٣ - زراعة الأجنة واستخدام أجزاء خضرية وثمرية :

٣-١ زراعة الجنين Embryo Culture

تشمل عزل الجنين تحت ظروف خالية من التلوث و زراعته على وسط غذائي معقم، و لزراعة أنسجة الجنين embryo culture أهمية في البحث التطبيقي:

٣-١-١ تستخدم هذه الطريقة للمحافظة على الأجنة التي تفشل في التطور بصورة طبيعية بداخل البذرة أو الثمرة.

٣-١-٢ استكمال نمو الأجنة الناتجة من التهجين بين الأنواع المختلفة interspecific hybridization والتي يشيع فيها نقص في تكون الأندوسبرم defective endosperms.

٣-١-٣ زراعة الجنين ربما تكون ذات فائدة في تقليل فترات السكون الطويل long dormancy periods في البذور أو الثمار ، والذي يرجع غالباً إلى مثبطات فيزيائية أو كيميائية وعزل الأجنة وزراعتها على أوساط اصطناعية خالية من هذه المؤثرات عادة يؤدي إلى إنباتها مباشرة.

٣-١-٤ استخدام الأجنة المعزولة من البذور أو الثمار في دراسات التمثيل الغذائي metabolic studies ، أو استخدام أجزاء منها isolated embryo segments لدراسة النمو والتطور في المرستيمات الأولية primary meristems ، تخلق الأعضاء organogenesis ، والعلاقات بين الأعضاء المختلفة.

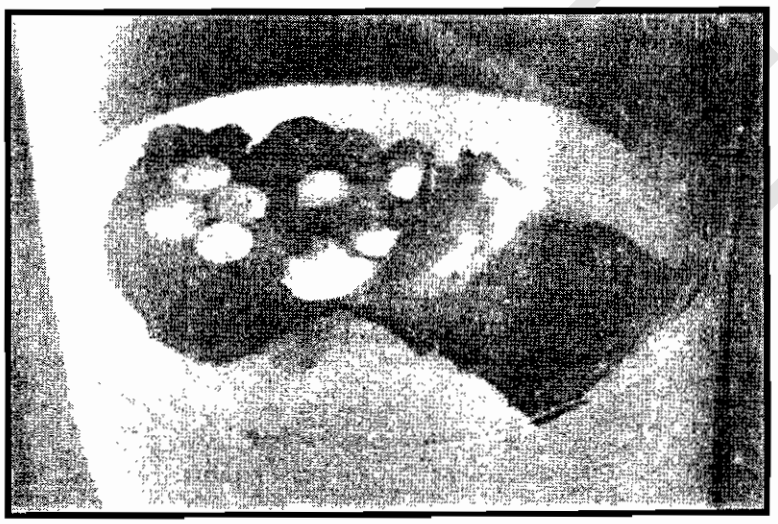
فيما يتعلق بالنخيل سواء نخيل البلح أو أنواع النخيل الأخرى كانت أول محاولة لاستحداث و نشأة الكالس من الأجنة - كانت بواسطة العالم رابي كولت سنة ١٩٦٢ (Rabechault, 1967) على أجنة نخيل الزيت، بعد ذلك أمكن تكوين كالس وجذور من أنسجة الغمد الفلقي cotyledonary sheath tissue على بيئة تحتوي على نفثالين حامض الخليك (naphthalene acetic acid) NAA ، و استمر الكالس في التضاعف و تكشف بعد ذلك إلى جذور عندما نقل الكالس بأجزاء من الغمد الفلقي (Ammar and Benbadis, 1977; Reuveni and Kipnis 1974).

قام كل من رينولدز و موراشيجي سنة ١٩٧٩ (Reynolds and Murashige, 1979) بزراعة أجزاء من الجنين لكل من أنواع النخيل التالية Phoenix dactylifera L.; Chamaedores costaricana Oerst.; Howeia foresteriana Becc. ،

وأمكن تكوين ما يسمى بالكالس الجنيني embryogenic callus أو العقدي nodular callus من الأجنة الجنسية الناضجة ، و التي تمت زراعتها على وسط غذائي يحتوي على فحم نباتي منشط بالإضافة إلى تركيزات عالية من الأوكسينات تتراوح بين ١٠ – ١٠٠ ملجم/ لتر نفثالين حامض الخليك NAA ، وقد أدى تكرار النقل إلى تكون نبيتات صغيرة داخل الأنابيب (Tisserat, 1979)، كما تعرض كل من تيسيرات و دي ماسون سنة ١٩٨٠ في بحث لهم إلى وصف عملية تكوين النبيتات هذه تشريحياً ، توصلا إلى وجود تشابه إلى حد كبير بين التطور الظاهري morphological development للأجنة غير الجنسية الناتجة من الكالس و الأجنة الجنسية المعزولة من البذرة خلال مرحلة الإنبات داخل الأنابيب.

