تبرعم نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) صنف الحلاوي خارج الجسم الحي

عقيل عبود سهيم الخليفة

الملخص

أجريت هذه الدراسة في مختبر الزراعة النسيجية التابع لمركز أبحاث النخيل في جامعة البصرة خلال العام 2007 بهدف تكوين البراعم الجانبية من أرباع البراعم القمية لفسائل نخيل التمر صنف الحلاوي. أجريت لأرباع البراعم القمية معاملات قبل الزراعة تمثلت بتغطيسها بالسايتوكاينين 2iP بالتركيزين 5 و10ملغم/لتر لمدة 5 و10دقائق. زرعت أرباع البراعم القمية على أوساط غذائية صناعية مكونة من مجموعة أملاح MS بقوة كاملة والسكروز بتركيز 30 غم/لتر والفحم المنشط بتركيز 1غم/لتر والاكر بتركيز 6 غم/لتر والاوكسين NAA بتركيز 1 ملغم/لتر.

اختبر تركيزان من السايتوكاينين 2iP وBA وهي 5 و10 ملغم/لتر. حضنت الزروعات في الظلام لمدة شهرين على درجة حرارة 27±1م. وأجريت عملية إعادة الزراعة كل أربعة أسابيع ثم نقلت تحت الإضاءة على شدة إضاءة 1000لوكس ولمدة 16ساعة يومياً. أظهرت النتائج ما يأتي:

1- وجد إن تغطيس أرباع البراعم القمية بالتركيز 10ملغم/لتر من 2iP لمدة 5 و10دقائق أدى إلى تكوين البراعم الجانبية بأقل مدة إذ بلغت 117 و118 يوماً على التوالي.
2- لوحظ إن الوسط الغذائي الحاوي على التركيز (5 ملغم/لتر) من 2iP أو BA حفز على تكوين البراعم الجانبية بمدة قصيرة نسبياً وبفارق معنوي عن التراكيز المستخدمة الأخرى.
3- أدت معاملة التغطيس لمدة (10 دقائق) بالتركيز (10 ملغم/لتر) من 2iP إلى الحصول على أعلى معدل لعدد البراعم الجانبية عند زراعتها على وسط غذائي يحوي (5 ملغم/لتر) من 2iP.

المقدمة

تعد الزراعة النسيجية من التقانات الحديثة نسبياً واستخدمت 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 عدد النباتات التي يمكن إنتاجها من نبات واحد ومطابقة النباتات الناتجة لأصولها وراثياً (9، 10). يتم إكثار النخيل نسيجياً إما بوساطة تكوين الأعضاء (توالد الأعضاء) (Organogenesis) من القمة النامية والبراعم الابطية (11) أو بوساطة تكوين الأجنة الجسمية (Somatic embryogenesis) عن طريق المرور بمرحلة الكالس والذي تتكون منه الأجنة الخضرية وذلك بزراعة أنسجة النبات في أوساط غذائية صناعية معقمة (4).

بدأت المحاولات الأولى لإكثار نخيل التمر بهذه التقانة في مطلع السبعينيات حيث تركزت الأبحاث والدراسات في ذلك العقد على البحث عن أفضل الأوساط الغذائية اللازمة لزراعة الجزء النباتي الامثل وتحديد الظروف الملائمة لتطور الزروعات النسيجية. إن الاهتمامات في زراعة القمم النامية والبراعم الابطية قد بدأت في أوائل السبعينيات في محاولات لتوجيه نموها نحو التضاعف الخضري (17). منذ ذلك الحين بدأ التركيز على تطوير نتائج البحث العلمي واتجه الباحثون لزراعة أجزاء حية مختلفة من الفسائل والنخيل البالغ على أوساط غذائية مختلفة بهدف توجيه نمو تلك الأجزاء نحو التكشف والتضاعف أو استحثاث الكالس أجنيني وصولا إلى نباتات كاملة قابلة للنقل والعيش تحت الظروف الطبيعية.

مركز أبحاث النخيل – جامعة البصرة– البصرة، العراق.

