

تأثير الفحم المنشط على إدمصاص منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمرار في فسائل نخلة التمر (صنف الزهدي) *Phoenix dactylifera* L. خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

تأثير الفحم المنشط على إدمصاص منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمرار في فسائل نخلة التمر [صنف الزهدي] *Phoenix dactylifera* L. خارج الجسم الحي *in vitro*

أ.م. سميرة مؤيد ياسين

جامعة بغداد / كلية التربية للعلوم الصرفة ابن الهيثم

الملخص:

أجريت هذه الدراسة على فسائل نخلة التمر (صنف الزهدي) (*Phoenix dactylifera* L.) إذ درس تأثير الفحم المنشط على إدمصاص منظمات النمو للأوكسينات α -Naphthalene Indol-3-acetic acid (NAA)، β -Naphthyloxy acetic acid (NOA)، والساييتوكينين (2,ip) N-(2-isopentyl) adenine من خلال زراعة النماذج في أوساط زرع خالية من الفحم المنشط وإيجاد التراكيز المثلى لنشوء البراعم الأولية ومقارنتها مع تراكيز منظمات النمو في أوساط تحتوي على الفحم المنشط. أوضحت النتائج أن أفضل التراكيز كانت 1، 1، 1 ملغم/لتر للأوكسينات NAA، NOA، IAA على التوالي و 0.1 ملغم/لتر للساييتوكينين 2,ip في الوسط الزرع الخالي من الفحم المنشط. كما بينت النتائج بأن التخلص من ظاهرة الإسمرار يكون بواسطة الإنجماد قبل الزراعة بدرجة حرارة -18°C لمدة ثلاثين يوماً بدلاً من استخدام محلول مضاد الأكسدة 150 ملغم / لتر Citric acid، 100 ملغم / لتر Ascorbic acid. واستعمل الـ Polyvinyl pyrrolidone (P.V.P.) وكعامل إدمصاص الفحم المنشط Activated charcoal. وقد تفوق عامل التجميد لوحده على بقية العوامل بالقضاء على ظاهرة الإسمرار.

الكلمات المفتاحية: منظمات النمو . الإسمرار . نخل التمر

تأثير النمو المنبسط على إحصاس نظمات النمو ومعالجة ظاهرة الإسمار في فئائل نخلة التمر (صنف الرصدي) *Phoenix dactylifera* L. خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

المقدمة:

تعود نخلة التمر (صنف الزهدي) *Phoenix dactylifera* L. الى عائلة Arecacea وتنتشر زراعتها عموماً في المناطق الحارة والمعتدلة في مختلف دول العالم [1]. تتميز عائلة النخيل (Aracaceae (Palmae) بكونها من أهم النباتات التي تشكل أهمية جوهرية في زراعة الأنسجة النباتية [2]. تنتمي الى هذه العائلة النباتية أكثر من 200 جنس وأكثر من 2500 نوع وهي مجاميع مختلفة منتشرة في المناطق الحارة وصنفت على اساس تمايز الصفات التشريحية والمظهرية المحددة لكل منها [3]. وتنتمي إلى رتبة *Palmiales* وهي من أهم الرتب النباتية المعروفة لما ينتسب إليها من أنواع كثيرة من النخيل [4 ، 5]. ومن أهم أجناس هذه العائلة التي تزرع بشكل واسع لأهميتها الاقتصادية العالية و لثمارها هي نخلة التمر (Date palm) (*Phoenix dactylifera* L.) ونخلة جوز الهند (*Elaeis guineensis* Jacq) ونخلة الزيت (*Cocos nucifera* L.) Coconut palm وهناك أجناس أخرى مثل النخيل المروحي *Washingtonia filifera* ونخيل لاتانيا *Latania borbonica* [6]. ولسد التدهور الحاصل في إعداد نخلة التمر كماً ونوعاً في العراق أصبحت الحاجة ضرورية لإيجاد طريقة وهي الإكثار الدقيق والسريع خارج الجسم الحي *In vitro* ومن أهداف هذه الطريقة الحصول على أعداد كافية من النباتات وبفترة سنة تقريباً وسهولة تداولها لصغر حجمها ، وكذلك إمكانية السيطرة على الظروف البيئية المناسبة من خلال زراعتها في أوساط غذائية معقمة و تهيئة ظروف تحضين مسيطر عليها و سيما من درجات الحرارة وفترة و شدة الإضاءة ، و أيضاً الإكثار من مصادر مختلفة من النخلة مما يوفر حرية إختيار النموذج الأمثل لطريقة البحث ، و أخيراً خلو نبيتات النخيل المكثرة بهذه الطريقة من الأمراض البكتيرية والفطرية وذلك بعزل النماذج المصابة المزروعة في الأوساط الغذائية وأبعادها [7]. هنالك ثلاث طرائق إتبع في إكثار النخيل نسيجياً وهي:- الطريقة الأولى: تحفيز نشوء الأعضاء على نسيج الكالس *Callus* والذي هو نسيج متكون من خلايا برنكيميية غير منتظمة تتشأ على مناطق القطع والجروح من الأجزاء النباتية) المتكونة على الأجزاء المفصولة وهذا ما يصطلح عليه بـ *Organogenesis* والطريقة الثانية: تحفيز نشوء الأجنة الجسمية (اللاجنسية) من أنسجة الكالس المستحثة من بادئات الأوراق والقمم النامية والبراعم الأبضية وأنسجة الجمار والغلاف الفلقي والشماريخ الزهرية وهذا ما يصطلح عليه بـ *Embryogenesis* [8]. في عام 1988

تأثير الفهم المنهجي على إحصاءات نمو وإنتاج ظاهرة الإسمار في فئائل نخلة التمر (صنف الرمدى) *Phoenix dactylifera L.* خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

