دراسة تشريحية لمباديء البراعم العرضية لنخيل التمر(*Phoenix dactylifera* L.) صنف البرحي المكثرة خارج الجسم الحي

ISSN– 1817 –2695

إسامة نظيم جعفر المير عقيل عبود سهيم الخليفة

مركز أبحاث النخيل / جامعة البصرة

((الاستلام 2009/5/26، القبول 2010/1/28))

الخلاصة

تم إكثار نخيل التمر صنف البرحي خضرياً وذلك بتحفيز تكوين البراعم العرضية من زراعة انسجة الكالس العقدي الابيض في اوساط غذائية اصطناعية تحتوي على تراكيز عالية نسبياً من السايتوكاينين 2iP لمدة ستة اشهر.

واتضح من الفحص ألمجهري للمقاطع التشريحية لنسيج الكالس المتبرعم ان العقد الدقيقة هي عبارة عن مباديء للبراعم العرضية التي تنشأ من خلايا مرستيمية تقع في السطح الخارجي للكالس الاولي ، وكما وجد إن مباديء البراعم العرضية تنشأ من الخلايا المتراصة المتجمعة في الجزء المرستيمي(نسيج الكالس) وتتكون بعد سلسلة من الانشطارات الى تراكيب بدائية ثنائية القطب تبدو بهيئة عقد حرة مدفونة في نسيج الكالس. ولوحظ تطور واستطالة البراعم العرضية المتكونة عند زراعتها على أوساط غذائية تحتوي على أملاح (MS) والسكروز بتركيز 30 غم /لتر والفحم المنشط بتركيز 0.25 غم /لتر أو البولي فينايل بايرودين بتركيز 2 غم/لتر والاكار بتركيز 7 غم/لتر واستخدم الاوكسين (NAA) بتركيز (1)ملغم/لتر في حين استخدم السايتوكاينين (2iP) بتركيز (5) ملغم/لتر وبالتالي كونت نبيتات لنخيل التمر.

المقدمة:

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 أثبتت تقانة زراعة الأنسجة كفاءتها من حيث وفرة النباتات التي يمكن إنتاجها من نبات واحد ومطابقة النباتات الناتجة لأصولها من حيث الثبات الوراثي (5 و 6). يتم إكثار النخيل نسيجياً إما بصورة مباشرة بواسطة تكشف الأعضاء (توالد الأعضاء) (Organogenesis) من القمة النامية والبراعم الابطية أوبصورة غير مباشرة بواسطة تكوين الأجنة الجسمية (Somatic embryogenesis) عن طريق المرور بمرحلة الكالس والذي تتكون منه الأجنة الخضرية وذلك من خلال زراعة أنسجة النبات في أوساط غذائية صناعية معقمة (1و 9).

كما تمكن بعض الباحثين من تحفيز تكوين البراعم العرضية من الكالس الناتج من زراعة البراعم القمية أو الابطية كطريقة جديدة لإكثار النخيل نسيجياً(2 و 7).

إن المحاولات المتعددة لإكثار نخلة التمر بواسطة الزراعة النسيجية أدت بعضها إلى نتائج مشجعة وذلك بالحصول على أعضاء نباتية ونبيتات كاملة،وحديثاً ظهر عدد قليل من التقارير العلمية التي تشير إلى التوصل إلى إنتاج نبيتات كاملة Plantlets من تكوين البراعم العرضية من أنسجة الكالس(3 و 2).

هناك قلة في الدراسات التشريحية إذ بينت الدراسة التشريحية (4 و 11)والتي أشاروا فيها إلى كيفية نشوء الأجنة الخضرية المكثرة من نسيج الكالس والتي أثبتت التوالد العرضي للأجنة الخضرية.

وبهدف التعرف على تكشف و توالد البراعم العرضية من أنسجة الكالس الناتج من الإكثار الدقيق لنخيل التمر صنف البرحي أجريت هذه الدراسة.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

المواد وطرائق العمل:

أجريت هذه الدراسة في مختبر الزراعة النسيجية التابع لمركز أبحاث النخيل / جامعة البصرة .إذ تم زراعة الكالس الأولي (المستحصل عليه من زراعة أرباع البراعم القمية لفسائل نخيل التمر صنف البرحي) على أوساط غذائية صناعية لتحفيز تكوين البراعم العرضية ، استخدم في عملية الزراعة أنابيب اختبار قياسها 150 X 25ملم سعتها 100 مل وضع فيها 20 مل من الوسط الغذائي .كررت عملية الزراعة بعشرة أنابيب لكل معاملة.وضعت كافة الأنابيب داخل غرفة النمو Growth chamber المكيفة على درجة حرارة 27 ±1 م^{0}و شدة إضاءة 1000 لوكس وفترة ضوئية 16 ساعة يومياً،إما تركيب الوسط الغذائي الصناعي فيتكون من مجموعة أملاح موراشيجي وسكوج الموصوفة من قبل(8). وأضيفت إليها المواد المبينة في الجدول (1) على أساس (غم/لتر).

