



Effect of Different Plant Growth Regulators on Somatic Embryogenesis Induction from Immature Female Inflorescences of Date palm cv. Bronsi

Khalifa M. Milad^{1*}, Abdusaalam Ben hamida¹ and Zuher bensaad²
¹ Agricultural Research Center, Libya

² Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tripoli, Libya

ARTICLE HISTORY	<p>Abstract: A study was conducted to determine the effect of different growth regulators on somatic embryogenesis induction and micropropagation of date palm cv. Bronsi. using immature female inflorescence. Unopened spathes were collected, flower strands removed, and surface sterilized by using commercial sodium hypochlorite solution Clorox (1.05%), then flowers were cultured onto full strength MS medium supplemented with various concentrations of 2,4-D, IBA, Kinetin (Kin), and isopentenyl adenine (2ip) and incubated in the dark at 27°C for four months. Some plant explants showed a response in embryogenic callus formation, which were then subcultured on MS growth regulators-free media with the addition of 0.5 mg.L-1 GA₃. The highest number of growing shoots and shoot length were obtained from somatic embryos developed on 2ip (0.2) +Kin (0.2) +IBA (0.5) + GA₃ (0.5) containing medium. To encourage root growth and elongation, embryos were transferred to an MS medium provided with NAA at concentrations of 0.1, 0.5, and 1.0 with the addition of BA at 0.2 mg.L-1. Using NAA (0.1) with BA (0, 2) achieved the highest number of roots per plant (8.0) and root length (10.4 cm).</p>
Received: 16 April 2023	
Accepted: 20 May 2023	
Keywords: Somatic embryogenesis, Shoots, cv. Bronsi, Growth regulators, Date palm.	

تأثير بعض منظمات النمو على تكوين الأجنة الجسدية باستخدام النورات الزهرية المؤنثة غير الناضجة لنخيل التمر صنف برنصي

المستخلص: أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير بعض منظمات النمو على تعزيز تكوين الأجنة الجسدية، والإكثار الدقيق لنخيل البلح صنف برنصي من النورات المؤنثة غير الناضجة (immature young inflorescence) جزءاً نباتياً. جمعت الأغاريض غير المتفتحة وأزيلت منها الشماريخ، وتم تعقيمها سطحياً باستخدام هيبوكلوريت الصوديوم التجاري كلوركس (بتركيز 1.05%). أخذت أزهاراً، وزرعت في وسط Murashige & Skoog (MS) يكامل الأملاح يحتوي على 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)، Indole butyric acid، 2ip) dimethylaminopurine، (IBA) Kinetin (Kin) وبتراكيز محددة. حضنت المزارع النسيجية في الظلام عند درجة حرارة 27°م لمدة 4 أشهر. أظهرت بعض المستأصلات المزروعة استجابة في تكوين الكالس الجنيني (embryogenic callus)، أعيد استزراعها على وسط MS خال من 2,4-D مع إضافة 0.5 ملجم/لتر Gibberellic acid (GA₃). تفوقت التوليفة (0.5) IBA (0.5) + Kin (0.2) + 2ip (0.2) + GA₃ (0.5) (كل التركيزات ملجم/لتر) على باقي التوليفات في عدد النموات الخضرية النامية من الأجنة وطولها. وللمساعدة في نمو الجذور، واستطالته، نقلت الأجنة النابتة إلى وسط MS المزود بـ Naphtatene acetic acid (NAA) بتركيز 0.1، 0.5، و1.0 ملجم/لتر مع إضافة Benzyl adenine (BA) بتركيز 0.2 ملجم، حيث ساهم الوسط المزود بـ NAA (0.1 ملجم) و BA (0.2 ملجم) في الحصول على أفضل نتيجة في عدد الجذور للنبات (8.0) وطولها (10.4 سم) على التوالي.

الشرق الأوسط، وشمال أفريقيا، حيث تعد ثمارها مصدراً غذائياً جيداً لكونها غنية بالسكريات، والفيتامينات، والعناصر المعدنية، كما أنها تدخل في العديد من الصناعات الغذائية

المقدمة

نخيل التمر من أشجار الفاكهة المهمة خاصة في منطقة

* خليفة محمد ميلاد: www.khlef62@gmail.com، قسم البستنة، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، ليبيا.