م أوضح الباحثون العراقيون. في دراسة عن المتغيرات الشهرية لفعالية بعض أنزيمات الأكسدة في أنسجة نخلة التمر. إن ظاهرة إسمار أجزاء نخلة التمر المستأصلة وزراعتها خارج الجسم الحي *In vitro* من المشاكل الرئيسية التي تواجه العاملين في زراعة أنسجة النخيل ومازالت السيطرة على هذه الظاهرة أحد أهدافهم الأساسية. وفي العام نفسه ، أورد الباحثون العراقيون [9]. في بحث آخر عن ظاهرة إسمار أنسجة نخيل التمر في الوسط الغذائي السائل معاناة العاملين في زراعة أنسجة النخيل من مشكلة إسمار الأجزاء المستأصلة بعد زراعتها في الوسط الغذائي وانتقال اللون الأسمر إلى الوسط الملامس لها مما يؤثر في نموها، مما أدى إلى فشل العديد من المحاولات لإكثار نخيل التمر خضرياً عن طرق زراعة الأنسجة. لقد أوضح [10] عام 1974 م أن الإسمار يحدث بسبب تحرير أنسجة نخلة التمر مواد عديمة اللون (الفينولات) إلى الوسط الغذائي تثبط نموها و إن هذه المركبات الفينولية تعد من أهم نواتج الأيض الخلوي الثانوية في المملكة النباتية [11]. وبالنسبة لنخلة التمر فإن الجروح الناتجة من تقطيع الأنسجة تسبب إفراز هذه المواد إلى الوسط وإن العضو الكامل كالجنين أو الأوراق الفتية الكاملة للقمم النامية لاتعاني من الإسمار وتنمو جيداً في الوسط الزراعي. إن سبب الإسمار يحدث بسبب أكسدة الـ Polyphenols ضمن أنسجة النبات [12] وتكوين الكوينونات خلال تكسر الخلايا أثناء القطع وجعل المواد الفينولية مندمجة مع أنزيمات الأكسدة البيروكسيداز Peroxidase والبولي فينول أوكسيداز Polyphenoloxidase [13]. إن المركبات الفينولية تحتوي دائماً وعلى الأقل مجموعة هايدروكسيل واحدة على حلقة بنزين Benzen ring وأن أنزيمات الأكسدة تؤكسد الفينول إلى كوينات فعالة جداً وذات سمية عالية لنسيج النبات [14]. تختلف شدة ظاهرة الإسمار باختلاف الأجزاء الخضرية المستخدمة والأصناف الزراعية كما تختلف أيضاً باختلاف المواسم حيث تزداد شدتها في بعض أشهر السنة من غيرها [15] ، كما أنها تؤدي دوراً كبيراً في إبطاء عملية نمو و تطور النباتات [13] . و بشكل عام يتكون اللون البني نتيجة للجروح التي تحدث عند تحضير و قطع الجزء النباتي لزراعته [16]. أن أول من أشار إلى أهمية الهرمونات النباتية في الأوساط الغذائية الخاصة بزراعة الأجنة النباتية هو الباحث [17] عام (1936) عندما أشار إلى أن الأوكسين IAA تركيز 0.05 ملغم/لتر يساعد في نمو وتخصص الجنين للعديد من الأنواع النباتية ومنها *Zea mays*. وتختلف استخدامات منظمات النمو في النوع والتراكيز اعتماداً على تطور الحالة الفسلجية للنماذج

تأثير الفحم المنشط على إدمصاص منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمرار في فسائل نخلة التمر (صنف الرصدي) *Phoenix dactylifera L.* خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

المزروعة وعلى مراحل البحث. من الأوكسينات المستخدمة في زراعة أنسجة النخيل من الممكن تأشير مايلي:- (2,4D) 2,4 Dichlorophenoxy acetic acid ، NAA ، NOA ، IAA ، Indol-3-butyric acid (IBA). ومن الساييتوكينينات المستخدمة من الممكن تأشير مايلي:- 2,ip ، Kinitine (K) ، 6-benzyl amino purine (BA). إن الفحم المنشط يعمل كمادة صلبة تستعمل لإزالة مادة مذابة من الماء في عملية تسمى بالإدمصاص (Adsorption). أن الفحم المنشط يصنع نوعياً ليحتوي على مساحة داخلية كبيرة تتراوح من (155-500 م²/غم) وهذه المساحة الداخلية الكبيرة تجعل الفحم المنشط مثالياً لعملية الإدمصاص. [18، 19، 20]. إن الهدف من الدراسة هو دراسة تأثير الفحم المنشط على إدمصاص منظمات النمو و استخدام توليفة هرمونية محددة تكون فيها نسبة الأوكسين أكبر من نسبة الساييتوكينين فضلا عن علاج ظاهرة الإسمرار.

