SEBHA UNIVERSITY JOURNAL VOL.03 NO. 1 2024
DOI: 10.51984/SUCP.V3I1.3491

مجلة جامعة سبها
Sebha University Journal

Journal homepage: https://sebhau.edu.ly/journal/index.php/CAS

استنبات البراعم الجانبية والأجنة الزيجوتية لأشجار نخيل التمور صنف التاليس عن طريق زراعة الأنسجة النباتية

*عائشة عبد اللطيف مفتاح الساكت و أبوبكر إبراهيم محمد سعد

قسم علم النبات، كلية العلوم، جامعة سبها، ليبيا

الملخص

نميت أجزاء من البراعم الجانبية والأجنة الزيجوتية من أشجار نخيل التمور على وسط MS مضاف إليه تراكيز مختلفة من منظمات النمو النباتية (Kin, Adenine, IAA, NAA, 2,4-D) وكذلك الفحم المنشط AC. أشارت النتائج أن أفضل استجابة سجلت عند استخدام MS + 2,4-D (20 ملجم / لتر) و MS + IAA (20 ملجم / لتر) + AC (3 جرام/ لتر) حيث لوحظ تكوين كميات كثيرة من كالس أبيض حبيبي مفتت بعد 9 أسابيع من الإستنبات وتكوين كالس أبيض بعد أسبوع ثم فرع وصل طوله 3.5 سم بعد 4 أسابيع على التوالي. وفي حالة استخدام وسط MS + 2,4-D (20ملجم/ لتر) + Adenine (5 ملجم / لتر) + AC (3 جم/ لتر) تكون كالس بعد أسبوعين ثم تمايز إلى براعم كروية الشكل بعد 3 أسابيع. ولم يسجل أي استجابة عند استخدام المعاملات الأخرى حيث لوحظ زيادة في نمو الكالس بعد أسبوع، وعند إعادة استنباته من وسط MS + IAA (20 ملجم / لتر) + AC (3جم/ لتر) إلى MS + Adenine (5 ملجم / لتر) + AC (3 جم/ لتر) لوحظ نمو الكالس بعد أسبوع. لم تسجل أي استجابة عند استنبات الجنين على عدة معاملات، ولوحظ تغير في لونه فقط بعد أسبوع من الإستنبات.

الكلمات المفتاحية:

البراعم الجانبية
الأجنة الزيجوتية
الكالس
زراعة الأنسجة النباتية

In vitro Culture of lateral buds and zygotic embryos of Date Palm trees (Phoenix dactylifera) Talis (CVs).

*Aisha Abdullatif Meftah Asaket and Abobaker Ibrahim M. Saad

Botany Dept., Faculty of Science, Sebha University, Libya

Keywords:

Lateral buds
zygotic embryos
callus
In vitro
plant tissue culture

ABSTRACT

The lateral buds and zygotic embryos of date palm (Phoenix dactylifera var Talus) were cultured on different concentrations of plant hormones (2,4-D, NAA, IAA, Kin, and adenine) and activated charcoal (AC). Results revealed that the best responses were recorded when using MS + 2,4-D (20 mg/l), MS + IAA (20 mg/l) + AC (3 g/l) as high amounts of white granular friable culture after 9 weeks. Small amounts of callus were formed after one week, then small branches were regenerated and reached 3 centimeters in length after four weeks, respectively. When they inoculated on MS+ 2,4-D(20mg/l+Ad(5mg/l) +AC(3g/l) callus was induced after 1 week and small globular buds were formed after 2 weeks. No observations were recorded in the other treatment cases. The growth of callus increased when subculture formed MS + IAA (20 mg/l) + AC (3 g/l) to MS + Adenine (5 mg/l) + AC (3 g/l) after a week. On the other hand, no responses were noticed in the other treatments. When zygotic embryos were cultured on MS + 2,4-D (0.5 mg/l) + BAP (0.5 mg/l), only an increase in their growth after 2 weeks and a change in their color in the case of another treatment.

