

تأثير الـ AgNO_3 والـ BA على ظاهرة التزجج Vitrification في أجنة الجسم لنبات التمر *Phoenix dactylifera L.* صنف (خصاب) خارج الجسم الحي

خيون علي محسن / مركز أبحاث النخيل - جامعة البصرة - العراق

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مركز ابحاث النخيل - جامعة البصرة للفترة من ايلول 2004 ولغاية اب 2005 على نخيل التمر *L. Phoenix dactylifera*. صنف (خصاب) لمعرفة تأثير نترات الفضة AgNO_3 والسيتوکاينين البنز ايлен BA في نمو وتطور الكالس الجنيني وتكون الأجنة الخضرية وطبيعة نموها . استعملت سبعة تركيز من الـ AgNO_3 (0، 2، 4، 6، 8، 10، 12) ملغم/لتر وتركيزان من الـ BA (0 و 0.1) ملغم/لتر وقد أظهرت النتائج ما يلى: تفوق التركيزين (8 و 10) ملغم/لتر من الـ AgNO_3 في الوزن الطري للكالس الجنيني وبفارق معنوي عن التركيز الآخرى ، في حين تفوق التركيز 8 ملغم/لتر في عدد الأجنة الخضرية الأسطوانية المتكوتة وبفارق معنوي عن التركيز الآخرى في حين أعطى التركيز 6 ملغم/لتر أفضل نمو للأجنة الخضرية اذ ارتفعت فيه النسبة المئوية للأجنة الطبيعية (انخفضت فيه النسبة المئوية للأجنة المترتجة) وبفارق معنوي عن التركيز الآخرى. في حين اعطى تركيز المقارنة (صفر ملغم/لتر) اوطأ النتائج . وبينت نتائج الدراسة التفوق المعنوي للتركيز 0.1 ملغم/لتر BA على التركيز (صفر) منه في الوزن الطري للكالس الجنيني وكذلك في عدد الأجنة الخضرية الأسطوانية والنسبة المئوية للأجنة الطبيعية . كما اوضحت نتائج الدراسة ان هناك تداخلاً معنوباً وتفوق تداخل التركيزين (6 و 8) ملغم/لتر AgNO_3 مع 0.1 ملغم/لتر BA وبفارق معنوي عن التداخلات الآخرى في الوزن الطري للكالس الجنيني في حين تفوق تداخل التركيز 12 ملغم/لتر AgNO_3 مع 0.1 ملغم/لتر BA وبفارق معنوي عن التداخلات الآخرى في عدد الأجنة الخضرية الأسطوانية في حين تفوق تداخل التركيز 6 ملغم/لتر AgNO_3 مع 0.1 ملغم/لتر BA وبفارق معنوي عن التداخلات الآخرى في النسبة المئوية للأجنة الطبيعية اذ بلغت نسبتها (88) في حين اعطى تداخل المقارنة اوطأ النتائج .

Summary

The present study was undertaken at tissue culture Laboratory-Date palm research center of Basrah University from September 2004 to August 2005 to determine the effect of AgNO_3 and BA on the vitrified embryo in date palm (*Phoenix dactylifera L.*) CV. "Khasab" *In vitro*. seven concentration of AgNO_3 used (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12)mg/L and two concentration of BA (0, 0.1)mg/L.

The results were found the AgNO_3 addition at a concentration of 8 and 10 mg/L led to significant increased in fresh weight of embryogenic callus with other tested concentration, the somatic embryos were produced in higher numbers at concentration of 8 mg/L of AgNO_3 compared with other concentration whereas, 6 mg/L of AgNO_3 led to the best growth for somatic embryos, it decreased the percentage of vitrification and increased the percentage of normal somatic embryos compared with other concentration. The control treatment led to lower resulted. The addition of (BA) at concentration of (0.1 mg/L) led to significant increase in fresh weight of embryogenic callus, the number of cylindrical embryos and the percentage of normal embryos. Results also showed that interaction between of AgNO_3 at (6 , 8) mg/L and BA at (0.1) mg/L led to significant increased in fresh weight of embryogenic callus compared with other interaction, AgNO_3 at (12)mg/L and BA at (0.1)mg/L led to significant increased the number of somatic embryos, while AgNO_3 at (6 mg/L) and BA at (0.1 mg/L) led to significant increased the percentage of normal embryos was (88) compared with other interaction the control interaction led to lower resulted.