المواد وطرائق العمل :

أجريت هذه الدراسة في مختبر التقانة الإحيائية في كلية التربية -إبن الهيثم- على نخلة التمر (الصنف زهدي) *Phoenix dactylifera L.* ولدراسة تأثير الفحم المنشط على إدمصاص منظمات النمو و أيضا معرفة التراكيز الفعالة لمنظمات النمو بغياب الفحم المنشط و معالجة ظاهرة الإسمرار. كان الوسط الغذائي المستعمل هو وسط أملاح M&S و حضرت المحاليل الخزينة (Stock solutions). أما عن تحضير محلول الهرمونات أو منظمات النمو فبالنسبة للأوكسينات NOA ، NAA و IAA أذيب 10 مليغرام من كل منها بقطرة من NaOH (1M) ثم أكمل الحجم الى 100 مللتر من الماء المقطر. أما عن الساييتوكينين 2,ip فتم إذابة 10 مليغرام منه بقطرة من HCl (1M) ثم أكمل الحجم الى 100 مللتر من الماء المقطر. أما عن تحضير وسط السيطرة الزراعي حضروا لتر منه، سحب 50 مللتر من NOA للتعبير عن التركيز المطلوب 5 مليغرام/لتر، 10 مليلتر من IAA للتعبير عن التركيز المطلوب واحد ملغم/لتر، 10 مليلتر من NAA للتعبير عن التركيز المطلوب و الذي هو 1 ملغم/لتر كما سحب 30 مللتر من الساييتوكينين 2,ip للتعبير عن التركيز المطلوب و هو 3 مليغرام/لتر. حضر 1 لتر من معاملات التركيز لكل من الهرمونين NAA و AAI كلا على حدة فإن التركيزين المستعملين (0.75 و 1) ملغم / لتر و حضر أيضا 1 لتر من معاملات التركيز المختلفة للهرمون 2,ip و حضرت معاملات التركيز الفعالة لمنظمات النمو بغياب الفحم المنشط كالآتي :

تأثير الفحم المنشط على إحصاس منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمار في فساتل نخلة التمر (حنفه الزهدي) *Phoenix dactylifera L.* خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

1- حضر 1 لتر من معاملات التراكيز المختلفة للهرمون NOA للتراكيز الآتية 0.75، 1، 3، 5 ملغرام/لتر.

2- حضر 1 لتر من معاملات التراكيز لكل من الهرمونين NAA و IAA كلا على حدة.

3- حضر 1 لتر من معاملات التراكيز المختلفة للهرمون 2,ip و حضرت التركيز الآتية 0.09 ، 0.1 ، 0.5 ، 0.75 ، 1 ، 2 ، 3 ملغم / لتر على التوالي.

وفي ما يخص تحضير الأجزاء النباتية (تحضير قلب الفسيلة) فقلعت فساتل تمر الزهدي من الأمهات المزروعة في الحديقة النباتية لكلية التربية-إبن الهيثم بعمر 3 سنوات، و حدد عمر الفسيلة من خلال حساب عدد الأوراق والكرب (قاعدة الأوراق المزالة أو الميتة) اذ ان الفسيلة تعطي من 10-11 سغة في السنة. أزيلت الأوراق الخارجية وقواعدها بالتتابع لحين الوصول إلى قلب الفسيلة بقطر 5 سم تقريباً، و قطعت الأوراق المتبقية إلى مسافة 5 سم تقريباً فوق قلب الفسيلة أما عن تحضير أوساط مختلفة لعلاج ظاهرة الإسمار فتتمت دراسة تأثير التجميد المسبق لنموذج كامل لقلب الفسيلة بدرجة حرارة -18°م بعمر 3 سنوات في محلول حاوي على 150 ملغم/لتر Citric acid و 100 ملغم/لتر من حامض ascorbic acid ومن ثم زرعت النماذج في وسط السيطرة الحاوي على الفحم المنشط والـ P.V.P. وبعدها حضنت 50% من النماذج بفترة ضوئية 8 ساعة ظلام و16 ساعة ضوء و العينات 50% الاخرى حضنت في الظلام. كما درس تأثير التجميد المسبق لنموذج كامل لقلب الفسيلة بدرجة حرارة -18°م بعمر 3 سنوات في الماء المقطر ومن ثم زرعت في وسط السيطرة الحاوي على الفحم المنشط والخالي من P.V.P. وبعدها حضنت 50% من النماذج بفترة ضوئية 8 ساعة ظلام و16 ساعة ضوء و العينات 50% الأخرى من النماذج حضنت في الظلام، كما في أعلاه . زرعت النماذج في وسط السيطرة الخالي من الفحم المنشط والحوي على P.V.P. ، كما في أعلاه . زرعت النماذج في وسط السيطرة الخالي من الفحم المنشط و P.V.P.، كما في أعلاه . درست زراعة النماذج المزروعة بدون تجميد في وسط السيطرة الحاوي على الفحم المنشط والـ P.V.P. و عرضت نصف النماذج إلى لظلام والنصف الآخر إلى لضوء . و أخيراً درست النماذج المزروعة بدون تجميد في وسط السيطرة الخالي من الفحم المنشط والـ P.V.P. وعرضت نصف النماذج للعينات إلى الظلام والنصف الآخر إلى الضوء. حللت النتائج وقورنت إحصائياً بموجب التصميم

تأثير الفحم المنشط على إدمصاص منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمار في فؤاد نخل التمر (صنف الرصدي) *Phoenix dactylifera L.* خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