(أبوالسعود وآخرون، 2004)، وبدأ البحث في استخدام أجزاء نباتية أخرى منها النورات الزهرية، خصوصاً المؤنثة female inflorescence، حيث تميزت هذه الطريقة بالحصول على العدد الكافي من النورات المستخدمة في عملية الإكثار حيث يحتوي الأغريض الواحد على عدد يتراوح من 3000 إلى 5000 زهرة، وتتميز بقلّة التلوث الفطري، والبكتيري، وفي حالة أشجار النخيل التي تجاوزت مرحلة انتاج الفسائل (ابحمان، 2001)، إضافة إلى قدرتها على التوالد في وقت أقصر من باقي أنواع المستأصلات (Gadalla, 2017) دأبت الأبحاث حول استخدام النورات الزهرية المؤنثة في الإكثار الدقيق لنخيل التمر في منتصف الثمانينات من القرن الماضي (Abahmane, 1998, 2013; Abdelaziz et al., 2019; Loutfi & Chlyah, 1998؛ ابحمان، 1999، ابحمان وآخرون، 2001، خيرالله 2007، المياحي، 2008). في دراسة قام بها (أبوالسعود وآخرون، 2004) على استخدام تقنية زراعة الأنسجة في إكثار نخيل التمر صنف زغلول أكد الباحثون على ضرورة البحث على أجزاء نباتية بديلة للقمة النامية لنخيل التمر حتى يمكن استخدامها في الإكثار الدقيق، حيث استخدم الشماريخ الزهرية المؤنثة بطول (2.5، 7 و 20 سم)، وخلص إلى أن زراعة الشماريخ الزهرية بطول 7 سم يجب أن توجه لإنتاج الأفرع الخضرية المباشرة (caulogenesis) لارتفاع استجابتها، وأظهرت الدراسة عدم جدوي استخدام النورة البالغة التي تحمل أنسجة متكشفة.

تعد منظمات النمو من أهم المركبات التي يحتاجها النبات بتركيزات محددة لها تأثيرات فسيولوجية متعددة، ومن منظمات النمو المعروفة الأوكسينات مثل اندول حمض البيوتريك Indole butyric acid (IBA)، ونفتالين حمض الخليك Naphthalene acetic acid (NAA)، وكذلك السيتوكينات مثل الكاينتين Kinetin (KIN)، وبنزيل أدينين Benzyladenine (BA) التي تقوم بتنظيم تطور الأعضاء النباتية وتكشفها في أجزاء النبات. يعتمد التوالد في مزارع الأنسجة على التركيز، والتوازن بين الأوكسينات إلى

(البكر، 1972)، وساهمت بشكل كبير اقتصادياً، واجتماعياً في ازدهار، واستقرار هذه المناطق. يعتمد الإكثار الخضري للنخيل على الفسائل الموجودة على النخلة الأم، وهي الطريقة المثلى، ولكن تصاحب هذه الطريقة عدة صعوبات منها: أن العملية مكلفة، ومجهدة، وتحتاج الفسيلة لعناية كبيرة للحفاظ على منطقة الفصل دون تلوث، أو الإضرار ببعض الجذور، أو جفاف الفسائل، أو أن أعداد الفسائل غير كافية للزراعات الجديدة (ابراهيم وخليف، 2004). ونظراً لهذه الصعوبات فقد اتجه العديد من الباحثين إلى استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية لغرض توفير أعداد كبيرة من الفسائل للأصناف الممتازة للزراعات الجديدة.

تعود أولى الدراسات على زراعة الأنسجة في نخيل التمر مع بداية السبعينيات من القرن الماضي، حيث نشرت أولى التقارير بواسطة (Schroeder, 1970) الذي قام باستزراع الأجنة، والقمة المرستيمية، ولكن بنجاح محدود، واهتم الباحث Tisserat بإجراء بعض الدراسات عن الإكثار الدقيق لنخيل التمر حيث نشر بعض الأوراق العلمية في هذا الخصوص (Tisserat, 1979; Tisserat & DeMason, 1980)، كما نشرت مراجعات (reviews) حول زراعة الأنسجة في نخيل التمر (Al-Khayri & Naik, 2017; Mazri & Meziani, 2015)، وساهم كثير من الباحثين من دول المغرب العربي، ومصر، والعراق، ودول الخليج العربي على إلقاء الضوء على العوامل المؤثرة على تطور النخيل في مزارع الأنسجة، وتركزت الأبحاث حول تأثير نوع المستأصل، وحجمه، مكونات الوسط الغذائي (Classic Murashige & Skoog, 1962) ومنظمات النمو، وطرق التوالد في مزارع الأنسجة، وظروف التحضين على نجاح الزراعة النسيجية (الكعبي وآخرون، 2009، خيرالله 2009)، كما درس (Mazri et al., 2016) الاحتياجات الغذائية في زراعة الأنسجة بشكل مفصل للصنف مجهول. هذا واتضح بعض المشاكل الناتجة من استخدام القمة الخضرية مثل: مشكلة التلوث، والتلون البني، وقلّة الأجزاء المستخدمة في عملية الإكثار،

تحضير الوسط الغذائي: تم استخدام الوسط الغذائي Murashige and Skoog 1962 كما هو موضح في الجدول رقم (1) مع إضافة منظمات النمو، والفحم المنشط Activated charcoal 3 ملجم/لتر والأجار 7 جرام/لتر بهدف تصلب الوسط الغذائي بعدها تم ضبط pH الوسط الغذائي في حدود 5.6 إلى 5.8 وذلك عن طريق جهاز pH meter، وتعقيم الوسط الغذائي في جهاز التعقيم Autoclave على درجة حرارة 121 درجة مئوية، وضغط جوي 1.2 بار، ولمدة 15 دقيقة.