المقدمة: -

تعد أشجار نخيل التمور من الأشجار المثمرة والمعمرة ومستديمة الخضرة حيث تتبع العائلة Arecaeae أكثر من 4000 نوع من النخيل إلى 200 جنس ويعتبر ثنائي الكروموسومات 2n=36 [1] ,[2] تتركز زراعة نخيل التمور في المنطقة الواقعة بين نهر أونديس في الباكستان وأراضي الكناري في المحيط الأطلسي ويزرع على نطاق واسع في المناطق (إيران – باكستان – مصر – ليبيا – المملكة العربية السعودية – الجزائر) [3] ,[4] تعتبر الظروف البيئية الملائمة لزراعة أشجار نخيل التمور من أهم العوامل المحددة لزراعتها في منطقة ما حيث أن درجات الحرارة تؤثر على نجاح زراعة الأصناف المختلفة

*Corresponding author.
E-mail addresses: aish.alsaket@sebhau.edu.ly,(A. I. M. Saad) abo.saad@sebhau.edu.ly
Article History : Received 30 January 2024 - Received in revised form 13 May 2024 - Accepted 25 May 2024

[5]. تأتي أهمية النخيل من أن جميع أجزائه يتم استخدامها إما بشكل مباشر أو غير مباشر القيمة الغذائية للتمور عالية جدا وهي مصدر غني بالسكريات والأملاح غير العضوية والفيتامينات كما يعتبر مصدر جيد للحديد والبوتاسيوم والريبوفلافين وحمض الفوليك وحمض الأسكوربيك [6]. يصل ارتفاع شجرة نخيل التمور إلى 30 مترا ويبلغ قطر الساق 40 – 50 سم [7]. تتكاثر أشجار نخيل التمور عن طريق الفسائل حيث تستغرق وقت لتكوين فسائل جديدة قد تستغرق 7 سنوات [8]. وبعض الأحيان لا تتكون فسائل أصلا [9]. ولذلك اكثار هذه الأشجار عن طريق زراعة الأنسجة النباتية هي أفضل طرق للحصول على الفسائل بأعداد كبيرة [10].

الهـدف من الدراسة: -

تحفيز البراعم والأجنة الزيجوتية لتكوين كالس باستخدام زراعة الأنسجة النباتية

مواد وطرق العمل: -

أجريت جميع التجارب على نبات النخيل في معمل زراعة الأنسجة النباتية بقسم علم النبات حيث تم وإزالة الأوراق والاجزاء الخارجية. واستخراج البراعم الجانبية وتقطيعها ووضعها في حمض الأسكوربيك وحمض الستريك لمدة 24 ساعة قبل الزرع، تم وضع البراعم الجانبية في كحول إيثيلي 70% لمدة دقيقة ثم في هيبوكلوريت الصوديوم 1% لمدة 5 دقائق بواقع 3 مرات متتالية واستخدم وسط MS [11] بدون هرمونات ومضاف إليها بعض هرمونات بتراكيز مختلفة (2,4- D) dichloro phenoxy Acetic Acid, Kin(Kinetin) , IAA (Indole -3- acetic acid), NAA (a-Napthaleneacetic Acid)

وإضافة الفحم المنشط Activated Charcoal(AC). عقمت الغرفة لمدة 15 دقيقة وأجريت جميع التجارب باستخدام غرفة الشفط الانسيابي ثم وضعت المستأصلات في الوسط الغذائي لجميع المعاملات وضبطت درجة الحموضة (pH) عند 5.7 – 5.8 وتركت في الظلام لمدة 7 أيام وعند درجة حرارة 25 ^{0} م ثم بعدها وضعت في الضوء لفترة ضوئية 16 ضوء و8 ظلام وسجلت الملاحظات أسبوعيا وصورت العينات باستخدام آلة تصوير Samsung (كاميرا نقال / MS-A7 / الصين)

النتائج: -

I/ استنبات البراعم الجانبية على وسط MS.

