دراسة تشريحية مقارنة للكالس الأولي لنخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) صنف الحلاوي الناتج عن المعاملة بمنظمات نمو مختلفة

صبيح داود محمد العطبي* محمد حمزة عباس** أسراء عبد الرزاق حميد السامر**

*قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة البصرة ** مركز أبحاث النخيل/ جامعة البصرة

محافظة البصرة/ جمهورية العراق

الملخص

أجريت الدراسة الحالية لتحديد التأثيرات السمية لتراكيز مختلفة من منظمات النمو (2, 4-D و Dicamba وNAA) في خلايا الكالس الأولي لنخيل التمر صنف الحلاوي، إذ عملت مقاطع تشريحية مستعرضة لخلايا الكالس الأولي الناتج عن المعاملة بتلك المنظمات. أشارت نتائج التشريح النسيجي الى مقدار التلف الكبير الذي سببته معاملة منظم النمو 2, 4-D بالتركيز العالي (١٠٠ ملغم/ لتر) والتي ظهرت جليةً من خلال انتشار مركبات التانين على طول النسيج المعامل وكانت مصحوبةً بارتفاع النسبة المئوية لاسمرار الجزء النباتي وبلغت ما معدله ٨٠%، مقارنة بمعاملة منظم النمو نفسه في التركيز المنخفض (٥٠ ملغم/ لتر) والذي أقتصر انتشار مركبات التانين فقط تحت خلايا البشرة، مع ملاحظة سلامة نسيج الكالس من ألاسمرار تلتها معاملتا منظمي النمو NAA و Dicamba.

كذلك أثبتت النتائج أن منظم النمو 2, 4-D في التركيز العالي قد أدى إلى زيادة سمك الخلايا البرنكيمية إذ بلغ متوسط طول وعرض الخلية الواحدة ٧٧ و ٥٢ مايكرميترو ، وصاحب هذا الازدياد في الحجم قلة في أعداد الخلايا البرنكيمية والتي سجلت معدلاً ٦٥٣ خلية، في حين سجلت معاملة الـ 2, 4-D بالتركيز القليل معدل عدد خلايا بلغ ٦٧١.٥ خليةً والسمك بلغ ٥٧.٥ و ٤٢.٥ مايكرو متر. ومن الجدير بالذكر أن معاملة التركيز العالي من منظم النمو 2, 4-D (١٠٠ ملغم/ لتر) قد أدت إلى تقليل سمك خلايا البشرة والذي بلغ ٢٧.٥ مايكرو متر، في حين بلغ ٣٧.٥ و ٣٥ و ٣٧.٥ مايكرو متر في معاملات 2, 4-D بالتركيز المنخفض و NAA و Dicamba ، على التوالي.

الكلمات المفتاحية: التأثيرات التشريحية، صنف الحلاوي، زراعة الأنسجة، منظمات النمو، نخيل التمر.

مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الثالث

المقدمة

تعد أشجار نخيل التمر .*Phoenix dactylifera* L من اشجار ذوات الفلقة الواحدة Monocotyledons التي تنتمي إلى العائلة Arecaceae، ومن أهم أشجار الفاكهة كونها رافدا"من روافد الاقتصاد الأساسية للملايين من الناس في منطقة الشرق الأوسط وشمال إفريقيا (Alshahiband Marshall, 2003, Al-Khalifah *et al.,* 2013) .

تختلف طرق إكثار النخيل فتستعمل بذور التمر في الإكثار لإنتاج الشتلات، وتعد هذه الطريقة من الطرق السهلة في الإكثار لكن يعاب عليها عدم التعرف على نوعية الأصناف المنتجة إلا بعد وصولها إلى مرحلة الإثمار التي تصل إلى عدة سنوات (Jain, 2012)، إما التكاثر اللاجنسي فتعد من الطرق المفضلة في إكثار نخيل التمر وتتم بطريقتين إما بواسطة الفسائل Offshoots و التي تنتج في الطور الفتي من نمو النخلة Juvenile phase (Jain, 2012). وكذلك بواسطة زراعة الانسجة Tissue Culture و تعد هذه الطريقة من التقنيات الحديثة لإكثار نخيل التمر والتي يمكن من خلالها الحصول على أعداد كثيرة من أشجار النخيل وبفترة زمنية قصيرة وخالية من الأمراض الفيروسية وتمتاز هذه الطريقة بقدرتها على إنتاج فسائل مطابقة للام وراثياً True-to-type (Al-Khayri, 2005, 2007).

يتم إكثار النخيل نسيجيا إما بواسطة عملية تكوين الأعضاء Organogenesis من القمة النامية أو بواسطة تكوين الأجنة الجسمية Somatic embryogenesis أما مباشرة من النسيج النباتي أو عن طريق المرور بمرحلة الكالس والتي تتكون منها الأجنة الخضرية من خلال زراعة أنسجة النبات في أوساط غذائية صناعية معقمة (Al-Khalifah and Shanavaskhan , 2012). كما تعد زراعة الأنسجة النباتية واحدة من الحلول المتاحة لتعويض النقص الحاصل في أعداد أشجار نخيل التمر ولهذا توجهت الجهود لإكثارها بتقنية الزراعة النسيجية، ورغم التطور الحاصل بالزراعة النسيجية خلال الفترة الأخيرة ألا انه بقيت الكثير من العوائق من بينها مشكلة التلون البني للجزء النباتي Browning إذ تتميز أنسجة نخيل التمر المزروعة خارج الجسم الحي بحدوث تغيرات في عملية بناء وتراكم بعض الفينولات إذ تميل الأنسجة إلى الاسمرار خلال الشهر الأول من الزراعة نتيجة لعملية أكسدة هذه المركبات والتي تتشكل منها مركبات الكينونات Quinons السامة التي تؤدي إلى تثبيط شديد لنمو الأنسجة وتسممها وبالنتيجة اسوداد النسيج وموته (Zaid 1984, El-Bellaj and El-Hadrami, 2004, Abohatem *et al*., 2011)

