إكثار نخيل التمر *Phoenix dactylifer* L. صنف الحلاوي خارج الجسم الحي

خيون علي محسن* نائل سامي جميل* حليمة جبار عبد الرزاق**

*مركز أبحاث النخيل/جامعة البصرة/العراق

**مركز علوم البحار/جامعة البصرة/العراق

Email : khaunali2000@yahoo.com

الخلاصة

نفذت الدراسة في مركز أبحاث النخيل/جامعة البصرة ، تم وصف طريقة لإكثار نخيل التمر صنف الحلاوي بواسطة الأجنة الخضرية Somatic Embryos والبراعم العرضية Adventious Buds من الكالس، كما تم وصف الأوساط الغذائية المعدة لكل مرحلة من مراحل النمو اذ درس تأثير نوع الأجزاء النباتية المزروعة في وسط MS وموعد زراعتها في درجة استجابتها للنمو.

وبينت نتائج الدراسة أن موعد الزراعة يلعب دوراً كبيراً في تطور الجزء النباتي اذ أعطت الأجزاء المزروعة في شهر كانون الأول وآذار نتائج ايجابية في خفض معنوي في نسبة التلوث البالغة فيهما 5 و10% ونسبة الاسمرار التي بلغت فيهما 0 و5% على التوالي، في حين تفوقا في نسبة استحثاث الكالس التي بلغت فيهما 25 و15% على التوالي، في حين اظهر موعد الزراعة لشهر حزيران أعلى نسبة تلوث واسمرار البالغة 40 و25% على التوالي، ولم يحصل أي استحثاث للكالس على الإطلاق من الأجزاء النباتية المزروعة في موعد حزيران. وتسبب البرعم القمي في خفض معنوي لنسبة التلوث والاسمرار الى10 و5% على التوالي وأعطت البادئات الورقية أعلى نسبة تلوث واسمرار واقل نسبة استحثاث للكالس بلغت 30و35و5% على التوالي، ولم يلاحظ أي اختلاف في تطور الكالس الناتج من البراعم القمية والبراعم الابطية والبادئات الورقية إلى كالس جنيني وأجنة خضرية من حيث الفترة الزمنية المستغرقة لتطوره وطبيعة نموه عند نقله إلى أوساط مزودة بتركيز 5 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA . وتم إنبات الأجنة الخضرية في وسط مزود بـ 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$NAA ، وعند نقل الكالس إلى وسط مزود بـ 2-3 ملغم.لتر$^{-1}$ BA مع 1-2ملغم.لتر$^{-1}$ NAA وخفض تركيز أملاح MS إلى النصف تطور الكالس إلى براعم عرضية التي استطالت في وسط مزود بتركيز 60 ملغم.لتر$^{-1}$ سلفات الأدنين وخالي من منظمات النمو ومن ثم جذرت في وسط مزود 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$NAA ، وتفوقت النبيتات الناتجة من الأجنة الخضرية وبفارق معنوي عن النبيتات الناتجة من البراعم العرضية عند أقلمتها للظروف الخارجية حيث بلغت النسبة فيهما 40و10% على التوالي.

كلمات مفتاحيه : أجنة خضرية، أقلمة، براعم عرضية، خارج الجسم الحي، كالس، نخيل التمر

1- المقدمة Introduction

نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. احد الأشجار الاقتصادية المهمة التي زرعت في وادي الرافدين إذ يعود تاريخها إلى أكثر من 4000 سنة قبل الميلاد وتعد نخلة التمر من الأشجار ذوات الفلقة الواحدة Monocotyledonous وهي من أشجار الفاكهة المستديمة الخضرة الأحادية الجنس الثنائية المسكن المنتشرة في مناطق واسعة من الشرق الاوسط وشمال افريقيا وبعض بلدان العالم (البكر،1972 و Sidkyand Zaid, 2011). يتم إكثار نخيل التمر جنسياً بواسطة البذور وخضرياً بواسطة الفسائل وتمتاز الأشجار الناتجة من البذور باختلافها من الناحية الوراثية عن الشجرة الأم وان نسبة الذكور والإناث فيها تصل الى50% تقريباً لذا تعتبر طريقة الإكثار بالفسائل هي المفضلة، إلا انه بسبب قلة الفسائل التي تنتجها النخلة في دورة حياتها من جهة وصعوبة قلع الفسائل وانخفاض نسبة نجاحها بعد الزراعة من جهة أخرى لذا اصبح من الصعب التوسع في أنشاء بساتين جديدة أو أخلاف النخيل القديم وبالنتيجة لجأ الباحثون إلى استخدام تقنية زراعة الأنسجة في هذا المجال إذ تعد هذه التقنية من التقانات الحديثة والتي تنتج أعداد كثيرة من النباتات بفترة زمنية قصيرة وخالية من الأمراض الفيروسية (مهدى،2002 و Al-Khayri, 2012).

شهد اكثار نخيل التمر بواسطة تقنية زراعة الانسجة اهتماما واسعا نتج عنه برامج لإكثار نخيل التمر لأغراض تجارية، اذ ان مصادر كثيرة وصفت تطور الاكثار الدقيق Micropropagation للنخيل بواسطة توالد الاعضاء Organogenesis مباشرة من القمة النامية او من الكالس او عن طريق التكوين الجنيني الجسمي Somatic embryogenesis اعتمادا على الحالة الوراثية للصنف وتوليفة الوسط الغذائي (ابحمان وآخرون 2001 و Jasim 2002 ومحسن 2007a ومحسن وعبدالقادر 2007 و محسن واخرون 2014 و Masri and Meziani, 2013 و Bekheat, 2013 و Abdolvand., *et al* 2014 و Jazinizadeh, *et al.* 2015).

تتوالد الاجنة الخضرية من الكالس بعد تغيرات بيوكيماوية biochemical ومظهرية morphological تحدث للخلايا الجسمية somatic cells المزروعة خارج الجسم الحي وان تكوين الاجنة الخضرية مشابهة لتكوين الاجنة الزايكوتية (Sane *et al.,*2012) ، ان تطور الاجنة الخضرية يمر بعدة مراحل متمثلة باستحثاث الكالس الاولي من الاجزاء النباتية Explant المزروعة في اوساط غذائية مصنعة وتحت ظروف معقمة الذي يتطور الى كالس جنيني embryogenic callus ومن ثم الى اجنة خضرية التي تعطي بعد انباتها نبيتات كاملة (Omar *et al.,* 1992 ; Khaieralla *et al.*2015) .

ان الاصناف ذات المحتوى العالي من الفينولات ادت الى خفض نسبة التلوث البكتيري وزيادة التلون البني وخفض نسبة الكالس المستحثة وكميتها للبراعم الطرفية المزروعة في الوسط الغذائي MS ، اذ دلت النتائج الى وجود ارتباط معنوي سالب بين محتوى الانسجة من الفينولات وبين نسبة التلوث واستحثاث الكالس بمعامل ارتباط قدره (−0.997 و −0.985)على التوالي (محسن واخرون، 2015).

تسهم تقنية الاكثار الدقيق في انتاج نبيتات كثيرة من الاجنة الخضرية الناتجة من الكالس الجنيني وان استحثاث الاجنة الخضرية يعتمد على عدة عوامل منها الحالة الوراثية للصنف ونوع الجزء النباتي المستخدم ومنظمات النمو النباتية المضافة الى الوسط الغذائي وظروف التحضين (Mazri and Meziani, 2015) . اشارت بعض التقارير والبحوث ان التحوير في مكونات الوسط الغذائي MS او اضافة بعض المواد الغذائية او الكيميائية حسنت من تكون الاجنة الخضرية وانضاجها وبالتالي انبات الاجنة تلك (محسن 2004 و محسن واخرون 2006 ومحسن b 2007 و محسن 2013 و Al-Mayahi, 2014 و Asemota *et al*. 2010).

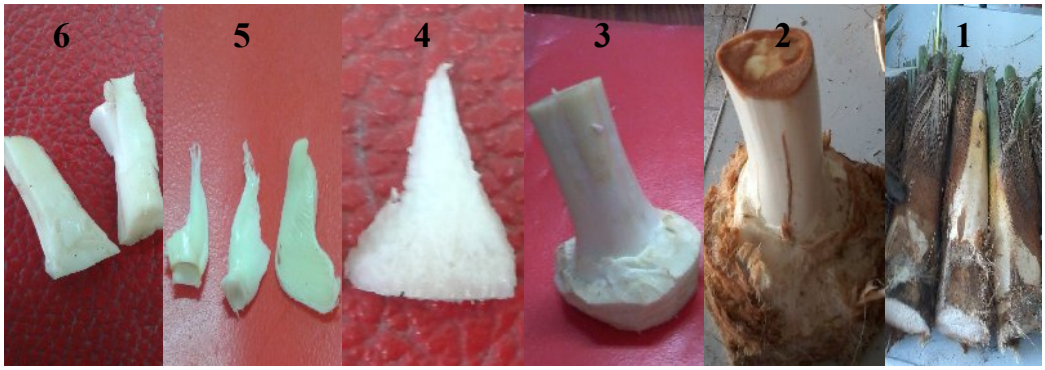
في هذا البحث تم وصف طريقة لإكثار نخيل التمر صنف الحلاوي بطريقة تكون الأجنة الخضرية وكذلك البراعم العرضية من الكالس باستعمال أوساط غذائية مختلفة لكل مرحلة لتحديد أفضل فترة لزراعة الأجزاء النباتية وأفضل جزء نباتي مستخدم في الزراعة بهدف إنتاج نبيتات قوية وأقلمتها للظروف الخارجية.