1/ MS بدون هرمونات: -

لم يلاحظ أي استجابة للاستنبات حتى بعد 13 أسبوع لوحظ تغير فقط في لون البراعم الجانبية حيث أعيد استنبات المستأصلات على نفس الوسط بعد 4 أسابيع (صورة 1).

2/ 2,4-D + MS (20 ملجم/ لتر)

لوحظ استجابة للمستأصلات بنسبة 6% فقط وتكوين كالس أبيض حبيبي مفتت بعد 9 أسابيع من الإستنبات (صورة 2).

3/ 2,4-D + MS (20 ملجم / لتر) + AC (3 جم/ لتر)

ظلت محتفظة باللون الأبيض حتى بعد 9 أسابيع وأعيد استنباتها على نفس الوسط.

4/ 2,4-D + MS (20ملجم/ لتر) + Adenine (5 ملجم / لتر) + AC (3 جم/ لتر)

سجلت نسبة استجابة 5% حيث تكون كالس أبيض بعد أسبوعين من الاستنبات وتمايز براعم كروية الشكل صفراء اللون عددها 1، وأخرى بيضاء اللون عددها 8 بعد 3 أسابيع من الاستنبات. (صورة 3)

5/ 2,4-D + MS (40 ملجم / لتر) + AC (3 جم/ لتر)

ظلت البراعم الجانبية محتفظة بلونها الأبيض حوالي 9 أسابيع.

6/ 2,4-D + MS(60 ملجم / لتر) +AC (3 جم/ لتر)

لم يلاحظ أي استجابة للاستنبات حتى بعد 9 أسابيع.

7/ 2,4-D + MS (80 ملجم / لتر) + AC (3 جم/ لتر)

لم تسجل أي استجابة للبراعم الجانبية حتى بعد 9 أسابيع.

8/ 2,4-D + MS (100 ملجم/ لتر) + AC (3 جم/ لتر)

ظلت محتفظة باللون الأبيض حتى الأسبوع الخامس.

9/ NAA + MS (20 ملجم / لتر) + AC (3 جم/ لتر)

لم يلاحظ أي استجابة بعد 9 أسابيع من الإستنبات.

10/ NAA + MS (40 ملجم / لتر) + AC (3 جم/ لتر)

لوحظ تغير لونها إلى البني الفاتح بعد أسبوعين من الإستنبات.

11/ IAA + MS (20 ملجم / لتر)

لم يحدث استنبات وظلت محتفظة باللون الأبيض حتى الإسبوع الثالث عشر.

12/ IAA + MS (20 ملجم / لتر) +AC (3 جم/ لتر)

لوحظ استجابة للمستأصلات بنسبة 9% وتكوين كالس ابيض مفتت بعد أسبوعين (صورة 3) وتمايز فرع أبيض اللون وصل طوله 3.5 سنتيمتر بعد 4 أسابيع من الاستنبات (صورة 4 - 5).

13/ IAA + MS (40 ملجم / لتر) +AC (3 جم/ لتر)

لم يلاحظ استجابة في الإسبوع التاسع وظلت محتفظة باللون الأبيض.

14/ Kin + MS (1 ملجم / لتر)

لم تحدث استجابة وظلت محتفظة باللون الأبيض بعد 9 أسابيع.

15/ IBA + MS (20 ملجم/ لتر) + AC (3 جم/ لتر)

لم يلاحظ استنبات بعد 4 أسابيع.

16/ IBA + MS (40 ملجم/ لتر) + AC (3 جم/ لتر)

لم يلاحظ استنبات بعد 4 أسابيع.