٣-٢ زراعة أجزاء من الورقة :

و هي أنسجة جسمية عالية التميز ، تعطي نفس صفات الأم التي أخذت منها هذه الأنسجة ، و هي تعتبر في النخيل عملية غاية من الصعوبة ، لعدم احتواء مثل هذه الأنسجة على خلايا يمكن استحداث تكشف منها ، حتى و لو كان إلى كالس ، عدا بعض الخلايا البرانشيمة التي تتواجد في خلايا الحزمة الوعائية للعرق الوسطي في هذه الأوراق البالغة (شكل رقم ٢٥).



شكل رقم (٢٥): خروج عدد من التراكيب الكروية على أجزاء من الورقة البالغة.

و لكن قد تكون المحاولة في هذا الاتجاه مفيدة للغاية ، بل تمثل مع زراعة أجزاء من النورة حجر الزاوية في الحصول على نباتات من الأشجار الكبيرة في العمر و التي

توقفت عن إعطاء فسائل بجوار الأم ، ويراد تجديدها مرة أخرى ، سواء كانت هذه الأشجار أشجار فريدة من نوعها ، من حيث صفات المحصول أو لتحملها لأي من الأمراض أو الآفات الوبائية الشديدة التي باتت الآن تهدد الثروة النباتية من النخيل في مناطق انتشاره.

كانت هناك محاولات خارج نطاق مصر ، في بداية العمل على نخيل البلح بزراعة الأنسجة، حيث تمكن Schroeder سنة ١٩٧٠ من الحصول على كالس من أوراق بادرات جنسية لنخيل البلح، ولكن هذا الكالس لم يتكشف إلا لجذور ، ولعله ينبغي الإشارة هنا إلى ميل خلايا النخيل وراثيا للتكشف إلى جذور ، ولعل هذا ما يفسر سهولة خروج الجذور على الأشجار الكبيرة بمجرد تعرضها إلى شيء من الرطوبة . وأيضا نلاحظ ذلك عند زراعة الأجزاء النباتية للقمة النامية للفسائل على بيئة تكوين الكالس ، حيث تتكشف الأنسجة بسهولة إلى جذور ، وقد يعتقد البعض أنها أجنة سباشرة ، ولكن لا يلبث أن يكتشف أنها تستطيل بشدة .

أمكن لكل من Reuveni and Kipnis سنة ١٩٧٤ الحصول على نتائج مشابهة. حيث استطالت الأوراق الأولية Primordial Leaves للأجزاء النباتية المزروعة . وزاد من نموها تعرضها إلى الضوء، ولكنها لم تظل حية لفترة طويلة . العالمان Eeuwens and Black سنة ١٩٧٧ عند زراعتهم لورق نخيل البلح ، وجدا تكونات لبدايات الجذور Root Initials وزاد من نموها وجود مستوى منخفض من التهوية وتراكم الأيثلين ، وكذلك وجود الأوكسينات، وكذلك عند تخفيض مستوى الأملاح أو السكروز في البيئة.

وقد ذكر العالم Eeuwens سنة ١٩٧٨، أنه في خلال ٦ أسابيع من زراعة أعناق الأوراق، تكونت جذور من الأنسجة المنزرعة، ولم يمكن إيقاف تكون الجذور بإضافة تركيزات عالية من السيتوكينن أو السكروز في البيئة ، لكن تزيد في البيئات التي تحتوي على مستويات عالية من السكروز و منخفضة من الستوكينن ، وقد تمكن العالم Poulain وآخرون سنة ١٩٧٩ من تكون بعض الكالس على قواعد الأوراق صغيرة السن المزروعة ، ولم يحصل أي من الباحثين في هذا المجال سوى على الكالس فقط الذي لم يتكشف بعد فترة إلا عن جذور فقط.