2- طريقة العمل Materials and Methods

2-1 تحضير الاجزاء الاولية Preparation of Primordial Segments

استخدم في هذا البحث نخيل التمر صنف الحلاوي والذي يعد هذا الصنف من الأصناف التجارية المهمة المنتشرةِ في محافظة البصرة.

جلبت الفسائل Offshoots بعد قلعها من أشجار نامية في بساتين منطقة شط العرب إلى مركز أبحاث النخيل في جامعة البصرة، تراوحت أعمار الفسائل من (3-5) سنوات شرحت الفسائل بواسطة سكين وتم نزع الليف والأوراق الخارجية الكبيرة عنها وفصلت الأوراق تصاعدياً وبالتدريج حتى الوصول إلى قلب الفسيلة (الجمارة) استخرجت الجمارة بارتفاع 4 سم وقطر 2 سم تقريباً و فصلت البراعم الجانبية الموجودة في آباط الأوراق وكذلك تم فصل البادئات الورقية (الأوراق الأولية) Leaf primordials (لوحة،1) ووضعت جميعاً في محلول مانع للأكسدة يحوي مزيج من حامض الاسكوربيك 150 ملغم.لتر$^{-1}$ وحامض ألستريك 100 ملغم.لتر$^{-1}$ لتجنب اسمرار الجزء النباتي(EL – Shafey *etal.*,1999) .



لوحة(1)1--فسائل جاهزة للتشريح 2- قلب الفسيلة3- برعم قمي (طرفي)4- ربع برعم قمي 5- البراعم الابطية 6- الأوراق الأولية

2-2 تحضير الأوساط الغذائية Preparation of Nutrients Mediums

استعمل في الزراعة عدة أوساط غذائية يختلف تركيبها حسب طور الزراعة مكونة من مجموعة أملاح موراشيج وسكوج (Murashig and Skoog ,1962) المعروفة بأملاح MS المنتجة من قبل شركة .Phytotechnology Lab Com ويمثل 4400 غم .لتر$^{-1}$ ويوضح الجدول (1) تركيب الأوساط الغذائية المستخدمة في هذا البحث. بعد تحضير الأوساط الغذائية وزعت داخل أنابيب اختبار 2.5 × 18 سم بمقدار 20 مل للأنبوب الواحد واستخدمت فلاسكات Flasks سعة 100 مل وجارات Jars سعة 300 مل كذلك وزع الوسط الغذائي فيهما بمعدل 40 مل للوعاء الواحد استعملت هذه الأوعية لغرض الزراعة الأولية وإكثار الكالس وتكوين الأجنة وإنباتها بالإضافة إلى تضاعف البراعم العرضية واستطالتها وتجذير النبيتات كذلك. سدت الأوعية بإحكام وعقمت بواسطة المعقام Autoclave على درجة حرارة 121مْ وضغط جوي 1.5 بار لمدة 20 دقيقة.

2-3 زراعة الأجزاء النباتية Explants Cultures

استخرجت الأجزاء النباتية من المحلول المانع للأكسدة وشذبت وقسمت البراعم القمية إلى أربعة أقسام متساوية تقريباً (مطر، 1986) ، ثم وضعت في محلول التعقيم المكون من 20% من هيبوكلورايت الصوديوم (القاصر التجاري) المضاف إليه قطرة واحدة من المادة الناشرة (Tween 20) لكل 100 سم^3 من محلول التعقيم مع الرج والتحريك ولمدة 15 دقيقة، استخرجت الأجزاء النباتية وغسلت بالماء المقطر المعقم عدة مرات وبعدها زرعت الأجزاء على الوسط الغذائي الخاص بالزراعة الأولية M1 من جدول (1) استخدمت ثلاثة أنواع من أنسجة نخيل التمر هي البراعم القمية، البراعم الابطية والبادئات الورقية (لوحة،1)، استخدمت أربعة مواعيد للزراعة هي كانون الأول ،آذار، حزيران وأيلول تم زراعة 20 أنبوبة لكل نوع من النسيج النباتي

حضنت الزروعات في الظلام على درجة حرارة 27 ± 1 °م وبعد ثلاثة مرات من عمليات إعادة الزراعة تكون الكالس، لغرض تنفيذ جميع المعاملات الخاصة بالبحث ابقي الكالس في الوسط الغذائي M1 لمدة شهرين إضافيين لتكوين كمية كافية من الكالس. تم نقل الكالس إلى الوسط M2 لمدة أربعة أشهر لغرض تحفيز تكون الكالس الجنيني ومن ثم نقل إلى الوسط M3 لغرض استحثاث الاجنة الخضرية مع مراعاة عمليات إعادة الزراعة Subculturing مرة كل30 يوم.

جدول (1): مكونات الوسط الغذائي

المحاليل / مكونات الوسط الغذائي	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
أملاح MS	قوة كاملة	=	=	=	½	½	½
سكروز	30000ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	=	40000	40000
ارثروفوسفات	170 ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	200	=	=
ميزوانيسيتول	100 ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	0	0	0
سلفات الأدنين	40 ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	40	60	=
ثيامين HCl	0.5 ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	=	=	=
كلايسن	2 ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	4	=	=
كلوتامين	200 ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	=	=	=
بيرودوكسين	1 ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	=	=	=
نيكوتين	1 ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	=	=	=
الفحم المنشط	1500 ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	250	=	=
مسحوق الاكر	5500 ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	5000	=	=
NAA	30 ملغم.لتر$^{-1}$	20	5	0.1	1 الى 2	0	0.1
2ip	3 ملغم.لتر$^{-1}$	=	2	0	0	0	0
BA	0 ملغم.لتر$^{-1}$	=	=	=	2 الى 3	0	0
pH	5.7	=	=	=	=	=	=

المادة المضافة على أساس ملغم.لتر$^{-1}$

(Murashige and Skoog, 1962) (MS)

Naphthalene acetic acid NAA

2-isopentenyle adenine 2-ip

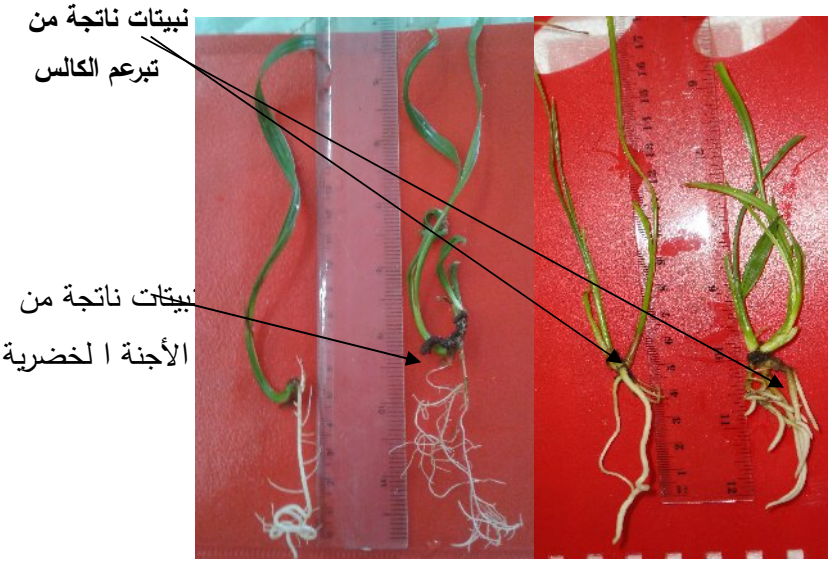
Benzyle adenine BA

ولغرض إنتاج البراعم الخضرية نقل الكالس من الوسط M1 في جدول (1) إلى الوسط M5 من الجدول نفسه وبعد مرور تسعة أشهر من الزراعة في هذا الوسط تكونت البراعم العرضية التي نقلت بعد تجزئتها إلى وسط الاستطالة M6 وبعد وصول النبيتات إلى طول 5 سم تقريبا نقلت إلى وسط التجذير M7 من الجدول (1) أيضا ومن الجدير ذكره الزروعات عند نقلها من الوسط

M1 إلى الأوساط اللاحقة عرضت للإضاءة بشدة 3000 لوكس لمدة 16 ساعة.يوم$^{-1}$، اجريت عمليات اعادة الزراعة subculture للزروعات مرة كل 30 يوم.