II/ إعادة الإستنبات على وسط MS: -

عندما أعيد استنبات الكالس من وسط IAA + MS (20 ملجم / لتر) +AC (3 جم/ لتر) إلى وسطي Kin + MS (1 ملجم / لتر) + AC (3 جم/ لتر) و Adenine+ MS (3 ملجم / لتر) + AC (3 جم/ لتر) لم تحدث أي زيادة في نمو الكالس على الوسط الأول. ولوحظ زيادة في كمية الكالس على الوسط الثاني. في حين لوحظ زيادة في نمو الكالس عند نقله إلى وسط Adenine + MS (5 ملجم / لتر) + AC (3 جم/ لتر) من الوسط الثاني.

*** استنبات الأجنة الزيجوتية على وسط MS: -**

1/ 2,4-D + MS (0.3 ملجم / لتر) + BAP (0.1 ملجم / لتر)

لوحظ تغيير في لون الجنين إلى البني الداكن مع زيادة في حجمه بعد أسبوعين.

2/ 2,4-D + MS (0.5 ملجم / لتر) + BAP (0.1 ملجم / لتر)

لم يلاحظ استجابة وتغيير لونه إلى البني الداكن بعد أسبوعين.

3/ 2,4-D + MS (0.5 ملجم / لتر) + BAP (0.2 ملجم / لتر)

لوحظ تغير لون الجنين إلى البني الداكن في الإسبوع الأول (صورة 6).

4/ 2,4-D + MS(0.5 ملجم / لتر) + BAP (0.5 ملجم / لتر)

لوحظ زيادة في حجم الجنين بعد أسبوعين (صورة 7).

5/ MS +2,4-D (0.5 ملجم / لتر) + BAP (1 ملجم / لتر)

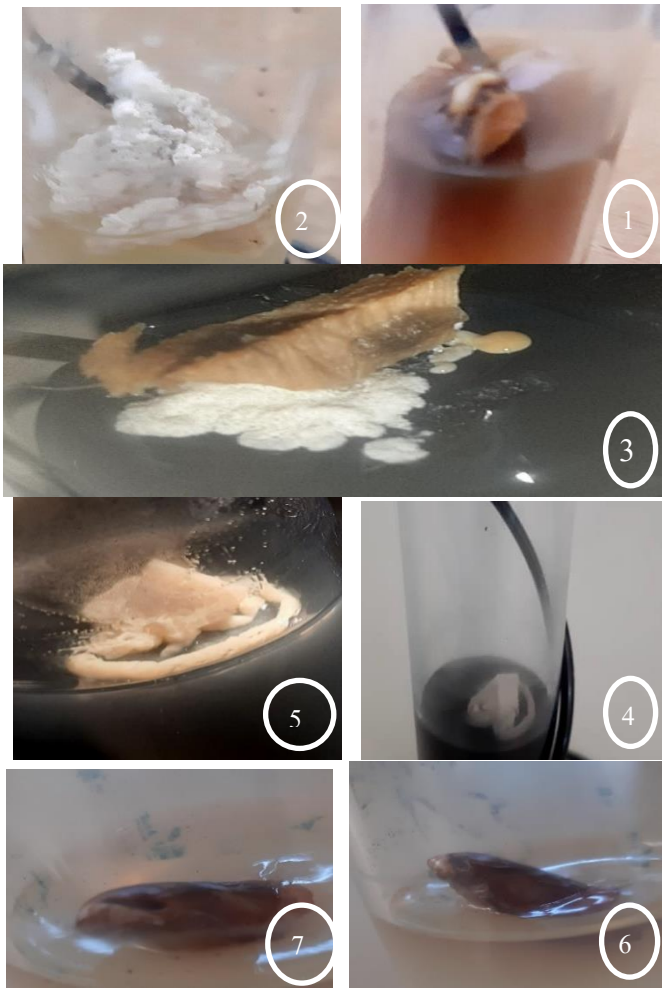
لوحظ تغير في لون الجنين فقط بعد أسبوعين.