تعد منظمات النمو النباتية كالاوكسينات والسايتوكاينينات من أهم مكونات الوسط الغذائي المؤثر في إنجاح الزراعة النسيجية، وتؤدي ألا وكسينات دوراً أساسيا في تكوين الكالس وتطوره إلى أجنة خضرية وإنباتها ومن أهمها **1-naphthalene acetic acid (NAA) 2-4-D (dichloro phenoxy acetic acid)** بينما تعد السايتوكاينينات من العوامل المهمة في استحثاث البراعم الجانبية والعرضية ومنها **Benzyladenine (BA)** و**2iP(Isopentenyladenine)** (**18**).

المواد وطرائق البحث

نفذت هذه الدراسة في مختبر الزراعة النسيجية التابع لمركز أبحاث النخيل والتمور– جامعة البصرة خلال عام **2007**م.

استئصال الأجزاء النباتية

استخدمت في هذه التجربة فسائل نخيل التمر صنف الحلاوي حيث تم قلع عدد من الفسائل **Offshoots** تراوحت أعمارها بين **2–3** سنوات من بساتين منطقة أبي الخصيب في محافظة البصرة، شرحت الفسائل باستخدام سكين وأزيلت أوراقها وأليافها تصاعدياً حتى الوصول إلى البرعم ألقمي **Shoot Tip** (الجمارة) والذي يبدو بهيئة جسم هرمي واستؤصل بارتفاع **10**ملم وقطر قاعدة **10**ملم مع طبقة لحمية **1**ملم تقريباً تساعد على تماسك الأوراق (**17**) وبعد استئصال البرعم ألقمي تم وضعه في محلول مضاد للأكسدة (**Antioxidant Solution**) والذي يتكون من **100**ملغم/لتر من حامض الاسكوربيك (**Ascorbic Acid**) و**150**ملغم/لتر من حامض الستريك (**Citric Acid**). حفظت الأجزاء النباتية في الثلاجة بدرجة حرارة **5**م لمدة **24** ساعة لحين أجراء عملية التعقيم السطحي.

التعقيم السطحي للأجزاء النباتية Surface Sterilization

أجريت عملية التعقيم السطحي للأجزاء النباتية بعد إخراجها من المحلول المضاد للأكسدة وقسمت البراعم القمية إلى أربعة أجزاء متساوية قدر الإمكان باستخدام مشارط وملاقط معقمة ووضعت أرباع البراعم القمية في وعاء زجاجي يحتوي على القاصر التجاري (الكلوركس) **20%** حجم/حجم يحتوي على هيبوكلورايت الصوديوم (**Sodium Hypochlorite**) مضافاً إليه قطرة واحدة من المادة الناشرة (**Tween 20**) لكل **100** سم^3 من المحلول مع الرج والتحريك بين الحين والأخر ولمدة **15** دقيقة. وبعدها استخرجت الأجزاء النباتية من محلول التعقيم وغسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات. تمت هذه العملية على منضدة انسياب الهواء الطبقي (**Laminar air flow cabinet**) المعقمة مسبقاً بالايثانول **70%** والفورمالديهايد المخفف بالماء المقطر المعقم (**18**).

تحضير الوسط الغذائي Preparation of nutrient medium

تكون الوسط الغذائي من مجموعة الأملاح اللاعضوية لوسط **MS** (**14**) وتحضر هذه الأملاح بالمختبر على شكل محلول أساس (**Stock solution**) يتكون من خمس مجوعات (**15**).

طريقة تحضير 1 لتر من الوسط الغذائي:

1– حضر الوسط الغذائي بإضافة إحجام المحاليل الخمسة الأساسية لأملاح الـ**MS** بمقدار **10** سم^3 إلى **700** سم^3 من الماء المقطر في دورق حجمي سعة (**4**) لتر موضوع على صفيحة ساخنة مزودة بخلاط مغناطيسي **Magnetic Stirrer hot plate**.

2– أضيفت المواد الآتية (السكروز **30** غم/لتر، ارثو فوسفات الصوديوم الحامضية **170** ملغم/لتر، كبريتات الادنين **40** ملغم/لتر، ميزو اينوسيتول **100** ملغم/لتر،فحم منشط **1** غم/لتر، الاكار **6** غم/لتر).

3- أضيفت منظمات النمو الاوكسينات والسايتوكاينينات بتراكيز مختلفة وحسب الهدف من التجربة اذيبت الاوكسينات في 5 سم^3 من هيدروكسيد الصوديوم NaOH (0.1 عياري) اذيبت السايتوكاينينات في 5 سم^3 من حامض الهيدروكلوريك HCl (0.1 عياري) الجبرلينات في 5 سم^3 من الكحول الاثيلي تركيز 95% وأكمل الحجم إلى لتر.