المقدمة

بعد نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* من أهم أشجار الفاكهة المستديمة الخضراء والنامية في العراق حيث توجد منه أصناف عالية الجودة ونادرة والطريقة الوحيدة لإكثار هذه الأصناف هو الفسائل offshoots لغرض الحصول على خصائص الصنف نفسه وان زراعة مثل هذه الأصناف الممتازة على نطاق واسع في القطر يعتمد على مدى توفر الفسائل من جانب وارتفاع أسعارها من جانب آخر وبالنظر الى استخدام تقنية الإكثار الدقيق لإكثار النخيل والتي يمكن أن تسهم في توفير الفسائل وبأعداد وفيرة إلا انه لا زالت الكثير من المعيقات والمشكلات تواجه الإكثار بهذه الطريقة منها التلوث Contamination واسمرار التسخين النباتي Browning ومرض الشفافية او ظاهرة التزوج Vitrification الذي يبدو فيه التسخين والأجنة ذات مظهر ابيض شفاف وضعيفة نتيجة لحصول اضطراب فسلجي في نموه وبالتالي يؤدي الى عدم تطور الأجنة الى نباتات Plantlets (المعربي ، 1995). وان من أهم أسباب ظاهرة التزوج هو زيادة تركيز الساينتو كالبينات وأملاح النيترات المضافة الى الوسط الغذائي وكذلك زيادة تركيز غاز الاثيلين المتكون داخل الأنابيب الزراعية نتيجة لطول فترة الزرع(المعربي والعامدي،1995; Al-Khayri and Bautista, 1999; Kuwari *et al.*, 1998) وإن تقليل تركيز أملاح النيترات الى النصف في الوسط الزراعي أدى الى إنتاج أجنة طبيعية وخالية من ظاهرة التزوج داخل المختبر في نخيل التمر صنف الخلاص. ووجد Al-Khayri and Al-Bahrany (2001) و محسن (2004) إن إضافة نترات الفضة الى الأوساط الغذائية الخاصة بإكثار الكالس أدى الى زيادة في إنتاج أجنة طبيعية قادرة على الإنبات وبشكل جيد. ونظراً لقلة الدراسات في مجال استخدام نترات الفضة AgNO_3 والساينتو كالبينين الـ BA في الأوساط الزراعية . أجريت الدراسة لمعرفة مدى تأثير الـ AgNO_3 و BA والـ BA و التداخل بينهما في تطور الكالس الجنيني وإنتاج أجنة تخلو من مرض الشفافية (التزوج) .

المواد وطرق العمل

1- استئصال الفسائل والبراعم:

نفذت هذه الدراسة في مركز ابحاث نخيل جامعة البصرة للفترة من ايلول 2004 لغاية آب 2005 .

فصلت فسائل نخيل التمر صنف الخاصب ذات أعمار تتراوح من (2-3) سنة من أشجار نخيل مثمرة من منطقة الهارثة شمال البصرة. جرى تشيريع الفسائل بواسطة سكين خاصة حيث أزيلت أوراقها وأليافها تصاعدياً حتى الوصول الى قلب الفسيلة Shoot tip ومن خلال ذلك تم استئصال البراعم الابطية، وبعد استخراج البراعم القمية ثم تشذيبها وتجزئتها الى أربعة أقسام متساوية (مطر، 1986). غسلت جميعاً بالماء المقطر وبعدها وضعت البراعم الابطية وأربع البراعم القمية في محلول مانع للأكسدة يتكون من 150 ملغم/لتر حامض الستريك و 100 ملغم/لتر من حامض الاسكوربيك وحفظت في الثلاجة على حرارة 4°C ولحين أجراء عملية التعقيم السطحي.

2- تعقيم الأجزاء النباتية :Explant

عقمت الأجزاء النباتية بوضعها في محلول هيبوكلورايت الصوديوم (القاصر التجاري) بتركيز 20% حجم/حجم المزودة بقطرة واحدة من المادة الناشزة (Tween-20) لكل 100 سم³ من محلول التعقيم مع الرج والتحريك بين الفينة والأخرى ولمدة 15 دقيقة بعدها استخرجت الأجزاء النباتية وغسلت بالماء المقطر المعمق ثلاثة مرات تمت هذه العملية داخل منضدة الزرع Laminar-air Flaw hood . بعد ذلك تمت زراعتها على الوسط المعد مسبقاً داخل أنابيب أبعادها 25 × 185 ملم والمحتوية على 20 مل من الوسط الغذائي الصلب المعمق داخل جهاز التعقيم البخاري (المعقام Autooclave) على حرارة 121°C وضغط 1.05 بار.