رق	MS	AC(جم)	IBA	Kin	NAA	IAA	2,4-D	Ad	النتائج
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	20	-	+
3	-	3	-	-	-	-	20	-	-
4	-	3	-	-	-	-	20	5	++
5	-	3	-	-	-	-	40	-	-
6	-	3	-	-	-	-	60	-	-
7	-	3	-	-	-	-	80	-	-
8	-	3	-	-	-	-	100	-	-
9	-	-	-	-	-	20	-	-	-
10	-	3	-	-	-	40	-	-	+++
11	-	3	-	-	-	20	-	-	-
12	-	3	-	-	20	-	-	-	-
13	-	3	-	-	40	-	-	-	-
14	-	3	-	1	-	-	-	-	-
15	-	3	20	-	-	-	-	-	-
16	-	3	40	-	-	-	-	-	-

(-) عدم حدوث استجابة (+) استجابة

المناقشة:-

من خلال مراجعة الأبحاث المتعلقة باستخدام زراعة الأنسجة النباتية على النباتات الخشبية الصحراوية حيث سجلت ضعف استجابتها لهذه التقنية ويعزى ذلك لتأثير الهرمونات الخارجية والداخلية وتكوين مركبات الفينول وإلى الاختلافات الوراثية [12] وهذا يتوافق مع نتائجنا عند استخدام أشجار النخيل. أثبتت النتائج أن استخدام تراكيز عالية من IAA, 2,4-D وAd أعطى أفضل نتائج (لصنف التاليس) في حين ذكر [15]. عند استخدام تراكيز منخفضة من 2,4-D على صنفي Deglet Nour وDegla-Mceh ويرجع ذلك لاستخدام أصناف مختلفة. لاحظ [13] ,[16]تكوين أجنة متشابهة عند استخدام تراكيز عالية من 2,4-D ولكن في نتائجنا لم نلاحظ أي استجابة عند استخدام وسط MS بتراكيز 20 ملم/لتر. أشار [10] أنه عند استخدام أحد أنواع منظمات النمو وتراكيزها تغير هذه العوامل في تحفيز الكالس وإن إعادة استنبات الكالس عدة مرات يضعف استجابتها وهذه تتوافق مع نتائجنا. أثبتت [9] أن تحفيز تكوين الكالس من المستأصلات يحفز الاختلافات الوراثية ويكسب القدرة على مقاومة الأمراض ويكون صفات مورفولوجية. تم الحصول على كميات كثيرة من الكالس في موضوع الدراسة، وتعتبر تلك الخطوة الأولى لتحفيزه وتكوين أجزاء خضرية أو أجنة متشابهة أو حتى تكوين نبات تام. أشار [14] أن أشجار نخيل التمور تعاني من الأمراض الحشرية وهذا يتطلب ضرورة استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية. سجلت نتائج موضوع الدراسة أن استخدام الأجنة الزيجوتية كمستأصل لم يعطي أي استجابة على الرغم من استخدام عدة تراكيز مختلفة من الأوكسينات والسيتوكينينات وهذا لا تتوافق مع [13]. ويرجع السبب في ذلك استخدام الأصناف المستخدمة. إضافة الفحم المنشط (AC) للأوساط الغذائية ساهم في التغلب على مشاكل التلون حيث يستخدم كمضاد للأكسدة.



الصورة (1) MSبدون هرمونات صورة (2) MS+ 2,4-D (20 ملجم/ ل) صورة (3) MS + 2,4-D (20ملجم/ ل) + Adenine (5 ملجم / ل) + AC (3 جم) صورة (4) MS + IAA (20 ملجم / ل) +AC 3جم صورة (5) MS + IAA (20 ملجم / ل) +AC 3 جم صورة (6) MS + 2,4-D (0.5 ملجم /ل) + BAP (0.2) صورة (7) MS + 2,4-D(0.5 ملجم /ل) + BAP (0.5).

المراجع

[1]- أياد هاني العلاف، شجرة نخيل التمر، قسم البستنة وهندسة الحدائق، جامعة الموصل، العراق (2020).