4-2 أقلمة النبيتات Acclimatization of Plantlets

بعد تجذير النبيتات الناتجة من الأجنة الخضرية والبراعم العرضية وعند صولها إلى طول 10-12 سم استخرجت من الأنابيب وغسلت بالماء الجاري(الحنفية) لغرض إزالة المواد العالقة بالجذور (لوحة، 2)

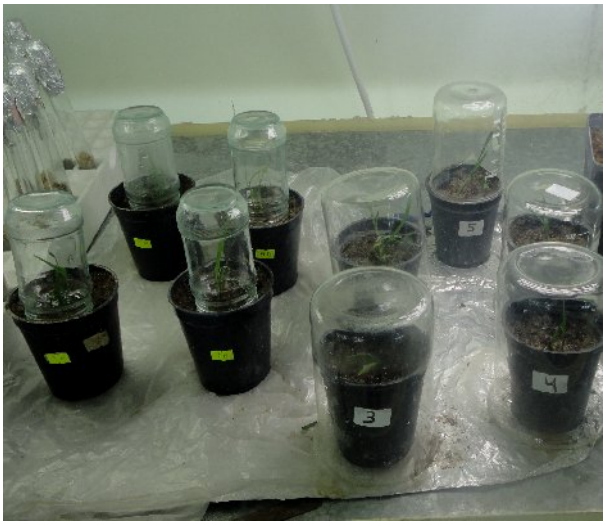


لوحة(2) إزالة المواد العالقة من جذور النبيتات

لوحة(3) تعقيم النبيتات

ولتفادي الإصابة بالفطريات وضعت في محلول يحتوي على 1غم.لتر$^{-1}$ من المبيد الفطري Elsa من إنتاج الشركة الهندية.United phosphorus LT D com لمدة 30 دقيقة (لوحة،

3)، تم زراعة النبيتات في الوسط الزراعي المتكون من البيت موس والرمل الناعم المغسول بالماء المقطر بنسبة 2:2 في سنادين قياس 10×10 سم ، خليط الوسط الزراعي عقم بواسطة جهاز التعقيم البخاري على درجة حرارة 121 °م وضغط بخاري 1.05 كغم.سم$^{-2}$ لمدة 30 دقيقة تم استعمال 10 نبيتات ناتجة من التكوين الجنيني ومثلها ناتجة من تبرعم الكالس اذ ان كل نبيت يمثل مكررا واحدا لكل معاملة من معاملات التجربة، لغرض احتساب نسبة النبيتات المتأقلمة اعتبرت النبيتات الناتجة من الأجنة الخضرية كمعاملة والنبيتات الناتجة من البراعم العرضية كمعاملة أخرى، بعد زراعة النبيتات في السنادين تم سقيها بالمبيد الفطري Elsa 1 غم.لتر$^{-1}$ بمقدار 50 سم^{3} للسندانة الواحدة ومن ثم سقيت النبيتات كل عشرة أيام مرة واحدة بمحلول هوكلندHoagland (Hoagland and Arnon,1940) المجهز من شركة Phytotechnolog Laboratories USA and Canada بمقدار ربع القوة اذ أن 1.63 غم.لتر$^{-1}$ تمثل قوة كاملة وعند الحاجة بالماء المقطر، تم تغطية النبيتات بأوعية زجاجية كما في (لوحة، 4) وبعد 10 أيام تم رفع الأغطية تدريجيا وبعد مرور ستة أسابيع من الزراعة تم رفع الأغطية بالكامل (لوحة،5)



لوحة(4) تغطية النبيتات

لوحة(5) النبيتات بعد 12 أسبوع من الأقلمة

وتم دراسة الصفات التالية:

1_ احتساب النسبة المئوية للتلوث والاسمرار والأجزاء النباتية المكونة للكالس وحسبت النسبة كالأتي: النسبة المئوية للتلوث = عدد الجزاء الملوثة / العدد الكلي للأجزاء المزروعة ×100

بالطريقة نفسها تم حساب نسبة الاسمرار ونسبة الأجزاء المكونة للكالس.

2- متابعة تطور الأجنة الخضرية والبراعم العرضية من الكالس.

3- حساب نسبة نجاح اقلمة النبيتات الناتجة من الأجنة الخضرية والبراعم العرضية.

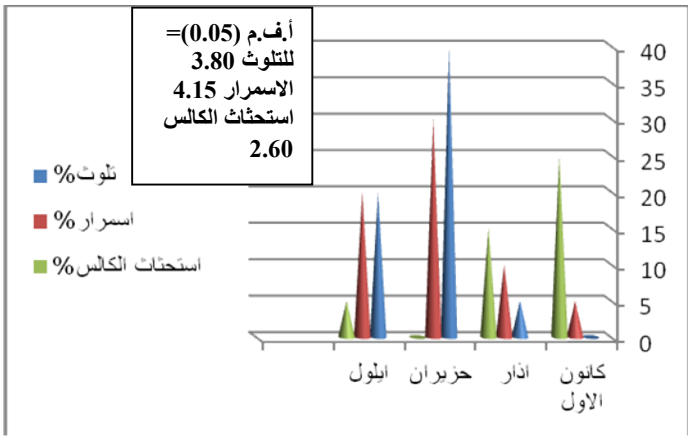
2-5 التحليل الاحصائي Statistics Analysis

نفذت التجربة بطريقة التصميم العشوائي الكامل CRD واختيرت معنوية المتوسطات حسب اختيار اقل فرق معنوي RLSD وبمستوى احتمال 5% (الراوي وخلف الله، 1980) تم استعمال 10 مكررات لكل معاملة ، استخدم برنامج التحليل الإحصائي الجاهز Genstat 2007 لتحليل النتائج.

3-النتائج والمناقشة Results and Discussion

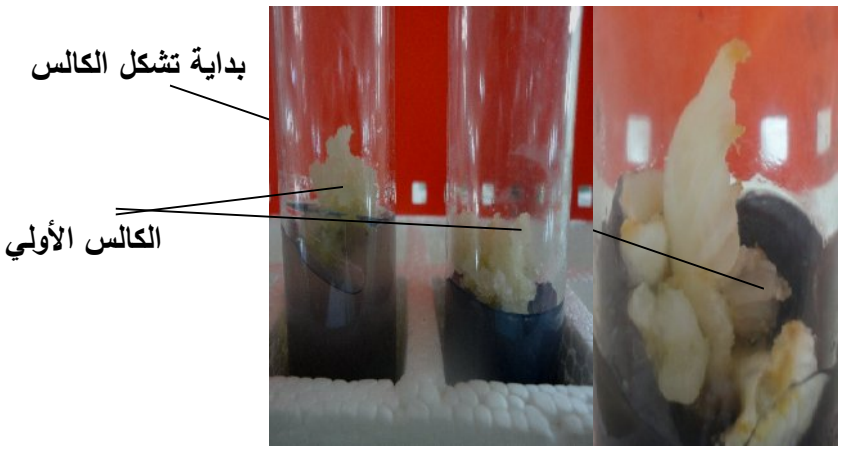
3-1 تأثير موعد زراعة الجزء النباتي في نسبة التلوث والاسمرار واستحثاث الكالس

اتضح من الشكل(1) أن التلوث قد تأثر بشكل معنوي في موعد الزراعة اذ لوحظ إن أعلى نسبة تلوث في الأجزاء النباتية بلغت 30% وذلك في موعد شهر حزيران وبفارق معنوي عن المواعيد الأخرى، تلاه في التأثير موعد شهري أيلول وآذار بنسبة 20 و10% على التوالي، أما اقل نسبة تلوث بلغت 5% وسجلت في موعد كانون الأول. وقد يعزى سبب الزيادة في نسبة التلوث في شهر حزيران إلى ارتفاع درجة الحرارة التي اسهمت في توفير ظروف ملائمة لنشاط وتكاثر الكائنات الدقيقة (البكتريا والفطريات) والتي تنفذ الى داخل النسيج النباتي اذ تحاول حماية نفسها من مواد التعقيم وبعد زراعة النسيج في الوسط الغذائي تخرج البكتريا والفطريات الى اسطح الجزء النباتي وتسبب في حدوث الاصابة بالتلوث (Leifert, 1994 و Al- Mussawi, 2010)، ان الكائنات الدقيقة تقوم بإنتاج جينات تساعدها في مقاومة ظروف التعقيم (Oudutayo, *et al*. 2007 و Mbah Wakil, 2012) ولوحظ من النتائج في الشكل (1) أيضا إن اسمرار الأجزاء النباتية تأثر بشكل معنوي في موعد زراعتها حيث انخفضت نسبة الاسمرار في شهري كانون الأول وآذار إلى صفر و5% على التوالي وبفارق معنوي عن الموعدين حزيران وأيلول إذ بلغت النسبة فيهما 40 و20% على التوالي، قد يعزى سبب الاسمرار الحاصل في الأنسجة النباتية إلى أكسدة الفينولات المتعددة الموجودة في الأنسجة النباتية إلى كينونات quinons ذات سمية عالية للنبات تحت تأثير إنزيمات الأكسدة ومنها البيروكسيديز (المالكي، 2004 و Messaoudi *et al*. 2013 و محسن واخرون 2015)، أما سبب انخفاض اسمرار الأجزاء النباتية في شهري كانون الأول وآذار وارتفاعها في حزيران وأيلول يعود إلى ارتفاع نشاط إنزيم البيروكسيديز في الصيف وانخفاضهِ في الشتاء والربيع (سعد 2001 و Al-Farsi and Lee, 2008).



