Basrah Journal of Date Palm Research
Volume 23 Issue (2) 2024
BJDPR
مجلـــة البصـرة لأبحاث نخلـة التمـر
المجلد 23 العدد (2) 2024
ISSN: 1816-0379 online ISSN:3005-3722

تأثير جسيمات الفضة النانوية في استحثاث الكالس ومكافحة التلوث في زراعة انسجة نخيل التمر صنف الساير *Phoenix dactylifera* L.

انسام مهدي صالح حليمة جبار العرادي اسيل علي فرهود

مركز ابحاث النخيل-جامعة البصرة-العراق

الخلاصة

تمنح زراعة الأنسجة النباتية خيارًا مهمًا لمضاعفة النباتات وتحسين انتاجها خلال فترة زمنية محدودة، و تتجه الأنظار الى سبل تطوير هذه التقانة ورفع مستوى إدائها من خلال إشراك تقانات أخرى كتقانة النانو، اجريت الدراسة الحالة في مختبر زراعة الانسجة التابع الى مركز ابحاث النخيل في جامعة البصرة لمعرفة التأثيرات الحيوية لجسيمات الفضة النانوية في مكافحة التلوث المرافق لزراعة انسجة نخيل التمر صنف الساير. تم زراعة البراعم القمية في وسطMS مزود بمنظمات النمو النباتية وعدة تراكيز من جسيمات الفضة النانوية AgNPs (1 و2 و3 و4 و5) ملغم.لتر$^{-1}$ بالإضافة لمعاملة المقارنة الخالية منها. اظهرت نتائج الدراسة ان اعلى نسبة مئوية لأستحثاث الكالس واقل نسبة مئوية للتلوث في مرحلة تأسيس مزرعة أنسجة نخيل التمر بلغت 100% و10% على التوالي في المعاملة 1 ملغم لتر$^{-1}$، كما سجلت نفس المعاملة اعلى متوسط لعدد الأجنة وبلغ 19.2 جنيناً كما بلغ اعلى متوسط للوزن الطري والجاف للكالس فيها 1.846 و1.50 على التوالي، في حين بلغ اعلى متوسط لعدد البراعم العرضية في المعاملات 1 و2 و3 ملغم.لتر$^{-1}$ من الفضة النانوية وبفارق معنوي عن المعاملات الاخرى، وانخفضت قيم هذه المؤشرات بارتفاع تركيز جسيمات الفضة النانوية.

الكلمات المفتاحية : اجنة خضرية، ، البراعم العرضية، اكثار دقيق ، براعم قميه، تقانة النانو.

Introduction المقدمة

تمثل نخلة التمر (*Phoenix dactylifera* L.) المنتمية إلى العائلة النخيلية Arecaceae ,واحدة من الاشجار المهمة في الشرق الأوسط (Krueger, 2021)، ولها دورٌ أساسيٌ في الزراعة المستدامة في المناطق المعرضة للتصحر (Alotaibi *et al*., 2023 ; Mihi *et al*.,2019). تتكاثر اشجار النخيل تقليديًا عن طريق الفسائل، وتتميز الاصناف التجارية بقلة عدد الفسائل، وتستغرق وقتاً طويلاً حتى الأنتاج (Gantait, *et al*, 2018) واصناف اخرى يكون انتاج الفسائل فيها معدوما(Khierallah and Bader. 2006). اتجهت الأنظار الى الإكثار الدقيق كحل مقترح لإنتاج نباتات عالية الجودة من نخيل التمر وفي وقت قصير, وهي أداة موثوقة لحفظ واكثار العديد من النباتات, رغم ما تعترضها من عقبات كالتلوث وصعوبة استحثاث الأنسجة في بداية إنشاء المزرعة النسيجية إذ يشكل التلوث في الأنسجة النباتية أمراً بالغ الأهمية في التكاثر الدقيق للنباتات (Abdalla *et al*, 2022). تتعرض انسجة نخيل التمر للتلوث الميكروبي في جميع مراحل زراعته، من خلال التلوث المتأصل في الأنسجة أو الذي يحدث أثناء عمليات الإكثار (Cobrado and Fernandez,2016) ، ولا يتم القضاء على التلوث في مختبرات زراعة أنسجة نخيل التمر عن طريق التعقيم السطحي فحسب، اذ لابد من اتخاذ إجراءات إضافية لضمان عدم حدوث التلوث الميكروبي (Abass, 2013)، من خلال بعض الإضافات التي من شأنها رفع كفاءة التعقيم في مزارع الأنسجة النباتية خارج الجسم الحي (Abdel-Karim, 2017). من هذه الاضافات، استخدام المضادات الحيوية والمبيدات الفطرية (الكعبي, 2004) والمستخلصات النباتية (عباس وآخرون,2007) والزيوت الأساسية (Jasim,*etal*,2021) وقد حصل الباحثون على نتائج جيدة في القضاء على الملوثات المرافقة لمزارع الأنسجة الا انها ثبطت نمو أنسجة النخيل في التراكيز العالية، لذلك كان السعي للحصول على مواد ذات حدين, تقضي على التلوث من جهة وتشجع النمو والتطور من جهة أخرى. لعبت تقانة النانو دور فعال في هذا المجال، إذ نجحت في مجالات كثيرة، وادى تطبيقها الى القضاء على الملوثات الميكروبية في الأجزاء النباتية Explants المستأصلة, ولها دور إيجابي في استحثاث الكالس وتكوين الأجنة الجسدية و الأعضاء و أنتاج مركبات الأيض الثانوي (Kim *etal*.,2017). تعمل جسيمات الفضة النانوية AgNPs كأسمدة نانوية ومبيدات حشرية و تحمي النبات من البكتريا والفطريات والفيروسات (El-Sharabasy *et al*, 2017;2018 ; Kadim, *et al*.,2023) وتقليل الإجهاد الملحي وتحسين نمو وإنتاج النباتات, تعود التفاعلية العالية للمواد النانوية وخاصة AgNPs بشكل رئيس إلى ارتفاع نسبة مساحة سطح الجسيم إلى حجم (Khan,*etal.* 2023). تختلف استجابات النباتات لتاثير