[2]- In vitro propagation of date palm (phornix dactylifera L.) "lakramat" date palms in aswan governorate, Abd Elaziem, Tamer M (2023)

[3]- Mohammed, Typology and varietal biodiversity of date palm farms in the North – East of Algerian sahara. J. Taibah univ.Sci.,13: I,764 – 771 (2019)

[4]- Moussoumi, S., J.C. pintaud, r. vigouroux and N. Bouguedaura. Diversity of Algerian oases date palm (phoenix dactylifera L. Arecaceae) Heterozygote excrssand cryptic structure suggest farmer management had a major impact on diversity. Plos ONE 12(4). Org/10.1371/journal (2017)

[5]- Ahmed M. Abdelghaffar, Said.S. Soliman, Tarek A. Ismail, Ahmed M. Alzohairy, Arafat Abdel Hamed Abdel Latef, Khadiga Alharbi, Jameel M. AL-Khayri, Nada Ibrahim M. Aljuwayzi, Diaa Abd EL-Moneim[5] and Abdallah. A. Hassanin.In vitro propagation of Tree date palm(Pheonix dactylifera L) vaireies using immature female inflorescences. Plants.12,644.1-17. (2023)

[6]- AL – Bakra the date palm: past, Pres ent and future, 2nd end – AL – Ani, Baghdad, Iraq (1972)

[7]- Johnson DV, AL-khayri JM, Jain SM Introduction: date production status and prospects in Asia and Europe. In: AL-khayri JM, Jain SM, Johnson DV(eds) date palm genetic

resources and utilization. Vol2: Asia and Europe springer, Dordre, pp1-16. (2015)

[8]- Gantait, S; EL – Dawayati, M.M.; Panigrahi, J.; Labrooy, C.; Verma, S.K. The retrospect and Prospect of the appllcations of biotechnology in. phoenix dactyl liferal. Appl. Microbiol. Biotechnol.102,8229- 8259.(2018)

[9]- Khierallah, H.S.M., M.H.S AL-Hamdany, A.A. Abdul Kareem and F.F. Saleh. Influence of sucrose and paclobutrazol on callus growth and somatic embryogenesis in data palm cv. Bream. Int. J Curr. Res. Aca. Rev., 1:270 – 276. (2015)

[10]- Abdalla, N.; EL – Ramady, H., Seliem, M.K.; EL –Mahrouk, M.E.; Taha N.; Bayoumi, Y.; Shalaby, T.A.; DobransZKi,J.AN Academic and Technical overvie Won plan Micropropagation challenges. Horticulturae,8, 677. {Cross Ref} (2022)

[11]- Murashige T. and skoog,.Arevised medium for rapid, Murashig Growth and bioassays with to bacco tissue plant arum 15:473.479.(1962)

[12]- Salha, Saad, cultured of leaves and stems of Tragnum nudatum in vitro (2020).

[13]- Laid Benderradji, Mourad Bennaceur, Roumeissa Djerboua, Sara-Narimene Mazaoui, Samir Medjekal, Mouloud Ghadbane, Walid Saibi and Faical Brini. Journal of oasis agriculture and sustainable development www.joasdjournal.org. (2022)

[14]- Idder, M.A., Ighili, H., Mitiche, B., Chenchouni, H. Influence of date fruit biochemical characteristics on damage rates caused by the carob moth (Ectomyelois ceratoniae) in Saharan oases of Algeria Scientia Horticulturae, 190, 57 – 63. (2015)

[15]- Guettouchi, A., K. Cherif, M. Belguedj, F. Abdelkrim, H. Kadri, F.Z. Belkadi, M. Mahdi, H. Soltani, Z. Chaabi and N. Yekhlef. Inventaire Et Conservation De La Palmeraie De Bou-saada, Algerie. Rec. Agron., 1(27): 48 – 56. (2015)

[16]- Hapsoro D, Hamiranti R, Yusnita. In vitro somatic embryogenesis of superior clones of robusta coffee from lampung, Indonesia: effect of genotypes and callus induction media. Biodiv. (2020)