التعقيم السطحي: أحضرت الأغاريض إلى المختبر في يوم الزراعة نفسه، حيث رشت سطحياً بالايثانول (70%) عدة مرات وبعدها فتحت باستخدام مشرط معقم (داخل كابينة العزل)، واستخرجت الشماريخ الزهرية، وقطعت إلى قطع بطول 10 سم تقريباً، ووضعت في برطمانات معقمة، وغمرت المستأصلات (الشماريخ الزهرية) بمحلول هيبوكلورات الصوديوم التجاري المخفف بتركيز 1.05% لمدة 15 دقيقة مع إضافة مادة توين (Tween-20) معدل 1.0 مللتر لكل 100 مللتر) مع الرج. بعدها غسلت المستأصلات بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات، وفي كل مرة 5 دقائق.

الزراعة: بعد الانتهاء من عملية التعقيم السطحي، زرع عدد 3 زهرات في كل برطمان على وسط MS بكامل تركيز الأملاح، ونقلت إلى حجرة التحضين في الظلام عند درجة حرارة 27م° لمدة 4 أشهر. ثم نقلت تحت ظروف الإضاءة (2000 لكس تقريباً) بفترة زمنية 16 ساعة إضاءة 8 ساعات ظلام.

اختبر تأثير الأوكسين D-2,4-بتراكيز 0.0، 0.5، 1.0 و 1.5 ملجم/لتر مع IBA بتركيز 0.5 ملجم/لتر، والسيتوكينين 2ip-، و Kn بتركيز 0.2 ملجم/لتر، حيث أضيفت جميع منظمات النمو إلى الوسط الغذائي قبل التعقيم. حضنت المزارع النسيجية في الظلام لمدة 4 أشهر لمعرفة مدى تأثير منظمات النمو على تطور الأزهار، وتكوين الكالس الجيني، ثم نقلت إلى وسط خال من D-2,4 لغرض

السيتوكينات فزيادة نسبة الأوكسين إلى السيتوكينين يشجع تكوين الجذور، والكالس وزيادة نسبة السيتوكينين إلى الأوكسين تشجع تكوين البراعم الخضرية، وتعادل النسبة بينهما يسمح بتكوين البراعم الخضرية، والجذور معاً (الرفاعي، والشوبكي 2002) وقد أكد عدد من الباحثين على ضرورة وجود منظمات النمو في الوسط الغذائي المستخدم في إكثار نخيل التمر لما لها من دور مهم في عملية انقسام الخلايا، وتكاثرها، وخاصة منظم النمو ثنائي كلوروفينوكسي حمض الخليك 2.4-Dicholophenoxy acetic acid في تكوين الكالس. كما أن نمو الخلايا، والأنسجة، وتكثفها إلى براعم خضرية، أو جذور يكون واضحاً عند إضافة واحد، أو أكثر من هذه المنظمات إلى الوسط الغذائي. أكد الباحث (الخليفة، 2011) على أن الأكسينات، والسيتوكينينات تشترك كل منهما في التوازن، وتتحكم في توجيه النمو من تكوين الجذور إلى نمو السيقان، والأوراق.

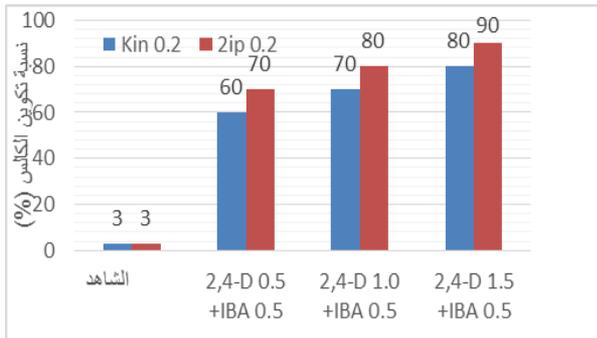
في ليبيا لم تحظ شجرة النخيل باهتمام الباحثين لتطبيق التقنيات الحيوية، هذا وبعده صنف برنصي من أصناف النخيل المحلية الممتازة التي تستهلك في مرحلة الرطب، وتنتشر زراعته في بعض مناطق الشريط الساحلي، يهدف هذا البحث إلى معرفة تأثير بعض منظمات النمو على الإكثار الدقيق لهذا الصنف باستخدام النورات المؤنثة غير الناضجة.