3- الوسط الغذائي وظروف التحضين:

تكون الوسط الغذائي من أملاح MS (Murashige and Skoog,1962) المزود ب 30 ملغم/لتر NAA (Naphthalene acitic acid) و 3 ملغم/لتر من Isopentenyle adenine (2-ip) و 3 غم/لتر من مسحوق الفحم بعد الانتهاء من زراعة الأجزاء النباتية داخل أنابيب الزراعة ، حضنت في الظلام على حرارة 27 ± 1°C، تمت عمليات إعادة الزراعة (Reculture) على نفس الوسط الغذائي الجديد Fresh media مرة كل شهر. وبعد مرور (-1.5-2.0) شهر تكون الكالس الهش والذي قطع وأعيدت زراعته (Subculture) على نفس الأوساط لمدة 4 أشهر في الظلام وبعدها تم نقل الزروعات الى الإضاءة لمدة 16 ساعة ضوئية وشدة 1000 لوكس وبعد شهر من نقل الزروعات الى الإضاءة تكون الكالس العقدي (الجنيني) embryogenic callus وهو أشبه بحبسيات عقدية عبارة عن بادئات الأجنة

الحضرية Embryoids (صورة 1). وبعد تكون هذه العقد تم نقلها على وسط التجربة المكون من مكونات الوسط نفسه لحث الكالس مع استبعاد NAA والـ ip-2 . زود الوسط بتراكيز مختلفة من AgNO_3 (0، 2، 4، 6، 8، 10، 12) ملغم/لتر مع استخدام تركيزان من السايتوكابينين الـ BA (0.1 ملغم/لتر). حضنت الزروعات في غرفة النمو على حرارة 27 ± 1 م وشدة إضاءة 1000 لوكس، تم زراعة 200 ملغم كالس جنيني في الأنبوة الواحدة استخدمت 10 مكررات لكل معاملة . نفذت التجربة بطريقة التصميم العشوائي الكامل (CRD) و اختبرت معنوية المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي معدل (R.L.S.D) وبمستوى احتمال 5% (الراوي وخلف الله ، 1980) . وقد تضمنت التجربة دراسة ما يلي:

- 1 الوزن الطري للكالس الجنيني بعد شهرين من النقل إلى الوسط المطلوب دراسة تأثيره.
- 2 حساب عدد الأجنة الاسطوانية المكونة من 200 ملغم كالس جنيني.
- 3 حساب النسبة المئوية للأجنة الطبيعية والمترجحة (صورة 2 ، 3) .

النتائج والمناقشة

1- الوزن الطري (غم):

يلاحظ من الجدول (1) وجود تأثير معنوي عند اضافة نترات الفضة الى الوسط الغذائي اذ تفوق التركيز (8 ملغم/لتر) في الوزن الطري للكالس الجنيني وبفارق معنوي عن باقي التراكيز اذ بلغ معدل الوزن (2.63 غم) مع عدم وجود فرق معنوي مع التركيز (10 ملغم/لتر) الذي بلغ معدل الوزن فيه 2.60 غم. وقد يعزى سبب الزيادة في الوزن الطري الى وجود ايون الفضة (+Ag) في الوسط الغذائي والذي يرتبط عمل الايثيلين المكون داخل الأنابيب الزرعية من خلال ارتباطه بالجزء الفعال (Active site) للإنزيمات المحللة للخلايا الـ Pectinase والـ Cellelulase مما ينتج عنه زيادة في النمو (Al-Khayri and Al-Bahrany,2001 ; Saltveite *et al.*,1977) . ونلاحظ ايضاً ان الوزن الطري انخفض عند التركيز (12 ملغم/لتر) ليصل الى 2.57 غم مع عدم وجود فرق معنوي مع التركيز (10 ملغم/لتر) ، ان سبب الانخفاض ربما يعود الى زيادة تركيز (+Ag) في الوسط الزراعي مما ادى الى السمية اذ يعده عنصر الفضة من العناصر الفلزية الثقيلة السامة (Saltveite *et al.*,1977) اما اقل معدل وزن طري ظهر عند اضافة التركيز (2 ملغم/لتر) مع عدم وجود فرق معنوي مع تركيز المقارنة. وبينت النتائج ان هناك تفوقاً معنوياً للتركيز (0.1 ملغم/لتر) على التركيز (صفر ملغم/لتر) في معدل الوزن الطري للكالس الجنيني الذي بلغ فيهما (2.82 و 1.94) غم على التوالي. وقد يعزى سبب الزيادة في معدل الوزن الى وجود السايتوكابينين في الوسط الغذائي اذ يعده محفزاً لانقسام خلايا الكالس الجنيني وتخصصها نتيجة لدوره الكبير في تطليق الحامض النووي الـ (DNA) والـ (RNA) وتكون الإنزيمات المهمة في عملية انقسام النواة والسايتوبلازم (المعربي، 1995 و بكري، 1994) . كما اوضحت النتائج ايضاً وجود اختلافات معنوية نتيجة لتدخل الـ AgNO_3 والـ BA في الوزن الطري للكالس الجنيني وتفوق تداخل المعاملة (6 ملغم/لتر) AgNO_3 مع (0.1 ملغم/لتر) BA وبفارق معنوي عن المعاملات الاخرى ليصل معدل الوزن الطري الى 3.18 غم مع عدم وجود فرق معنوي مع المعاملة (8 ملغم/لتر) AgNO_3 و (0.1 ملغم/لتر) BA الذي بلغ 3.12 غم. اما اقل وزن طري بلغ 1.26 غم وذلك في معاملة (المقارنة) الخالية من AgNO_3 والـ BA . وجاءت هذه النتائج متتفقة مع (محسن، 2004 ؛ 2001 ؛ Al-Khayri and Al-Bahrany,2001).

