النبيتات إلى وسط مشابه إلا انه خلا من منظمات النمو النباتية.

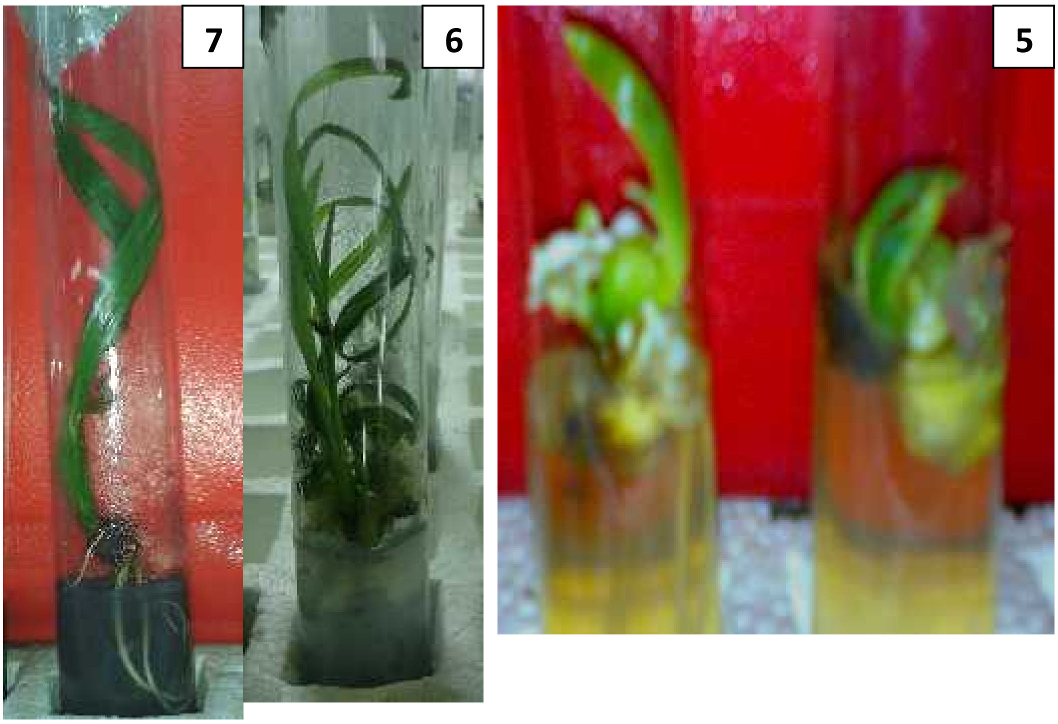
النتائج والمناقشة

عند زراعة البادئات الورقية على الوسط الغذائي رقم 1 (جدول 1) إذ تم ملاحظة تضخم الوريقات المزروعة وخاصة بعد إجراء النقلة الزرعية الثانية (لوحة 3) وبعد مرور ستة أشهر من الزراعة على ذلك الوسط لوحظ ظهور انتفاخات على حواف الوريقات (لوحة 4) وبعد نقل هذه الوريقات إلى الوسط الغذائي رقم 2 الخالي من مسحوق الفحم المنشط وتعريضها إلى الإضاءة حيث تكشفت الانتفاخات إلى براعم تحمل أوراق خضراء صغيرة (لوحة 5)، إذ اتضح إن هذه النموات الصغيرة ماهي إلا براعم عرضية إذ تعد ظاهرة نشوء البراعم الخضرية بصورة عرضية من الأنسجة والأعضاء المزروعة خارج الجسم الحي من الظواهر التي سجلت في العديد من النباتات (13). أما في نخيل التمر فقد أشارت بعض البحوث إلى نشوء البراعم الخضرية من القمم النامية (Shoot tips) المزروعة خارج الجسم الحي عند العديد من الباحثين (1، 7 ،8 ،11) وقد ذكر حميد (3) إن مصدر البراعم العرضية المتكونة هي خلايا الأنسجة النباتية والتي تكون بتماس مباشر مع الوسط الغذائي إذ أن 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 تأخذ شكلها المنتظم باتجاه التطور إلى مايسمى بالمرستيمات الأولية Primerstemoids التي تتطور إلى براعم لها نفس التكوين الشكلي Morphogenesis للبراعم الموجودة في آباط الأوراق.

إن الاستمرار في فصل البراعم العرضية وزراعتها على الوسط الغذائي رقم 2 أمكن من الاستمرار في الحصول على مصدر مستمر من البراعم العرضية، ويؤدي التوازن الهرموني دورا هاما في تكوين البراعم العرضية من الأجزاء النباتية المزروعة خارج الجسم الحي (1، 6، 7). وعند نقل البراعم العرضية من الوسط الغذائي رقم 2 إلى الوسط رقم 3 وأبقيت على الوسط الأخير أربعة أشهر حصل زيادة في نمو البراعم العرضية وارتفاعها كما موضح في لوحة (6) وكانت النتائج مطابقة لما توصل إليه Drira (8) عند حصوله على استطالة للبراعم العرضية المتكونة من القمم النامية لأشجار نخيل

لوحة (3): تضخم البادئات الورقية

لوحة (4): انتفاخ الوريقات.



لوحة (5): البراعم العرضية لوحة (6): استطالة البراعم الخضرية لوحة (7): تجذير النبيتات.