وقد استخدام العالم Zaid سنة ١٩٨١ أجزاء نباتية من الأوراق للأشجار البالغة، الفسائل ، البادرات الجنسية، و النبيتات الصغيرة الناتجة من زراعة الأنسجة،

وقد وجد أن البادرات الجنسية Seedlings و النبيتات الصغيرة الناتجة من زراعة الأنسجة Asexual Plantlets هي التي أعطت كالس، و باستمرار نقله لم يتكشف إلا عن جذور فقط.

ومع ما تقدم يظل الباب مفتوحًا للباحثين في مجال زراعة أنسجة النخيل ، لمحاولة أن تسترد الأوراق البالغة طفولتها Juvenility لكي يمكن بعد ذلك تكوين كالس منها، حتى ولو كان ذلك بعد فترة طويلة من الزمن و بكمية ضئيلة، و باستخدام بعض الاجهادات البيئية و غير البيئية Biotic and A-Biotic Stress، لكي يشعر النظام الخلوي داخل هذه الأنسجة بأنه مهدد بالخطر فتعبر بعض الجينات عن نفسها لإنتاج جيل ثانٍ من النباتات، و لكنه يبقى طريقًا مميزًا ويستحق المحاولة.

٣-٣ زراعة أجزاء من الساق

أمكن الحصول على كالس من زراعة أجزاء من الساق ، لكل من نخيل البلح ونخيل جوز الهند Coconut ، ولكن هذا الكالس لم يكتب له البقاء عند استمرار نقله على بيئات جديدة (Eeuwens, 1978; Poulain et al., 1979) ، ولقد أشار العالم Tisserat سنة ١٩٧٩ ، أنه تمكن من زراعة أجزاء من الساق ، حيث انتفخت بشدة بعد زراعتها بعدة أسابيع ، و أدى تكرار نقلها على بيئات جديدة إلى تكوين كالس عقدي متماسك و ليس متفككًا Non friable callus ، وتطور إلى نبيتات صغيرة بعد ذلك.

٣-٤ زراعة أجزاء من الجذر

أمكن زراعة أنسجة الجذر على بيئات للحصول على كالس ، ولكن تزيد نسبة التلوث في حال الحصول على الجذور من الأشجار البالغة في الحقل المفتوح ،كما أن الكالس المتكشف عنها تقل قدرته على التكشف لأجنة أو أفرع خضرية ، و لقد سجلت المحاولة الأولى لزراعة أنسجة الجذر في نخيل الزيت Oil Palm لكل من العالم Staritzky والعالم Schroder على نخيل البلح سنة ١٩٧٠، ولكن الأجزاء النباتية للجذور المنزرعة لم تستطيع التطور والنمو و ماتت ، وقد لاحظ شرودر أنها لم تكن غير جذور ثانوية فقط ، ولم تستطع التطور إلى أفرع خضرية، بينما لاحظ العالم Eeuwens سنة ١٩٧٨ تكون تفرعات من الجذور المفصولة من الأجزاء النباتية المنزرعة ، لكل من نخيل البلح و جوز الهند و ذلك عند نقلها إلى بيئات سائلة ، فقد تم تكوين الكالس من الأجزاء النباتية لقمة الجذور Root tip region لبادرات نخيل

بلح جنسية صغيرة السن (Smith, 1975; Smith and Thomas, 1973) ، هذا الكالس تكشف إلى أوراق و فروع خضرية Leaves and Shoots.

على العكس من ذلك العالم Sharma وآخرين سنة ١٩٨٠، فقد وجد أنه لا يحدث أي نمو لأي من الأجزاء النباتية لجذور نخيل البلح ، المنزرعة على بيئات صناعية داخل المعمل ، بل يحدث تلون بني شديد و موت للأجزاء النباتية المزروعة في خلال الأسابيع الأولى من الزراعة، أيضاً أشار العالمان Zaid and Tisserat سنة ١٩٨٣ ، أنه لم يمكن الحصول إلا على بعض الكالس فقط من زراعة أجزاء نباتية مفصولة من بادرات بذرية أو من جذور النباتات الناتجة من زراعة الأنسجة ، وهذا الكالس لم يتكشف بأي حال من الأحوال إلى أي أنسجة متميزة ، وينبغي هنا الإشارة إلى أن الرأي الأخير هو لعلماء من أصحاب الخبرة والباع الكبير في زراعة الأنسجة بصفة عامة و النخيل بصفة خاصة.