جدول(1) تراكيز المواد المضافة إلى الوسط الغذائي الخاص بنشوء البراعم العرضية

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 sulphate	0.040
ثيامين–HCL	Thiamine-HCL	0.0005
بايوتين	Biotin	0.001
نيكوتين آميد	Nicotine amide	0.001
فحم منشط أو	Activated charcoal (PVP) Polyvinyl pyrilodine	0.25 2
آكار	Agar	7

كما تم استخدام توليفات من منظمات النمو النباتية (الاوكسينات والسايتوكاينينات) أدت للحصول على مباديء البراعم العرضية والتي استخدمت في الدراسة التشريحية.

ضبطت درجة حموضة الوسط الغذائي على درجة 5.7 بواسطة محلول هيروكسيد الصوديوم وحامض الهيدروكلوريك بتركيز(0.1 عياري) لكل منهما وذلك قبل إضافة الاكار .وبعد إذابة الاكار تم تسخين الخليط إلى درجة حرارة 95 م^0 وزع في أنابيب اختبار بالكميات المذكورة وأغلقت فوهتها بسدادات قطنية وغطيت أعناقها بورق الألمنيوم ثم عقمت جميعاً بوضعها داخل جهاز التعقيم البخاري Autoclave وتحت ضغط 1.05 كغم/سم^2 ودرجة حرارة 121 م^0 لمدة 15 دقيقة.

طريقة الإكثار:

تتكون الطريقة المتبعة للإكثار الدقيق من خطوتين

1- زراعة نسيج الكالس العقدي الأبيض المتولد من أرباع البراعم القمية فوق أوساط غذائية تحتوي تراكيز عالية من السايتوكاينين وذلك مرة كل أربعة أسابيع بهدف تحفيز نشوء البراعم العرضية.

2- زراعة البراعم العرضية المتكونة من الخطوة الأولى على أوساط غذائية تحتوي على تركيز (5ملغم/لتر) من الجبرلين ومن ثم تزرع على أوساط محفزة للتجذير حاوية على الاوكسين IBA

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

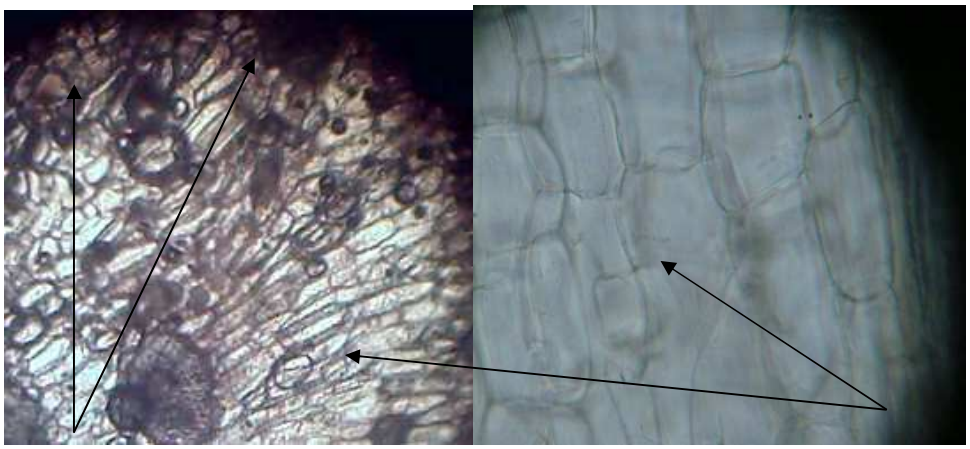
بتركيز 0.5 ملغم /لتر لتكوين نبيتات كاملة خلال ستة اشهر لتصبح جاهزة لعملية الأقلمة.