المواد وطرق البحث

أجرى هذا البحث في مركز البحوث الزراعية، والحيوانية بمختبر زراعة الأنسجة النباتية بطرابلس في الفترة من 2018 - 2019 لدراسة استجابة نورات نخيل التمر غير الناضجة صنف برنصي للزراعة النسيجية. تم الحصول على النورات الزهرية المؤنثة من بعض اشجار النخيل بمنطقة عرادة بطرابلس، وبمجرد خروج الأغاريض مباشرة ويطول من 7-10 سم، قطعت ووضعت في اكياس بولي إيثيلين وأحضرت إلى المختبر.

النتائج والمناقشة

يتضح تأثير تركيز منظمات النمو على نسبة تكوين الكالس باستخدام 2,4-D، و IBA مع استخدام نوعين من السيتوكينين 2ip، و Kin حيث سجلت أعلى نسبة تكوين الكالس 90% باستخدام 2ip 0.2 + IBA 0.5 + 2,4-D 1.5 في كلا D ملجرام / لتر، ومع زيادة تركيز الأوكسين -2,4D في كلا النوعين من السيتوكينين (الشكل 1).



شكل (1). تأثير تركيز الأوكسين 2,4-D مع السيتوكينين 2ip أو kin على نسبة تكوين الكالس على الشماريخ الزهرية لنخيل التمر صنف برنصي (جميع التراكيز ملجم/ لتر) .

تتفق هذه النتائج مع نتائج مشابهة تحصل (Abdelaziz et al., 2019) عند الإكثار الدقيق لصنفين من نخيل التمر الزغلول، والبارحي باستخدام النورات المؤنثة غير الناضجة، وتأثير توليفات متنوعة من منظمات النمو (2,4-D 1+0.1 NAA 0.1 + IBA 0.1) ملجم/لتر خلال ثلاث سنوات متتالية حيث سجلت النتائج أعلى معدل لإنتاج الكالس في كلا الصنفين زغلول، وبارحي، الذي أظهر استجابة أعلى لتكوين الكالس من صنف زغلول، وخاصة في عدد الأيام اللازمة لتكوين الكالس. وكذلك مع ما أورده الباحثان (Tisserat & DeMason, 1980) حول إكثار نخيل التمر عن طريق تحفيز الشماريخ الزهرية على تكوين الكالس حيث تحصل على الكالس بعد 8 إلى 16 أسبوعاً من الزراعة، كما أشار (Zaid & Tisserat, 1983) إلى ضرورة وجود تركيز عال من الأوكسينات في الوسط الغذائي للمحافظة على نمو، وتمايز الكالس مع النقل، وإعادة

اكتمال تطور الأجنة الجسمية، ونموها مع إضافة منظم النمو حمض الجبريليك GA₃ بتركيز 0.5 ملجم/لتر. ثم نقلت المزارع النسيجية إلى ظروف الإضاءة، وعند وصول النموات الخضرية لطول 10 سم تقريباً نقلت لوسط MS يحتوي على NAA، و BA مع إضافة الفحم المنشط بتركيز 1.5 جرام /لتر لغرض المساعدة في نمو الجذور. سجلت البيانات عن نسبة تكوين الكالس، وعدد الأجنة للكالس، ومتوسط طول النموات الخضرية (سم)، وعدد الجذور، وطولها (سم).

صُممت التجربة بالتصميم العشوائي الكامل، وأجرى تحليل التباين (ANOVA)، وعند وجود فروق معنوية تم عزل المتوسطات باستخدام اختبار Tukey.

جدول رقم (1). مكونات الوسط الغذائي MS

الكمية (ملجم /لتر)	أسم المكون
العناصر الكبرى	
370	MgSO ₄ . 7H ₂ O
170	KH ₂ PO ₄
1900	KNO ₃
1650	NH ₄ NO ₃
440	CaCl ₂ . 2H ₂ O
العناصر الصغرى	
6.2	H ₃ BO
22.3	MnSO ₄ . 4H ₂ O
8.6	ZnSO ₄ . 7H ₂ O
0.25	NaMoO ₄ . 2H ₂ O
0.025	CuSO ₄ . 5H ₂ O
0.25	CoCl ₂ . 6H ₂ O
0.83	KI
27.8	FeSO ₄ . 7H ₂ O
37.3	Na EDTA. 2H ₂ O
30	Sucrose (g)
الفيتامينات	
0.5	Thiamine HCl
0.5	Pyridoxine HCl
0.5	Nicotinic acid
100	Myo-inositol
2	Glycine
5.8	pH

حيث النوع، والتركيز، وطبيعة التفاعل مع بعضها، ومع الهرمونات النباتية الداخلية، والمكونات الأخرى للوسط الغذائي له تأثير مباشر على نمو تمايز الأجزاء المزروعة في الأنابيب. أشار (Tisserat, 1979) بضرورة نقل الكالس الجنيني المزروع على وسط غذائي يحتوي على تركيز عال نسبياً من الأوكسين إلى وسط غذائي آخر خال من منظمات النمو يحتوي على الفحم المنشط لمواصلته نمو، ولتكوين الأجنة الجسمية وإنباتها.