٣-٥ زراعة الثمار المكتملة و غير مكتملة النمو

زراعة أنسجة الثمرة قد تبدو من أول وهلة أنها بالشيء السهل ، حيث إنه جزء نباتي يمكن التحصل عليه بسهولة ،كما أن أنسجته الجسمية تماثل الأم التي أخذت منها هذه الثمار ، ولكن هذا يعترضه العديد من المشاكل و منها التلون البني الشديد إذا ما تم أخذ هذه الثمار في عمر متأخر ، أي مكتملة النمو أو في درجة قريبة من اكتمال النمو ، ولذا يلزم أن تتم زراعة هذه الثمار في أعمار صغيرة وهي ما زالت في حجم الحمصة (طور الحبابوك) ،كما أن تكرار النقل على بيئات لمحاولة استحداث كالس من هذه الأنسجة المتكشفة عالية التمييز ، يجعله مهمة صعبة للغاية يلزم معها استعمال تركيزات عالية من الأوكسينات ، لاستحداث تكوين الكالس ، ناهيك عن محاولة استحداث أفرع خضرية أو أجنة جسمية.

قد تنجح زراعة الثمار غير الناضجة في إعطاء كالس ، ولكن كيف يمكن التفريق بين الكالس الناتج من الجنين الجنسي والكالس الناتج من أنسجة الثمرة في المراحل الأولي لتطور الثمار بعد العقد مباشرة ؟؟ ، هذه مهمة صعبة ، غير ذلك ، إن أمكن فتح هذه الثمار غير مكتملة النمو و إخراج الجنين و زراعة النسيج فقط ، فإن هذا سوف يزيد من حجم مشكلة التلون البني الناتج و الذي يعوق بشدة حتى مجرد استمرار نمو هذه الأنسجة على البيئة المغذية ، هذا بالإضافة إلى مشكلة التلوث البكتيري و الفطري الذي يزيد عند زراعة أنسجة الثمار غير مكتملة النمو ، واستعمال تركيزات عالية من المطهرات السطحية للتغلب على هذه المشكلة ، قد يؤثر بالسلب على حيوية الأنسجة المزروعة.

٤ - المراجع:

٤-١ المراجع العلمية الأجنبية:

Abo-El-Soaud, A. A. 2003. Biotechnological studies of date palm: Micropropagation of inflorescence, molecular biology, and secondary metabolites. Ph.D dissertation. Pomology Department, Faculty of Agriculture, Cairo University. Pp. 233.

Abo-El-Soaud, A. A.; I. A. Ibrahim; N. R. El-Sherbeny and E. I. Bakr 1999. In vitro and ex vitro optimization for rooting and acclimatization of date palm. 1st International Conference on Plant Tissue Culture and Its Applications, 12-14 September, University of Zagazig, Egypt.227-241.

Abo-El-Soaud, A. A.; I. A. Ibrahim; N. R. El-Sherbeny and E. I. Bakr .2003. In vitro Characterization of somatic embryos of date palm (Phoenix dactylifera L.). Abstracts of the International Conference on Date Palm. 16-19 September, College of Agric. and Vet. Med., King Saud University, Qaseem Branch, Kingdom of Saudi Arabia. Pp. 93.

Abo-El-Soaud A.A., Z. Zaid, A. Salah and R. Sidky. 2002. Tissue culture of date palm (Phoenix dactylifera L.). The 3rd Scientific Conference of Agricultural Science, Assiut, October p. 327-341.

Ahmed, O. K. 2002. Biochemical studies on date palm using tissue culture technique. Ph.D dissertation. Department of Biochemistry, Faculty of Agriculture, Cairo University.

Al-Ghamdi, A. S. 1993. Date Palm (Phoenix dactylifera L.) Germplasm Bank in King Faisal University, Saudi Arabia: 1- Justification, Implementation and Organization. Third Symposium on Date Palm. Saudi Arabia.

Al-Kharyi, J. M. and K. W. Al-Maarri 1997. Effect of seasonal variation on the regeneration capacity of date palm. In vitro. 33:3, 22-26.

Ammar, S. and A. Benbadis. 1977. Multiplication vegetative du pallmier dattier (Phoenix dactylifera L.) par la culture de Jeunes plantes de semis. C.R. Acad. Sc. Paris, series D. 284:1789-1792.

Carpenter, J. B. 1979. The National Date Palm Germplasm Repository. Date Grower's Institute Report. 54: 26-32.

Dawson, V.H.W. 1982. Plant production and protection. Paper No. 35. FAO. Rome.