إما عينات الكالس والبراعم العرضية التي استعملت للأغراض التشريحية والملاحظات النسيجية خلال هذه الدراسة ،إذ أخذت عينات من أنسجة الكالس المتحورة إلى براعم عرضية وهيأ جهاز التقطيع الثلجي Freezing microtome نوع Reiechrt-jung موديل FRIGOUT-2700 في مركز علوم البحار /جامعة البصرة،وعلى درجة -10م^0 لعمل قوالب التقطيع ،طمرت الأجزاء المراد تقطيعها في قوالب خاصة باستخدام التجميد إذ استعملت شفرات خاصة للحصول على المقاطع التشريحية من نماذج الدراسة.

أخذت النماذج المقطعة من سطح الشفرة ووضعت على شرائح زجاجية مهيأة بدرجة حرارة الغرفة وفحصت النماذج مباشرة بواسطة المجهر الضوئي ذو كأميرا نوع Olympus.

النتائج والمناقشة:

اظهر الفحص المكروسكوبي لشرائح معمولة لنسيج الكالس النامي فوق اوساط غذائية تحتوي على تراكيز عالية من السايتوكاينين بان الكالس يتكون من عقد او حبيبات بيضاء دقيقة (لوحة 1) كما اشارت الدراسات التشريحية ان الكالس يتكون من نوعين من الانسجة الاول عبارة عن نسيج هش Loose Friable Tissue يحيط بالنوع الثاني الذي هو عبارة عن كتل مرصوصة Compact Aggregates اذ يعد النوع الثاني المسؤول عن تكوين البراعم العرضية او الاجنة الخضرية (11 و 4).



نسيج هش Loose Friable Tissue **كتل مرصوصة Compact Aggregates**

لوحة(1) نسيج الكالس النامي فوق اوساط غذائية تحتوي على تراكيز 10 ملغم/لتر من السايتوكاينين

إن إعادة زراعة هذه العقد على اوساط غذائية مجهزة بتراكيز عالية من السايتوكاينين يحفزها على النمو والتطور الى تراكيب ثنائية القطب Bipolar Structure والتي تعرف بمباديء البراعم العرضية إذ يلاحظ إن الفجوة الداخلية محاطة بحزم من البروكامبيوم الاولي (Procambium) bundles وتفصل الفجوة المرستيم الطرفي للساق والجذر عن باقي اجزاء النسيج.

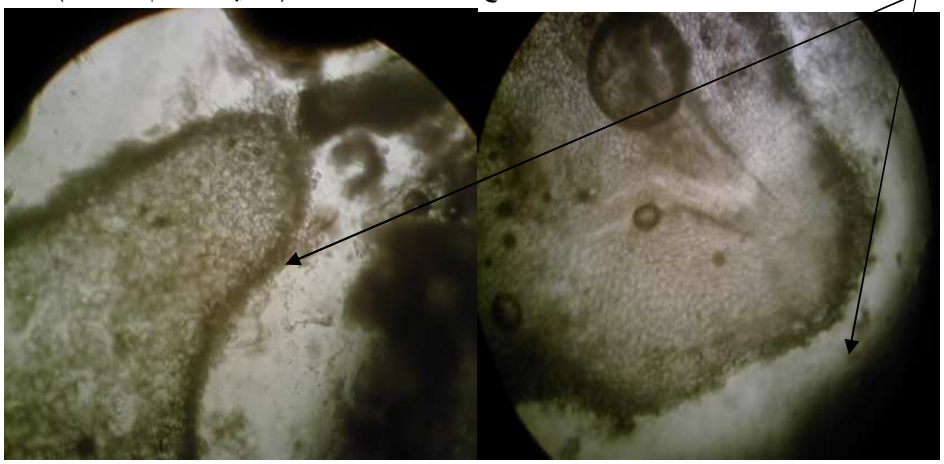
نشوء البراعم العرضية من انسجة الكالس الأولي

تظهر انسجة الكالس المتبرعمة بأنها مكونة من تجمعات من خلايا متراصة . ان نشوء البراعم العرضية من أنسجة الكالس يؤكد طبيعتها المرستيمية , وأن ظهور العقد (Nodules) يحصل من الخلايا المتجمعة (لوحة 2) , اذ تبدو هذه الخلايا بهيئة مجاميع عنقودية دقيقة وفعالة

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

ومتراصه مع بعضها الأمر الذي يحفز تكـوين مبـاديء البراعم العرضية.

تجمعات من خلايا متراصة بهيئة مجاميع عنقودية دقيقة وفعالة (مباديء البراعم العرضية)



لوحة(2) أنسجة الكالس المتبرعمة و مباديء البراعم العرضية المتكونة.