تكوين وتمايز الأجنة الجسمية: تشير النتائج المتحصل عليها في جدول رقم (2) إلى التفوق المعنوي للمعاملة (2ip 0.5 GA₃ + 0.5 IBA + 0.2 kin) في عدد النموات الخضرية حيث بلغ متوسط عدد النموات 3.6 نمواً خضرياً على المعاملة الثالثة (0.5 GA₃ + 0.5 IBA + 0.2 kin) والشاهد، وكذلك تفوقت المعاملة الثانية (2ip 0.5 GA₃ + 0.5 IBA + 0.2 kin)، والثالثة (0.5 GA₃ + 0.5 IBA + 0.2 kin) على الشاهد حيث بلغ متوسط عدد النموات 3.4 و 2.2 على التوالي. قد يفسر سبب تفوق المعاملة (2ip 0.5 GA₃ + 0.5 IBA + 0.2 kin) لمجم/لتر إلى أنها حققت التوازن الهرموني المطلوب لتكثيف الأجنة الجسمية. من جانب آخر أن تزويد الوسط بالأوكسين بتركيز منخفض ضمن التوليفة المستخدمة في التضاعف الخضري وحفز نمو الأفرع الجانبية، وقلل من التأثيرات المرتفعة للسيتوكينين المثبطة لاستطالة الأفرع (Nehra & Kartha, 1994). كما ورد في نتائج دراسات عدد من الباحثين (Daguin & Letouze, 1988; Veramendi & Navarro, 1997) أهمية بقاء أنسجة نخيل التمر في وسط غذائي يحتوي على تركيز عال نسبياً من الأوكسين لفترة تتراوح ما بين 6 أشهر، إلى 17 شهر للحصول على كالس جنيني، وبالتالي تكوين أجنة جسدية قادرة على الإنبات، وتكوين شتلات طبيعية. وذلك (Gabr & Tisserat, 1985) أن نمو الكالس، وتكوين الأجنة الجسمية يزداد بزيادة عدد مرات إعادة الاستزراع حيث تم الحصول على 15 إلى 100 جنين جسدي بعد 3 إلى 5 مرات من عملية النقل، وإعادة الاستزراع. قد يعزى التأثير الإيجابي لعملية النقل، وإعادة الزراعة على النمو، والتمايز إلى تشبيب الأنسجة المزروعة، ويبدو أن لمنظمات النمو المضافة، من

الزراعة مرة كل شهرين، بينما أشار (Tisserat, 1979) إلى ضرورة نقل الكالس الجنيني المتكون على وسط غذائي يحتوي على تركيز عال نسبياً من الأوكسين إلى وسط غذائي خال من منظمات النمو، ويحتوي على الفحم المنشط لمواصلته نمو، ولتكوين الأجنة الجسمية وإنباتها.