2- عدد الأجنة الاسطوانية:

يتضح من نتائج الجدول (2) وجود تأثير معنوي لزيادة تركيز AgNO_3 في عدد الأجنة الاسطوانية المكونة من 200 ملغم كالس جنيني وتفوق التركيز (8 ملغم/لتر) وبفارق معنوي عن باقي التراكيز اذ بلغ عدد الأجنة 21 جنيناً اسطوانياً وتلاه في التأثير التركيز (12 ملغم/لتر) مع عدم وجود فرق معنوي مع التركيزين (10 و 6) ملغم/لتر او انخفضت الأجنة الاسطوانية الى ادنى عدد لها (13.75) جنيناً وذلك في معاملة المقارنة (صفر ملغم/لتر) AgNO_3 . ان سبب الزيادة في عدد الأجنة الاسطوانية ربما يعود الى وجود (+Ag) في الوسط الغذائي الذي يحد من دور الايثيلين اذ تؤدي التراكيز العالية من الايثيلين الى زيادة فعالية إنزيمي السيليلولوز والبكتينز مما يتسبب عنها تحطم الكتل الجنينية قبل نشوء القطبية لها وهذه القطبية ضرورية لكي يحدث التطور اللاحق للاجنة (Wochok and Wetherell,1971).

ويلاحظ من الجدول ايضاً تفوق التركيز (0.1 ملغم/لتر) BA على التركيز (صفر) في عدد الأجنة الاسطوانية الذي بلغ 24.80 جنيناً مقارنة بالتركيز (0.1 ملغم/لتر) BA . وقد يعزى سبب الزيادة في عدد الأجنة الاسطوانية الى وجود السايتوكابينين الـ BA في الوسط الغذائي الذي يسهم في عملية توالد الاجنة من الكالس الجنيني ذلك من خلال دورة النشط في الانقسام الخلوي وكذلك تميز الخلايا وتخصصها (المعربي، 1995 ؛ مطر، 1988).

اوأوضحت النتائج ايضاً وجود اختلافات معنوية نتيجة لتدخل الـ AgNO_3 والـ BA في عدد الاجنة الاسطوانية وتفوق تداخل المعاملة (12 ملغم/لتر) AgNO_3 مع (0.1 ملغم/لتر) BA اذ بلغ عدد الاجنة الاسطوانية منها 33 جنيناً. اما اقل عدد من الاجنة ظهر نتيجة لتدخل معاملة المقارنة الخالية من الـ AgNO_3 والـ BA مع عدم وجود فرق

معنوي مع المعاملة (12 ملغم/لتر) AgNO_3 و (صفر ملغم/لتر) BA. وجاءت هذه النتائج متقدمة مع (محسن، 2004 ؛ (Al-Khayri and Al-Bahrany, 2001).