كما أوضح الفحص المجهري المكبـر لمقـاطع الكـالس المتبرعم وجـود مراكـز مرسـتيمية Meristematic centers في المناطق الخارجية وتحت الخارجية للكتـل المرصوصة هذه المراكز مكونة من خلايـا مرسـتيمية تحتوي على نوى(Nuclei) بارزة كبيرة الحجم نسبياً وكل نواة تحتوي على نـواة او نـواتين وتحـيط بـالمراكز المرستيمية حواجز مكونة من جدران سـميكة ويتوسـع المركز نتيجة النمو وتتوالد كتل منفـصلة عـن العقـد الحرة(Free nodules) او مباديء البراعم العرضية الخـضرية او مـا يـسمى بالمرسـتيمات الاوليـة (Promerstemoids) الموصوفة في (10).

وتظهر العقد خلال مراحل توالدها البدائية بشكل مجاميع كروية مكونة من بضعة خلايا مرستيمية ومبعثـرة فـي الجزء الرخو(المخلخل) من نسيج الكالس وتمثل الطـور البدائي للبراعم العرضية (لوحة 3)،ومن المحتمل ان هذه المجاميع والاشكال اما ان تكون منفصلة مـن المراكـز المرستيمية او متبرعمة من بعضها البعض(4).

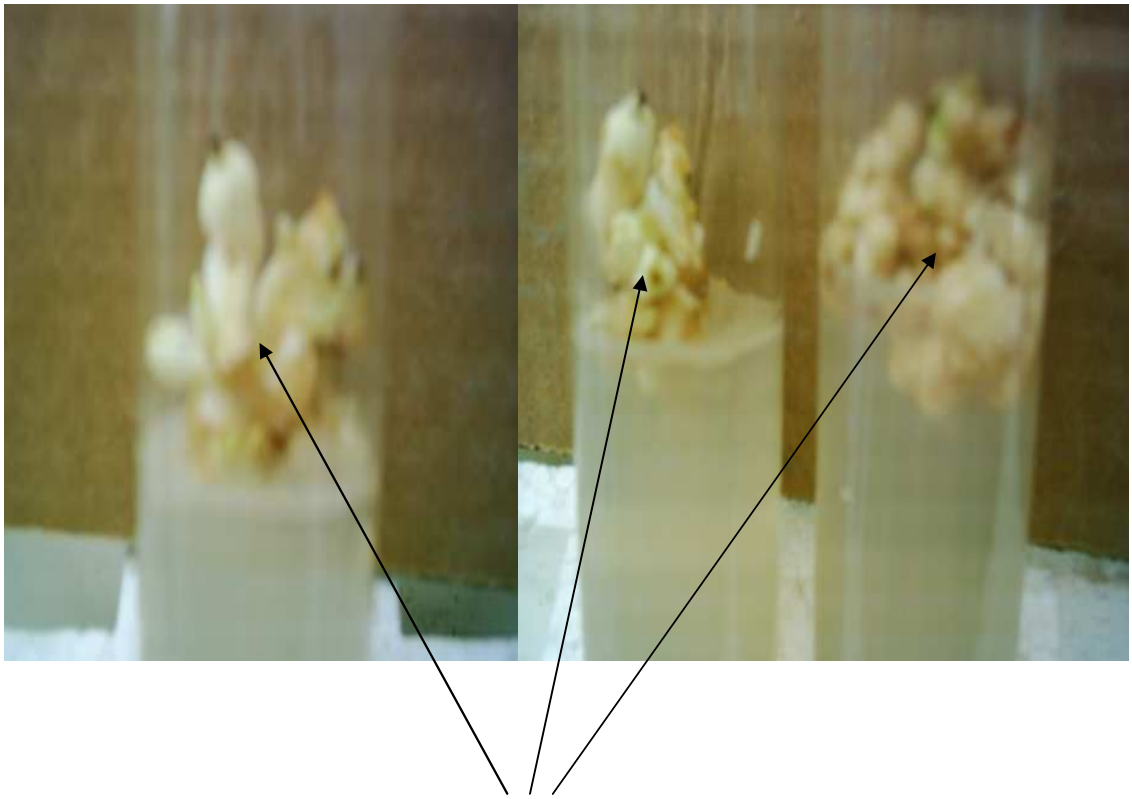
PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

لوحة (3) مجاميع بأشكال كروية في العقد(مباديء البراعم العرضية) خلال مراحل توالدها البدائية