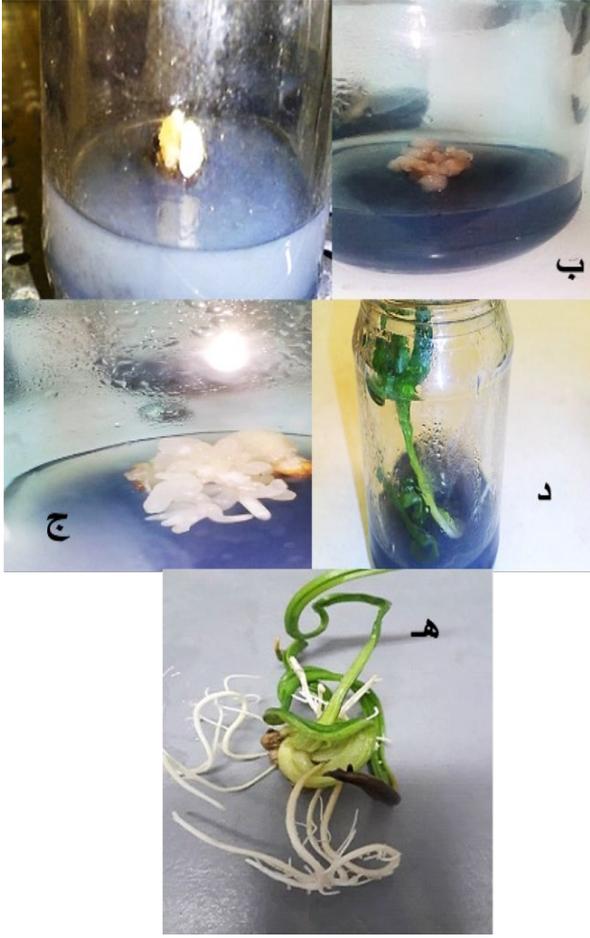
تكوين وتمايز الأجنة الجسمية: تشير النتائج المتحصل عليها في جدول رقم (2) إلى التفوق المعنوي للمعاملة (2ip 0.5 GA₃ + 0.5 IBA + 0.2 kin) في عدد النموات الخضرية حيث بلغ متوسط عدد النموات 3.6 نمواً خضرياً على المعاملة الثالثة (0.5 GA₃ + 0.5 IBA + 0.2 kin) والشاهد، وكذلك تفوقت المعاملة الثانية (2ip 0.5 GA₃ + 0.5 IBA + 0.2 kin)، والثالثة (0.5 GA₃ + 0.5 IBA + 0.2 kin) على الشاهد حيث بلغ متوسط عدد النموات 3.4 و 2.2 على التوالي. قد يفسر سبب تفوق المعاملة (2ip 0.5 GA₃ + 0.5 IBA + 0.2 kin) لمجم/لتر إلى أنها حققت التوازن الهرموني المطلوب لتكثيف الأجنة الجسمية. من جانب آخر أن تزويد الوسط بالأوكسين بتركيز منخفض ضمن التوليفة المستخدمة في التضاعف الخضري وحفز نمو الأفرع الجانبية، وقلل من التأثيرات المرتفعة للسيتوكينين المثبطة لاستطالة الأفرع (Nehra & Kartha, 1994). كما ورد في نتائج دراسات عدد من الباحثين (Daguin & Letouze, 1988; Veramendi & Navarro, 1997) أهمية بقاء أنسجة نخيل التمر في وسط غذائي يحتوي على تركيز عال نسبياً من الأوكسين لفترة تتراوح ما بين 6 أشهر، إلى 17 شهر للحصول على كالس جنيني، وبالتالي تكوين أجنة جسدية قادرة على الإنبات، وتكوين شتلات طبيعية. وذلك (Gabr & Tisserat, 1985) أن نمو الكالس، وتكوين الأجنة الجسمية يزداد بزيادة عدد مرات إعادة الاستزراع حيث تم الحصول على 15 إلى 100 جنين جسدي بعد 3 إلى 5 مرات من عملية النقل، وإعادة الاستزراع. قد يعزى التأثير الإيجابي لعملية النقل، وإعادة الزراعة على النمو، والتمايز إلى تشبيب الأنسجة المزروعة، ويبدو أن لمنظمات النمو المضافة، من

جدول (2) تأثير توافق منظمات النمو على عدد الأجنة الجسمية، وطول النموات الخضرية في نخيل التمر صنف برنصي بعد 60 يوم من الزراعة .

متوسط طول النموات الخضرية	عدد الأجنة/مستأصل	تركيز منظمات النمو (مجم/لتر)	نوع منظمات النمو
0.0c	0.0c	0.0	المقارنة
11.4a	3.4ab	2.0+0.5+0.5	2Ip+IBA+GA ₃
10.0a	2.2b	0.2+0.5+0.5	Kn+IBA+GA ₃
13.2a	3.6a	0.2+0.2+0.5+0.5	2ip+kn+IBA+GA ₃

المتوسطات المتبوعة بالحرف نفسه لا توجد بينها فروق معنوية باستخدام اختبار Tukey عند مستوى 5%.

تشجيع نمو الجذور: أشارت النتائج في الجدول رقم (3) إلى أن الأوساط الغذائية الحاوية على BA + NAA لها تأثير معنوي على معدل عدد الجذور حيث سجلت المعاملة (0.1 BA + 0.2 NAA) أعلى معدل لعدد الجذور بلغ



شكل رقم (2): مراحل تكوين الأجنة الجسمية، وانباتها في نخيل التمر صنف برنصي بعد 6 أشهر من الاستزراع، (أ): بداية انتفاخ الأزهار، (ب) بداية تكوين الكالس وبوادر الأجنة الجسمية على وسط MS خال من 2,4-D، (ج) نمو وتطور الأجنة الجسمية من الكالس، (د)، استئالة النموات الخضرية بعد 32 أسبوع من الزراعة. (هـ) تشجيع نمو الجذور على وسط MS يحتوي 0.2 NAA + 0.1 BA.

الاستنتاج

تعد هذه الدراسة الأولى محليا لمحاولة إكثار نخيل التمر صنف البرنصي باستخدام النورات الزهرية غير الناضجة عن طريق تكوين الكالس الجنيني. أظهرت النتائج أنه يمكن استخدام قطع الشماريخ التي تحتوي على الأزهار، وتعقيهما ثم زراعة الأزهار على وسط MS يحتوي على 2,4-D و IBA مع استخدام السيتوكينين ip2 و Kin ولغرض تشجيع نمو الجذور استخدم NAA و BA بتركيز 1.0 و 2.0 ملجم لتر على التوالي.