الجسيمات النانوية باختلاف النبات ونوع وحجم وتركيز الجسيمات النانوية (Asgari-Targhi *et al.*, 2018). وجسيمات الفضة النانوية Nano-silver واحدة من المواد النانوية المستخدمة في المجالات الحيوية وهي مادة غير سامة ولها قدرات عالية في القضاء على الكائنات الدقيقة كالفطريات والبكتريا والفيروسات Wang *et al.*, 2017; Spinoso-Castillo *et al.*, 2017), وأُكد (2008) Abdi *et al.*, أثرها الفعال في القضاء على 600 كائناً دقيقاً. ان ادراج الجسيمات النانوية ضمن تركيبة الوسط الغذائي لم تؤثرسلبا على نمو البراعم والتجذير (Gouran *et al.* 2014), بل أثبتت فعاليتها في تطور أنواع نباتية مختلفة (Kumar *et al.*, 2007). كما تشجع تكون الأنسجة ونمو البراعم ونمو النبات خارج الجسم الحي (Spinoso-Castillo *et al.*, 2017), وهذا ما أكده (2016) Amiri *et al.*, عند اضافتها الى الوسط الغذائي الخاص بأنسجة نخيل التمر. كما اكد (2021) Elsayh ان التراكيز المنخفضة من الفضة النانوية اثرت معنويا استحثاث على الكالس الجنيني والأجنة الجسدية في صنف نخيل التمر الحياني، في حين ادت زيادة التركيز الى تثبيط النمو، واقترح وسط الاستزراع المكمل بـ 1.0 ملغم/لتر من Ag NPs هو الأفضل لتمايز الكالس الجنيني وإنتاج أكبر عدد من الأجنة الجسدية. تتمتع الجسيمات النانوية بمجموعة واسعة من التطبيقات في المجال الزراعي نظرًا لخصائصها الفريدة بما في ذلك قدرة الاختراق العالية ومساحة السطح الأكبر والنشاط الكيميائي العالي. ومن بين الأنواع المختلفة للمواد النانوية، تعد جسيمات الفضة النانوية الأكثر شيوعًا، خاصة في القطاع الزراعي, لذا كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثيرات جسيمات الفضة النانوية في مكافحة التلوث واستحثاث الكالس وتحسين مؤشرات النمو في زراعة أنسجة نخيل التمر صنف الساير.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

تحضير الجزء النباتي Explant

اجريت الدراسة الحالية في مختبر الزراعة النسيجية التابع لمركز ابحاث النخيل في جامعة البصرة. اختيرت ثمانية فسائل من نخيل التمر صنف الساير من أحدى بساتين النخيل في الهارثة، خالية من الأمراض والحشرات، تزن الواحدة منها بحدود 5-6 كغم وبعمر 3 سنوات. أزيلت الأوراق والالياف المحيطة حتى الوصول الى البرعم القمي مع بادئات الاوراق شكل 1 و 2. وغسلت بالماء لإزالة العالق بها من الشوائب ثم وضعت في محلول مضاد للأكسدة (100 ملغم.لتر$^{-1}$ حامض الاسكوربيك و150 ملغم.لتر$^{-1}$ حامض الستريك) لمدة نصف ساعة، ثم عقمت بعدها بمحلول القاصر التجاري 20 ملغم.لتر$^{-1}$ (6% هيبكلورات الصوديوم) لمدة 20 دقيقة مضافاً لها قطرتين من Tween 20 التي تساعد على تغلغل مادة التعقيم لأنسجة

البراعم، ولتقليل التوتر السطحي وزيادة كفاءة المادة المستخدمة في التعقيم السطحي , ثم غسلت بالماء المقطر المعقم, وتمت عملية التعقيم السطحي داخل منضدة انسياب الهواء تحت ظروف معقمة لتجنب حدوث التلوث.

شكل (1): فسائل نخيل التمر صنف الساير المستخدمة في الدراسة بعد ازالة الاوراق والالياف المحيطة

شكل (2): البرعم القمي لنخلة التمر صنف الساير محاطا بمبادئ الأوراق

اعداد الوسط الغذائي

أستخدم الوسط الغذائي المكون من الأملاح اللاعضوية MS (Murashige and Skoog1962) الحاوية على الفيتامينات من شركة CAISSON وبتركز 4.43 ملغم.لتر$^{-1}$, مضافاً لها 30 ملغم.لتر$^{-1}$ سكروز ومايوإينوسيتول 100 ملغم.لتر$^{-1}$ وكبريتات الأدنين 40 ملغم.لتر$^{-1}$ وأورثوفوسفات الصوديوم الحامضية 170 ملغم.لتر$^{-1}$ والفحم المنشط 1 غم.لتر$^{-1}$ ومنظمات النمو النباتية (الأوكسينات, 2.4-D بواقع 25 ملغم.لتر$^{-1}$ و NAA 3 ملغم.لتر$^{-1}$) و (السايتوكاينينات 2ip 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) بعد إتمام اذابتها بمادة DMSO (Dimethyl sulfoxide), لأستحثاث الكالس، وتم ضبط الرقم الهيدروجيني على 5.8 ثم

اضيفت مادة الاكار بمعدل 5 غم. لتر$^{-1}$ ، حيث اذيبت بتسخين الوسط على صفيحة ساخنة مزودة بمقلب مغناطيسي حتى تمتزج جميع مكونات الوسط. ثم وزع في جارات زجاجية وأنابيب اختبار محكمة الغلق وعقم في جهاز التعقيم بالبخار على درجة حرارة 121 م^{o} وضغط 1.5 بار ولمدة 20 دقيقة.

إضافة جسيمات الفضة النانوية الى الوسط الغذائي:(Silver Nanoparticles AgNPs)

أضيفت خمسة تراكيز من AgNPs (20 nm، كروية بنسبة نقاء 99.99% على اساس معدني،مجهزة من شركة Hongwu International Group Ltd–الصين) الى الوسط الغذائي بعد إتمام إذابتها في الماء المعقم وتعقيمها بمرشح الحقنة بعد عملية التعقيم لتجنب تلف المادة عند تعرضها لدرجات الحرارة العالية, وكانت التراكيز المستخدمة1 و2 و3 و4 و5 ملغم.لتر$^{-1}$ بالإضافة إلى معاملة المقارنة وتركت لتبرد تماماً ويتصلب الوسط الغذائي. زرعت بعدها بالبراعم القمية المعقمة والمقسمة الى 4 أجزاء طولية والبراعم الجانبية وبادئات الأوراق الفتية في الوسط الغذائي، وحضنت في الظلام على درجة حرارة 25 م^{o}, وتم اعادة زراعتها خمسة مرات في نفس الوسط الغذائي كل ستة أسابيع, حتى نهاية الدراسة.

وبعد حدوث التكشف واستحثاث الكالس حسبت المؤشرات الآتية:

النسبة المئوية لأستحثاث الكالس

% لأستحثاث الكالس = (عدد الجارات المستحثة / عدد الجارات الكلية)* 100

النسبة المئوية للتلوث:

% للتلوث =(عدد الجارات الملوثة / عدد الجارات الكلية) * 100

الوزن الطري والجاف للكالس: وذلك باستخدام ميزان حساس

كررت عملية إعادة زراعة الكالس Reculture عدة مرات حتى انشأت مزرعة الكالس الخاصة بالدراسة الحالية، بعدها أُجريت له زراعة ثانوية Subculture في وسطين مختلفين أحدهما لإنتاج الأجنة الجسدية والآخر لإنتاج البراعم الجانبية، بتغيير تراكيز الأوكسين للسايتوكاينين مع بقاء تراكيز الفضة النانو ذاتها وحُسب عدد الاجنة الجسدية والعرضية ونسبة التلوث، بعد مرور ستة اشهر.