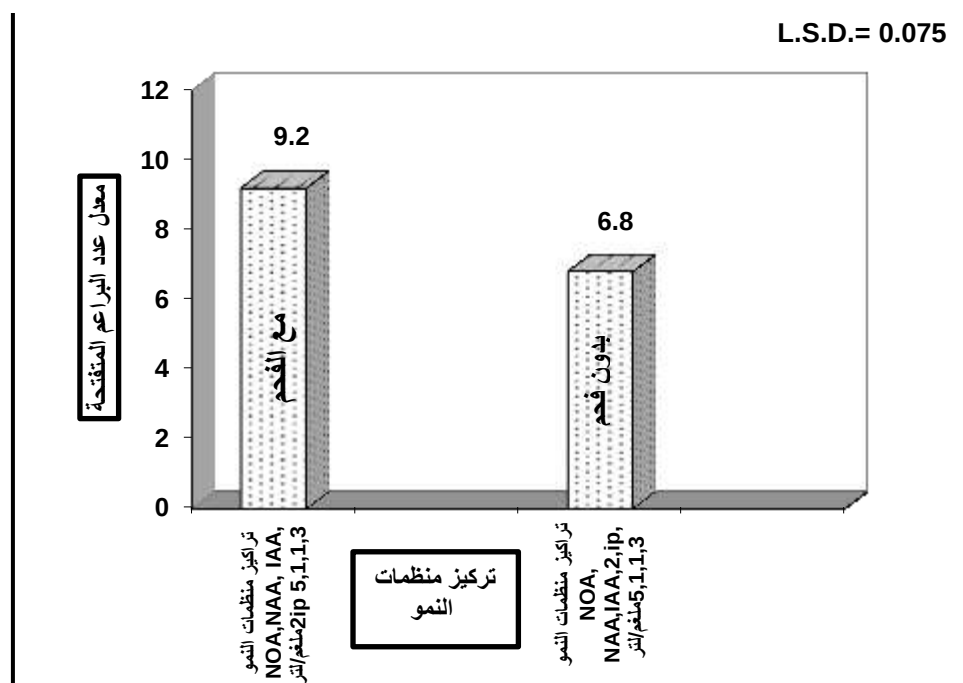
العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D) كما حلت نتائج التجربة لإيجاد أقل فرق معنوي L.S.D. وعند مستوى إحصائية 5% [21].

النتائج والمناقشة

1-علاقة الفحم المنشط بتركيزات منظمات النمو

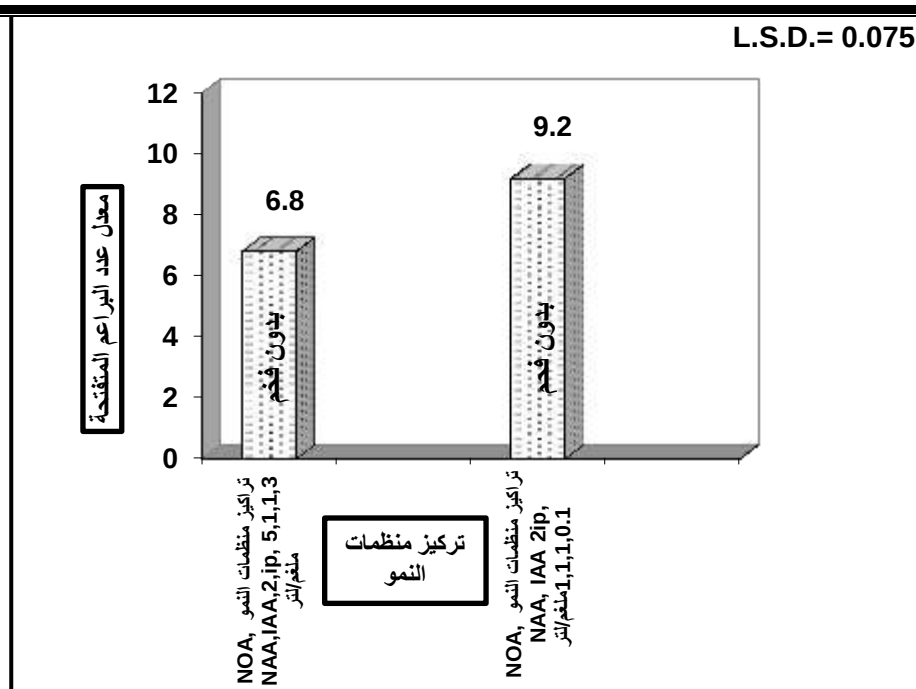
The relationship between activated charcoal and growth regulators

أوضحت نتائج تجارب تركيزات مختلفة من منظمات النمو في معدل عدد البراعم الأولية المفتحة بأن التركيزات 5، 1، 1، 3، 3 مليغرام/لتر لـ NOA و NAA و IAA و 2,ip على التوالي مع الفحم المنشط قد تفوقت معنوياً على نفس التركيزات بدون فحم عند مستوى إحصائية 5% كما في الشكل (1أ). كما أوضحت النتائج أن التركيزات 1، 1، 1، 0.1، 0.1 مليغرام/لتر لكل من NOA، NAA، IAA و 2,ip على التوالي بدون فحم قد تفوقت معنوياً على التركيزات 5، 1، 1، 3، 3 مليغرام/لتر من NOA، NAA، IAA، 2,ip على التوالي بدون فحم كما في الشكل (1 ب).



شكل (1أ): علاقة الفحم المنشط بإدمصاص منظمات النمو وتأثيره في معدل نشوء البراعم الأولية.

تأثير الفهم المنشط على إدمصاص منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمرار في فسائل نخلة التمر (صنف الرصدي) *Phoenix dactylifera L.* خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين



شكل (1ب): تأثير التراكيز المثالية لمنظمات النمو بدون فحم في معدل نشوء البراعم الأولية.
تأثير عدم استعمال الفحم المنشط في تراكيز منظمات النمو المستعملة في نشوء البراعم الأولية