شكل(1) تأثير موعد الزراعة في نسبة تلوث واسمرار واستحثاث الكالس للجزء النباتي

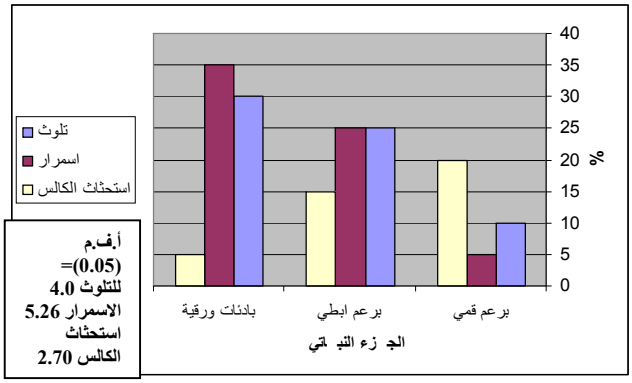
كما أشارت نتائج الدراسة في الشكل (1) إلى التأثير المعنوي لموعد زراعة الأنسجة في مدى استجابتها لاستحثاث الكالس فقد تم الحصول على الكالس (لوحة 5) من الأجزاء النباتية المزروعة في شهري كانون الأول بنسبة 25% وآذار بنسبة15% بينما الأجزاء النباتية المزروعة في حزيران لم تظهر أي استجابة للنمو اذ بلغت نسبة الاستجابة فيها صفر%، بينما أظهرت الزروعات في شهر أيلول نسبة استجابة بلغت 5% ، إن سبب ارتفاع نسبة تكون الكالس من الأجزاء النباتية المزروعة في كانون الأول وآذار قد يعود إلى الحالة الوراثية والفسلجية لصنف نخيل التمر او الى محتواها من الهرمون الداخلي Endogenous hormone ومنظمات النمو المضافة الى الوسط الغذائي وظروف التحضين، أو قد يعود إلى أن النشاط المرستيمي لهذه الأجزاء كان عاليا في هذين الموعدين من السنة (سعد2001 و Othmani *et al*.2009 و Mazri and Meziani, 2015 و محسن واخرون 2015).



لوحة(5) الكالس الأولي

3-2- تأثير نوع الجزء النباتي في نسبة التلوث والاسمرار واستحثاث الكالس

يتضح من الشكل (2) أن القمم النامية هي اقل الأجزاء النباتية عرضة للتلوث إذ سجلت خفضا معنويا في نسبة التلوث التي بلغت 10% مقارنة بالبراعم الابطية والبادئات الورقية حيث بلغت نسبة التلوث فيهما 25 و30% على التوالي، أن سبب الاختلاف في نسبة التلوث ربما يعود إلى الاختلاف في نشاط الخلايا المرستيمية بين الأجزاء النباتية المستعملة في الدراسة وهذا قد اثر في فعالية التعقيم السطحي للأجزاء النباتية قبل زراعتها نسيجيا (Tisserat, 1982 وسعد2001 و Taha *et al*. 2012 و Abass, 2013)، أو ربما يعزى هذا الاختلاف إلى كون الأنسجة الفتية تكون اقل تعرضاً للاصابة بالتلوث كون القنوات او الاوعية الناقلة للاحياء الدقيقة والفايروسات غير متكونة فيها بعد (مهدي، 2006 و Al-Musawi, 2010 و Abass *et al*. 2016) وجاءت النتائج متفقة مع ما وجده آخرون (المعري والغامدي، 1998 وسعد، 2001 ومحسن واخرون، 2015) اللذين وجدوا أن أعلى نسبة للتلوث حدثت للبراعم الابطية مقارنة بالبراعم القمية.



شكل(2) تأثير نوع الجزء النباتي في نسبة التلوث والاسمرار واستحثاث الكالس

وبين الشكل(2) أن الاسمرار تأثر بنوع النسيج النباتي وأظهرت البادئات الورقية أعلى نسبة بلغت 35% مسجلة تفوقا معنويا على البراعم الابطية والبرعم القمي حيث بلغت النسبة فيهما 25 و5% على التوالي، أشار (1984) Zaid و المعري (1995) إلى إن أنسجة نخيل التمر المزروعة خارج الجسم الحي تتميز بحدوث تغيرات في عملية بناء وتراكم بعض الفينولات إذ تميل الأنسجة إلى الاسمرار نتيجة لعملية أكسدة هذه المركبات بفعل إنزيمي Polyphenol Oxidase وألـ Peroxidase التي تتشكل منها كينونات Quinons سامة تؤدي إلى تثبيط شديد لنمو الأنسجة وسميتها وبالنتيجة اسوداد النسيج وموته وتحلله وان سمية هذه المركبات تعتمد على زيادة تركيزها في النسيج النباتي واشارت الى ذلك دراسات عديدة (بكري1994 و El-Shafey *et al*.,1999 و Messaoudi *et al*. 2013). واتضح من النتائج في الشكل (2) إن الأجزاء النباتية المزروعة اختلفت في نسبة تكوينها للكالس وتفوقت البراعم القمية إذ بلغت

النسبة فيها 20% مسجلة تفوقا معنويا عن البراعم الابطية والبادئات الورقية وبلغت النسبة فيهما 15 و 5% على التوالي، وقد يعزى سبب الاختلاف بين الأجزاء النباتية المزروعة في استجابتها لتكوين الكالس إلى تباين هذه الأجزاء في قوة نشاطها المرستيمي أو إلى اختلاف محتواها من الهرمونات الداخلية (نصر، 1996 و Hassan and Taha, 2012) وهناك دراسات عديدة كدت ذلك منها (بكري، 1994 و El-Shafey *et al.*,1999 و سعد،2001 و Messaoudi *et al*. 2013 ومحسن واخرون، 2015 و Abass *et al*. 2016).

3-3- استحثاث الكالس الجنيني وتكون الأجنة الخضرية وإنباتها

اتضح من نتائج الدراسة ان الكالس الذي تكون من البراعم القمية والبراعم الابطية والبادئات الورقية المزروعة في الوسط M1 تم نقله إلى الوسط M2 من جدول (1) وبعد مرور أربعة أشهر من الزراعة على ذلك الوسط تطور الكالس الأولي إلى كالس عقدي وهذه العقد تعرف بـ الكالس الجنيني او بادئات الأجنة الخضرية (لوحة 6) (مطر، 1986 و Sane *et al.,*2012) إذ لم يلاحظ أي اختلاف في تطور الكالس الناتج من البراعم القمية والبراعم الابطية والبادئات الورقية إلى كالس جنيني من حيث الفترة الزمنية المستغرقة لتطوره وطبيعة نمو كذلك. وعند نقل هذه العقد الجنينية النامية من الوسط M2 إلى الوسط M3 حسب المخطط في جدول (1) لوحظ وبعد مرور شهرين تطورت ألأجنة الخضرية منها (لوحة7) ، إن قطع النسيج المأخوذة من أجزاء نباتية مختلفة من الفسيلة متمثلة بالقمة النامية والبراعم الابطية والبادئات الورقية والبراعم الزهرية جميعها أنتجت الكالس وقد سجلت عند العديد من الباحثين (Omar *et al.* 1992 و Vermandi and Navaro, 1997 و جاسم ومحسن 2006 و محسن 2007 ومحسن وعبد القادر 2007 و Othmani *et al*.2009 و Taha *et al*. 2012 و Mazri and Meziani, 2015). ان عملية تكوين الاجنة الخضرية من الكالس تتضمن سلسلة من المراحل متمثلة بحث الكالس الجنيني، تكوين الجنين الخضري، نضج الجنين الخضري، انبات الجنين الخضري وتحوله الى نبيت كامل plantlet. ويمر الكالس عند تكوينه بثلاث مراحل (التحفيز والانقسام والتمايز) وان تقطيع الكالس وإعادة زراعته في أوساط غذائية جديدة ومشابه للوسط الذي تكون فيه أو مزود بتراكيز قليلة من الاوكسين يتطور إلى كالس عقدي يمثل بادئات الأجنة الخضرية (مطر 1986 و Sane *et al.,*2012). إن تطور الأجنة الخضرية من الطور الكروي الى الطور الاسطواني يحصل نتيجة لنقل الكالس الجنيني الى وسط غذائي خالي من منظمات النمو النباتية او مزود بتراكيز قليلة منها اذ يحدث تطور للأجنة الكروية وذلك بتوقفها عن الانقسام ويبدأ قطبها المرستيمي بالانقسام والنمو يصاحبه تمزق الغلاف الصلب للجنين الكروي وبذلك تحدث استطالة الفلقة وظهور الشكل الاسطواني للجنين الخضري (Brackpool,1986 و سلمان 1988 و Vermandi and Navaro, 1997). في الدراسة الحالية تم الحصول على