تستخدم الاوكسينات بشكل كبير في إكثار نخيل التمر مضافة إلى الوسط الغذائي إذ لا يمكن إكثار نخيل التمر عن طريق زراعة الأنسجة إلا باستخدامها، وبينت الدراسات إن استخدام التراكيز العالية من الاوكسين قد أثبتت فاعليتها في استحثاث الكالس الأولي و الكالس الجنيني(Jasim, 1999; Sharma *et al.*, 1980)، وتمكن Tisserat (١٩٧٩) من إنتاج نبيتات كاملة من نخيل التمر بطريقة توالد الأجنة الخضرية عند قيامه بزراعة البراعم القمية و الابطية على أوساط غذائية مزودة بتركيز عالي من الاوكسين وواطئ من السايتوكاينين، ودرس Mater (١٩٨٦) تأثير إضافة عدة تراكيز ٠ و ١ و ١٠ و ١٠٠ ملغم/ لتر من الاوكسينات الـ NAA و 2, 4-D، كما قامت الباحثة الطه (1987) باستخدام أوساط زرعية تحتوي على 2, 4-D بتركيز ١٠ و ٥٠ و ١٠٠ و ١٥٠ ملغم/ لتر، كما بين Omar and Novak (1990) تأثير الاوكسين Dicamba (3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid) إذ تم استخدام الهرمون بنجاح في استحداث الكالس وإنتاج النباتات، كما قام Filkowski *et al.* (2003) باستحدام الـ Dicamba في إكثار نبات *Arabidopsis thaliana*. أن استخدام التراكيز العالية من الاوكسينات (٥٠-٢٠٠ ملغم/ لتر) الشائع في المراحل الأولية من تحفيز نشوء الكالس غالباً ما يكون مصحوباً بتغييرات غير مرغوب فيها في المزارع النسيجية على المستوى المورفولجي والبايوكيميائي وكذلك الوراثي سيما مع الهورمون 2, 4-D (Al-Wasel, 2000, 2001, Kunert *et al.*, 2003, Ramage, *et al.*, 2004, Al-Samir *et. al.* 2015)

لذا هدفت الدراسة الحالية إلى تحديد التأثيرات على المستوى النسيجي لخلايا الكالس الأولي لنخيل التمر صنف الحلاوي الناتج من المعاملة بتراكيز مختلفة من منظمات النمو Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) والـ 3,6-Dichloro-2-methoxybenzoic acid (Dicamba) و NAA.

المواد وطرائق العمل:

١-تحضير الأجزاء النباتية

استخدمت في هذه الدراسة فسائل النخيل صنف حلاوي بعمر ٢ - ٣ سنوات، حضرت الأجزاء النباتية (البراعم القمية) بطريقة إزالة الأوراق والليف بالتعاقب وبصورة تصاعدية Acropetaly حتى الوصول إلى القمة النامية Shoot tip والتي تبدو بهيئة جسم مخروطي الشكل سمكه ٢ ملم، وضعت الأجزاء النباتية المستأصلة في محلول مضاد للأكسدة Antioxidant Solution يتكون من 150 ملغم/ لتر حامض الستريك و100 ملغم/ لتر حامض الاسكوربيك وذلك لإيقاف عملية الأكسدة ومنع اسمرار الأنسجة المراد زراعتها وتراكم المواد الفينولية (Zaid,1984., Al-Khayri and Bahrany, 2001).

عقمت الأجزاء النباتية بوضعها داخل أوعية زجاجية تحتوي على المحلول القاصر التجاري بتركيز 20% (حجم : حجم) وأضيفت إليه قطرة واحدة من المادة الناشرة Tween – 20 لكل 100 مل من المحلول، تركت الأجزاء النباتية في المحلول لمدة ٢٠ دقيقة، بعدها استخرجت من محلول التعقيم وغسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات وتمت هذه العملية داخل منضدة انسياب الهواء الطبقي Laminar Air Flow Cabinet المعقمة سابقا ثم نقلت الأجزاء النباتية إلى أطباق بتري وتمت إزالة بادئات الأوراق، كما في صورة (1).

أ ب ج د

صورة(١) تشريح فسائل نخيل التمر صنف الحلاوي . (أ ، ب) القمة النامية لنخلة التمر صنف الحلاوي قبل استئصالها. (ج) القمة النامية. (د) تقسيم القمة النامية إلى أربعة أجزاء من اجل الزراعة.