(8.0) يليها المعاملة (NAA0.2+BA1.0) بمعدل بلغ (7.4)، في حين لم يلاحظ أي فرق معنوي بين المعاملة الثالثة (NAA0.2+BA0.5) والشاهد. تعد مرحلة التجذير من المراحل المهمة في الإكثار الدقيق، ففيها يتم تكوين مجموع جذري جيد قادر لزيادة كفاءة امتصاص الماء، والعناصر الغذائية في مرحلة الأقلمة. كما تؤدي الأوكسينات دورا فعالاً في تكوين الجذور، حيث وجد أن انقسام الخلايا التي تكون مبادئ الجذور (roo initials) يعتمد على وجود الأوكسين في الوسط الغذائي، كما أن لنوع الأوكسين وتركيزه أهمية في زيادة تجذير النموات الخضرية (Wang & Charles, 1991). وتعود فعالية NAA في التجذير لامتلاكه عدداً كبيراً من الأواصر المزدوجة إضافة إلى قصر السلسلة الجانبية الحامضية المرتبطة (محمد ويونس 1991).

أما بالنسبة لطول الجذور فقد أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية بين التوليفات المستخدمة عدا الشاهد حيث سجل أعلى معدل لطول الجذور عند المعاملة (NAA0.1+ BA 0.2) بمعدل 10.4 سم بدون فرق معنوي، ثم المعاملة (NAA 1.0+ BA 0.2) بمعدل 10.0 سم يليها المعاملة (NAA 0.5+ BA 0.2) بمعدل 8.4 سم. إن عدم وجود فروق معنوية بين التوليفات المستخدمة قد يعزى إلى نسبة التركيز بين الأوكسين السيتوكاينين، حيث إن معدل طول الجذور أخذ في التناقص مع زيادة تركيز الأوكسين من 0.1 إلى 1.0 ملجم/ لتر.

جدول (3). تأثير NAA و BA على عدد الجذور وطولها.

نوع منظم النمو	تركيز منظم النمو (ملجم/لتر)	عدد الجذور/نبات	طول الجذور (سم)
المقارنة	0.0a	0.0b	0.0b
NNA+BA	0.2+0.1	8.0a	10.4a
NNA+BA	0.2+0.5	3.8ab	8.4a
NNA+BA	0.2+1.0	7.4a	10.0a

المتوسطات المتبوعة بنفس الحرف لا توجد بينها فروق معنوي باستخدام اختبار Tukey عند مستوى 5%

وحاضرها، والجديد في زراعتها، وصناعتها،
وتجارتها. مطبعة العاني. بغداد. العراق.

الخليفة، ناصر بن صالح(2011) استخدام تقنية زراعة
الأنسجة في إكثار النخيل، المركز الوطني للتقنية
الزراعة، مدينة الملك عبدالعزيز، ص 24.

الرفاعي، عبدالرحيم توفيق، وسمير عبدالرزاق الشويكي
(2002). تقنيات القرن 21 لتحسين النباتات
باستخدام زراعة الأنسجة. منشورات دار الفكر
العربي. القاهرة، مصر.

الكعبي، أنسام مهدي صالح، هدى عبدالكريم طه، ومنتهى
جود كاظم (2009). تأثير بعض المستخلصات
النباتية المضافة للوسط الزراعي المعد لإنماء نخيل
التمر (*Phoenix dactylifera L.*) صنف
الأشقر خارج الجسم الحي. مركز أبحاث النخيل،
جامع البصرة. كلية الزراعة. مجلة أبحاث البصرة
العدد الخامس والثلاثون، الجزء الرابع: 1-6.

المياحي، أحمد ماضي وحيد (2008). إكثار بعض
أصناف النخيل التمر (*Phoenix dactylifera L.*)
بتقنية زراعة الأنسجة. أطروحة
دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة البصرة.

خيرالله، حسام سعد الدين محمد (2009). استخدام
المؤشرات الجزيئية في الكشف المبكر عن حالات
الشذوذ المظهري في نخيل التمر (*Phoenix dactylifera L.*)
المنتج بزراعة الأنسجة النباتية.
المؤتمر العلمي الثالث لكلية الزراعة جامعة بغداد.
ص 1057 - 1069.

محمد، عبدالعظيم كاظم، ومؤيد أحمد يونس (1991).
أساسيات فسيولوجيا النبات، الجزء الثالث، كلية
الزراعة، جامعة بغداد - العراق.

ازدواجية الاهتمام: يعلن المؤلفون أنه ليس لديهم ازدواجية
في الاهتمام مرتبطة بهذه المخطوطة.

مساهمات المؤلف: المساهمة متساوية بين المؤلفين.

التمويل: هذه المخطوطة لم تحصل علي أي تمويل.

المراجع

ابحمان، العربي (1998). استخدام الأنسجة الزهرية
كأعضاء لإكثار النخيل بالطرق النسيجية.
إصدارات الندوة العلمية لبحوث النخيل، مراكش/
المغرب 16-18 فبراير. الصفحات: 256-260.