التحليل الإحصائي

صممت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D.) وكررت كل معاملة خمس مرات. استخدام برنامج التحليل الاحصائي SPSS نسخة 21 في تحليل النتائج، واختبرت معنوية الفروق بين المتوسطات باستخدام تحليل اقل فرق معنوي Least significant Difference (L.S.D.) عند مستوى احتمال 0.05.

النتائج **Results**

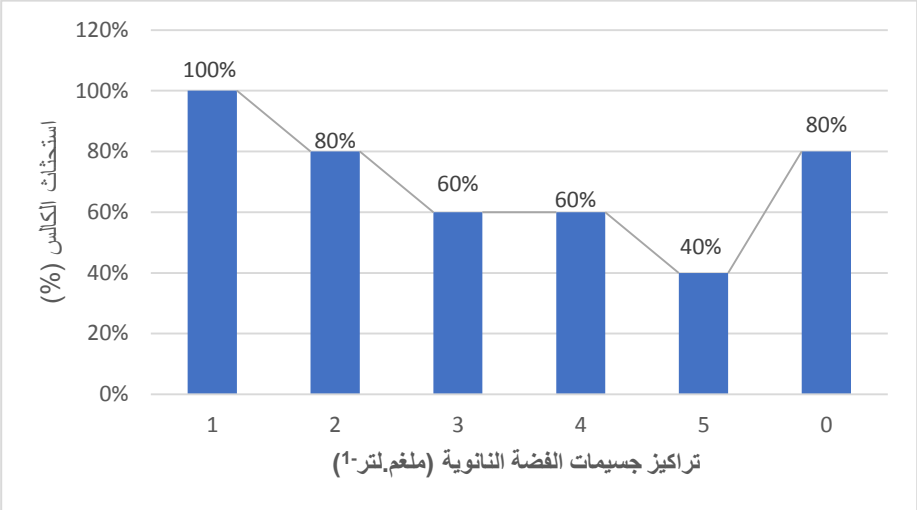
تأثير جسيمات الفضة النانوية في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس في نخيل التمر صنف الساير

تبين الاشكال (3–5) تأثير اضافة جسيمات الفضة النانوية على استحثاث نشوء كالس نخيل التمر صنف الساير المكثر خارج الجسم الحي، واظهرت النتائج ان اضافة جسيمات الفضة النانوية بتركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$ الى الوسط الغذائي ادى الى استحثاث نشوء الكالس في جميع مكرراتها المدروسة وبذلك أعطت أعلى قيمة لأستحثاث الكالس بلغت 100%, بينما سجلت معاملة المقارنة ومعاملة اضافة 2 ملغم.لتر$^{-1}$ نسبة 80%. في حين سجلت معاملتي اضافة 3 و4 ملغم.لتر$^{-1}$ نسبة 60%.وسجلت معاملة اضافة 5 ملغم.لتر$^{-1}$ من جسيمات الفضة النانوية اقل نسبة استحثاث وبلغت بنسبة 40%.

شكل (3): المراحل الأولى لزراعة البرعم القمي لنخيل التمر صنف الساير

شكل (4): نشوء الكالس في المعاملات بعد مرور شهرين من بدية التجربة

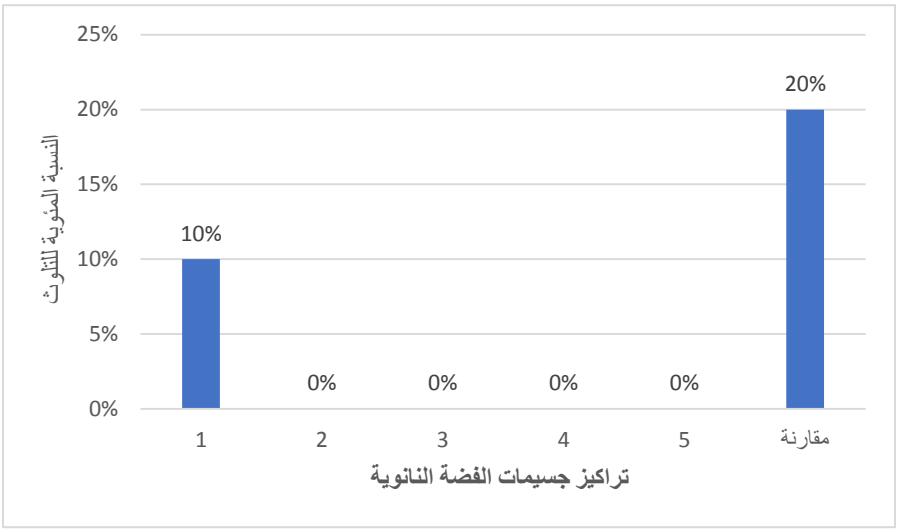
الجارات تمثل مكرر من كل معاملة بتراكيز من جسيمات الفضة النانوية هي من اليسار الى اليمين 1 و2 و3 و4 و5 والمقارنة ملغم.لتر$^{-1}$



شكل(5): أثر تراكيز جسيمات الفضة النانوية في النسبة المئوية لاستحثاث كالس نخيل التمر صنف الساير.

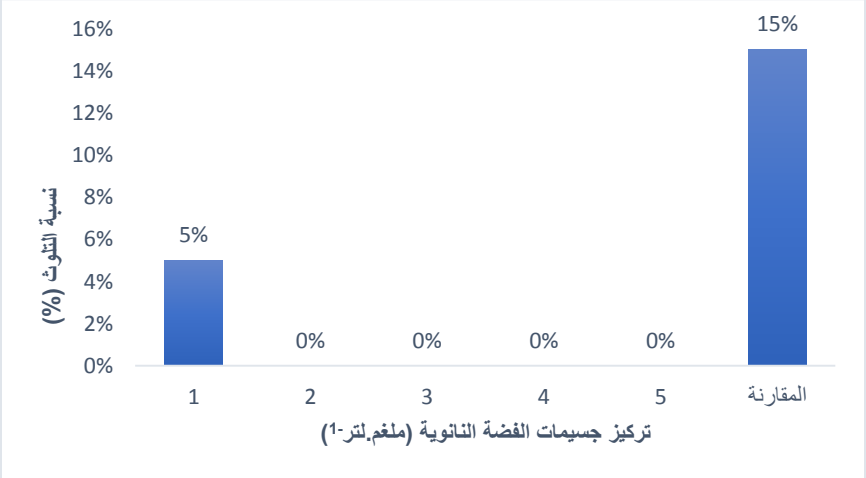
تأثير جسيمات الفضة النانوية في لتلوث الميكروبي (%) في مزرعة أنسجة كالس نخيل التمر صنف الساير

يبين الشكل (6) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من جسيمات الفضة النانوية في النسبة المئوية للتلوث الميكروبي في مرحلة انشاء المزرعة النسيجية. وتظهر النتائج ان نسبة التلوث في معاملة المقارنة بلغت 20%، انخفضت الى 10% عند اضافة الفضة النانوية الى الوسط الغذائي بتركيز ا ملغم.لتر$^{-1}$. بينما اظهرت النتائج عدم وجود اي نسبة التلوث عند اضافتها بالتراكيز 2 و3 و4 و5 ملغم.لتر$^{-1}$.