٢-تحضير الوسط الغذائي

حضر الوسط الزرعيMS المستخدم في إكثار نخيل التمر حسب طريقة (1962) Murashige and Skoog كما في جدول (١)، أضيفت منظمات النمو الاوكسينات والسايتوكاينينات إلى الوسط الزرعي وبتراكيز مختلفة، إذ تم إضافة 3 ملغم / لتر من 2ip أما 2, 4-D فقد استخدم بثلاث تراكيز 10 و 50 و 100 ملغم/ لتر و استخدم الاوكسين Dicamba بثلاثة تراكيز هي ١ و ٥ و ١٠ ملغم/ لتر، تم إضافة الهرمون قبل عملية التعقيم، مع إضافة 3 ملغم/ لتر من 2ip وتم أضافه الهرمون بعد عملية التعقيم، حضر الوسط الزرعي وأضيفت كافة المواد إليه ثم عقم بجهاز التعقيم (الموصدة) بدرجة 121° م وضغط 1.04كغم/ سم^2 ، ترك بعدها ليبرد ليضاف الهورمون إليه بواسطة ماصة معقمة، ثم وزع في أنابيب زجاجية (معقمة) وتمت هذه العملية بداخل منضدة انسياب الهواء الطبقي، وأضيف الاوكسين NAA بتركيز 30 ملغم/ لتر مع إضافة 3 ملغم/ لتر من 2ip.

ضبط الأس الهيدروجيني "pH" للوسط عند 5.7 بمعايرة الوسط بمحلول هيدروكسيد الصوديوم وحامض الهيدروكلوريك 0.1 عياري باستعمال جهاز Digital pH –meter نوع NIG333. أضيفت مادة الاكار بتركيز 6 غم/ لتر وسخن الوسط حتى درجة حرارة 91 ° م. وزع الوسط الغذائي في أنابيب زجاجية بمقدار 25 سم^3/ أنبوب، بعد ذلك سدت فوهة الأنابيب بالقطن الطبي وغلقت أعناقها بأوراق الألمنيوم Aluminium Foil.

عقمت الأنابيب والأدوات المختبرية المستخدمة في الزراعة لمدة ١٥ دقيقة في جهاز التعقيم (الموصدة). استخرجت الأنابيب بعد الانتهاء من عملية التعقيم ورجت عدة مرات لغرض تجانس محتوياتها وتركت لتبرد حتى موعد الزراعة. زرعت الأجزاء النباتية داخل أنابيب الزراعة المحتوية على الوسط الزرعي الصلب وفقاً لمعاملات الدراسة وحضنت في الظلام بدرجة 27 ±٢ ° م لحين نشوء الكالس ، وأجريت عملية إعادة الزراعة كل أربعة أسابيع .

وبعد تكون الكالس الأولي بفترات زمنية مختلفة حسب نوع وتركيز الاوكسين المستخدم اذ تم الحصول عليه من المعاملة NAA (٣٠ ملغم/ لتر) بعد 85 يوما" و 2, 4-D (50 ملغم/ لتر) بعد ٦٧ يوما والـ Dicamba (١٠ ملغم/ لتر) بعد ٦٦ يوما" و الـ 2, 4-D. (100 ملغم/ لتر) بعد ١٢٠ يوما تم أجراء الدراسة التشريحية.

٣-الدراسة التشريحية

حضرت المقاطع النسيجية لغرض الدراسة التشريحية حسب طريقة Willey (1972) إذ ثبتت خلايا نسيج الكالس الأولي في محلول "Formalin Acetic acid "F.A.A المحضر من (٥ مل فورمالين و ٥ مل حامض الخليك الثلجي و ٩٠ مل كحول اثيلي ٧٠%) لمدة ٢٤ ساعة ، مررت الأجزاء المقطوعة في سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (٧٠ – ٨٠ – ٩٥%) لمدة ساعة في كل تركيز ثم إلى الكحول المطلق ١٠٠% لمدة ليلة كاملة مع استبدال الكحول بعد مرور ست ساعات. وضعت النماذج في قناني تحتوي على خليط كحول مطلق : زايلين (١:٣) و(١:١) و(٣:١) لمدة ٣٠ دقيقة في كل مزيج ثم تركت في الزايلين النقي لمدة ٣٥ دقيقة ، وضعت بعدها في خليط من الزايلين وشمع البرافين في فرن بدرجة حرارة ٦٠ –٦٥ ° م لمدة أربع ساعات ثم نقلت إلى شمع البرافين وتركت لمدة ليلة كاملة على درجة الحرارة نفسها، حضر البرافين في درجة الحرارة السابقة وصب في مكعبات بلاستيكية بعد أن عُلمت ثم تُركت لتبرد وتصبح جاهزة للقطع.

قطعت النماذج بالمشراح الدوار Rotary Microtome ووضعت في حمام مائي على درجة حرارة ٥٠ – ٦٠ ° م ثم حُملت على شرائح زجاجية بعد وضع زلال ماير عليها (زلال البيض وكليسرين، ١:١) ووضعت في الفرن بدرجة حرارة ٥٠ – ٦٠ ° م لمدة ١٥–٣٠ دقيقة ووضعت في الشكالة ووضعت ئي الزايلين (ترويق) لمدة ليلة كاملة . مررت المقاطع النسيجية بسلسلة متنازلة من الكحول الاثيلي ١٠٠ – ٩٠ – ٨٠- ٧٠ – ٥٠ ← ماء مقطر لمدة ٥ دقائق في كل منها . وضعت المقاطع النسيجية في صبغة السفرانين المحضر (١غم في ١٠٠ مل ماء مقطر) لمدة ٣٠ – ٦٠ دقيقة غسلت بالماء المقطر لإزالة الصبغة لمدة خمس دقائق، مررت المقاطع النسيجية بعد ذلك بسلسلة متصاعدة من الكحول الاثيلي ٧٠ – ٨٠ – ٩٠ – ١٠٠ (لمدة خمس دقائق في كل منها). صبغت المقاطع النسيجية بصبغة الأخضر السريع Fast green والمحضر بإذابة (0.25–0.5) غم من صبغة الأخضر السريع في ١٠٠ مل من الكحول المطلق ورشحت ووضعت في الصبغة لمدة ١٥ – ٣٠ ثانية ثم غسلت بالكحول المطلق لأزالتها، مررت المقاطع النسيجية بالزايلين ثلاث مرات متتالية لمدة خمس دقائق في كل منها ثم حملت على شرائح زجاجية لتثبت بعدها بغطاء الشريحة بإضافة قطرات DPX لتصبح بعدها جاهزة للفحص المجهري.