3- طبيعة نمو الاجنة:

يتضح من نتائج الجدول (3) تفوق التركيز (6 ملغم/لتر) AgNO_3 وبفارق معنوي عن التركيز الآخر في النسبة المئوية للاجنة الطبيعية اذ بلغت فيها 75.50%. ويعزى سبب ارتفاع النسبة المئوية للاجنة الطبيعية (انخفاض نسبة التزوج) الى وجود نترات الفضة في الوسط الغذائي الذي ادى الى تحسين تكون الاجنة الخضرية نتيجة لدوره في الحد من غاز الاثيلين المكون داخل الانابيب الزرقاء (Al-Khayri and Al-Bahrany, 2001) كما نلاحظ من الجدول ايضاً انه بزيادة تركيز نترات الفضة اعلى من (6 ملغم/لتر) بدات الاجنة الطبيعية بالانخفاض أي اصبع زيادة في النسبة المئوية للاجنة المتزوجة وربما هذا يعود الى زيادة تركيز النترات نتيجة لتحلل AgNO_3 وذوبانه في الوسط الغذائي اذ تعد زيادة تركيز النترات احد اسباب ظاهرة التزوج الذي يصيب الانسجة الممزروعة داخل الانابيب (Al-Kuwari et al., 1998) او ربما يعود الى زيادة تركيز (Ag^+) الذي يعد من العناصر الفلزية الثقيلة السامة اذ تؤدي تركيزاته العالية الى موت الانسجة بعد فترة زمنية قصيرة (محسن، 2004 ؛ Al-Khayri and Al-Bahrany, 2001). اما اقل نسبة مئوية للاجنة الطبيعية ظهر في التركيز (صفر ملغم/لتر) (المقارنة). واوضحت نتائج التجربة التفوق المعنوي للتركيز (0.1 ملغم/لتر) BA على التركيز (صفر ملغم/لتر) في النسبة المئوية للاجنة الطبيعية البالغة فيها (45.57 و 66.57) وعلى التوالي. كما اوضح الجدول ان هناك اختلافات معنوية نتيجة لتدخل AgNO_3 والـ BA في طبيعة نمو الاجنة الخضرية الاسطوانية، وتتفوقت المعاملة (6 ملغم/لتر) AgNO_3 مع (0.1 ملغم/لتر) BA وبفارق معنوي عن المعاملات الاخرى في النسبة المئوية للاجنة الطبيعية البالغة 88 في حين بلغت اوطا نسبة للاجنة الطبيعية (اعلى نسبة للتزوج) وذلك في معاملة المقارنة الخالية من AgNO_3 والـ BA. ويلاحظ من خلال النتائج ان النسبة المئوية للاجنة الطبيعية كانت اعلى نتيجة لتدخل تركيز AgNO_3 مع (0.1 ملغم/لتر) BA مقارنة بتدخل AgNO_3 مع التركيز (صفر ملغم/لتر) BA. ان الاختلاف هذا قد يعود نتيجة للعمل التعااضي بين (Ag^+) و (BA) في الوسط الزراعي اذ يعمل ايون الفضة على تشطيط فعالية انزيمات السيليلوليز والبكتيريز أما BA يعمل في بناء وتقويم الانزيمات المهمة في عملية انقسام الخلايا وبالتالي يؤدي الى زيادة في النمو والتخصص وجاءت هذه النتيجة متقدمة مع ما توصل اليه (Al-Kuwari et al., 1998).

من خلال الدراسة يمكن ان نستنتج ان اضافة AgNO_3 وـ BA الى الوسط الغذائي الخاص باكتثار الكالس الجنيني لتخليل التمر ادى الى زيادة معنوية في الوزن الطري وعدد الاجنة الاسطوانية المكونة وكذلك في زيادة النسبة المئوية للاجنة الطبيعية (أي انخفاض نسبة التزوج للاجنة). لذا توصي الدراسة باضافة (6 ملغم/لتر) AgNO_3 و 0.1 ملغم/لتر BA الى الوسط الغذائي بهدف انتاج اجنة طبيعية خالية من مرض الشفافية (التزوج).



صورة(1) الكالس الجنيني



صورة(2) الجنين الجسيمي الطبيعي



صورة(3) الأجنة المتزججة

جدول (1) تأثير الـ AgNO_3 والـ BA في الوزن الطري لكالس الجنيني (غم).

Mg Ag NO ₃	0.1	0	BA mg/L Ag NO ₃ mg/L
	2.08	2.90	0
1.96	2.35	1.57	2
2.28	2.81	1.74	4
2.56	3.18	1.93	6
2.63	3.12	2.15	8
2.60	2.75	2.44	10
2.57	2.66	2.48	12
	2.82	1.94	Mg BA
0.12 = للداخل	0.04 = BA	0.05 = AgNO ₃	R.L.S.D 0.05

جدول(2) تأثير الـ AgNO₃ والـ BA في عدد الأجنحة الخضرية.