شكل (6): تأثير جسيمات الفضة النانوية في النسبة المئوية للتلوث الميكروبي في مزرعة أنسجة كالس نخيل التمر صنف الساير في بداية الإنشاء.

كما يبين من الشكل (7) ان نسبة التلوث 15% في معاملة المقارنة بعد مرور ستة اشهر (اعادة الزراعة مره كل شهرين)، وقد شخص التلوث على انه تلوث فطري بكتيري. انخفض الى 5% عند اضافة جسيمات الفضة النانوية بتركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$ وشخص على أنه تلوثاً فطرياً فقط. كما اظهرت النتائج عدم ظهور أي تلوث عند اضافة جسيمات الفضة النانوية بالتراكيز من 2-5 ملغم.لتر$^{-1}$.



شكل (7): أثر جسيمات الفضة النانوية في النسبة المئوية للتلوث الميكروبي في مزرعة أنسجة نخيل التمر صنف الساير بعد مرور 6 أشهر.

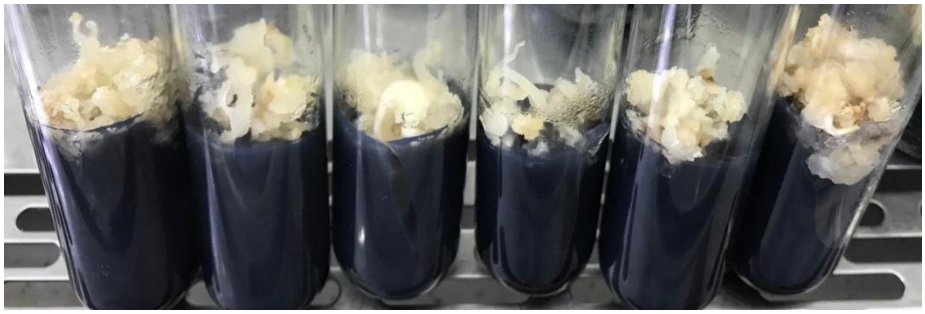
تأثير المعاملة بجسيمات الفضة النانوية في بعض المؤشرات الحيوية لكالس نخيل التمر صنف الساير.

تضح من الجدول (1) أن معاملة اضافة 1 ملغم.لتر$^{-1}$ من جسيمات الفضة النانوية الى الوسط الغذائي تفوقت معنوياً على جميع معاملات التجربة في معدل الوزن الطري للكالس الجنيني، اذ سجلت (1.846) غم، تلتها معاملة اضافة 2 ملغم.لتر$^{-1}$ بمعدل (1.466) غم، والتي تفوقت معنوياً على باقي المعاملات. جاءت بعدها معاملتي المقارنة واضافة 3 ملغم.لتر$^{-1}$ بمعدل (1.170 و1.004) غم على التوالي، دون فروق معنوية بينهما، بينما تفوقتا معنويا على المعاملتين 4 و5 ملغم.لتر$^{-1}$اللتين سجلتا أدنى القيم (0.738 و0.536) غم على التوالي، دون فروق معنوية بينهما.

اما فيما يتعلق بنتائج الوزن الجاف للكالس فيظهر من نتائج الجدول نفسه ان المعاملة بجسيمات الفضة النانوية بتركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$) أعلى معدل للوزن الجاف للكالس، حيث بلغت (0.150) غم، متفوقة معنوياً على جميع معاملات التجربة. تلتها المعاملة بتركيز 2 ملغم.لتر$^{-1}$ والمقارنة بمعدل 0.120 و0.115 غم على التوالي، دون وجود فروق معنوية بينهما، ولكنهما تفوقتا معنوياً على المعاملات الأخرى. جاءت بعدها المعاملة بتركيز 3 و4 ملغم.لتر$^{-1}$ بمعدل بلغ 0.088 و0.070 غم على التوالي، في حين سجلت المعاملة 5 ملغم.لتر$^{-1}$ أدنى قيمة بمعدل (0.052) غم وبفارق معنوي عن بقية المعاملات الاخرى.

كما تظهر نتائج جدول (1) والشكل (8) ان اضافة جسيمات الفضة النانوية بتركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$ ادت الى زيادة عدد الاجنة الجسدية المتكونة على كالس نخيل التمر صنف الساير وبفارق معنوي عن بقية المعاملات المدروسة اذ سجلت معدل بلغ 19.20 جنين. وبينت النتائج ان معدل الاجنة في معاملة المقارنة بلغ 12.50 جنين، انخفض الى 9.20 جنين في معاملة التركيز 2 ملغم.لتر$^{-1}$، وبدون فارق معنوي بينهما، الا ان الانخفاض كان معنويا عند المعاملة بالتراكيز 3 و4 و5 ملغم.لتر$^{-1}$، اذ بلغ معدل الاجنة المتكونة 5.60 و4.80 و 4.00 جنين على التوالي.

كما اظهرت النتائج المبينة في الشكل (9) والجدول (1) ان معاملات اضافة جسيمات الفضة النانوية بالتراكيز1 و2 و3 ملغم.لتر$^{-1}$ ادت الى زيادة معنوية في عدد البراعم الخضرية المتكونة مقارنة بمعاملة عدم الاضافة او اضافتها بتركيز 4 و5 ملغم.لتر$^{-1}$، وانها لم تختلف فيما بينها معنويا، وبلغ عدد البراعم المتكونة فيها 5.40 و5.40 و5.00 برعم على التوالي. في حين يلاحظ ان اضافة جسيمات الفضة النانوية بالتراكيز 4 و5 ملغم.لتر$^{-1}$ لم تختلف معنويا عن معاملة المقارنة في عدد البراعم المتكونة وبلغ معدلهما 2.40 و1.40 برعم على التوالي، بينما بلغ معدل عدد البراعم الخضرية المتكونة في معاملة المقارنة 2.80 برعم.