جدول (١) تراكيز الأملاح اللا عضوية لوسط MS.

المجموعة	اسم المادة	الرمز الكيميائي	الكمية ملغم /لتر
النترات	نترات الامونيوم	NH_4NO_3	1650.00
	نترات البوتاسيوم	KNO_3	1900
الكبريتات	كبريتات المغنيسوم	$MgSO_4.7H_2O$	370
	كبريتات المنغنيز	$MnSO_4.H_2O$	16.90
	كبريتات الخارصين	$ZnSO_4.7H_2O$	8.60
	كبريتات النحاس	$CuSO_45H_2O$	2.50
الـ P.B.MO	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين	KH_2PO_4	170
	فوسفات الصوديوم	NaH2PO4.H2O	170
	حامض البوريك	H_3BO_3	6.20
	مولبيدات الصوديوم	$NaMoO_4.2H_2O$	25
الهاليدات	كلوريد الكالسيوم	$CaCl_2.2H_2O$	440
	ايوديد البوتاسيوم	KI	0.83
	كلوريد الكوبلت	$CoCl_2.6H_2O$	2.50
الحديد المخلبي	كبريتات الحديدوز المائية	$FeSO_4.H_2O$	27.84
	المادة المخلبية بشكل ملح ثنائي الصوديوم	Na_2EDTA	37.25

جدول (٢) تراكيز المواد المضافة الى الوسط الغذائي.

اسم المادة	الكمية ملغم/ لتر
السكروز	30.00
اورثو فوسفات الصوديوم الحامضية	170.00
ميزو انيستول	100
ثيامين	0.50
كلايسين	2.00
كبريتات الادنين	40
الفحم المنشط	3 g/L

فحصت النماذج الجاهزة باستخدام المجهر الضوئي نوع GEMMY وتم اخذ القياسات التالية:-

- طول وعرض الخلايا لكل معاملة على قوة X 40.
- أعداد الخلايا النباتية في كل معاملة باستخدام قوة X 40.
- سمك البشرة للمعاملات المختلفة على قوة X 10.
- ملاحظة تواجد وانتشار مركبات التانين في الأنسجة النباتية باستخدام القوة X 10.

تم اخذ الصور للدراسة التشريحية باستخدام الكاميرا DEC-2.

النتائج والمناقشة

بينت نتائج الدراسة التشريحية أن الكالس الأولي الناتج عن المعاملة بالتركيز العالي من منظم النمو 2, 4-D (١٠٠ ملغم/ لتر) قد تضرر بشكل كبير، وكان هذا الضرر جلياً من خلال انتشار مركبات التانين في النسيج النباتي لتمتد تلك المركبات من تحت خلايا البشرة على طول النسيج النباتي للمقطع العرضي المعامل (صورة ٢ أ)، مع زيادة النسبة المئوية لاسمرار الجزء النباتي للكالس المكثر على هذا التركيز من الاوكسين أذ بلغت ٨٠%، مقارنة مع الكالس الأولي الناتج عن المعاملة بمنظم النمو نفسه لكن بالتركيز المنخفض (٥٠ ملغم/ لتر)، أذ كانت الأنسجة سليمة ولم تظهر عليها أية أعراض للاسمرار، كما أن المقطع المستعرض للنسيج (الكالس الأولي) أوضح قلة في مركبات التانين واقتصار انتشارها قرب البشرة وعدم امتدادها على طول النسيج النباتي (صورة ٢ ب).