في وسط السيطرة بإستعمال الفحم المنشط لمعالجة ظاهرة الإسمرار يقوم الفحم المنشط بإدمصاص الفينولات ومنظمات النمو مما يتوجب زيادة تراكيز منظمات النمو عند وجود الفحم في الوسط لتتلائم مع متطلبات عملية تفتح البراعم [22] أظهرت النتائج أن إستعمال التراكيز 5، 3 مليغرام/لتر من هرموني NOA و 2, ip على التوالي مع الفحم وإستعمال التراكيز نفسها بدون الفحم قد قللت معدل عدد البراعم الناشئة من 9.2 الى 6.8 برعم/نموذج وهذا يعني أن هذه الهرمونات المستعملة بدون الفحم قد تجاوزت الحد الملائم لها لنشوء براعم نخلة التمر كما في الشكل (1أ). ان إستعمال التراكيز 1، 0.1 مليغرام/لتر لـ NOA و 2, ip على التوالي بدون الفحم بدلاً من التراكيز 5، 3 مليغرام/لتر بدون الفحم كما في شكل (1ب) قد سببت زيادة عدد البراعم الناشئة من 6.8 الى 9.2 برعم/نموذج في حين حافظ كل من الأوكسينات IAA و NAA على تراكيزهما 1 مليغرام/لتر، وهذا يوضح أن الهرمونات ليست جميعها تستجيب للإدمصاص بالدرجة نفسها وهذا يعتمد على طبيعة المركب وهذا يتفق مع ما تطرق إليه [18] في تحليله وتصنيفه للعوامل التي تؤثر في كفاءة إدمصاص الفحم المنشط.

تأثير الفحم المنشط على إحصاس منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمار في فؤائل نخلة التمر (صنف الرصدي) *Phoenix dactylifera L.* خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

علاقة نشوء البراعم بتراكيز منظمات النمو

إن تراكيز منظمات النمو كان لها تأثيراً في عدد البراعم الناشئة، لقد كانت هناك فروق معنوية بين تراكيز منظمات النمو ونشوء البراعم، من المعروف أن هناك علاقة بين منظمات النمو وتفتح البراعم فمثلاً أن IAA مثبت لتفتح ونمو البراعم الجانبية بتراكيز معينة في حين أن 2,ip معروف كسايتوكينين له دور في تفتح ونمو البراعم وبتراكيز معينة أيضاً. أن نشوء براعم جديدة من أنسجة لاتحتوي على براعم من قلب الفسيلة يعود إلى وجود قدرة كامنة لنشوء مرستيمي في طبقة البشرة الداخلية لهذه الأنسجة [23، 24، 25]، وان النتائج أوضحت ان وسط غني بالأوكسينات بتراكيز 1 ملغم/لتر لكل من IAA و NOA و NAA بغياب الفحم المنشط كان ضرورياً لزيادة حجم النموذج وتكوين أنسجة تقوم مقام الأنسجة المرستيمية الإعتيادية للبراعم القمية. أن الأوكسينات المستعملة وبالتراكيز التي أوضحتها النتائج قامت في الأسبوع الأول من زيادة حجم النموذج ولم تنشأ أو تبرز فيه البراعم وهذا ما تطابق مع مذكره [26]. وبتتابع الأيام أثرت الأوكسينات في تنشيط النماذج فسلجياً وتهيئتها لفعل الساييتوكينينات في إنقسام الخلايا وإشتراكهما معاً في نشوء البراعم وهذا يتفق أيضاً مع ما أشار إليه [25]. ان الأوكسينات تفكك ارتباط أشكال الانسجة المتحدة الى مجاميع نسيجية متفرقة، إضافة الى ما هو معروف عن دور الأوكسينات في إستطالة الخلايا ومن ثم تهيئتها للإنقسام [27]. ان الموازنة بين الأوكسينات والساييتوكينينات اذ ان الزيادة الكبيرة للأوكسينات إبتركز 1 مليغرام/لتر لكل من IAA و NOA و NAA على الساييتوكينينات 0.1 ملغم/لتر لل2,ip أدت الى تفكك ارتباط أشكال الأنسجة المتحدة للنماذج المزروعة بعد الأسبوع الأول من الزراعة الذي إزداد فيه حجمها وفي إنقسام الخلايا وزيادة نشوء وبروز البراعم بعد الاسبوع الأول لما هو معروف عن دور الساييتوكينينات في إنقسام الخلايا ولاسيما دور ال2,ip في إنقسام الخلايا إضافة الى أهميته في نشوء البراعم [28] مما ادى الى زيادة حجم النموذج في الأسبوع الأول ثم بروز البراعم لاحقاً التي تميزت ببياضها ونشاط انسجتها. وأكدت النتائج أن هذه التوليفة من الاوكسينات والساييتوكينينات وبهذه الموازنة من التراكيز سببت إنقسام نشط للخلايا مما ادى الى زيادة معنوية في الوزن عن التراكيز الأخرى وزيادة في عدد البراعم الناشئة والبارزة. وهذا يتفق مع ما أشار إليه [27] ان نشوء البراعم يعود الى دور الساييتوكينين في تضاعف DNA وبالتالي إنقسام الخلايا. وكما اوضحت النتائج أيضاً ان الساييتوكينين 2,ip قد لائم جداً أنسجة نخلة التمر وكما هو

تأثير الفحم المنشط على إحصاس منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمرار في فسائل نخلة التمر (صنف الزهدي) *Phoenix dactylifera L.* خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

موضح من قبل [16] مقارنة مع الساييتوكينينات الأخرى. وأشار [26] أيضاً أن هذا يعود أيضاً الى زيادة الساييتوكينين الداخلي على الأوكسين الداخلي (داخل أنسجة النبات) على غير ماهو موجود في الوسط. واكد [29] أهمية الأوكسينات والساييتوكينينات بتحفيز النمو لنخلة التمر كما وضح [30] أن تكوين الاعضاء في نباتات ذات الفلقة الواحدة (Monocot) بشكل عام يتحفز بزيادة مفاجئة كبيرة لتركيز الساييتوكينين (الداخلي). ومن جانب آخر فإن بدأ عملية تكوين البراعم لاتعتمد فقط على التأثير المشترك للأوكسينات والساييتوكينينات ولكنها تحتاج أيضاً الى تراكيز محددة لكل منها في المحلول. وقد أشار [31] الى أهمية تركيز السايوكينين والأوكسين كقيم مطلقة ونسبتها في تكوين البراعم.