4- تم ضبط الرقم الهيدروجيني pH للوسط عند 5.7 بوساطة جهاز Digital pH meter، ويعدل بمعايرة الوسط بمحلول هيدروكسيد الصوديوم وحامض الهيدروكلوريك (0.1 عياري).

5- أضيف الاكر بتركيز 6 غم/لتر ولغرض اذابتة سخن الوسط حتى درجة حرارة 97 م.

6- وزع الوسط الغذائي في جارات زجاجية بواقع 30 سم^3 /جارة و20 مل لكل أنبوبة اختبار (2.5× 18) سم، سدت فوهة الأنابيب بالقطن الطبي وغلفت بأوراق الألمنيوم Aluminum foil.

7- عقمت الأنابيب والدوارق والأدوات المختبرية المستعملة في الزراعة لمدة 15 دقيقة في جهاز التعقيم البخاري Autoclave على درجة حرارة 121 م وضغط 1.05 كغم/سم^2.

8- استخرجت الأواني بعد انتهاء مدة التعقيم ورجت عدة مرات لغرض تجانس محتوياتها وتركت حتى تبرد ووضعت في الثلاجة لكي تتصلب حتى يحين موعد الزراعة.

تحفيز نشوء البراعم الجانبية

لغرض تحفيز نشوء البراعم الجانبية من ارباع البراعم القمية تم أجراء التجارب الآتية:

غطست أرباع البراعم القمية بمنظم النمو السايتوكاينين (2iP) بتركيز 5 و10 ملغم/لتر لمدة 5 و10 دقائق مع معاملة المقارنة (بدون تغطيس)، زرعت أرباع البراعم القمية على أوساط غذائية حاوية على تراكيز مختلفة من السايتوكاينين 2iP أو BA بتركيز 5، 10 ملغم/لتر لكل منهما بوجود NAA بتركيز 1 ملغم/لتر.

كذلك احتوى الوسط الخاص بتحفيز نشوء البراعم الجانبية على المواد وكما مبين في الفقرة 2 من طريقة تحضير الوسط.

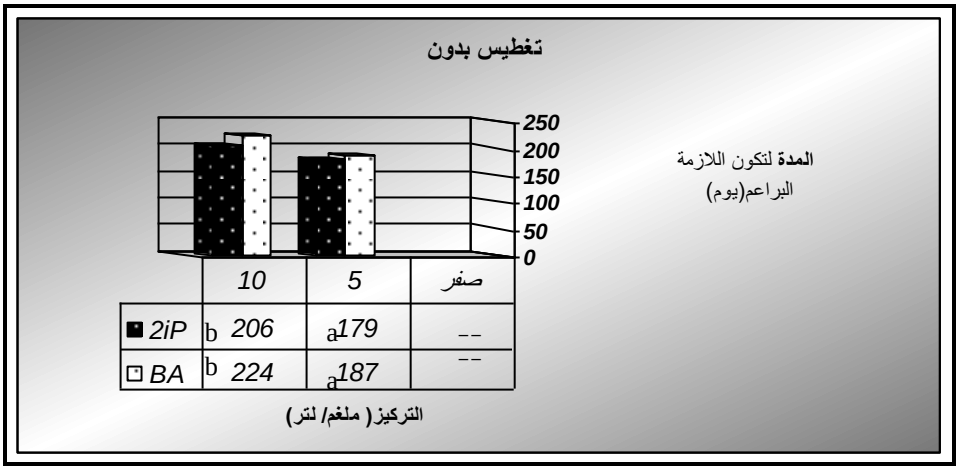
استعملت أنابيب اختبار بحجم 2.5×18 سم احتوت على 20سم^3 من الوسط الغذائي. وتم ضبط الرقم الهيدروجيني على pH (5.7) وتضمنت التجربة زراعة أرباع البراعم بواقع أربعة مكررات لكل معاملة. حضنت الزروعات بدرجة حرارة 27±1م في الظلام لمدة شهرين ثم نقلت تحت شدة إضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة يومياً. سجلت مدة أول ظهور للبراعم الجانبية وجمعت نتائج البراعم المتكونة من الزراعة حيث إعيدت زراعتها لها كل أربعة أسابيع.