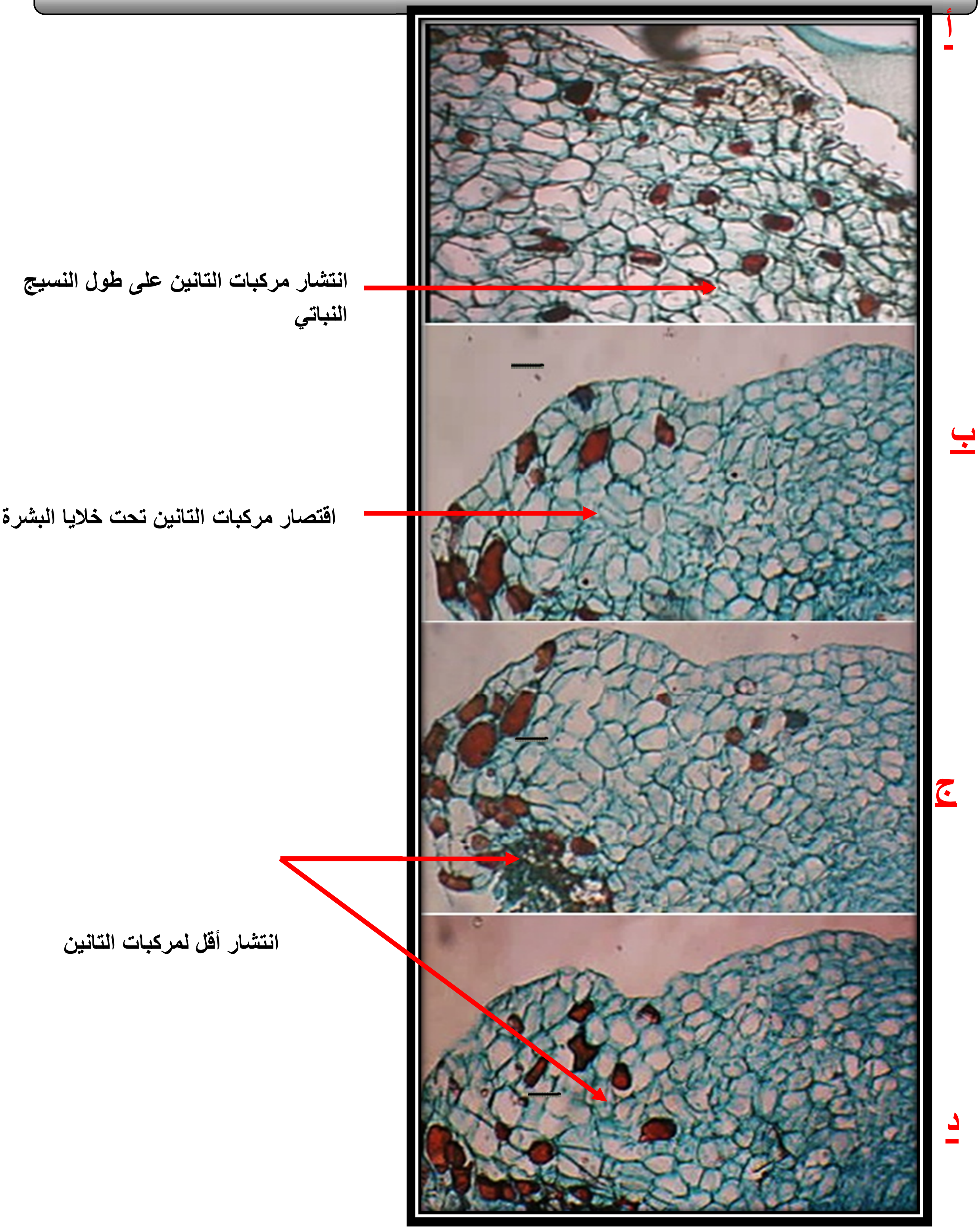
أما عن الكالس الأولي الناتج عن المعاملة بالاوكسينات NAA (٣٠ ملغم/ لتر) و Dicamba (١٠ ملغم/ لتر) فأظهرت النتائج تأثيراً طفيفاً تمثل بالاسمرار بنسبة مئوية بلغت ١٣.٧٥ و ٣٠%، على التوالي، كما بينت مقاطع التشريح النسيجي ظهور مركبات التانين في نمط انتشار أقل مما هو عليه في التركيز العالي من 2, 4-D (صورة ٢ ج، د).

أن مركبات التانين غالباً ما تكون متواجدة في النسيج النباتي بشكل قليل ومحدود ولكن تزداد تلك المركبات وبشكل كبير وتنتشر على امتداد النسيج النباتي استجابة لعوامل أجهاد مختلفة Plant stresses كالإجهاد البيئي (ارتفاع درجات الحرارة و شدة الإضاءة و أجهاد الماء و ظروف التربة الفقيرة) والأمراضي (كالإصابة بالفطريات و الحشرات) والسمي (Van Soest, 1994; Rhoades, 1979)، وعادة ما تعرف مركبات التانينات على أنها مجموعة من مركبات النبات الثانوية والمعروفة كيميائياً بكونها مركبات فينولية معقدة ذات وزن جزيئي عالي والتي لها مقدرة على تكوين معقدات مع البروتينات بشكل رئيس، وكذلك مع السكريات المتعددة (كالسليلوز وأنصاف السليلوز والبكتينات) والقلويدات والأحماض النووية والمعادن (Van Soest, 1994, Giner-Chaves, 1996)، وتتميز مركبات التانين بسميتها العالية عند تواجدها في الخلية النباتية بشكل كبير

وتتسبب في كثير من الأحيان بموت الخلية (Baur and Walkinshaw, 1974, Barnett, 1978, Hall *et al.*, 1992).

وتتفق النتائج الحالية حول ارتباط انتشار مركبات التانين وكثرتها بزيادة معدلات اسمرار الجزء النباتي مع نتائج Laukkanen *et al.* (2000) والذين بينوا أن ارتفاع تركيز مركبات التانين في الخلية النباتية كان مرتبطاً وبشكل موجب مع حدوث الاسمرار للكالس في نبات البلوط، وغالباً ما يؤدي الى تثبيط نمو Growth retardation الكالس المكثر وموته.