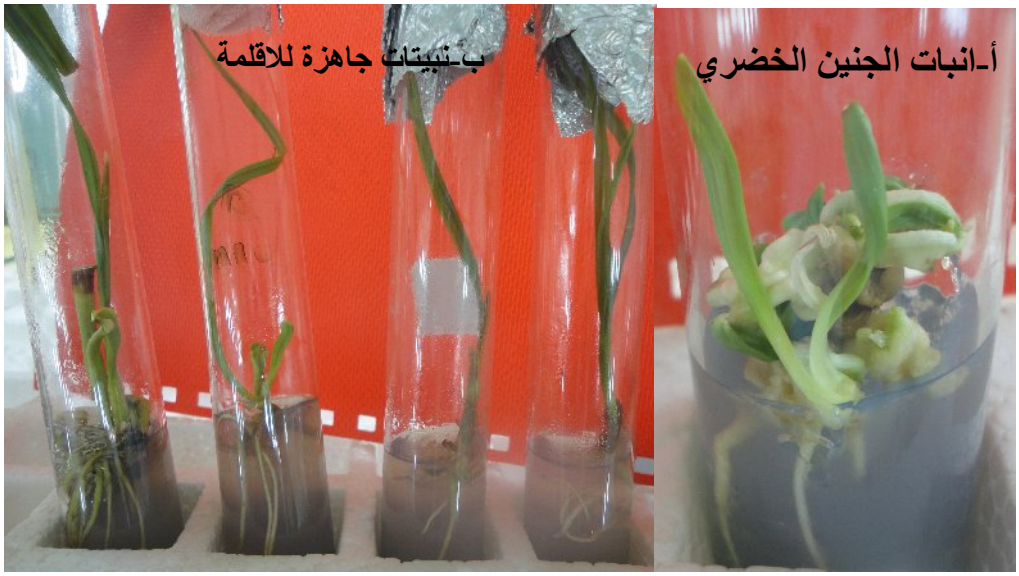
الاجنة الخضرية في وسط غذائي مزود بتركيز 5 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA و 2 ملغم.لتر$^{-1}$ 2i-p ومجموعة الفيتامينات الثيامين–HCl والبيرودوكسين والنيكوتين واضافة الحامضين الامينيين الكلايسين والكلوتامين وذكرت دراسات عديدة ان الاجنة الخضرية تتكون تحت تاثير عوامل عيديدة منها منظمات النمو النباتية المضافة الى الوسط الغذائي (El-Hadrami *et al*. 1995 و Eke, 2005 و Hassan and Taha, 2012 و محسن، 2013) والفيتامينات (Al-Khayri, 2001 و محسن واخرون، 2006) والاحماض الامينية (سعد، 2001 و محسن 2004 و Al-Khayri, 2010) ونترات الفضة (Al-Khayri and Al-Bahrany, 2001 و محسن، 2004 ومحسن، b2007) ومصادر الكربون (Hassan and Taha, 2012 و محسن، 2013 و Khieralla, *et al*. 2015) ومثبطات النمو (Al-Khayri and Al-Bahrany, 2012 و محسن، 2013 و Al-Mayahi, 2014 و Khieralla, *et al*. 2015) والحالة الفيزياوية للوسط الغذائي (محسن، 2004 و Mazri, 2012 و Al-Khateeb and Alturki, 2014).

لوحة(6) الكالس الجنيني

لوحة(7) الأجنة الخضرية

وعند الاستمرار بفصل الأجنة الخضرية وزراعتها في الوسط M4 من الجدول (1) وبعد مرور شهرين من زراعتها حدث انبات لتلك الأجنة إذ حدثت زيادة في حجم الفلق cotyledons للأجنة الخضرية وهذه الزيادة ناتجة من نمو القطب المرستيمي (قطب الساق والجذر) Shoot Root Pole اعقبه حدوث شق في الغلاف الفلقي للجنين الخضري ومن ثم بدا ظهور الجذر الأولى وظهور الوريقة الأولى (لوحة 8–أ)، وبعد مرور ستة أشهر من إنباتها أصبحت جاهزة للأقلمة (لوحة 8–ب) في الدراسة الحالية انبتت الاجنة الخضرية في وسط غذائي مزود بتركيز 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ من الاوكسينNAA واشارت دراسات عديدة باستعمال معاملات مختلفة من منظمات النمو النباتية بتراكيز قليلة في انبات الاجنة الخضرية (Zouin and Al-Hadrami,

2007 و Othmani, *et al*. 2009 و Al-Khayri and Al-Bahrany, 2012 و محسن، 2013 و Boufies, *et al*. 2014 و محسن واخرون، 2014)

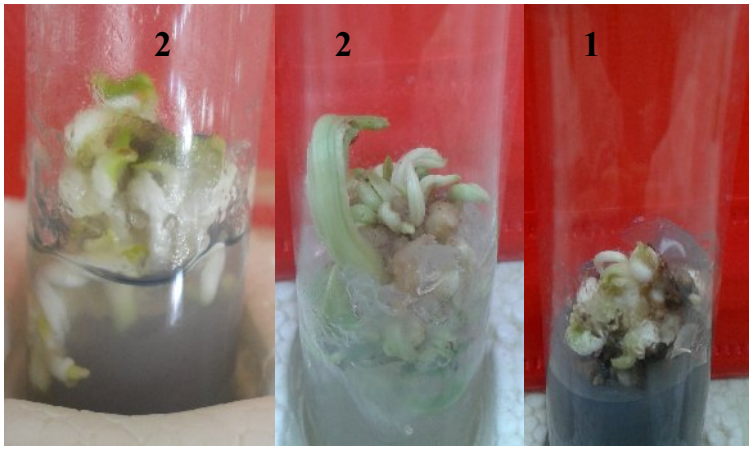


لوحة (8) أ- إنبات الجنين الخضري -ب نبيتات جاهزة للأقلمة

3-4- تطور البراعم العرضية من كالس نخيل التمر صنف الحلاوي

ان ظهور البراعم العرضية من الكالس تمثل في عدة مراحل هي الزراعة الأولية في الوسط M1 من الجدول (1) وبعد تكون الكالس نقل إلى الوسط M5 من الجدول نفسه المزود بتركيز 2 الى 3 ملغم.لتر$^{-1}$ من السايتوكاينين BA و 1-2 ملغم.لتر$^{-1}$ من الاوكسين NAA وبعد مرور تسعة أشهر من نمو الكالس في هذا الوسط بدأت البراعم العرضية بالتشكيل (لوحة 9-1) أي بعد مرور ثمان عمليات نقل ثانوية وان هذه البراعم أخذت بالازدياد والتكاثر في عمليات النقل المتتالية (لوحة 9-2) وقد يعزى هذا التطور إلى الدور الذي يؤديه التوازن بين تراكيز منظمات النمو السايتوكاينينات والاوكسينات في تحديد نمط التمايز الخلوي وتكوين الأعضاء خارج الجسم الحي، إذ يؤدي وجود تراكيز متوازنة نوعا ما من السايتوكاينينات والأوكسينات في الوسط الغذائي يحفز نشوء براعم خضرية تنمو إلى أفرع (Bekheat and Suker,1998 و Bekeat, 2013)، واوضح Thorp (1993) و Mazri and Maziani (2015) ان ظاهرة تكون الاعضاء Organogenesis في النسيج النباتي تمر بعدة تغيرات على مستوى النسيج النباتي اذ يحدث تكوين تراكيب احادية القطب جذور او افرع خضرية بدائية تكون مرتبطة بالنسيج الاصلي parent tissues، وان تكوين البراعم الخضرية (الافرع) يمر بسلسلة من المراحل هي مرحلة استحثاث البراعم، مرحلة التضاعف، مرحلة الاستطالة، مرحلة التجذير ومرحلة الاقلمة. ان استحثاث البراعم الخضرية يعتمد على عدة عوامل منها مكونات الوسط

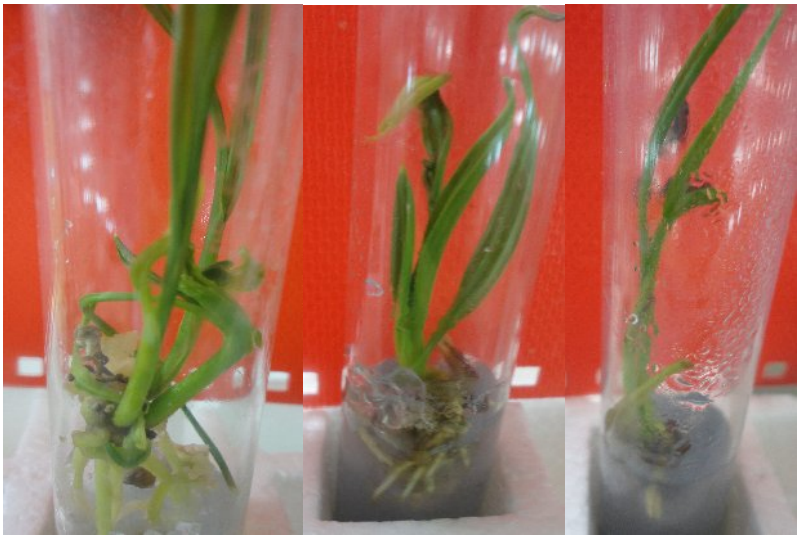
الغذائي والحالة الوراثية للصنف وفترة التحضين (المعري والغامدي، 1998 و Zaid *et al.* 2011 و Abhaman, 2011)، وجاءت النتائج متفقة مع آل خليفة(2007) الذي تمكن من استحثاث البراعم العرضية من كالس نخيل التمر صنف البرحي المزروع على وسط MS المزود بـ 5 ملغم.لتر$^{-1}$ من الـ 2-ip و 1 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA كما اتفقت نتائج الدراسة مع (محسن2007) الذي استحث البراعم العرضية من كالس نخيل التمر صنف الشريفي المزروع على وسط MS المزود بـ3 ملغم.لتر$^{-1}$ من الـ 2-ip و 1 ملغم.لتر$^{-1}$NAA. اشارت بعض الدراسات أن الأوكسين يعمل على تحفيز الجينات التي يقوم السايتوكاينين بالسيطرة على تعبيرها الجيني، وان نواتج التعبير الجيني للجينات المنظمة تؤدي دوراً أساسياً في العمليات البيولوجية ومنها انقسام الخلايا (خير الله 2007). البراعم الخضرية المتكونة في الوسط M5 نقلت بعد تجزئتها إلى وسط الاستطالة M6 (لوحة 10)، قد يعزى سبب استطالة البراعم إلى خلو الوسط الغذائي من منظمات النمو النباتية والى وجود كبريتات الأدنين بتركيز 60 ملغم.لتر$^{-1}$ والسكروز بتركيز 4000 ملغم.لتر$^{-1}$، واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Jasim (2002) و Mazri and Meziani (2013) اللذان حصلا على استطالة جيدة للبراعم المزروعة في وسط غذائي خالي من منظمات النمو النباتية ومزود بتركيز عالي من كبريتات الادنين والسكروز. بعد مرور شهرين من زراعة البراعم العرضية في وسط M6 (وسط الاستطالة) نقلت الى وسط التجذير M7 المذكورة تفاصيله في الجدول(1) (لوحة11) وبعد مرور 20 يوما بدأت الجذور بالظهور من قاعدة البراعم (لوحة 12) وأشارت بعض البحوث إلى وجود عدة عوامل تزيد من تجذير النموات النسيجية منها نوع الاوكسين المستخدم وتركيزه (Wang and Charles, 1991 و Bekheet, 2013)، في الدراسة الحالية استخدم الاوكسينNAA بتركيز 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ وتحدث عملية نشوء الجذور العرضية خارج الجسم الحي بأربعة خطوات متسلسلة تتضمن الخطوة الأولى نشوء مناطق مرستيمية عن طريق عملية فقدان التمايز لخلية أو مجموعة خلايا في الساق وهي الخلايا الفتية لأنسجة اللحاء أو الكامبيوم أو اللب، وبعدها تتضاعف هذه الخلايا وتكون مجاميع كروية الشكل، ويستمر تضاعف هذه الخلايا مع حدوث انقسامات مبرمجة فيها لتكوين مرستيمات الجذور Root meristemiods وأخيراً تستطيل الخلايا الموجودة في الجزء القاعدي للمرستيمات المتطورة لتنتج في النهاية بروزات الجذور الجديدة (Blakesley *et al*. 1991 و خير الله 2007)، إن السكروز عامل مهم في تكوين الجذور حيث أضيف بتركيز 40000 ملغم.لتر$^{-1}$ لوسط التجذير، ومن المعروف أن وجود السكروز في الوسط الغذائي يعد عاملاً اساسياً للتجذير خارج الجسم الحي (Pierik,1999 و المير، 2006) كما أشارت العديد من الأبحاث المتعلقة بزراعة أنسجة النباتات بأن خفض تركيز الأملاح الكبرى Macro salts لوسط MS يؤدي إلى تحسين التجذير وبشكل ملحوظ ،