التحليل الإحصائي

نفذت كل تجربة على حدة كتجارب بسيطة وحسب التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (CRD) واختبرت المعنوية بين المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي معدل Revised least significant differences test (RLSD) وبمستوى احتمال 5% (5).

النتائج والمناقشة

تبين النتائج الموضحة في الشكل (1) إن لنوع وتركيز السايتوكاينين تأثيرا معنوياً في تحفيز نشوء البراعم الجانبية من أرباع البراعم القمية المزروعة خارج الجسم الحي(*in vitro*) إذ أدى التركيز 5 ملغم/لتر من 2iP او BA إلى تكوين البراعم الجانبية بأقل مدة إذ بلغت 179 و187 يوماً على التوالي. وبفارق معنوي عن التركيز 10ملغم/لتر، في حين لم تتكون البراعم الجانبية عند التركيز 0 ملغم/لتر.

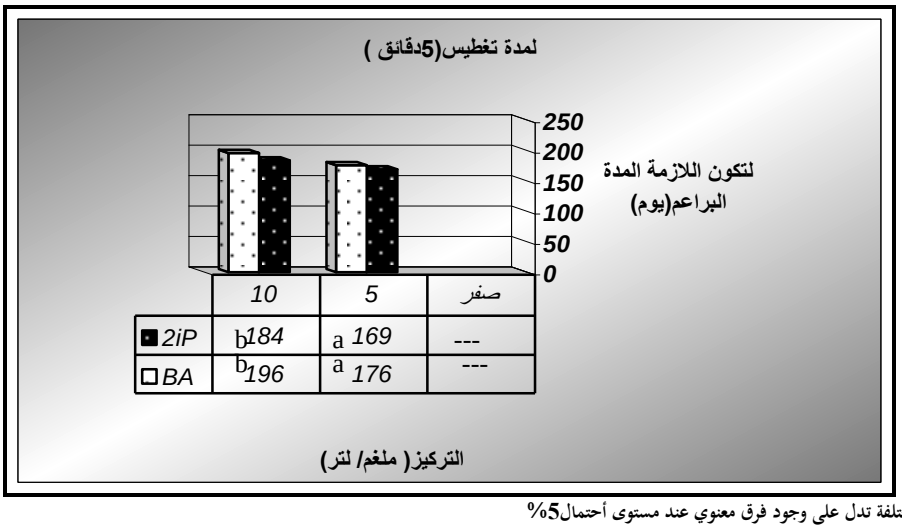


*الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى أحتمال5%

* تقارن تراكيز كل نوع من السايتوكاينين مستقلة.

شكل 1: تأثير نوع وتركيز السايتوكاينين في المدة اللازمة لتكوين البراعم الجانبية (بدون تغطيس).

في حين تشير النتائج المبينة في الشكل (2) الى إن تغطيس أرباع البراعم القمية بالتركيز 5 ملغم/لتر من 2iP لمدة 5 دقائق قد ساعد في تحفيز نشوء البراعم الجانبية عند زراعتها على أوساط غذائية تحتوي على تراكيز مختلفة من السايتوكاينين (2iP أو BA) إذ أدى التركيز 5 ملغم/لتر إلى تكوين البراعم الجانبية بأقل مدة إذ بلغت 169 و176 يوماً على التوالي وبفارق معنوي عن التركيز 10 ملغم/لتر في حين لم تتكون البراعم الجانبية عند التركيز 0 ملغم/لتر.

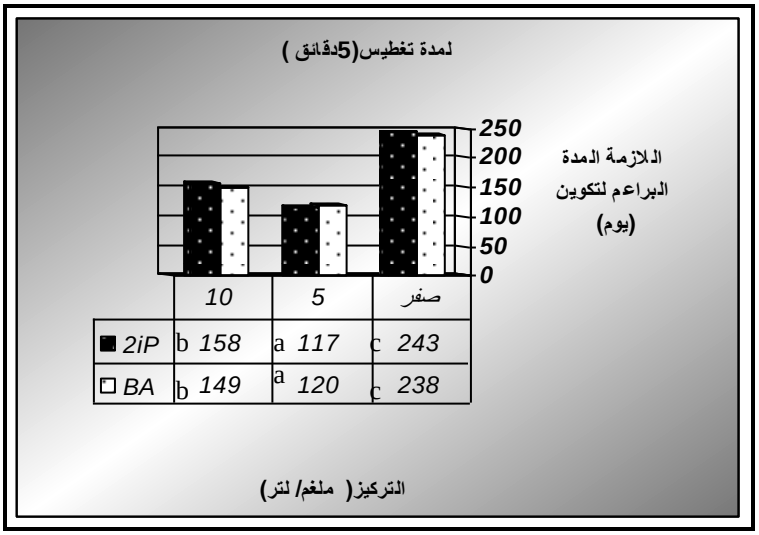


*الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى أحتمال5%

* تقارن تراكيز كل نوع من السايتوكاينين مستقلة.