كذلك أثبتت النتائج أن خلايا الكالس الأولي لنخيل التمر صنف الحلاوي المعامل بالتركيز العالي من 2,4-D (100ملغم/ لتر) قد أزداد فيها سمك الخلايا البرنكيمية (ممثلةً بطول وعرض الخلية الواحدة) لتصل الى ما معدله ٧٧ و ٥٢ مايكروميتر، على التوالي، مقارنة مع المعدلات الأقل في معاملات الاوكسينات 2, 4-D بالتركيز ٥٠ ملغم/ لتر و NAA و Dicamba (جدول ٣). كما أوضحت نتائج القياسات أن الزيادة الحاصلة في سمك الخلايا البرنكيمية للكالس الأولي الناتج عن المعاملة 2, 4-D (100ملغم/ لتر) كانت مصحوبةً بقلة في أعدادها إذ بلغت معدل أعدادها ٦٥٣ خلية، مقارنة بما سجل في معاملة 2, 4-D بالتركيز المنخفض (50ملغم/ لتر) إذ بلغ معدل عدد الخلايا ٦٧١.٥ خلية، ومن الجدير بالذكر أن سمك خلايا البشرة قد تغير و أنخفض بشكل ملفت للنظر جراء المعاملة بالتركيز العالي من 2, 4-D (100ملغم/ لتر) ليبلغ ٢٧.٥ مايكرو متر مقارنة بالمعدلات التي سجلت في معاملات الاوكسينات 2,4-D بالتركيز ٥٠ ملغم/ لتر و NAA و Dicamba التي كانت ٣٧.٥ و ٣٥ و٣٧.٥ مايكرو متر، على التوالي(صورة ٣). أن هذه التغيرات الكبيرة في سمك وعدد الخلايا البرنكيمية التي تلي البشرة وسمك خلايا البشرة بفعل التركيز العالي من الاوكسين 2, 4-D بالتركيز ١٠٠ ملغم/ لتر، مقارنةً مع المعاملات الأخرى جاءت متفقةً مع نتائج دراسة Al-Samir *et al.* (2015) والذين أثبتوا التأثيرات السمية لمعاملة 2, 4-D بالتركيز ١٠٠ ملغم/ لتر على الكالس الأولي لنخيل التمر صنف الحلاوي والتي تجلت من خلال المؤشرات المظهرية والبايوكيميائية للكالس، إذ قللت هذه المعاملة الوزن الطري والجاف للكالس الأولي الناتج عن هذه المعاملة ليصل إلى ٤٩٧ و ٩٨ ملغم، إذ ما قورن مع الكالس الأولي الناتج عن المعاملة بالتركيز ٥٠ ملغم/ لتر من الاوكسين نفسه أذ بلغ معدل الوزن



لوحة (٢) انتشار مركبات التانين في خلايا نسيج الكالس الأولي لنخلة التمر صنف الحلاوي

أ- خلايا نسيج الكالس الأولي النامي بوسط مدعم 100 ملغم/ لتر 2, 4-D. ب- خلايا نسيج الكالس الأولي النامي بوسط مدعم بـ 50 ملغم/ لتر 2, 4-D. ج- خلايا نسيج الكالس الأولي النامي بوسط مدعم بـ 10 ملغم/ لتر Dicamba د- خلايا نسيج الكالس الأولي النامي بوسط مدعم بـ 30 ملغم/ لتر NAA. مقياس الرسم ١٠ مايكروميتر

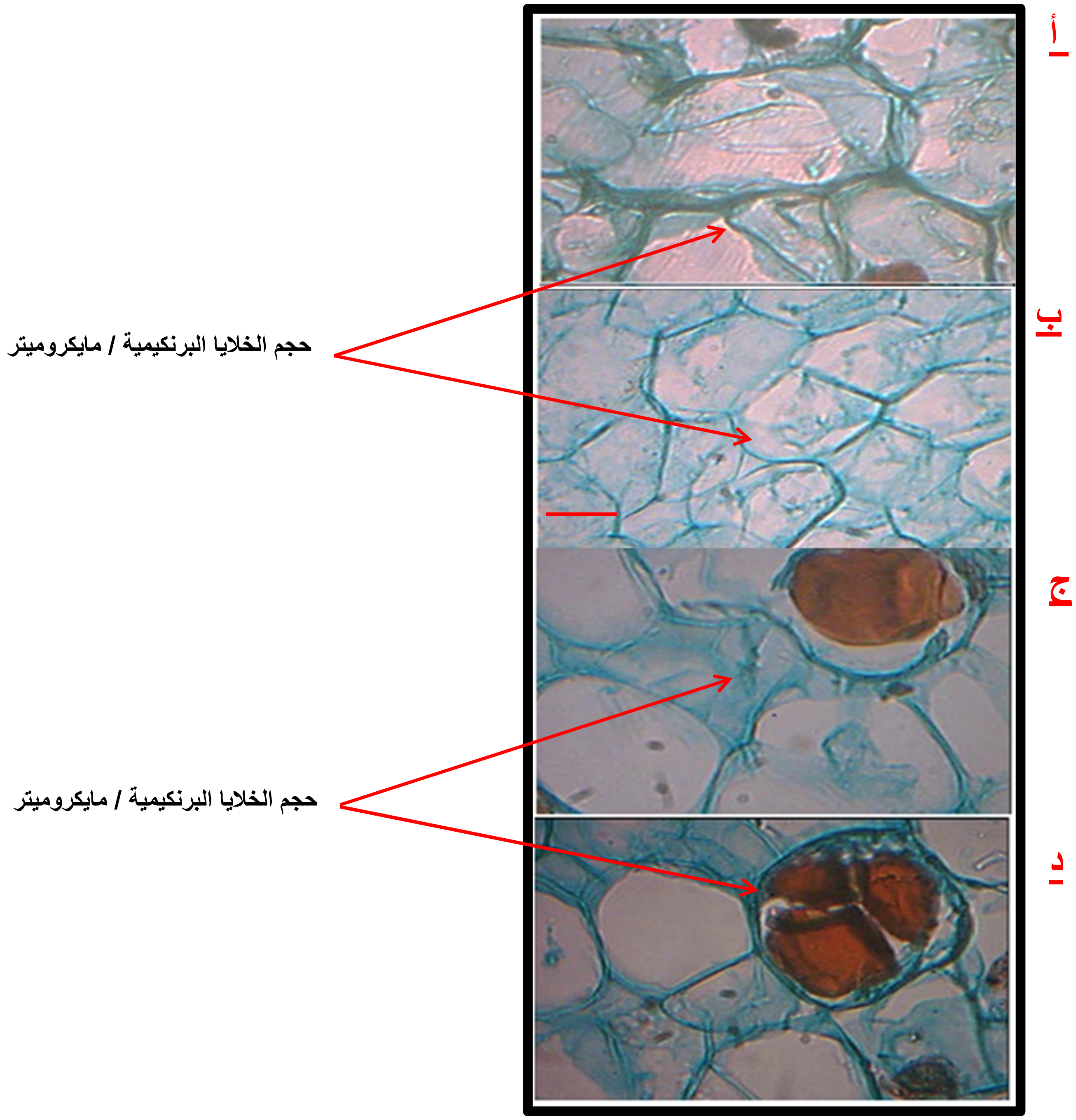
الطري والجاف له ٩٧٧ و ٢١١ ملغم، على التوالي، فضلاً عن تأشير زيادة معنوية وكبيرة في تراكم المركبات الفينولية السامة والحامض الاميني االبرولين وزيادة مضطردة لفعالية الإنزيم البيروكسيديز في الكالس الأولي الناتج عن المعاملة 2, 4-D بالتركيز ١٠٠ ملغم/ لتر مقارنةً بالتركيز القليل من الاوكسين نفسه ومعاملتي NAA و Dicamba. وبناءً على هذه المعطيات فأن التأثيرات المظهرية والبايوكيميائية التي أثبتت سابقاً (Al–Samir *et al*., 2015) توفر قاعدة علمية لتفسير التأثيرات السمية الجلية التي أثبتتها الدراسة التشريحية الحالية