شكل (8): تأثير جسيمات الفضة النانوية على عدد الأجنة الجسدية المتكونة على كالس نخيل التمر صنف الساير

الجارات تمثل مكرر من كل معاملة بتراكيز من جسيمات الفضة النانوية هي من اليسار الى اليمين 1 و2 و3 و4 و5 والمقارنة ملغم.لتر $^{-1}$

شكل (8): تأثير جسيمات الفضة النانوية على عدد البراعم الخضرية المتكونة على كالس نخيل التمر صنف الساير

الجارات تمثل مكرر من كل معاملة بتراكيز من جسيمات الفضة النانوية هي من اليسار الى اليمين 1 و2 و3 و4 و5 والمقارنة ملغم.لتر $^{-1}$

جدول (1) :تأثير جسيمات الفضة النانوية في بعض المؤشرات الحيوية لكالس نخيل التمر صنف الساير.

معاملات جسيمات الفضة النانوية ملغم.لتر $^{-1}$	الوزن الطري (غم)	الوزن الجاف(غم)	عدد الأجنة	عدد الأفرع الخضرية
المقارنة	1.17 ±0.14 c	0.11±0.07b	12.50 ±2.12 b	2.80 ± 1.09b
1	1.84 ±0.11 a	0.15±0.017a	19.20 ± 3.34 a	5.40 ±1.14 a
2	1.46 ± 0.15 b	0.12± 0.014b	9.20 ± 1.48 b	5.40 ± 1.14 a
3	1.00 ± 0.10 c	0.08± 0.014c	5.60 ± 0.89 c	5.00 ± 1.22 a
4	0.73 ±0.13 d	0.07 ± 0.07 cd	4.80 ±1.48 c	2.40 ± 1.14 b
5	0.53 ±0.09 d	0.05±0.08 d	4.00 ± 1.00c	1.40 ± 0.547 b
LSD	0.20	0.01	3.30	1.40

المناقشة Discussion

بينت نتائج الدراسة الحالية التأثير الايجابي لإضافة جسيمات الفضة النانوية الى الوسط الغذائي المستخدم في اكثار نخيل التمر خارج الجسم، سيما التركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$ وذلك من خلال استحثاث نشوء الكالس وتحسين مؤشراته الحيوية وزيادة عدد الاجنة الجسدية والبراعم الخضرية والحد من التلوث الميكروبي. ويمكن ان يعزى السبب في ذلك الى دور جسيمات الفضة النانوية في تثبيط غاز الاثيلين. اذ يؤثر غاز الأثيلين على نمو الكالس وتجديد البراعم، والتكوين الاجنة الجسدية في المختبر (Vain et al. ,1990 ; Purnhauser et al., 1987) وهو غاز نشط بيولوجيًا موجود بكميات ضئيلة وينظم العديد من جوانب دورة حياة النبات في أوعية زراعة الأنسجة بما في ذلك التطور والأستجابات للضغوط الحيوية وغير الحيوية, وبالتالي قدرة النبات على التكيف والتكاثر (Lin et al., 2009) ,ويمكن أن يتأثر نمو النباتات وتطورها بشدة بالتأثيرات الغازية، خاصة الأثيلين عند ارتفاع مستوى تواجده والذي قد يؤدي إلى تثبيط نمو الأنسجة والتسبب في فرط النمو (hyperhydration)، فأيون الفضة مثبط قوي لعمل الأثلين من خلال ارتباطها مباشرة بمستقبلات الاثيلين (Aghdaei et al, 2012) أن الأنسجة النباتية حتى عند تكاثرها في ظل الظروف المثالية تنتج أنواعًا من الأكسجين التفاعل (ROS) ، وهو منتجات ثانوية لعملية التمثيل الغذائي للنبات بشكل عام الا ان زيادة تراكمها يضر بنمو النبات وتطوره (Polle, 2001) وعلى الرغم من أن الجذور الحرة يتم كحسها بواسطة نظام داخلي مضاد للأكسدة، إلا أن العملية تستهلك موارد حيوية في الخلايا، مما يعيق النمو والتطور. تعمل أيونات الفضة، إلى جانب عملها كمثبطات للإيثلين، كمستقبلات للإلكترونات المانحة في تفاعلات الأكسدة والاختزال، خاصة في دعم تبادل الإلكترونات مع CO_3+ و Fe^{2+} (Sharma, et al., 2012 ;Schaller, 2012) وبالتالي تقليل تراكم ROS وتخفيف الضغط على نظام مضادات الأكسدة النباتية. وبالمقارنة مع أيونات الفضة، تعد جسيمات الفضة النانوية أكثر كفاءة في التفاعلات الكيميائية وتتفاعل بشكل أفضل مع البيئة المحيطة بسبب ارتفاع مساحة سطحها إلى نسبة الكتلة (Sarmast and Saleh, 2016) . تعرُض خلايا النبات الى الجسيمات النانوية عزز التأثيرات الإيجابية على تحريض الكالس وتجديد البراعم والنمو في المختبر.(Kim et al., 2017) ويمكن لجسيمات الفضة النانوية تعزيز امتصاص الخلية النباتية للمغذيات والماء من وسائط الاستنبات عن طريق تشويه (mutilating) جدار الخلية، وفقًا لآلية عملها في تطوير الخلايا النباتية (Ali et al.,2019). نتائج هذه الدراسة تتماشى مع نتائج Aghadei et al. (2012) و Hassan et al. (2019). إذ وجدوا الأثر الإيجابي للجسيمات النانوية في تحسين نمو وتطور نباتات الفرفارة (التكوميلا) والزيتون خارج الجسم

الحي, إذ رفعت من كفاءة الإكثار الدقيق وأرجعوا السبب الى تأثيرها على كبح انتاج او عمل الأثلين. كما تتوافق مع ما جاء به (Elsayh, 2021).عند تحققه من تفوق الوسط المكمل ب 1.0 مل.لتر$^{-1}$ من AgNPs في استحثاث الكالس وتكون الأجنة الجسدية لنخيل التمر صنف الحياني, وكذلك (Roshanfekrrad et al., 2017) الذي أثبت أثر الجسيمات ذاتها في تحسين كمية الكالس الجنيني وإنتاج أكبر عدد من الأجنة في نخيل التمر, والأثر عكسي كلما ارتفع تركيز جسيمات النانو في الوسط الغذائي, وتتفق مع El–Kosary et al. (2022) فيما يتعلق بعدد الأجنة والبراعم, اذ ارتفع انتاجها مع التراكيز المنخفضة من جسيمات الفضة النانوية, في دراسة تأثيرها على زراعة النورات الزهرية لنخيل التمر للصنفين السيوي والمجهول وبين (2022) Rohim et al., و Rohim et al. (2020) ان اعلى نسبة لاستحثاث الكالس كانت باستعمال AgNPs بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع 50 ملغم.لتر$^{-1}$ من 2,4–D في نخيل التمر الذكري ونخيل التمر صنف البرحي.