شكل 2: تأثير نوع وتركيز السايتوكاينين في المدة اللازمة لتكوين البراعم الجانبية (تغطيس لمدة 5 دقائق بتركيز 5 ملغم/لتر من 2iP).

كما تشير النتائج المبينة في الشكل (3) الى إن تغطيس أرباع البراعم القمية بالتركيز 10 ملغم/لتر من 2iP لمدة 5 دقائق قد حفز على تكوين البراعم الجانبية عند زراعتها على أوساط غذائية تحتوي على تراكيز مختلفة من السايتوكاينين (2iP أو BA) إذ تكونت البراعم الجانبية بأقل مدة عند التركيز 5 ملغم/لتر وبلغت 117 و120 يوماً على التوالي وبفارق معنوي عن التركيزين 0 و10 ملغم/لتر.

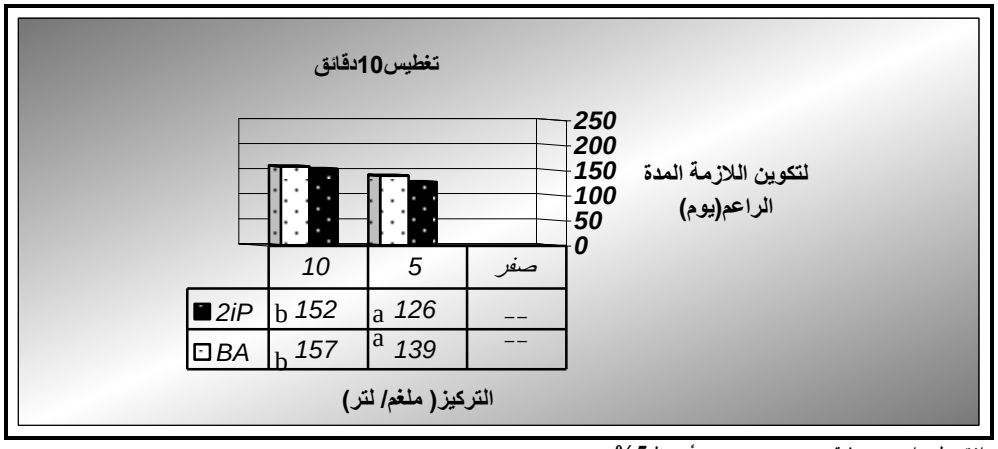


*الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى أحتمال 5%

* تقارن تراكيز كل نوع من السايتوكاينين مستقلة.

شكل 3: تأثير نوع وتركيز السايتوكاينين في المدة اللازمة لتكوين البراعم الجانبية (تغطيس لمدة 5 دقائق بتركيز 10 ملغم/لتر من 2iP).

في حين يلاحظ من النتائج المبينة في الشكل (4) ان تغطيس ارباع البراعم القمية لمدة 10 دقائق بالتركيز 5 ملغم/لتر من 2iP قد حفز تكوين البراعم الجانبية باقل مدة زمنية ممكنة عند زراعتها على وسط غذائي يحتوي 5 ملغم/لتر من 2iP أو BA اذ بلغت 126 و139 يوماً على التوالي بالمقارنة مع التركيزين الاخرين في حين لم تتكون البراعم الجانبية عند التركيز 0 ملغم/لتر.