2-ظاهرة الاسمرار في فسائل النخيل

أظهرت نتائج جميع معاملات التجميد المسبق عدم إفراز المواد الفينولية من النماذج المزروعة وبالتالي عدم ظهور ظاهرة الإسمرار. في حين أظهرت نماذج المعاملات بدون تجميد والمزروعة في وسط السيطرة الحاوي على الفحم المنشط والـ P.V.P. تعرضها بدرجة خفيفة الى الإسمرار في الظلام وبدرجة أشد في الضوء. وأظهرت نتائج المعاملات بدون التجميد المسبق والمزروعة في وسط السيطرة الخالي من الفحم المنشط والـ P.V.P. في الضوء والظلام إفرازها للمواد الفينولية وبالتالي تعرضها وبشدة الى ظاهرة الإسمرار وموت النماذج كما في الصورة رقم (1أ). ولم يخلف التجميد أي أضرار على الأنسجة الداخلية لقلب الفسيلة والتي أستعملت كمصدر للنماذج المزروعة بعد إزالة الطبقة الخارجية الخشنة المتأثرة بمحلول التعقيم (هايبوكلورات الصوديوم) من خلال جهاز تفريغ الهواء.



صورة (1): مقارنة في درجات الإسمرار في فسائل النخيل صنف الزهدي

تأثير الفحم المنشط على إدمصاص منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمرار في فئائل نخلة التمر (صنف الرمدى) *Phoenix dactylifera L.* خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

- أ- تأثير التجميد لوحده إذ لوحظ عدم ظهور الإسمرار .
- ب- تأثير استعمال P.V.P. والفحم بدون تجميد و لوحظ إسمراراً بسيطاً.
- ج- بدون تجميد وبدون فحم و P.V.P. إذ لوحظ وجود ظاهرة الإسمرار و بشكل كبير .
- إن استعمال تجميد نماذج زراعة أنسجة النخيل خارج الجسم الحي لتقليل أو تثبيط ظاهرة إسمرار الأجزاء المزروعة والوسط الزراعي لم تدرس بشكل واسع . ان الدراسات المنشورة شملت تأثير مضادات الأكسدة Antioxidative مثل (Citric acid و Ascorbic acid) كعامل إختزال واهب الكترول يزيل الأوكسجين الفعال للفينولات [32] وتأثير استعمال الـ P.V.P. (Polyvinylpyrrolidone) بطبيعته في تشكيل معقد مع واهب الهيدروجين مثل الفينولات [33]. وتأثير استعمال الفحم المنشط Activated charcoal كعامل إدمصاص يستعمل كمادة لإدمصاص مواد عضوية غير قطبية مثل الفينولات إضافة إلى مواد أخرى من خلال السطوح البينية الكبيرة التي يوفرها والتي تتراوح ما بين 150-500 م²/غم [34،35]. وتأثير استعمال الظلام التام منعاً لبناء Flavonal (وهي مشتقات الفينولات) في البلاستيدات الخضراء والسايتوبلازم من قبل الضوء [36،37]. كما وجد أن المزروعات النامية في الظلام تظهر إسمراراً أقل [38]. لقد أوضحت النتائج أن التجميد لوحده كان كافياً لإيقاف نشاط أنزيمات أكسدة الفينولات Polyphenol oxidase و Peroxidase فلم نجد أي بحث يتطرق لهذا الموضوع سوى دراسة [15] حول قدرة التكون المظهري للضوء في نبات *Pinus sylvestris* من الكالس المتكون من القمم النامية للأشجار الناضجة للصنوبر إذ أشارت نتائجهم إلى أن استعمال درجة حرارة 5 °م لمدة 5 أشهر لنماذج الزراعة Explants (القمم النامية) قد حققت زيادة في تكوين النبيتات بنسبة 30% وعزوا ذلك إلى أن التبريد يعمل على إيقاف نشاط أنزيمات الأكسدة. وكذلك ما ذكره [39] عن الخزن في النايتروجين السائل بأن زروعات أنسجة غير متخصصة خزنت بالنايتروجين السائل Cryopreserved نجحت في الإخلاف وتكوين زروعات ذات نتوات نشأت على وسط MS مجهزة بـ 10 ملغم/لتر 2-4-D و 3 ملغم/لتر 2ip وبالتعامل مع السكرور كعامل أوزموزي لحفظ النماذج في النيتروجين السائل. ولم يؤشر أو يذكر شيئاً عن الإسمرار في هذه الطريقة وهذا يدل على أن التجميد ثبط أنزيمات أكسدة الفينولات المسببة للإسمرار. إن نماذج النخيل المزروعة بقطر 3 ملم والمجروحة من جميع الجهات تحرر الفينولات من حجيرات الخلية بغزارة مما يسبب مشكلة حقيقية تقف أمام تكاثر النخيل خارج الجسم الحي

تأثير الفحم المنشط على إحصاس منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمرار في فؤائل نخلة التمر (صنف الرصدي) *Phoenix dactylifera L.* خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

[42،41،40]. لقد أظهرت النتائج أن التجميد في درجات الحرارة إلى -18 °م كان له تأثير واضح في العمليات الأيضية لأنسجة نخلة التمر في زيادة عدد البراعم المتفتحة وتقليل قدرة أيض أنزيمات الأكسدة الـ Peroxidase والـ Polyphenoloxidase كما أن التجميد حل مشكلة استخدام الظلام الذي يؤدي إلى عدم قدرة البراعم الأولية الناشئة تحت آباط بادئات الأوراق على التخصص المظهري الكامل.