Djerbi, M. 1983. Diseases of Date Palm (Phoenix dactylifera ٢..). Regional Project For Palm and Dates Research Center in the Near East of North Africa. FAO Baghdad. Pp. 106.

Eeuwens, C.J. 1978. Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (Cocos nucifera) and cultured in vitro. Physiological Plantarum 36:23-28.

Eeuwens, C.J. and J. Blake. 1977. Culture of coconut and date palm tissue with a view to vegetative propagation. Acta Horticulture 78:277-268.

Gadalla, E. G. 2003. Propagation of dry varieties of date palm. Ph. D. dissertation. Faculty of Agriculture. Cairo University. Egypt.

George, E. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture. Exegetics Limited, Edington, Part 1, The Technology, pp. 23-28.

Ibrahim, I. A.; A. A. Abo-El-Soaud; E. I. Bakr and N. R. El-Sherbeny 1999a. Effect of charcoal and light intensity on rooting and acclimatization stages of regenerated date palm (Phoenix dactylifera L.) plantlets. 1st International Conference on Plant Tissue Culture and Its Applications,12-14 September, University of Zagazig, Egypt. 219-226.

Ibrahim, I. A.; A. A. Abo-El-Soaud, N.R. El-Sherbeny, and E.I. Bakr. 1999b. Effect of nutrient media on the growth and development of date palm grown in vitro and ex vitro. 1st International Conference on Plant Tissue Culture and Its Applications,12-14 September, University of Zagazig, Egypt 209-217

Leifert, C.; J. Y. Ritchie and W. M. Waites 1991. Contaminants of plant-tissue and cell cultures. World Journal of Microbiology and Biotechnology. Vol. 7: 452-469.

Murashige, T. and F. A. Skoog 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiological Plantarum, 15: 473-479.

Pierik, R. I. M. 1988. In vitro culture of higher plants as a tool in the propagation of horticulture crops. Acta Horticulture, 226: 25-40.

Poulain, C.; A. Rhiss and G. Beauchesne 1979. Multiplication vegetative en culture in vitro du palmier dattier (Phoenix dactylifera L.). C. R. acad Agirc., II: 1151-1154.

Rabechault, H.; J. P. Martin and S. Gas 1976. XII. Effects de substances de croissance a des doses superoptimales. Relation avec le brunissement des tissues. Oleag., 31(4): 159-163.

Reuveni, O. and H.L. Kipins. 1974. Studies of the in vitro culture of date palm (Phoenix dactylifera L.) tissue and organs. Pamphlet No. 145, p. 3-39.

Reuveni, O.; Y. Adato and H. L. Kipnis .1972. A study of new and rapid methods for the vegetative propagation of date palms. Date Grower's Institute, 49th Annual Report, Vol. 49: 17-24.

Reynolds J.F. and T. Murashige. 1979. Asexual embryogenesis in callus cultures of palms. In Vitro Cell Development Biology 15:383-387.

Schroeder, C. A. 1970. Tissue culture of date palm shoots and seedlings. Date Grower's Institute Reports. 49: 25-27.

Sharma, D. R.; R. Kumari and J. B. Chowdhmry 1980. In vitro culture of female date palm (P. dactyliferal L.) tissues. Euphytica. 29: 169-174.

Smith, S. N. 1975. Vegetative propagation of the date palm by root tip culture. Bull. d' Agronomie Saharienne. 1: 67-77.

Smith, W.k. and J.A. Thomas. 1973. The isolation and in vitro cultivation of cells of Elaeis guineensis. Oleagineaux 28:123-7.

Staritzky, G. 1970. Tissue culture of the oil palm (Elacis guineensis Jacq.) as a tool for its propagation. Euphytica. 19:288-292.

Tisserat, B. 1979. Propagation of date palm (Phoenix dactylifera L.) in vitro. Journal of Experimental Botany 30:1275-1283.

Zaid, A. 1981. Rapid propagation of the date palm through tissue culture. M. Sc. Thesis at the U.S. Date and Citrus Station. Indio, California. U. S. A. Pp.178.

Zaid, A. and Arias-Jimenez, E. J. 1999. Date Palm Cultivation. Plant Production and Protection Paper 156. FAO. Rome.

Zaid, A. and B. Tisserat. 1983. In vitro shoot tip differentiation in Phoenix dactylifera L. Date Palm Journal 2(2):163-182.