إن نشوء البراعم العرضية من نسيج الكالس العقدي الابيض خلال سلسلة من مراحل التولد الخضري (Asexual Embryogenesis) التي جرت دراستها في هذا البحث جاءت مطابقة لعملية نشوء الاجنة الخضرية في دراسة(11و 4) إلا إن الفرق الجوهري يكمن في طبيعة الكالس العقدي الابيض وطريقة الاكثار الدقيق ،ففي الدراسات النسيجية التشريحية للاجنة الخضرية وجد ان الكالس مكون من عقد او حبيبات دقيقة بيضاء مخلخلة جداً وعند زراعتها على اوساط خالية من منظمات النمو تتحول الى اجنة خضرية حرة يمكن نقلها الى اوساط غذائية اخرى بسهولة تامة للحصول على نبيتات كاملة.

اما بالنسبة لنشوء البراعم العرضية من انسجة الكالس فيلاحظ تكون نموات عرضية على الاسطح الخارجية للكالس وعند زراعتها على اوساط غذائية ذات تراكيز (5 و10)ملغم/لتر من السايتوكاينين كونت مباديء البراعم العرضية والتي كانت ملتصقة بنسيج الكالس فضلا عن تعدد النموات وتبرعمها من انسجة الكالس وتم تقسيمها وتفريدها وزرعت على أوساط غذائية حاوية على منظمات النمو النباتية (الاوكسين بتركيز 1 ملغم/لتر و السايتوكاينين بتركيز 5 ملغم/لتر) وكونت نبيتات جاهزة لعملية الاقلمة.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com



لوحة(4) نموات عرضية على الاسطح الخارجية ملتصقة بنسيج الكالس مكونة مباديء البراعم العرضية.

المصادر

1-ابحمان ،العربي و انجـــاران ،محمـــد والبوجرفاوي،محمـــد (2001) .تكنولوجيا الزراعة النسيجية وأهميتها في إكثار نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. .المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلـــة –شـــبكة بحوث وتطوير النخيل. نشرة إرشادية العدد(3) دمـــشق ،2001.

2-الخليفة،عقيل عبود سهيم(2008).تأثير منظمات النمو النباتية في انتاج نبيتات من كالس نخيل التمر صنف البرحـــي خارج الجسم الحي.اطروحة دكتـــوراه –قـــسم البـــستنة والنخيل–كلية الزراعة–جامعة البصرة.

3-المعري، خليل وجيه والغامدي، عبـــد الله صـــالح (1995). تأثير موعد الزراعة على التكاثر الخضري الدقيق لنخيل التمر صنف الهلالي.مجلة اتحـــاد الجامعـــات العربيـــة للدراسات والبحوث الزراعية،جامعة عين الشمس،القاهرة 8 (1): 151-167.

4-مطر،عبد الأمير مهدي(1988).دراسة نسيجية وتشريحية للتكاثر الدقيق لنخلة التمر خارج الجسم الحي.ندوة النخيل الثانية – المملكة العربية السعودية.

5-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.

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

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.

8-Murashige,T.and Skoog,F.(1962). A revised medium for rapid growth and bioassays

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

with tobacco tissue cultures. Plant Physiol .15:473-497.

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

10-Tisserat,B and DeMason,D(1980).Ahistological study of development of adventives embryos in organ culture of *Phoenix dactylifera* L.Ann.Bot.46:465- 472.

11-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.

Anatomy study of adventitios buds of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) c.v Barhi *in vitro*

Usama N.J.Al-meer **Aqil.A.S.Al -Khalifa**

Date Palm Research Centre –Basrah University

Summary

Vegetative micro propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) has been established through formation of adventitious buds from culture of white nodular callus in synthetic media containing high level of the cytokinin (2ip)(5 and 10 mg/l)for 6 months. Histological examination of the adventitious buds formation revealed the nodules in the subculture masses to be a pro buds initiated from meristematic cells located in the superficial layers of the organogenesis callus,it was found that buds initiated from compact aggregates cells proliferate through successive divisions into bipolar structures which appear as free nodules embedded in the callus mass. Upon transferring the buds formation tocultured on nutrient medium of (MS)salts full strength supplemented 30 g/l sucrose,0.25 g/l ctivated charcoal ,7 g/l agar,(1,2) mg/l NAA and cytokinins (2iP)(5,10)mg/l. completed their growth and developed into entire plantlets.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com