الإستنتاج :

نستنتج من نتائج التجارب التي أجريت التالي

- 1- كانت أفضل التراكيز لمنظمات النمو بغياب الفحم المنشط للأوكسينات NOA و NAA و IAA هي 1,1,1 ملغم/لتر ، على التوالي و للساييتوكين Zip هو 0.1 ملغم/لتر لإعطاء أفضل معدل لنشوء البراعم الأولية وهو 9.2 برعم / نموذج.
- 2- يمكن السيطرة على ظاهرة الإسمرار و القضاء عليها بإستعمال التجميد بدرجة حرارة -18 درجة مئوية و لمدة 30 يوما.

المصادر :

1. شريف ، حسين جاسم و المياحي ، أحمد ماضي. تأثير المعاملة بمستخلص عرق السوس وأملاح MS في أقلمة ونمو نبيتات نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* صنف البرحي المكثرة خارج الجسم الحي. مجلة أبحاث البصرة ((العلميات)). 36،2010 (6) <http://www.docudesk.com>
2. Magellan , T. ; Tomlinson , P. and Hugget , B. Stem anatomy in the spiny american palm *Bactris* (Arecaceae-Bactridinae). *Hoehnea J.* 2015, 42(3):567-579.
3. Tomlinson, P.B. Anatomy of the monocotyledons. II. Palmae. Clarendon Press. 1961, Oxford.
4. غالب ، حسام حسن علي . التقسيم النباتي Botanical Classification لشجرة نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* و الأنواع الأخرى في جنس (phoenix) . 2012 ، www.iraqi-datepalms.net
5. إبراهيم ، عبد الباسط عودة . زراعة النخيل و إنتاج التمور في العراق . 2011 ، www.iraqi-datepalms.net
6. الكاتب، يوسف منصور. تصنيف النباتات البذرية. جامعة بغداد، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. 1989، العراق.
7. Bhagrava, S.C.; Saxena, S.N. & Sharma, R. *in vitro* multiplication of (*Phoenix dactylifera L.*) *J. Plant Biochem.& Biotech.* 1989, 12:43-47.

تأثير النعم المنشط على إحصاس منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمار في فؤاد نخلة التمر (صنف الرصدي) *Phoenix dactylifera* L. خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

8. الباقر، علاء حبي؛ جراح، آمنة ذا النون؛ بدر، صالح محسن. التغيرات الموسمية في محتوى الأوكسجين وفعاليات بعض أنزيمات الأكسدة لأجزاء نخيل التمر المزروعة خارج الجسم الحي. مجلة البحوث الزراعية والموارد المائية. 1988، 8(1): 263-274.
9. الباقر، علاء حبي؛ جراح، آمنة ذا النون؛ نجم، حسين عباس . دراسة ظاهرة إسمار أنسجة نخيل التمر في الوسط الغذائي السائل . 1988 .
10. Reuveni, O. & Lillien-Kipnis, H. Studies of the *in vitro* cultures of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissues and organs. Pamphlet No. 145, Volcani Institute for Agricultural Research, Bet Dagan. 1974, pp. 40.
11. Ahmed , I. ; Hussain , T. ; Ashraf , I ; Nafees , M ;; Rafay , M. and Iqbal , M. American – Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 2013, 13(4):539-547.
12. Morfein , E. Effect of Anti-Browning on initiation phase of Musa Species Grand Naine *in vitro*. J. Forest Products & Industries , 2013. 2(2) : 45-47.
13. Dowd, P.W. & Norton, R.A. Browning-associated mechanism of resistance to insects in corn callus tissues. J. Chem. Ecol. 1995, 21:583-600.
14. Titov, S.; Bhowmik, S.K.; Mandal, A.; Alam, S. & Uddin, S.N. (2006). Control of Phenolic Compound Secretion and Effect of Growth Regulators for Organ Formation From Musa spp. cv. Kanthali Floral Bud Explants. American J. Biochem. Biotech. 2(3): 97-104.
15. Anderson, U. & Ievinsh, G. Changes of morphogenic competence in mature *Pinus stlvestris* L. buds *in vitro*. Ann. Bot. Comp. 1995, 90: 293-298.
16. الجبوري ، حميد جاسم و زايد ، عبد الوهاب . طرق تكاثر نخيل التمر Date palm <http://www.Iraqi-datepalms.net> ، 2012. propagation methods
17. La Rue, C.D. The growth of plant embryos in culture. Bull. Torrey Bot. Club .1936, 63:265-268
18. Wang, P. & Hong, L. Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue and organ culture *In-vitro*. In: MARGARA, J., Bases de La Multiplication vegetative les meristems et lorganogense. I.N.R.A. Paris. 1976, 12: 260-262.
19. Anagnostakis, S.L. Haploid plants from anthers of tobacco enhancement with charcoal, Planta. 1974, 115: 281-283.
20. Ernst, R. The use of activated charcoal in a symbiotic seedling culture of paphiopedilum. Am. Orchid. Soc. Bull. 1974, 43: 35-38.
21. الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز، محمد. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. جامعة الموصل، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . 1980، العراق.
22. Scharma, D.R.; Kumari, R. & Chowdhury, J.B. *In vitro* culture of female date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Tissues Euphytica. 1980, 29: 169-174.
23. Beauchesne, G. Techniques pour la multiplication vegetative par culture *in-vitro* du palmier dattier. Rapport personal ecrit. 1997, 209.
24. Gaspar, T. Multiplication vegetative des plantes superieures. Par culture *In-vitro*. in: cultures de cellules, tissus et organes vegetaux. Fondements