لوحة(9) 1-بداية تشكل البراعم العرضية 2- تضاعف البراعم العرضية

لوحة (10) استطالة البراعم العرضية

لوحة (11) البراعم الخضرية المزروعة على وسط التجذير



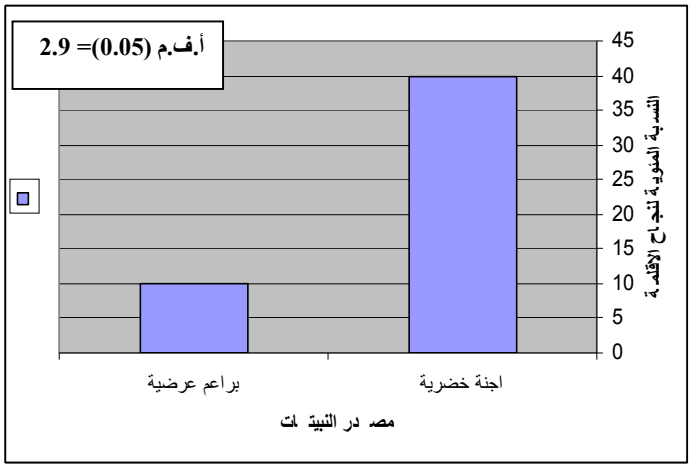
لوحة (12) تشكل الجذور من قاعدة البراعم الخضرية

اذ تم في هذه الدراسة خفض تركيز أملاح MS إلى النصف وان حدوث التجذير قد يعود إلى خفض تركيز النتروجين الكلي في الوسط الغذائي وليس إلى تقليل القوة الأيونية الكلية Total ionic strength له (George and Sherrington,1993) ، واتفقت نتيجة الدراسة الحالية مع ما توصل إليه (حميد، 2001 و المير، 2006 و Khierallah and Bader, 2006).

3-5- الأقلمة

يتضح من الشكل (3) إن النبيتات التي مصدرها الأجنة الخضرية تفوقت معنويا على النبيتات التي مصدرها البراعم العرضية المتكونة من الكالس في نسبة نجاح الأقلمة التي بلغت فيهما 40 و 10% على التوالي وذلك بعد مرور 12 أسبوعا من بدء الأقلمة، إن سبب انخفاض نسبة نجاح أقلمة نبيتات النخيل صنف الحلاوي التي مصدرها البراعم العرضية قد يعزى إلى عدم وجود تفرعات ثانوية من الجذر الرئيسي مقارنة بالنبيتات الناتجة من الأجنة الجسمية التي امتازت جذورها بوجود التفرعات الثانوية على الجذور الرئيسية (لوحة،2) إذ أن هذه التفرعات تزيد من معدل امتصاص الماء والعناصر الغذائية أثناء مرحلة الأقلمة وبالنتيجة عدم حصول خلل في التوازن المائي فضلاً عن احتواء النبيتات الناتجة من تبرعم الكالس على أوراق أكثر مقارنة بمثيلاتها الناتجة من الأجنة الخضرية (لوحة 8 و لوحة 11) ، وتختلف أوراق النبيتات في تركيبها عما عليه في النباتات الطبيعية إذ تتصف أوراق النبيتات النسيجية بضعف نمو طبقة الكيوتكل وهي طبقة الشمع التي تغلف الأوراق أو غيابها وكذلك الثغور الموجودة في الأوراق تكون مفتوحة ولا تكون كفوءة في عملها مما يتسبب في فقدان كمية كبيرة من الماء جراء عملية النتح Transpiration أثناء مرحلة الأقلمة مما ادى الى حدوث نسبة عالية من الفقد تراوحت ما بين 50-90% من مجموع النبيتات المعدة للأقلمة (Tisserat,1991 و Muhsen *et al.*

2013 و Mazri, 2014 و Darwesh, 2015). في هذا البحث تم التوصل إلى إكثار نخيل التمر صنف الحلاوي بطريقة تكوين الأجنة الخضرية Somatic embryogenesis وظهور البراعم الخضرية من الكالس Organogenesis وقد تم وصف المحاليل الخاصة بهاتين الطريقتين كما تم دراسة موعد زراعة الأجزاء النباتية وحددت أفضل فترة لزراعة الأنسجة ما بين كانون الأول وآذار كما تم تحديد أفضل جزء مستخدم هو البرعم ألقمي إذ أعطى أفضل استجابة للتطور إلى المراحل اللاحقة كما تم أقلمة النبيتات الناتجة بالطريقتين مع تفوق النبيتات الناتجة من الأجنة الخضرية على مثيلتها الناتجة من البراعم العرضية من الكالس لذا نوصي إجراء المزيد من الدراسات في استحثاث البراعم مباشرة من البراعم القمية وتحسين أقلمة النبيتات.



شكل(6) تأثير مصدر النبيتات في نسبة نجاح الأقلمة

6-المصادر

ابحمان، العربي و أنجاران ، محمد و البوجرفاوي، محمد (2001). تكنولوجيا الزراعة النسيجية وأهميتها في إكثار نخيل التمر *Phoenix dactylifer* L.. المركز القومي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة – شبكة بحوث وتطوير النخيل، نشرة إرشادية ، العدد (3) دمشق 2001.

البكر، عبد الجبار (1972). نخلة التمر ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعتها وتجاربها. مطبعة العاني، بغداد-العراق.

آل خليفة، عقيل عبود سهم (2007). تأثير بعض منظمات النمو والوسط الغذائي في إنتاج نبيتات من كالس نخيل التمر صنف البرحي خارج الجسم الحي. أطروحة دكتوراه، قسم البستنة والنخيل، كلية الزراعة، جامعة البصرة- العراق.

بكري ، خالد إبراهيم (1994). دراسة بعض العوامل المؤثرة على إنتاج وتطوير نسيج

الكالس في نخيل البلح باستخدام طرق زراعة الأنسجة النباتية ، رسالة ماجستير – كلية الزراعة– جامعة الزقازيق – جمهورية مصر العربية.

جاسم ، عباس مهدي ومحسن، خيون علي (2007). تكون الأجنة الخضرية من البراعم الزهرية لنخيل التمر L *Phoenix dactylifera* صنف البرحي خارج الجسم الحي. مجلة البصرة للعلوم الزراعية المجلد (1) العدد (20) 2007 .

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

خير الله ، حسام الدين سعد الدين محمد (2007). الإكثار الدقيق لصنفين من نخيل التمر L *Phoenix dactylifera* باستخدام الثورة الزهرية ودراسة الثبات الوراثي باستخدام مؤشرات تباين طول قطع الـ DNA المتضاعفة RFLP ، أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة– جامعة بغداد–العراق.

الراوي، خاشع محمود وخلف الله محمد عبد العزيز (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية وزارة العليم العالي والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر– جامعة الموصل 488 صفحة.

سعد، احمد عبد الله (2001). تأثير نوع الوسط الغذائي والسايتوكانين في نشوء الكالس وتكون الأجنة الخضرية في نخيل المر .L *Phoenix dactylifer* صنف الأشقر. رسالة ماجستير، قسم البستنة والنخيل، كلية الزراعة، جامعة البصرة– العراق.