التمر المزروعة على الوسط الغذائي المزود بـ IBA وBAP بتركيز 1 ملغم. لتر$^{-1}$ لكل منهما، ألأفرع العرضية التي تراوح ارتفاعها من 5-8 سم نقلت إلى وسط التجذير رقم 4 والمذكورة تفاصيلة في جدول (1) ولمدة أسبوعين بعدها نقلت إلى وسط مشابه إلا انه خلا من منظمات النمو النباتية حيث لوحظ تكون جذور قوية على النبيتات كما موضح في لوحة (7)، وتؤدي الاوكسينات وخاصة الاوكسين NAA دورا هاما في تكوين الجذور فقد وجد إن الخلايا التي تستحث منها بادئات الجذور تعتمد وبدرجة كبيرة على الاوكسينات (10). من الدراسة نستنتج انه بالإمكان إكثار نخيل التمر صنف نيرسي عن طريق استحثاث البراعم

العرضية من زراعة البادئات الورقية وصولا إلى نبيتات كاملة وبمراحل متعددة ، لذا توصي الدراسة باستعمال التراكيز السابقة من منظمي النمو الاوكسين والسايتوكاينين في استحثاث البراعم العرضية من البادئات الورقية وأقلمة النبيتات الناتجة منها.

المصادر

1-ابحمان، العربيو أنجاران، محمد والبوجرفاوي، محمد (2001). تكنولوجيا الزراعة النسيجية وأهميتها في إكثار نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L.. المركز العربي لدراسة الأراضي القاحلة. شبكة بحوث وتطوير النخيل ، نشرة إرشادية العدد (3) دمشق.

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

3-حميد، خزعل محمد (2001). إكثار بعض أصناف نخيل التمر .L *Phoenix dactylifera* خضريا باستخدام تقانة زراعة الأنسجة .أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق.

4-Al-Maarri, K. W. and Al- Ghamidi, A.S. (1997). Micropropagation of Five Date Palm Cultivars Through *In vitro* Auxiliary Buds Proliferation. D. V. J. Agri. Sci., 13: 55-71.

5-Al-Wasel, A. S. (2001). Phenotypic comparison of tissue culture derived and conventionally propagated by offshoots date palm *Phoenix dactylifera* L. cv. Barhee 1- vegetative characteristics. J.K.S.U. Agric. Sci., 13(1): 65-73.

6-Beauchesne, A.; Zaid, A. and Riss, A. (1986). Meristomatic Potentialities of Bottom of Young Leaves to Rapidly Propagated Date Palm. Proceeding of the 2nd Symp. and date palm, March 1986. King Faisal Univ., 1: 87-94.

7-Bekheat, S.A and Saker, M.M. (1998). Propagation of Egyptian date palm11.direct and in indirect shoot proliferation from shoot tip explant of *Phoenix dactylifera* L. CV. Zaghlool in: 1st int. conf. date palms march, 1998, Al-Ain, UAE. 28. (Abs).

8-Drira, N. (1983). Multiplication vegetati du palmer dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par la culture in vitro de bourgeons axillaries et de feuilles que en derivent. C. R. Acad. Sci., Paris 296: 1077-1082.

9-Drira, N. and Benbadis, A. (1985). Multiplication vegetative du Palmer dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par rēvērsion, en culture in vitro, d'ēbauches florales de pieds femelles. J. Plant Physiol., 119: 27-235.

10-El-Hammady, A. M.; Wanas, W. H.; Abo-Rawash, M. and Awad, A. A. (1999). Regeneration of date palm "Sewy" cv. Plantlets by somatic embryogenesis through callus with refers to the genetic stability. Inter. Conf. date palm. Nov. 1999, Assiut Univ. Egypt. Pp 117-131.

11-Gaber, M.F. and Tisserat, B. (1985). Propagating palms *in vitro* with special emphasis on the date palm *Phoenix dactylifera* L. Scientia Hortic., 25: 255-262.

13-Trigiano, R.N. and Gray, D.J. (1999). Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. C.R.C. Press. 472pp.

12-Murashig, T. and Skoge, F (1992). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant, 15: 473-497.

The Induction of Adventitious Buds from Leaves Primordial of Date Palm *Phoenix dactylifera* L. CV. Nersy *in vitro*

Khayun A. Muhsen

Date Palm Research Centre, University of Basrah, Iraq

e-mail: khaunali2000@yahoo.com

Abstract: Leaves primordial of date palm cv. Nersy were used in this study to induce adventitious buds after being cultured in the lab. Four MS media were used in addition to sucrose and different concentrations of plant growth regulators, activated charcoal and adenine sulphates. The results showed the following: Six months later, after being cultured in the darkness, the induction of adventitious buds from leaves primordial took place on the nutrient medium containing 3 ml. L^{-1} cytocynine BAP and 1 mg.L^{-1} Auxin NAA. When the adventitious buds were transformed into a charcoal free medium with 1 mg. L^{-1} of Auxin NAA and BAP cytokinine and expose them to light, the buds became green. They became longer when transformed to a medium free of plant growth regulators, with an increase in adenine sulphate concentration to 50 mg. L^{-1} with the addition of 150 mg.L^{-1} of activated charcoal. Strong roots were formed on the vegetative buds when transformed to rooting medium supplied by 0.5 mg.L^{-1} NAA and 250 mg.L^{-1} activated charcoal.

Keywords: Date palms, Leaves primordial, Adventitious buds, *In vitro*.