جدول (٣) أعداد الخلايا البرنكيمية وحجمها وسمك خلايا البشرة في الكالس الأولي لنخيل التمر صنف الحلاوي الناتج عن المعاملة بمنظمات نمو مختلفة

المعاملة ملغم/ لتر	عدد الخلايا البرنكيمية	طول الخلية البرنكيمية مايكروميتر	عرض الخلية البرنكيمية مايكروميتر	سمك خلايا البشرة مايكروميتر
NAA at 30	٤٠١-٩٤٤* (٦٧٢.٥)**	٥٠-٧٥ (٦٢.٥)	٣٧-٦٢ (٤٩.٥)	٣٠-٤٠ (٣٥)
2, 4-D at 50	٤٠٠-٩٤٢ (٦٧١)	٥٠-٦٥ (٥٧.٥)	٤٠-٤٥ (٤٢.٥)	٣٠-٤٥ (٣٧.٥)
2, 4-D at 100	٦٢٨-٦٧٨ (٦٥٣)	٦٢-٩٢ (٧٧)	٤٢-٦٢ (٥٢)	٢٥-٣٠ (٢٧.٥)
Dicamba at 10	٤٧٠-٨٦٦ (٦٦٨)	٥٠-٧٠ (٦٠)	٣٧-٥٠ (٤٣.٥)	٣٥-٤٠ (٣٧.٥)

*تمثل الأرقام خارج الأقواس الحد الأدنى والأعلى للقراءات.

**تمثل الأرقام داخل الأقواس معدلات القراءة.



لوحة (٣) حجم وأعداد خلايا نسيج الكالس الاولي لنخلة التمر صنف الحلاوي.

أ- خلايا نسيج الكالس الأولي النامي بوسط مدعم 100 ملغم/ لتر 2, 4-D. ب- خلايا نسيج الكالس الأولي النامي بوسط مدعم بـ 50 ملغم/ لتر 2, 4-D. ج- خلايا نسيج الكالس الأولي النامي بوسط مدعم بـ 10 ملغم/ لتر Dicamba د- خلايا نسيج الكالس الأولي النامي بوسط مدعم بـ 30 ملغم/ لتر NAA. مقياس الرسم ١٠ مايكروميتر.

المصادر

الطه، هدى عبد الكريم. ١٩٨٧. تأثير الهورمونات النباتية على استحداث ونمو نخلة التمر خارج الجسم النباتي رسالة ماجستير قسم البستنة والنخيل ؛كلية الزراعة؛ جامعة البصرة.

Abohatem, M., Zouine,J. and El-Hadrami, I. 2011. Low concentration of BAP and high rate of subcultures improve the establishment and multiplication of somatic embryos in date palm suspension cultures by limiting oxidative browning associated with high levels of total phenols and peroxidase activities. Sci. Horticult, 130: 344-348.

Al-Khalifah, N.S. and Shanavaskhan, A.E. 2012. micropropagation of date palms. asia-pacific consortium on agricultural biotechnology (APCoAB) and association of agricultural aesearch institution in the near east and north africa (AARINENA) 540 pp.

Al-Khalifah, N.S., Askari, E. and Shanavaskhan, A.E. 2013. Date palm tissue culture and genetical identification of cultivars grown in Saudia Arabia. King Abdulaziz City for Science and Technology, Riyadh.