سلمان ، محمد عباس (1988). أساسيات زراعة الأنسجة والخلايا النباتية وزارة التعليم والبحث العلمي – جامعة بغداد – العراق.

المالكي، زينب صباح لازم (2004). دراسة محتوى بعض اصناف العنب المحلي *Vitis vinifera* L. من المركبات الفينولية، اطروحة دكتوراه، قسم البستنة، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

محسن، خيون علي (2004). دراسات في تحسين تكون الاجنة الجسمية وانباتها لنخيل التمر .L *Phoenix dactylifer* صنف البرحي خارج الجسم الحي، رسالة ماجستير– قسم البستنة والنخيل– كلية الزراعة – جامعة البصرة – العراق.

محسن، خيون علي(b2007). تاثير الـ AgNO3 والـ BA على ظاهرة التزجج الذي يصيب الاجنة الجسمية لنخيل التمر.L *Phoenix dactylifer* صنف خصاب خارج الجسم الحيز مجلة جامعة كربلاء العلمية المجلد الخامس العدد الاول علمي، اذار ، 1–7.

محسن، خيون علي (a2007). أخلاف نخيل التمر *Phoenix dactylifer* L. صنف ألشريفي من مختلف الأجزاء القمية خارج الجسم الحي . مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر، المجلد (6) العدد (1) لسنة 2007.

محسن ، خيون علي وعبد القادر، لمى حسين (2007). مقارنة الأجزاء النباتية المختلفة في إخلاف نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L صنف أم الدهن خارج الجسم الحي ، مجلة أبحاث البصرة– العلميات، عدد خاص ، العدد العلمي الثالث للأحياء المهجرية (2007) قسم علوم الحياة.

محسن، خيون علي (2013). تاثير السكروز وPEG و ABA في الاسراع من بلوغ الاجنة الخضرية وانباتها واقلمة النبيتات الناتجة منها لصنفي النخيل البرحي والنيرسي *Phoenix dactylifer* L. اطروحة دكتوراه– قسم البستنة وهندسة الحدائق– كلية الزراعة – جامعة البصرة –العراق.

محسن، خيون علي و عباس مهدي جاسم و بتول حنون فالح الزبيدي (2014). تاثير مستخلص الذرة الصفراء ونفثالين حامض الخليك في تطور الكالس الجنيني وتكون الاجنة الخضرية وانباتها لنخيل التمر *Phoenix dactylifer* L. صنف البرحي خارج الجسم الحي. مجلة ابحاث البصرة (العلميات) العدد 40 العدد 4 B. .

محسن، خيون علي ومنى عبدالمطلب يحيى وعبدالكريم محمد عبد (2015). دراسة المحتوى الفينولي لانسجة بعض اصناف نخيل التمر *Phoenix dactylifer* L. وتاثيرها في تطور النسيج القمي المزروع خارج الجسم الحي. مجلة البصرة لابحاث نخلة التمر، المجلد: 14 العدد: 1 .

مطر، عبد الأمير مهدي (1986). دراسة تشريحية لنخلة التمر المكثرة خارج الجسم الحي، إصدارات ندوة النخيل الثانية ، جامعة الملك فيصل، الجزء الأول ، صفحة 76–86، المملكة العربية السعودية.

المعري، خليل وجيه (1995). إكثار نخيل التمر بوساطة تقنية زراعة الأنسجة النباتية، جامعة دمشق، كلية الزراعة/دمشق.

المعري، خليل وجيه والغامدي، عبد الله صالح (1995). تأثير موعد الزراعة على التكاثر الدقيقة لنخيل التمر صنف الهلالي . مجلة اتحاد الجامعات العربية للدراسات والبحوث الزراعية، جامعة عين شمس، القاهرة، مجلد (3) العدد (8) صفحة 151–167.

المعري، خليل وجيه والغامدي، عبد الله صالح (1998). اثر موعد زراعة الأجزاء النباتية على إكثار النخيل صنف الهلالي بالأنسجة النباتية . إصدارات الندوة العلمية لبحوث المملكة المغربية- مراكش 16-18/شباط 1998.

مهدي، الفاتح محمد (2002). زراعة الأنسجة النباتية في تطور الإنتاج الزراعي . وقائع وفعاليات الدورة التدريبية حول تطبيقات زراعة الأنسجة النباتية في تحسين الإنتاج الزراعي ، منشورات المنظمة العربية للتنمية الزراعي (21-27) يناير 2002 الدوحة- قطر.

مهدي، الفاتح محمد (2006). التقانة الحيوية، اهميتها ومجالات تطبيق التقانة الحيوية الزراعية في دولة قطر، بحوث مختبر زراعة الانسجة النباتية، دار البحوث الزراعية والمائية – الدوحة – قطر.

المير، أسامة نظيم جعفر. 2006. تأثير بعض المعاملات في أقلمة نبيتات نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف البرحي المكثرة خارج الجسم الحي. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة، جامعة البصرة – العراق.

نصر ، مهدي فريد (1996). أقلمة النبيتات الناتجة من زراعة الأنسجة المرحلة الثانية والأخيرة للأقلمة خارج المعمل ، الدورة التدريبية القومية حول إكثار فسائل النخيل باستخدام تقنية زراعة الأنسجة- القاهرة- جمهورية مصر العربية ، منشورات المنظمة العربية للتنمية الزراعية AOAD.

Abass, M. H. (2013). Microbial contaminations of date palm *Phoenix dactylifera* L. in Iraqi tissue culture laboratories. Emir, J. Food Agric. 2013. 25(11): 875-882.

Abass, M. H. ; Al- Utbi, S. D. and Al- Samir, E. A. (2016). Morphological and biochemical impact of different decontamination agents on date palm *Phoenix dactylifera* L. procallus. Australian Journal of Crop Science 10(7): 1022-1029.

Abdolvand, B. ; Zarghami, R. ; Hassani, H. ; Mardi, M. and Zakki, Z. (2014). Effect of 2,4-D and 2i-p hormones on embryogenesis Callus production and the effect of sucrose and concentration of MS salts on somatic embryogenesis of date palm cv. Medjool. Int. J. Farm. All Sci., 1188-1193.

Al-Faris, M. A. and Lee, C. Y. (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. Food Chimistry 2008, 108, 977-985.

Al-Khayri, J. (2001). Optimization of biotin and thiamine requirements for somatic embryogenesis of date palm *Phoenix Dactylifera* L. In vitro Cell Dev. Biol. Plant 37: 453-456.

Al-Khayri, J. (2010). Somatic embryogenesis of date palm *Phoenix dactylifera* L. improved by coconut water. Biotechnol. 9: 477-484.

Al-Khayri, J. (2012). Determination of the date palm cell suspension growth curve, optimum plantig efficiency, and influence of liquid medium on somatic embryogenesis. Emir. J. Food Agric. 2012. 24(5):444-445.

Al-Khayri, J. and Al-Bahrany, A. M. (2012). Effect of Abscisic acid and polyetheleneglycoal on the synchronization of somatic embryos development in date palm *Phoenix dactylifera* L. Biotechnol. 11: 318-325.

Al-Khateeb, A. A. and Alturki, S. M. (2014). A comparison of liquid and semi solid culture on shoot multiplication and rooting three date palm cultivars *Phoenix dactylifera* L. In vitro. Adv. Env. Biol. 8: 263-269.

Al- Mayahi, A. W. (2014). Effect of Copper Sulphate and Cobalt Chloride on Growth of the In vitro Culture Tissue for Date Palm *Phoenix dactylifer* L. cv. Ashger. American Journal of Agricultural and Biological Sciences. 9(1): 6-18.

Al-Musawi, M. A. (2010). The source of bacterial contamination of date palm *Phoenix dactylifera* L. tissue cultures Basra J. Date Palm Res. 9(2):132-146.

Asemota, O. ; Eke, C. R. ; Emoghene, B. O. ; Aisueni, N. O. ; Adetunji, O. A. ; Gidado, R. M. and Solomon, B. O. (2010). Investigation of Somatic Embryogenesis for In vitro Cultures of Date Palm *Phoenix dactylifer* L. Acta Hort. 882, ISHS 2010.

Bekheat, S. A. and Saker, M.M. (1998). *In vitro* Propagation of Egyptian Date Palm. II Direct and Indirect Shoot Proliferation from Shoot Tip Explants of *Phoenix dactylifera* L. CV. Zaghool. In 1st Inter-Conf. Date Palm, March- 1998. Al-Ain, UAE. P28.

Bekheat, S. (2013). Direct Organogenesis of Date Palm *Phoenix dactylifera* L. for Propagation of True - to – Type Plants. Sci. Agri. 4 (3), 85-92.

Blakesley, D.; Weston, G. D. and J. F. Hall. (1991). The role of endogenous auxin in root initiation. I. Evidence from studies on auxin application, and analysis of endogenous level. *Plant Growth Regul*. 10: 341-353.

Boufis, N. ; Khelifi, M. ; Zouin, O. and Morsli, A. (2014). Effects of growth regulators and types of culture media on somatic embryogenesis in date palm *Phoenix dactylifera* L. cv. Degla Beida. Sci. Hortic. 172: 135-142.

Darwesh, R. S. S. (2015). Morphology, physiology and anatomy in vitro affected acclimatization ex vitro date palm plantlets: A Review.

Inter. J. of Chem. Environ. And Biol. Sci. Vol. 3, Issue 2. 2015.