أبحمان، العربي (1999). الإكثار السريع للنخيل باستعمال
الأنسجة الزهرية. وقائع المؤتمر الدولي عن نخيل
البلح. جامعة أسيوط - مصر. الصفحات 385-
388.

ابحمان، العربي، محمد انجان، ومحمد البوجرفاوي.
(2001). تكنولوجيا الزراعة النسيجية وأهميتها في
إكثار نخيل التمر (*Phoenix dactylifera L.*)
المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي
القاتلة. دمشق. نشرة رقم 3.

إبراهيم، عاطف محمد، ومحمد نظيف حجاج
خليف (2004). نخلة التمر زراعتها، ورعايتها،
وإنتاجها في الوطن العربي. منشأة المعارف.
الإسكندرية. الطبعة الثالثة. الصفحات: 256-207.

أبو السعود، عادل، نبيل الشرييني، والسيد بكر (2004).
تخلق الأعضاء في النورة المؤنثة لنخيل البلح
صنف الزغلول. وقائع المؤتمر الدولي لنخيل
التمر. 6-8 أكتوبر، العريش، مصر.
الصفحات: 139-163.

البكر، عبد الجبار (1972). نخلة التمر ماضيها،

- (Phoenix dactylifera L.). *Scientia horticulturae*, 25(3), 255-262 .
- Gadalla, E. E.-D. G. (2017). Direct organogenesis from immature female inflorescence of date palm by gradual reduction of 2, 4-D concentration. *Date Palm Biotechnology Protocols Volume I: Tissue Culture Applications*, 27-35 .
- Loutfi, K., & Chlyah, H. (1998). Vegetative multiplication of date palms from in vitro cultured inflorescences: effect of some growth regulator combinations and organogenetic potential of various cultivars. *Agronomie*, 18(8-9), 573-580 .
- Mazri, M., & Meziani, R. (2015). Micropropagation of date palm: a review. *Cell Dev Biol*, 4(3), 160 .
- Mazri, M. A., Meziani, R., El Fadile, J., & Ezzinbi, A.-e. (2016). Optimization of medium composition for in vitro shoot proliferation and growth of date palm cv. Mejhoul. *3 Biotech*, 6, 1-11 .
- Nehra, N. S., & Kartha, K. K. (1994). Meristem and shoot tip culture: requirements and applications. *Plant cell and tissue culture*, 37-70 .
- Schroeder, C. (1970). Tissue culture of date shoots and seedlings. *Report. 47th annu. Date Grs' Inst.*, 47, 25-27 .
- Tisserat, B. (1979). Propagation of date palm (Phoenix dactylifera L.) in vitro. *Journal of Experimental Botany*, 30(6), 1275-1283 .
- Tisserat, B., & DeMason, D. (1980). A histological study of development of adventive embryos in organ cultures of Phoenix dactylifera L. *Annals of botany*, 46(4), 465-472 .
- Abahmane, L. (1998). Micropropagation of date palm (Phoenix dactylifera L.) selected clones by using inflorescence tissues. Proceedings of the international conference on date palm. ACSAD, Syria .
- Abahmane, L. (2013). Recent achievements in date palm (Phoenix dactylifera L.) micropropagation from inflorescence tissues. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 863-874 .
- Abdelaziz, A. M., Soliman, S., Heakal, R. M., Ahmed, T., & Hassanin, A. (2019). Micropropagation of zaghlol and barhy date palm cultivars using immature female inflorescence explants: effect of growth regulators balance. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 46(6), 2023-2035 .
- Al-Khayri, J. M. (2003). In vitro germination of somatic embryos in date palm: effect of auxin concentration and strength of MS salts. *Current Science*, 680-683 .
- Al-Khayri, J. M., & Naik, P. M. (2017). Date palm micropropagation: Advances and applications. *Ciência e Agrotecnologia*, 41, 347-358 .
- Classic Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15, 473-497 .
- Daguin, F., & Letouze, R. (1988). Regeneration of date palm (Phoenix dactylifera L.) by somatic embryogenesis: improved effectiveness by dipping in a stirred liquid medium. *Fruits (France)* .
- Gabr, M. F., & Tisserat, B. (1985). Propagating palms in vitro with special emphasis on the date palm

- Veramendi, J & Navarro, L. (1997). Influence of explant sources of adult date palm (*Phoenix dactylifera* L.) on embryogenic callus formation. *Journal of Horticultural Science*, 72(5), 665-671 .
- Wang, P.-J., & Charles, A. (1991). Micropropagation through meristem culture. *High-Tech and Micropropagation I*, 32-52 .
- Zaid, A., & Tisserat, B. (1983). Morphogenetic responses obtained from a variety of somatic explant tissues of date palm. *The botanical magazine= Shokubutsu-gaku-zasshi*, 96, 67-73 .