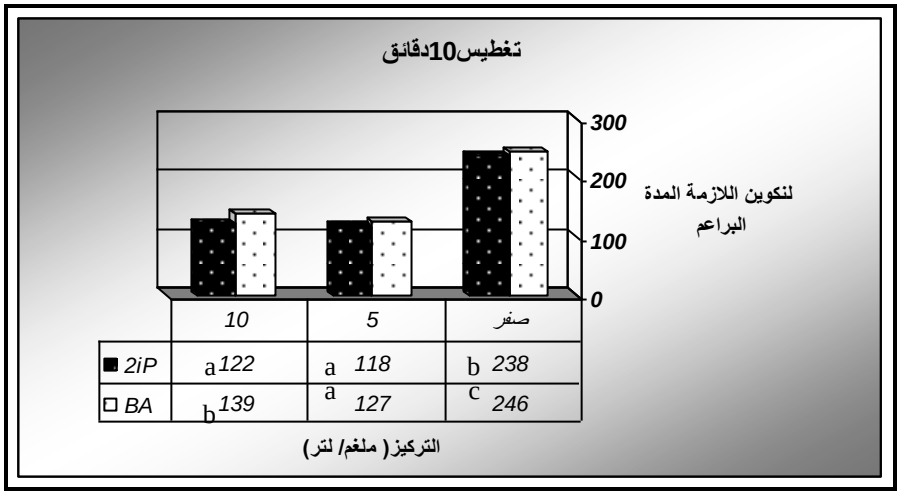


*الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى أحتمال5%

* تقارن تراكيز كل نوع من السايتوكاينين مستقلة

شكل 4: تأثير نوع وتركيز السايتوكاينين في المدة اللازمة لتكوين البراعم الجانبية (تغطيس لمدة 10 دقائق بتركيز 5 ملغم/لتر من 2iP).

كما يلاحظ من نتائج الشكل (5) ان المدة اللازمة لتكوين البراعم الجانبية عند الزراعة على وسط يحتوي على 5ملغم/لتر من 2iP قد قلت وبشكل ملموس اذ بلغت 118 يوماً والتي لم تختلف معنوياً عن التركيز 10 ملغم/لتر التي بلغت 122 يوماً. في حين تفوق التركيز 5 ملغم/لتر من BA في تقليل المدة الزمنية اللازمة لتكوين البراعم اذ بلغت 127 يوماً وبفارق معنوي عن التركيزين الاخرين.

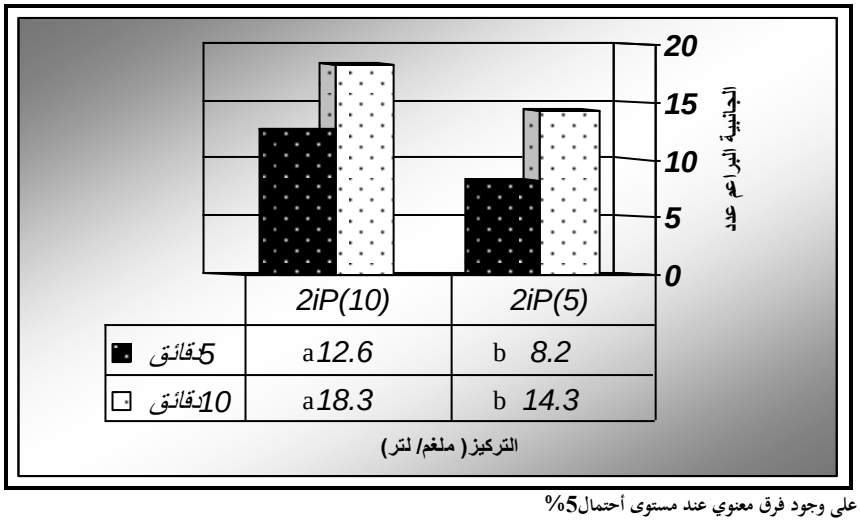


*الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى أحتمال5%

* تقارن تراكيز كل نوع من السايتوكاينين مستقلة.

شكل 5: تأثير نوع وتركيز السايتوكاينين في المدة اللازمة لتكوين البراعم الجانبية (تغطيس لمدة 10 دقائق بتركيز 10 ملغم/لتر من 2iP).

كما أشارت النتائج الموضحة في الشكل (6) إلى تأثير مدة التغطيس وتركيز السايتوكاينين 2iP في عدد البراعم الجانبية المتكونة من أرباع البراعم القمية المزروعة على وسط غذائي يحتوي على 2iP بتركيز 5 ملغم/لتر بوجود NAA بتركيز 1 ملغم/لتر إذ تبين إن التغطيس لمدة 10 دقائق بتركيز 10 ملغم/لتر أعطى أعلى معدل لعدد البراعم الجانبية المتكونة إذ بلغ 18.3 برعماً وبفارق معنوي عن التركيز الأخر. في حين بلغ عدد البراعم المتكونة عند التغطيس لمدة 5 دقائق بالتركيز 10 ملغم/لتر (12.6) برعماً والذي اختلف معنوياً عن التركيز الآخر.



*الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى أحتمال5%

* تقارن كل مدة تغطيس مستقلة.

شكل 6: تأثير مدة التغطيس وتركيز السايتوكاينين في عدد البراعم الجانبية المتكونة

تعد ظاهرة نشوء البراعم الجانبية من الأنسجة المزروعة خارج الجسم الحي من الظواهر التي تم تسجيلها في العديد من النباتات. إما في النخيل فان هناك بعض المصادر التي تشير إلى استحثاثها (1، 4، 6). وبناءً على نتائج هذه الدراسة فقد تم التوصل إلى التركيز المناسب من منظمات النمو النباتية (السايتوكاينينات) بوجود الاوكسين (NAA) بتركيز 1 ملغم/لتر. إن مصدر البراعم الجانبية المتكونة هو الخلايا المعرضة للوسط الغذائي إن 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 ما يسمى بالمرستيمات الأولية (**Promerstemoids**) كما وصفها **Torrey** (**19**). والتي تتطور وتنمو إلى براعم لها التكوين الشكلي (**Morphogenesis**) نفسه للبراعم الموجودة في آباط الأوراق (**15**).

إذ وجد إن تغطيس القمة النامية لنخيل التمر صنف زغلول بمستويات مختلفة من الاوكسين **IBA** قد ساعد على تكوين نسيج الكالس من القمة النامية بمدة قصيرة نسبياً مقارنة مع معاملة المقارنة(بدون تغطيس)،كما وجد إن تغطيس القمة النامية والبراعم الابطية بمستويات مختلفة من السايتوكاينين (**Kn**) ساعد على تكوين البراعم الجانبية من البراعم المغطسة بالمقارنة مع المعاملة (بدون تغطيس) (**5**).

قد يعود سبب استجابة الأجزاء النباتية للقيام بالعمليات الفسلجية عند تغطيسها بمواد محفزة إلى حدوث ما يدعى بالتوازن الهرموني الداخلي نتيجة لامتصاص الأجزاء النباتية المواد المحفزة إذ يساعد على التسريع بإحداث العمل الفسلجي وحسب نوع المحفز المستخدم (**8**).

إما بخصوص تأثير نسبة السايتوكاينين إلى الاوكسين في تحديد اتجاه نمو الخلايا والأنسجة المزروعة. فعندما تكون نسبة السايتوكاينين إلى الاوكسين واطئة يكون اتجاه النمو نحو تكوين الجذور، بينما عندما تكون عالية فتؤدي إلى تكون النموات الخضرية وفي حال التوازن بينهما يحدث انقسام للخلايا (**7**، **13**).

إن نتائج هذه الدراسة تتفق مع الدراسات سابقة (**3**، **5**، **6**، **12**) الذين أشاروا إلى رفع نسبة التراكيز المستعملة من السايتوكاينينات لتكوين البراعم العرضية او الجانبية من الأنسجة النباتية المزروعة خارج الجسم الحي لنخيل التمر.

لوحة 1: المراحل الأولية للبراعم الجانبية المتكونة عند معاملة التغطيس بالتركيز 10ملغم/لتر من 2iP لمدة 10 دقائق والمزروعة على وسط 5 ملغم/لتر 2iP و1 ملغم/لتر NAA.

لوحة 2: المراحل المتطورة للبراعم الجانبية المتكونة عند معاملة التغطيس بالتركيز 10ملغم/لتر من 2iP لمدة 10 دقائق والمزروعة على وسط 5 ملغم/لتر 2iP و1ملغم/لتر NAA.

المصادر

1- المعري، خليل وجية (1995). إكثار نخيل التمر بوساطة تقنية زراعة الأنسجة النباتية، جامعة دمشق، كلية الزراعة.دمشق – الجمهورية العربية السورية.

2- الراوي، خاشع محمود ومحمد عبد العزيز خلف الله (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق. ص:488.