El-Hadrami, I. ; Cheikh, R. and Baaziz, M. (1995). Somatic embryogenesis and plant regeneration from shoot tip explants in *Phoenix dactylifera* L. Biol. Plant 37: 205-211.

El- Hammady, A.M., Wanas, W.H., Abo- Rawash, M. and Awad, A.A. (1999). Regeneration of date palm "Sewy" cv. Plantlets by somatic embryogenesis through callus with refers to the genetic stability. In: The Inter. Conf. date palm. Nov. 1999, Assiut Univ. Egypt. Pp 117-131.

Eke, C. R. ; Akomeah, P. and Asemota, O. (2005). Somatic embryogenesis of date palm *Phoenix dactylifera* L. from apical meristem tissues from Zebia and Loko landraces Afr. J. Biotechnol. 4: 244-246.

El – shafey , Y.H .Anesiem , M .R ;Habib , M .W . And Abdel-sattar (1999) Browning phenomenon serious problem in date palm tissue culture ; pro , the int Count date palm Nov. (1999). Assiut Univ . Egypt .pp : 53-74 .

George,E.L.F. and D.P. Sherington (1993). Plant Propagation by Tissue Culture.Second Edition.Exogenetics Ltd. England

Hassan, M. H. and Taha, R. A. (2012). Callogenesis, somatic embryogenesis and regeneration of date palm *Phoenix dactylifera* L. cultivar affected by carbohydrate sources. Int. J. Agric. Res. 7: 231-242.

Hogland,D.R.; Arnon, D.I.(1940).Crop production in artificial solution and in soils whith special refrences to factors in fluencing yieldsand absorption of inorganic nutrients. Soil Sci. 50, 463. cited in Mengel, K. and E.A Kirby (1982). Principles of Plant Nutrition. 3rd ed. Inter.Potash Inst. Bern.

Jasim, A. M. (2002). Budding of date palm *Phoenix dactylifer* L. cv. Barhi *in vitro*, Basra Date Palm J. Vol.2 No.1 and 2. 1-8.

Jarrah, A. Z.; Najin M. A. and Al-Bakir A. Y. (1988). The study of browning phenomenon of various date palm tissue in liquid medium. Symp. lrako francias surla culture de tissue dnpalmier-dattier, Baghdad. pp : 108-125.

Jazinizadeh, E. ; Zarghami, R. ; Majd, a. ; Iranbakhsh, A. and Tajaddod, G. (2015). In vitro production of date palm *Phoenix dactylifera* L. cv. Barhee plantlets through direct organogenesis. Biological Forum – An International Journal. 7(2): 566-572.

Khairalla, H. S. M. ; Al-Hamdany, M. H. S. ; Abdulkareem, A. A. and Saleh, F. F. (2015). Influence of Sucrose and Paclobutrazoal on Callus Growth and Somatic Embryogenesis in Date Palm cv. Bream. Int. J. Curr. Ress. Aca. Rev. 1:270-276.

Khierallah, H.S. and S.M. Bader. (2006). Micro Propagation Of Date Palm *Phoenix dactylifera* L. Var: Maktomm Through Direct Organogenesis. In: 3rd . Inter. Date Palm Conf, Feb, 2006, Abu-Dhabi, UAE.

Leifert, C. ; Morris, E. C. and Waites, M. W. (1994). Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants: reasons for contamination problems *in vitro*. C. R. Plant Sci. 13(2): 139-183.

Plant, 15: 473:47-97.

Mazri, M. A. (2014). Effect of plant growth regulator and carbon source on shoot proliferation and regeneration in date palm *Phoenix dactylifera* L. 16-bis. J. Hortic. Sci. Biotechnol. 89:415-422.

Mazri, M. A. and Meziani, R. (2013). An improved method for micropropagation and regenerationof date palm *Phoenix dactylifera* L. J. Plant Biochem. Biotechnol. 22(2): 176-184.

Mazri, M. A. and Meziani, R. (2015). Micropropagation of Date Palm: A Review. Cell Dev. Biol. 4:3.

Messaoudi, R. ; Souheila, A. ; Mansouri, A. ; Calokerinos, A. C. and Kefalas, P. (2013). Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Date-Pits of Seven Algerian Date Palm Fruit Varieties. International Journal of Food Properties, 16:5 1037-1047.

Muhsen, K. A. ; Jasim, A. M. and Abbas, K. I. (2013). Effect of NPK and Hogland solution on acclimatization of date palm plantlets *Phoenix dactylifera* L. cv. Barhee produced In vitro. Basra Sci. J. 39(4): 32-45.

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

Omar, M.S.; Hameed, M. K. and Al-Rawi, M.S. (1992). Micro propagation of Date Palm *Phoenix dactylifera* L. in bajaj, Y. P.S. ed. Biotech- nology in Agriculture and Foresty Vol.18 High-Tech- and Micropro- pagation II. Springervetlag, Berlin. Headel Bery, 471-492.

Othmani, A. ; Bayoudh, C. ; Drira, N. ; Marrakshi, M. and Trifi, M. (2009). Somatic embryogenesis and plant regeneration in date Palm *Phoenix dactylifera* L. cv. Boufeggous is significantly Improved by fine chopping and partial desiccation of embryogenic callus. Plant Cell Tiss. Organ. Cult. 97: 71-79.

Pierik, R.L. (1999). In Vitro Culture of Higher Plants. Third Edition. Martinus Nijn off Publishers. Nether Lands.

Sane, D. ; Bertossi, F. A. ; Diata, L. I. D. ; Gueye, B. ; Daher, A. ; Sagna, M. ; Duval, Y. and Borgel, A. (2012). Influence of Growth Regulator on Callogenesis and Somatic Embryo Development in

Date Palm of *Phoenix dactylifera* L. Sahelian Cultivars.

Sidky, R. A. and Z. E. Zaid. (2011). Directe production of somatic embryos and plant regeneration using TDZ and CPPU of date palm *Phoenix dactylifera* L. Int. J. Acad. Res. 3:792-796.

Taha, H. S. ; Bekheet, S. A. and El-Bahr, M. K. (2012). Anew concept for production and scaling up of bioactive compounds from Egyptian date palm (Zaghlool) cultivar using bioreactor.Emir. j. Food Agric. 2012. 24 (5): 425-433.

Tisserat, B. (1988). Palm Tissue Cuture. USDA, pp:1-60.

Tisserat, B. (1982). Factors In volved in the Production of Plant`1lets from Date Palm Cultures. Euphytica. 31:201-214.

Tisserate, B. (1991). Clonal propagation of palms. Plant tissue culture manual, C_2: 1-14.

Vermandi, J. and Navaro, L. (1997). Influence of explants sources of date palm (*Phoenix dactylifer* L.) on embryogenesis callus formation. Hort. Sci. J. 72 (5): 665-671.

Wang, P. J. and A. Charles 1991. Micro propagation through meristem culture. In: Bajaj, Y. P. S.,(ed) Biotechnology in Agriculture and Forestry,Vol. 17. High-tech. and Micro propagation. I. Springer, Verlag, Berlin, Heidelberg. pp. 32-52.

Zaid ,A . (1984)In vitro browning of tissue s and media special emphasis to data palm culture a review.

Zouine, J. and El-Hadrami, I. (2007). Effect of 2,4-D glutamine and BAP on embryogenic suspention culture of date palm *Phoenix dactylifera* L. Sci. Hortic. 112: 221-226.

Propagation of Date Palm *Phoenix dactylifer* L. cv. Hellawi by In vitro

***Khaun A. Muhsen *Nael S. Jameel **Haleema J. Alaradi**
***Date Palm Research Center Univ. of Basra- Iraq**
****Mareins science center Univ. of Basra- Iraq**

Summary

This study was conducted at the Date palm research center University of Basra. The study depended on propagation date palm cultivar Hillawi through somatic embryos and adventious buds from callus. The nutrient media are described at each stage of growth and the effect of cultured explants is MS and the date of culture were studied. The results showed that the date palm of culture played a great role developing the explants. The explants that were cultured in January and march showed positive effects leading to a significant decrease in the percentage of the contamination which reached 5 and 10% and percentage browning which was 5 and 0% respectively, whereas significantly increased in the percentage of callus induction which was 25% and 15% respectively. The date of June showed the highest contamination and browning that reached 40 and 25% respectively. No callus induction occurred at all from the culture explants June. The apical caused a decrease in the percentages of contamination and browning that were 10% and 5% respectively. Leaf primordia's showed the highest percentage of contamination and browning and less percentage of callus induction which was 30, 35 and 5%. No difference in callus development from apical buds, auxiliary buds and leaf primordia's was observed as far as the required time to its development, the nature of growth when transmitted to other media containing 5% mg.L^{-1} NAA. The somatic embryos were germinated in a medium containing 0.1 mg.L^{-1} NAA. When the callus was transformed to a medium containing 2 to 3 mg.L^{-1} BA and 1to 2 mg.L^{-1} NAA by lowering MS concentration to the half, the callus depended to adventious buds that prolonged in a media containing 60 mg.L^{-1} of adenine sulphates without any growth regulators. These buds was rooted in a medium containing 0.1 mg.L^{-1} NAA. The plantlets that resulted from the somatic embryos significantly increased than those that resulted from adventious buds when they were acclimatized to the outer conditions. The results were 40 and 10% respectively.

Key words: Acclimatization, Adventios buds, Callus, Date Palm, In vitro, somatic embryos.