تأثير النمو المنشط على إحصاس منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمرار في فسائل نخلة التمر (صنف الرصدي) *Phoenix dactylifera* L. خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

- theoriques et utilisation pratiques. Ed. Presses poly techniques Romand. Lavoisier . 1988 ,Paris. 308.
25. Margara, J. Bases de la multiplication vegetative. Les meristemes et lorganogense. I.N.R.A. Paris. 1984, p. 262.
 26. Rashid, H.; Hussain, I.; Muhammad, A. & Quraishi, A. *in vitro* Multiplication of Date palm. Pak. J. Bot. 2001, 18(2): 201-203.
 27. Auge, R. Les phenomenes physiologiques lies a la realisation des cultures *in-vitro*. In: La culture *in-vitro* et ses applications horticoles, Ed, Technique et documentation LA VOISIER. Paris. 1984, p.152
 28. Dodds, J.H. & Roberts, L.W. Experiments in plant tissue culture. Cambridge University Press.1982.
 29. Amin, A. Essai de applications des techniques de micropropagation a quelques cultivars de palmier-dattier (*Phoenix dactylifera* L.) D.E.A. Agronomie, Mention Phytotechnie. U.S.T.L. Montpellier. 1985, p.96
 30. Duhoux, E. Organogens et multiplication vegetative chez les arbres. In: Cultures de cellules, tissus et organes vegetaux. Fondements theoriques et utilisation pratiques. Ed. Presses poly techniques Roamnd. Lavoisier. Paris. 1988, p.308
 31. Skoog, F. Aspects of growth factors interactions in morphogenesis of tobacco tissue cultures. In: Les cultures de tissus des plants. Colloq. Int. CNRS.1971, 193: 115-136.
 32. Titov, S.; Bhowmik, S.K.; Mandal, A.; Alam, S. & Uddin, S.N. Control of Phenolic Compound Secretion and Effect of Growth Regulators for Organ Formation From Musa spp. cv. Kanthali Floral Bud Explants. Ame. J. Biochem. Biotech. 2006, 2(3): 97-104.
 33. Zaid, A. & Tisserat, B. Survey of the morphogenetic potential of excised palm embryos *in vitro*. Crop. Res. (Hortic Res.). 1984, 24: 1-9.
 34. Toth, K. & Hohtola, A. Alleviation of browning in oak explants by chemical pretreatments. Biol. Plantarum. 1994, 36: 511-517.
 35. Favin, F.D.; Klein-Schwartz, W.; Ordera, G.M. & Rose, S.R. *In vitro* study of lithium carbonate adsorption by activated charcoal. J. Tox. Clin. Tox.1988, 26: 443-450.
 36. Kefeli, VI., Kalevitch, M.V. & Borsari, B. Phenolic cycle in plants and environment. J. Cell Mol. Boil.2003, 2: 13-18.
 37. Zapprometov, M. The formation of phenolic compounds in plant cell and tissue cultures and possibility of its regulation. Adv. Cell Cult.1989, 7: 240-245.
 38. Zaid, A. & Wet, P.F. Chapter 5: Date palm propagation. Date palm J. 2002, 6(4): 16-36.
 39. Bekheet, S.A.; Taha, H.S.; Solliman, M.E. & Hassan, N.A. Cryopreservation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultured *in-vitro*. (Abstract). J. Biol. Plantarum, 2004, 48(1): 19-20.
40. الندوة العراقية الفرنسية لزراعة أنسجة نخيل التمر. أيلول. 1988، 26-29.

تأثير الفحم المنشط على إحصاس منظمات النمو وعلاج ظاهرة الإسمرار في فسائل نخلة التمر (صنف الرصدي) *Phoenix dactylifera* L. خارج الجسم الحي *in vitro* أ.م. سميرة مؤيد ياسين

41. Compton, M.E. & Preece, J.E. Exudation and explant establishment. NS Int. Assn. Plant Tissue Culture.1986, 50: 9-18.
42. Laukkanen, H.; Haggman, H.; Kontunen-Soppela, S. & Hohtola, A. Tissue browning of *in vitro* cultures of Scots pine: Role of peroxidase and poly phenol oxidase. Physiologia plantarum. 1999, 106: 337-343.

The effect of activated charcoal on the adsorption of growth regulators and treat browning phenomenon of date palm *Phoenix dactylifera* L. *in vitro*.

Assistant Proff. Samira Muayad Yaseen

Deparetment of biology / college of education for pure sciences (Ibn Al- Haitham) / Baghdad University

Abstract

The study was carried out on Date palm (the variety Zahdi) (*Phoenix dactylifera* L.). The effect of activated charcoal was studied on the adsorption of growth regulators to the auxins : α -Naphthalene acetic acid (NAA) , β -Naphthyloxy acetic acid (NOA) , Indol-3-acetic acid (IAA) and the cytokinin N-(2-isopentyl) adenine (2,ip) by culturing the samples on culture media which devoided of activated charcoal and determination of the optimum concentration for the initiation of primary buds in comparsion with the concentrations of growth regulators in media containing activated charcoal. The results showed that the most favorable concentrations are 1, 1, and 1 mg/L for the auxins NAA, NOA, IAA, respectively, and 0.1 mg/l for the cytokinin 2,ip, when the samples were cultured on culture media devoided of activated charcoal. Results have also revealed that curing of the browning phenomenon become by freezing prior to culturing at temperature -18 °C for 30 days instead of using ; antioxidant solution (150 mg/L citric acid and 100 mg/L ascorbic acid) and using Polyvinyl pyrolidone (P.V.P.) , and adsorption factor for (activated charcoal). The freezing factor alone was more effective in controlling the browning phenomenon than the other factor.

Keywords : growth regulation . browning . date palm