توفر زراعة الأنسجة النباتية وتقانات التحول الوراثي خيارًا مهمًا لمضاعفة الأشجار وتحسينها خلال فترة زمنية محدودة. ويعد القضاء على الملوثات (مثل البكتيريا والفطريات والفيروسات) الخطوة الأولى لأي نجاح في زراعة الأنسجة النباتية في المختبر, فالتلوث المزمن بالكائنات الحية الدقيقة واحدة من المشاكل الرئيسية لتقانات زراعة النباتات خارج الجسم الحي, ومن المعروف أن التكاثر الدقيق للنباتات الخشبية يتأثر كثيراً بالعدوى الداخلية والتلوث الميكروبي والتي قد يتم التغلب عليها من خلال تطبيق استخدام الجسيمات النانوية في زراعة الأنسجة النباتية للسيطرة على التلوث البكتيري بشكل خاص خلال فترة التأسيس. تم التوجه الى تطبيق جسيمات الفضة النانوية لأول مرة في تقانة زراعة الأنسجة النباتية من أجل منع التلوث البكتيري بواسطة (Abdi, et al. ,2008). تتميز الجسيمات النانوية بمساحة السطح الأكبر والنشاط الكيميائي العالي وبالتالي قدرة الاختراق العالية و نظرًا لهذه الخصائص الفريدة تتمتع بمجموعة واسعة من التطبيقات في المجال الزراعي ,Agrahari and Dubey).

(2020 وجسيمات الفضة النانوية الأكثر شيوعًا، خاصة في القطاع الزراعي (Yan and Chen,2019). فالميزة الرئيسية لاستخدام الجسيمات النانوية في علوم النبات اليوم تركز على خصائص مضادات الميكروبات والمغذيات وتحسين نمو النبات بمسارات مختلفة، وتحفيز النبات (Ajitha,et al.2015) مثل آثارها على الأثيلين والإنزيمات واستقلاب النيتروجين, لم يتم اكتشاف أي سمية على نمو النباتات إذا تم أخذ التركيز المسموح به في الاعتبار(Sarmast and Salehi ,2016). إذ تعمل جسيمات الفضة النانوية على تثبيط نمو البكتيريا من خلال منع إنزيمات جهازها التنفسي ومكونات نقل الإلكترون ومن خلال التداخل مع وظائف الحمض النووي (Jeong et al.2005) كما تم الكشف عن تفاعلها مع عمليات الترابط

الهيدروجيني. من المفترض أن آلية الخواص المضادة للبكتيريا لأيونات الفضة تنطوي على انكماش الغشاء البلازمي أو انفصاله عن جدار الخلية. تتكثف جزيئات الحمض النووي وتفقد قدرتها على التكرار عند تسلل أيونات الفضة–Braydich) Stolle et al. ,2005). تعود قدرة الفضة النانوية هذه إلى إطلاق جزيئات صغيرة من الفضة، لذا فهي قادرة على تدمير ليس فقط البكتيريا والفطريات ولكن أيضًا الفيروسات (Sondi etal.,2004) . وجاءت النتائج متقاربة مع ما توصل اليه Rohim et al. (2022) الذي بين ان لجسيمات الفضة النانوية تأثير في الحد من التلوث عند تعقيمه الازهار غير الناضجة لنخيل التمر الذكري اذ وجد ان اقل نسبة للتلوث بالفطريات واعلى نسبة للبقاء كانت بتركيز 4 ملغم.لتر$^{-1}$ من AgNPs واقل نسبة للتلوث بالبكتريا عند 2 و3 و4 ملغم.لتر$^{-1}$ واقل نسبة للتلون البني عند 1 ملغم.لتر$^{-1}$ AgNPs ونتائج مشابهة حصل عليها نفس الباحث عند تطبيقه لجسيمات الفضة النانوية على نخيل التمر صنف البرحي (Rohim et al, 2022) .وأكدوا على إن المركبات النانوية تقلل من التلوث الداخلي والخارجي للجزء النباتي مقارنة مع الكلور وكلوريد الفضة دون المساس بقابلية الجزء النباتي على النمو والتمايز. ان التركيز الامثل لجسيمات الفضة النانوية التي تصل فيها الخلايا النباتية الى حالة الاستقرار الكامل في النمو امر مهم جدا لمنع المخاوف المتعلقة بسمية المواد النانوية للنبات. ويتبين من نتائج الدراسة الحالية قابلية جسيمات الفضة النانوية في الحد من التلوث في مزرعة أنسجة نخيل التمر صنف الساير وهذه النتائج توازي ما توصل له (El–Sharabasy and Zayed ,2018) من إن جزيئات الفضة النانوية قادرة على تقليل التلوث البكتيري والفطري للأجزاء النباتية من نخيل التمر خلال مرحلة التأسيس. إذ أن AgNPs قادرة على تثبيط نمو الفطريات الممرضة *Penicillin digitatum* و *Aspergillus flavus* و *Fusarium oxysporum* و يزداد التثبيط مع زيادة تركيزها وأظهرت ايضا نشاطا مضادا للفطريات والعديد من مسببات الأمراض الفطرية التي تصيب النبات(Al–Zubaidi et al.,2019), كما اوضح Kim et al.(2012)، ان جزيئات الفضة النانوية قللت من النمو الشعاعي لفطر F. oxysporiumv خارج الجسم الحي.

المصادر References

الكعبي, أنسام مهدي صالح (2004) تأثير بعض المضادات الحياتية والمبيدين الفطريين Score 50٪ و Carbandazim 60٪ في نمو الكالس الجنيني لنخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر المجلد (3) العدد 1–2

عباس، محمد حمزة عباس وأسامة، علي العبادي وأنسام، مهدي صالح (2007). كفاءة مستخلص أوراق نبات الحناء وبعض المبيدات الفطرية في تقليل التلوث الفطري في مزارع أنسجة نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. .Iraqi J. Biotech, 6(2), 1−4,

Abass, M. H. (2013). Microbial contaminants of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Iraqi tissue culture laboratories. Emirates Journal of Food and Agriculture, 875-882.. Doi:10.9755/ejfa.v25i11.15351

Abdalla, N., El-Ramady, H., Seliem, M. K., El-Mahrouk, M. E., Taha, N., Bayoumi, Y.,and Dobránszki, J. (2022). An academic and technical overview on plant micropropagation challenges. Horticulturae, 8(8), 677. https://doi.org/10.3390/horticulturae8080677

Abdel-Karim, A. H. (2017). Identifying and controlling contamination of date palm tissue cultures. Date Palm Biotechnology Protocols Volume I: Tissue Culture Applications, 165-174. DOI: 10.1007/978-1-4939-7156-5_14

Abdi, G., Salehi, H., & Khosh-Khui, M. (2008). Nano silver: a novel nanomaterial for removal of bacterial contaminants in valerian (*Valeriana officinalis* L.) tissue culture. Acta Physiologiae Plantarum ,30. , 709-714. DOI 10.1007/s11738-008-0169-z

Aghdaei, M., Salehi, H., & Sarmast, M. K. (2012). Effects of silver nanoparticles on Tecomella undulate (Roxh.) Seem. Micropropagation. Advances in Horticultural Science26,(1) 21-24.