Zaid, Z. S. 2003. Comparative studies on the production of date palm cultivars via tissue culture technique. Faculty of Agriculture, Cairo University, Egypt. Pp. 248.

obeikandl.com

٤-٢ المراجع العلمية العربية :

أبجمان، العربي. ٢٠٠٣. إكثار نخيل البلح انطلاقا من الأنسجة الزهرية. اللقاء العلمي الدولي لنخيل التمر. في الفترة من ١٦ – ١٩ سبتمبر، جامعة الملك سعود فرع القصيم، كلية الزراعة و الطب البيطري. المملكة العربية السعودية. القسم العربي (الجزء الأول)، ٩١١-٩٢٦.

عبد الله صالح الغامدي. ١٩٩٣. إنتاج نخيل التمر المطابق للأم وراثيًا بواسطة زراعة الأنسجة (٢- طور الصبا و تشكل الأوراق). الندوة الثالثة لنخيل البلح، المملكة العربية السعودية.

عبد الله صالح الغامدي، و محمد سعيد القحطاني. ١٩٩٣. إنتاج نخيل التمر المطابق للأم وراثيًا بواسطة زراعة الأنسجة (٣- الأزهار و عقد الثمار). الندوة الثالثة لنخيل البلح، المملكة العربية السعودية.

عبد الله صالح الغامدي. ١٩٩٣. إنتاج نخيل التمر المطابق للأم ورثياً بواسطة زراعة الأنسجة (٤- الصفات الطبيعية للثمار). الندوة وراثيًا لنخيل البلح، المملكة العربية السعودية.

عبد الله صالح الغامدي، و محمد سعيد القحطاني. ١٩٩٣. إنتاج نخيل التمر المطابق للأم وراثيًا بواسطة زراعة الأنسجة (٥- الصفات الكيميائية للثمار). الندوة الثالثة لنخيل البلح، المملكة العربية السعودية.

عبد الله صالح الغامدي، و محمد سعيد القحطاني. ١٩٩٣. إنتاج نخيل التمر المطابق للأم وراثيًا بواسطة زراعة الأنسجة (٦- المحتوي السكري للثمار). الندوة الثالثة لنخيل البلح، المملكة العربية السعودية.

عبد الله صالح الغامدي، و محمد سعيد القحطاني. ١٩٩٣. إنتاج نخيل التمر المطابق للأم وراثيًا بواسطة زراعة الأنسجة (٧- المحتوى المعدني للثمار). الندوة الثالثة لنخيل البلح، المملكة العربية السعودية.

عبد الرحمن الواصل .٢٠٠٣. الإكثار الدقيق و التباينات الجسمية في النباتات النسيجية. اللقاء العلمي الدولي لنخيل التمر. في الفترة من ١٦ – ١٩ سبتمبر، جامعة الملك سعود فرع القصيم، كلية الزراعة و الطب البيطري. المملكة العربية السعودية. القسم العربي (الجزء الأول)، صفحة ٦٣ – ٨٤.

obeikandl.com

عبد الوهاب زايد، و هاريسون هقز (١٩٩٣أ). أقلمة نباتات نخيل التمر في المختبر (In vitro): ١- تأثير البولي ايثيلين جليكول على فقد الماء. الندوة الثالثة لنخيل التمر. المملكة العربية السعودية.

عبد الوهاب زايد، و هاريسون هقز (١٩٩٣ب). أقلمة نباتات نخيل التمر في المختبر (In vitro): ٢- مقارنة في كميات شمع البشرة كوظيفة ناتجة من معاملة الأوراق بالبولي اثيلين جليكول. الندوة الثالثة لنخيل التمر. المملكة العربية السعودية.

عبد الوهاب زايد، و هاريسون هقز (١٩٩٣ج). أقلمة نباتات نخيل التمر في المختبر (In vitro): ٣- ملاحظات على شمع بشرة الأوراق باستخدام المجهر الإليكتروني. الندوة الثالثة لنخيل التمر. المملكة العربية السعودية.

عبد الوهاب زايد، و هاريسون هقز (١٩٩٣د). أقلمة نباتات نخيل التمر في المختبر (In vitro): ٤- وظائف الثغور في نباتات معاملة بالبولي ايثيلين جليكول في المختبر In vitro و كذلك أوراق نباتات نامية في البيت المحمي. الندوة الثالثة لنخيل التمر. المملكة العربية السعودية.

رقم الإيداع ٢٠٠٨/٢٢٧٩

openkandl.com