3- الخليفة، عقيل عبود سهيم (2007). تأثير منظمات النمو النباتية وبعض مكونات الوسط الغذائي في تكوين البراعم العرضية لنخيل التمر صنف البرحي خارج الجسم الحي. أطروحة دكتوراه–كلية الزراعة–جامعة البصرة، العراق.

4- ابحمان، العربي؛ محمد انجاران ومحمد البوجرفاوي (2001) .تكنولوجيا الزراعة النسيجية وأهميتها في إكثار نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة –شبكة بحوث وتطوير النخيل. نشرة إرشادية، (3) دمشق، سوريا.

5- بكري، خالد علي إبراهيم (1994). دراسة بعض العوامل المؤثرة على إنتاج وتطوير نسيج الكالس في نخيل البلح باستخدام طرق زراعة الأنسجة.رسالة ماجستير–كلية الزراعة بمشتهر– جامعة الزقازيق فرع بنها – جمهورية مصر العربية.

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

7- مازن، احمد (1997). أسس تطبيقات تكنولوجيا زراعة الأنسجة النباتية، الدورة التدريبية لزراعة الخلايا والأعضاء النباتية وتطبيقاتها، جامعة قطر – الدوحة، قطر.

8- محمد، عبد العظيم كاظم ومؤيد احمد يونس (1991). أساسيات فسيولوجيا النبات. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي– جامعة بغداد، العراق.

9- 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, 1: 1-13.

10- Al-Wasel, A.S. (2001). Phenotypic comparison of tissue culture derived and conventionally propagated by offshoots date palm (*Phoenix dactylifera* L.).CV. Barhee Tree's 1-Vegetative characteristics. J. KSU. Agric. Sci., 13 (1): 65-73.

11- Drira, N. (1983). Multiplication vegetative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Par. La. Culture in vitro de bomgeons axillaries de femilles queen deivent CR A ead. Nel. Paris, 296:10/1082.

12- Jasim, A.M. (2002). Budding of Date Palm (Phoenix dactylifera L.) cv, Barhi *in vitro*. Basrah Date Palm J., 2(1 and 2): 1-8.

13- Murashige, T. (1974). Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol., 25:135-166.

14- Murashige, T. and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiol, 15:473-497.

15- Thorpe, T.A. (1978). Physiological and biochemical aspects of organogenesis *in vitro*. In:Thorpe, T.A. (ed.). Frontiers of plant tissue culture. Univ. Calgary, Alberta, Canada, 49-58.

16- Tisserat, B. (1981). Production of free living date palm through tissue culture. Date Palm J., 1(1): 43-54.

17- Tisserat, B. (1988). Palm tissue culture. ARS-55, USDA, p:1-60.

18- Tisserat, B. (1991). Clonal propagation of palms. Plant tissue culture manual, C2:1-14.

19- Torrey, J.G. (1967). Development in flowering plant. The Macmillan Company, New York, p:112-134.

BUDDING OF DATE PALM (*Phoenix dactylifera* L.) C.V HILLAWI *In vitro*

A.A.S. AL-Khlifa

ABSTRACT

This study was effectuated at Date Palm tissue culture laboratory (Date Palm Research Center –Basrah University) during 2007, in the aim to formation of lateral buds from quarter apical buds of date palm offshoots c.v Hillawi.

The quarter apical buds treated pre culture by immerged in solution of plant growth regulators composed of 5, 10 mg/l (2iP) for 5, 10 minutes. these quarters were cultured on nutrient medium of (MS)salts full strength supplemented 30 g/l sucrose,1 g/l activated charcoal, 6 g/l agar, 1 mg/l NAA and several concentration of cytokinins (2iP or BA) 5,10 mg/l was tested . Cultures were incubated in darkness for two months at 27±1c° and sub cultured was done every four weeks then the culture was transfer to lights at 1000 lux at periods16 hours daily the results showed that:

1- **The immerged of the quarter apical buds in 10mg/l (2iP) for 5 and 10 minutes lead to formation of lateral buds in few period was reached 117 and 118 day respectively.**
2- **It showed the nutrient medium with 5 mg/l (2iP or BA) was stimulated to formation of lateral buds in short period significant compared to the other concentration.**
3- **The immerged treatment at 10minutes in 10mg/l (2iP) led to have higher number of lateral buds when they cultured on nutrient medium with 5 mg/l (2iP).**

Date Palm Research Center- Basrah Univ.- Basrah, Iraq.