Agrahari, S., & Dubey, A. (2020). Nanoparticles in plant growth and development. Biogenic nano-particles and their use in agro-ecosystems, p: 9-37

Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., & Reddy, P. S. (2015). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Lantana camara* leaf extract. Materials science and engineering: C, 49, 373-381. https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.01.035

Alotaibi, K. D., Alharbi, H. A., Yaish, M. W., Ahmed, I., Alharbi, S. A., Alotaibi, F., & Kuzyakov, Y. (2023). Date palm cultivation: A review of soil and environmental conditions and future challenges. Land Degradation and Development, 34(9), 2431-2444. https://doi.org/10.1002/ldr.4619

Ali, A., Mohammad, S., Khan, M. A., Raja, N. I., Arif, M., Kamil, Aand Mashwani, Z. U. R. (2019). Silver nanoparticles elicited in vitro callus cultures for accumulation of biomass and secondary metabolites in *Caralluma tuberculata*. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology, 47(1): 715-724.

Al-Zubaidi, S., Al-Ayafi, A., & Abdelkader, H. (2019). Biosynthesis, characterization and antifungal activity of silver nanoparticles by *Aspergillus niger* isolate. Journal of Nanotechnology Research, 23-36,(1)1.

Amiri, H., Mousavi, M., & Torahi, A. (2016). Improving date palm (Phoenix dactylifera L. cv. Estamaran) calogenesis by the use of zinc oxide nanoparticles. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences,4(5):557-563 .DOI:10.18006/2016.4(5).557.563

Asgari-Targhi, G., Iranbakhsh, A., & Ardebili, Z. O. (2018). Potential benefits and phytotoxicity of bulk and nano-chitosan on the growth, morphogenesis, physiology, and micropropagation of Capsicum annuum. Plant Physiology and Biochemistry 393-402 :127 https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.013

Braydich-Stolle, L., Hussain, S., Schlager, J. J., & Hofmann, M. C (2005). In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. Toxicological sciences ,88(2): 412- 419

Cobrado, J. S., & Fernandez, A. M. (2016). Common fungi contamination affecting tissue-cultured abaca (Musa textiles Nee) during initial stage of micropropagation. Asian Research Journal of Agriculture, 1(2), : 1-7 DOI: 10.9734/JAMB/2017/33289

El-Kosary, S., Allatif, A. A., Stino, R., Hassan, M., & Kinawy, A. A. (2022). Effect of silver nanoparticles on micropropagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L., Cv. Sewi and Medjool). Plant Archives, 20(2) : 9701- 9706 e-ISSN:2581- 6063 (online),ISSN:0972-5210

Elsayh, S. A. A. (2021). Impact of silver nanoparticles on enhancing in vitro proliferation of embryogenic callus and somatic embryos regeneration of date palm cv. Hayani. Int. J. Environ. Agric. Biotech, 6 : 40-52. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102400

El-Sharabasy, S. F., Ghazzawy, H. S., & Munir, M. (2017). *In vitro* application of silver nanoparticles as explant disinfectant for date palm cultivar Barhee. Journal of Applied Horticulture,19(2): 106- 112.

El-Sharabasy, S. F., & Zayed, Z. E. (2018). Silver nanoparticles, antibiotics and fungicide to control microbial activity during establishment of date palm explants in vitro. Scientia Agriculturae 21(2).57-63. DOI: 10.15192/PSCP.SA.2018.21.2.5763

Gantait, S., El-Dawayati, M. M., Panigrahi, J., Labrooy, C., & Verma, S. K. (2018). The retrospect and prospect of the applications of biotechnology in Phoenix dactylifera L. Applied microbiology and biotechnology, 102(19), 8229-8259. https://doi.org/10.1007/s00253-018-9232-x

Giridhar, P., Indu, E. P., Vinod, K., Chandrashekar, A., & Ravishankar, G. A. (2004). Direct somatic embryogenesis from Coffea arabica L. and Coffea canephora P ex Fr. under the influence of ethylene action inhibitor-silver nitrate. Acta Physiologiae Plantarum, 299: 26-305.

Gouran, A., Jirani, M., Mozafari, A. A., Saba, M. K., Ghaderi, N., & Zaheri, S. (2014). Effect of silver nanoparticles on grapevine leaf explants sterilization at in vitro conditions. In 2nd National Conference on Nanotechnology from Theory to Application (pp.1-6).

Hassan, S. A. M., Mahfouze, H. A., Mahfouze, S. A., & Abd Allatif, A. M. (2019). Genotoxicity assessment of nano-particles on micro propagated olive (Olea europaea L.) plants using RAPD and DAMD markers. Plant Archives, 19(2):1985-1994.

Jasim, N. S., Salih, A. M., & Ati, M. A. (2021). Evaluating the efficiency of plants essential oils against common fungal contamination affecting tissue culture of date palms (Phoenix dactylifera L.) by in vitro culture. Res. J. Chem. Environ, 25(6) : 40-45.

Jeong, S. H., Hwang, Y. H., & Yi, S. C. (2005). Antibacterial properties of padded PP/PE nonwovens incorporating nano-sized silver colloids. Journal of materials science,40 :5413-5418 .

Kadim,M.J.Mohammed A.F. and Yehya A.S.(2023). Effect of Some Biological and Chemical Treatments in Controlling Date Palm Fruit Rot Disease. 4th International Conference of Modern Technologies in Agricultural Sciences, 1262 032038.

Khan, S., Zahoor, M., Khan, R. S., Ikram, M., & Islam, N. U. (2023). The impact of silver nanoparticles on the growth of plants: The agriculture applications. Heliyon,Vol.9(6), e16928. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16928

Khierallah, H. S., & Bader, S. M. (2006). Micropropagation of date palm (Phoenix dactylifera L.) var. Maktoom through direct organogenesis. In III International Date Palm Conference 736 pp. 213-224)). 10.17660/ActaHortic.2007.736.19

Kim, D. H., Gopal, J., & Sivanesan, I. (2017). Nanomaterials in plant tissue culture: the disclosed and undisclosed. RSC advances, 7(58), 36492-36505. DOI: 10.1039/c7ra07025j

Kim, S. W., Jung, J. H., Lamsal, K., Kim, Y. S., Min, J. S., & Lee, Y. S. (2012). Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. Mycobiology, 40(1), 53-58.