Mg Ag NO ₃	0.1	0	BA mg/L Ag NO ₃ mg/L
	10.75	17.00	0
13.60	20.40	6.80	2
16.80	23.60	10.00	4
17.80	25.00	10.60	6
21.00	29.00	13.00	8
17.10	26.00	8.20	10
18.58	33.00	4.70	12
	24.80	8.24	Mg BA
2.00 = للداخل	1.75 = BA	1.90 = AgNO ₃	R.L.S.D 0.05

جدول(3) تأثير الـ AgNO₃ والـ BA في النسبة الموية لأجنحة الطبيعية (غير المترجمة).

Mg Ag NO ₃	0.1	0	BA mg/L Ag NO ₃ mg/L
	27.50	35	0
40.50	49	32	2
63.35	77	50	4
75.50	88	63	6
67.00	78	56	8
58.50	69	48	10
60.00	70	50	12
	66.57	45.57	Mg BA
9.00 = للداخل	4.70 = BA	5.80 = AgNO ₃	R.L.S.D 0.05

المصادر

- ابو زيد، الشحات نصر (2000). الهرمونات النباتية والتطبيقات الزراعية. الدار العربية للنشر والتوزيع، الطبعة الثانية، جمهورية مصر العربية، 168 ص.
- بكري، خالد ابراهيم (1994). دراسة بعض العوامل المؤثرة على انتاج وتطوير نسيج الكالس في نخيل البلح باستخدام طرق زراعة الانسجة. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، بمشتهر، جامعة الزقازيق، فرع بنها، جمهورية مصر العربية.
- الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، 488 صفحة.
- محسن، خيون علي (2004). دراسات في تحسين تكون الأجنة الجسمية وإنباتها خارج الجسم الحي لنخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* صنف البرحي . رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق.
- مطر، عبد الأمير مهدي (1986). دراسات تشريحية لنخلة التمر المكثرة خارج الجسم الحي. إصدارات ندوة النخيل الثانية، جامعة الفيصل، الجزء الأول ، صفحة 76-86، المملكة العربية السعودية.
- مطر، عبد الامير مهدي (1988). تأثير الاوكسجين نفاثلين حامض الخليك والسايتوکاينين بنزل أدنين على تكوين الجذور العرضية ونمو الأفرخ الابطية في نباتات نخيل البلح المنتجة داخل القوارير. مجلة كلية الزراعة، جامعة الملك سعود، مجلد (15) العدد (2) ص 147-167.
- المعري، خليل وجيه (1995). إكثار النخيل بوساطة تقنية زراعة الأنسجة النباتية. جامعة دمشق، كلية الزراعة، 341 ص.
- المعري، خليل وجيه والغامدي، عبد الله صالح (1995). التكاثر الخضري الدقيق للعنب (*Vitis vinifera L.*) صنفي البنائي والخلاص، مجلة اتحاد الجامعات العربية للدراسات والبحوث الزراعية، جامعة عين شمس ، القاهرة ، مجلد (3) العدد (1) ص 169 – 183.

- Al-Khayri, J. M. and Al-Bahrany, A. M. (2001). Silver nitrate and 2-isopentenyle adenine promote somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera L.*) Sci. Hortic. 89: 290-298.
- Al-Khayri, J. M. and Bautista, C. M. (1999). Effect of silver nitrate and 2-isopentenyle adenine on somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera L.*). In vitro cell. Dev. Biol. Animal 35: part It, March 1999.
- Al-Kuwari, S. D., Al-Saad, H. S. and Mahdi, M. Elfatih (1998). Effect of nitrate concentration on recovery of date palm vitrified embryo proc. 1st. Inter. Con. On date palm. Al-Ain. U.A.E.
- Murashig, T. and Skooy, F. (1962). Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15: 473-47-97.
- Salveit, M. E., Bradford, KJ. And Dilley, D. R. (1977). Silver ion inhibitor ethylene synthesis and action in ripening fruits. Plant Phys., 59 (Suppl.); 45.
- Wochok, Z. S. and Wetherell, D. F. (1971). Suppression of organized growth in cultured wild carrote tissue by chloroethyl phosphonic acid plant cell physiol. Tokyo 12: 771-774.