Krueger, R. R. (2021). Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) biology and utilization. In The Date Palm Genome, Vol. 1: Phylogeny, Biodiversity and Mapping (pp. 3-28). Cham: Springer International Publishing. . https://doi.org/10.1007/978-3-030-73746-7_1

Kumar, V., Ramakrishna, A., & Ravishankar, G. A. (2007). Influence of different ethylene inhibitors on somatic embryogenesis and secondary embryogenesis from Coffea canephora P ex Fr. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant,43(6) 602-607.. DOI:10.1007/s11627-007-9067-0

Kurup S.S., Hedar Y.S. and Al-Dhaheri M.A. (2009). Morphophysiological evaluation and RAPD markers-assisted character-ization of date palm (Phoenix dactylifera L.) varieties for salinity tolerance.Journal of Food, Agriculture and Environment, 7(3-4): 503- 507

Lin, Z., Zhong, S., & Grierson, D. (2009). Recent advances in ethylene research. Journal of experimental botany, 60(12): 3311-3336. https://doi.org/10.1093/jxb/erp204

Murashige T. and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures Physiologia Plantarum. 15(3):473 -497. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

Mihi, A., Tarai, N., & Chenchouni, H. (2019). Can palm date plantations and oasification be used as a proxy to fight sustainably against desertification and sand encroachment in hot drylands? Ecological Indicators, 105, 365-375. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.11.027

Polle, A. (2001). Dissecting the superoxide dismutase-ascorbate-glutathione-pathway in chloroplasts by metabolic modeling. Computer simulations as a step towards flux analysis. Plant physiology,26(1) :445 - 462.

Purnhauser,L.(1987). Stimulation of shoot regeneration in Triticum aestivum and Nicotiana plumbaginifolia Viv. tissue cultures using the ethylene inhibitor AgNO3. Plant Cell Reports 6(1) :1-4. DOI:10.1007/BF00269725

Rohim,F.M. El-Wakeel, H. , Abd El-Hamid ,A. , Eman, A.(2020). Impact of Nanoparticles of In Vitro Propagation of Date Palm cv. Barhee by Immature Inflorescences, Arab Univ. J. Agric. Sci.,28(4): 1187 -1202. http://ajs.journals.ekb.eg//

Rohim,F.M. El-Wakeel, H. , Abd El-Hamid ,A. , Eman, A.(2022). The effect of nanoparticles of in vitro propagation of seedling male date palm by immature inflorescences, Egypt. J. Chem. Vol. 65(7), pp: 627-643./ http://ejchem.journals.ekb.eg/

Roshanfekrrad, M., Zarghami, R., Hassani, H., Zakizadeh, H., & Salari, A. (2017). Effect of AgNO3 and BAP on Root as a Novel Explant in Date Palm (Phoenix dactylifera cv. Medjool) Somatic Embryogenesis. Pakistan Journal of Biological Sciences,20(1) :20- 27 . https://doi.org/10.3923/pjbs.2017.20.27

Sarmast, M. K., & Salehi, H. (2016). Silver nanoparticles: an influential element in plant Nano biotechnology. Molecular biotechnology,58(7) :441- 449. doi: 10.1007/s12033-016-9943-0.

Schaller, G. E. (2012). Ethylene and the regulation of plant development. BMC biology, 10(9) :1-3. http://www.biomedcentral.com/1741-7007/10/8

Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P. P., Khanna, P. K., & Arora, S. (2012). Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of Brassica juncea. Applied biochemistry and biotechnology,167(8): 2225 -223. doi: 10.1007/s12010-012-9759- .

Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. Journal of colloid and interface science,275(1) : 177- 182. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.012

Vain,P.; . Flament, P.; Soudain,P. (1990). Role of Ethylene in Embryogenie Callus Initiation and Regeneration in Zea mays L.Journal of Plant Physiology,Vol. 135(5), , P: 537-540. doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80631-0

Spinoso-Castillo, J. L., Chavez-Santoscoy, R. A., Bogdanchikova, N., Pérez-Sato, J. A., Morales-Ramos, V., & Bello-Bello, J. J. (2017). Antimicrobial and hormetic effects of silver nanoparticles on in vitro regeneration of vanilla (Vanilla planifolia) Jacks. ex Andrews using a temporary immersion system. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,129(2): 195 -207. DOI:10.1007/s11240-017-1169-8

Wang, L., Hu, C., & Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. International journal of nanomedicine, 1227 -1249. doi: 10.2147/IJN.S121956 .

Wellmann A., Escobar Araya H and Johnson DV. (2007). Date palm cultivation in Chile and Peru (South America): current status and future prospects for development. Acta Hort. 736:71.-85. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.736.5

Wiley, B. J., Im, S. H., Li, Z. Y., McLellan, J., Siekkinen, A., & Xia, Y. (2006). Maneuvering the surface plasmon resonance of silver nanostructures through shape-controlled synthesis. The Journal of Physical Chemistry B,110(32) : 15666- 15675 . https://doi.org/10.1021/jp0608628

Yan,A. and Chen, Z. (2019). Impacts of Silver Nanoparticles on Plants: A Focus on the Phytotoxicity and Underlying Mechanism, International Journal of Molecular Sciences, 20(5): 1003. doi: 10.3390/ijms20051003.

The Effect of Silver Nanoparticles on Callus Induction and Contamination Control in Tissue Culture of Date Palm (Phoenix dactylifera L.) cv. Sayer

Ansam M. Salih Haleemah J. AL-Aradi Aseel A. Farhoud

Date palm Research Centre-University of Basrah -Iraq

Abstract

Plant tissue culture provides an important option for multiplying plants and improving their production within a limited period of time. Attention is drawn to ways to develop this technology and raise its performance level by involving other technologies such as nanotechnology. The case study was conducted in the tissue culture laboratory of the Date palm Research Centre at the University of Basrah to determine the biological effects of silver nanoparticles in combating pollution associated with tissue culture of date palms of the Sayer cultivar. The apical buds were grown in MS medium. Supplemented with plant growth regulators and AgNPs concentrations (1, 2, 3, 4, and 5) $mg.L^{-1}$ in addition to the control treatment free of AgNPs, The highest percentage of callus induction and the lowest percentage of contamination were indicated in the date palm tissue culture establishment stage, reaching 100% and 10%, respectively, in the 1 $mg.L^{-1}$ treatment. The same treatment also recorded the highest average number of embryos, reaching 19.2 embryos. The highest average fresh and dry weight of callus reached 1.846 and 1.50 respectively, while the highest average number of embryos reached in treatments 1, 2 and 3 nano silver, with a significant difference from the other treatments. The values of these indicators decreased with the increase in the concentration of silver nanoparticles.

Keywords: Somatic embryos, vegetative buds, micropropagation, apical buds, nanotechnology