Al-Khayri, J.M. and Al-Bahrany, A.M. 2001. Silver nitrate and 2-isopentyl adenine promote somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Sci. Hortic. 89:290-298.

Al-Khayri, J.M. 2005. Date palm *Phoenix dactylifera* L. In: Jain, S.M. and Gupta P.K.(Eds.). Protocols of somatic embryogenesis in woody plants. Springer, Berlin, pp. 309-318.

Al-Khayri, J.M. 2007. Microprppagation of date palm *Phoenix dactylifera* L. In: Jain, S.M. and Haggman, H. (Eds). Protocols for micropropagation of woody trees and fruits. Springer, Berlin, pp. 509-526.

Al-Samir, E. A.-R. H., Al-Utbi, S. D. and Abass, M. H. 2015. Phytotoxic effect of 2,4-D and dicamba on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissue cultures at initiation stage. AAB Bioflux 7(2):96-108.

Al-Shahib, W. and Marshall, R.J. 2003. The fruit of date palm: it's possible use as the best food for the future. In. J. Food Sci. Nutr. 54: 247-259.

Al-Wasel A. S. 2000. Vegetative and fruiting comparison of tissue culture derived and conventionally propagated date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Barhi trees. In Vitro Cell Dev. Biol. 36:1010.

Al-Wasel A. S. 2001. Field performance of somaclonal variants of tissue culture-derived date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Plant Tissue Cult. 11(2):97-105.

Barnett, J.R. 1978. Fine structure of parenchymatous and differentiated *Pinus radiate* callus. Ann. Bot. 42: 367-373.

Baur, P.S. and Walkinshaw, C.H. 1974. Fine structure of tannin accumulation in callus cultures of *Pinus elliotii* (slash pine). Can. J. Bot. 52: 615-619

El- Bellaj, M. and EL-Hadrami, I. 2004. *In vitro* Characterization of two non constitutive hydroxycinnamic acid derivatives in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) callus in relation with tissue browning. Biotechnol. 3(2): 155-159.

Filkowski, J., Besplug, J., Burke, P., Kovalchuk, I. and Kovalchuk, O. 2003. Genotoxicity of 2, 4-D and dicamba revealed by transgenic *Arabidopsis thaliana* plants harbouring recombination and point mutation markers. Mutation Reserch. 542: 23-32.

Giner-Chávez, B.I. 1996. Condensed tannins in tropical forages. Doctoral Thesis. Cornell University. Ithaca, NY, USA.

Hall, R.H., Baur, P.S. and Walkinshaw, C.H. 1992. Variability in oxygen consumption and cell morphology. For. Sci. 18: 298-307.

Jain, S.M. 2012. *In vitro* mutagenesis for improving date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Emir. J. Food Agric. 24(5): 400-407.

Jasim, A.M. 1999. Response of different date palm cultures (*Phoenix dactylifera* L.). to *in vitro*, Basrah. Agric. Sci. 12(2): 9-17.

Kunert K. J., Baaziz M., Cullis C.A. 2003. Techniques for determination true-to-type date palm (*Phoenix dactylifera* L.) plants: A literature review. Emir J Agric. Sci., 15(1):1-16.

Laukkanen, H., Rautiainen, L., Taulavuori, E. and Hohtola, A. 2000. Changes in cellular structures and enzymatic activities during browning of Scots pine callus derived from mature buds. Tree Physiol., 20: 467–475

Mater, A.A.1986. *In vitro* propagation of *Phoenix dactylifera* L. Date Palm J, 4: 137-152.

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

Omar M. S. and Novak, F. J. 1990. *In vitro* regeneration and ethylmethanesulphonate (EMS) uptake somatic embryos of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Plant Cell Tissue Organ Cult., 20:185-190.

Ramage, C. M., Borda, A. M., Hamill, S. D. and Smith, M. K. 2004. A simplified PCR test for early detection of dwarf off-types in micropropagated *Cavendish bananas* (*Musa* sp.) Sci. Hortic., 103:145-151.

Rhoades, D.F. 1979. Evolution of plant chemical defence against herbivores. In: Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites (Rosenthal G.A. and Janzen D.H., eds.). Academic Press, NY, USA, pp. 3-54.

Sharma, D. R., Kumar, R. and Chowdhary, J.B. 1980. *In vitro* culture of female date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissues. Ephytica.,29:169-174.

Tisserat, B. and Torres, A.M. 1979. Isozymes as genetic indicators in date palms. Date Grower's Inst. Rep., 54: 24-28.

Van Soest, P.J. (ed.). 1994. Nutritional ecology of the ruminant, 2nd ed. Cornell Univ Press. Ithaca, NY, USA. 476 p.

Willey, R.L. 1971. Microtechnique: A laboratory guide. McMillan Pub. Co. New York.

Zaid, A. 1984. *In vitro* browning of tissue and media with special emphasis to date palm cultures- a review. Date Palm J., 3(1): 269-275.

Comparative anatomical study of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) procallus Hilwaii cultivar produced by different plant auxins.

[1]Sabeh D. Al-Utbi, [2]Mohammed H. Abass, [2]Esraa A.R. H. Al-Samir

[1]Biology Department, Sciences College, Basra University, Basra, Iraq.
[2]Date Palm Research Centre, Basra University, Basra, Iraq.

Abstract

The present study has been conducted to define any adverse consequences of different plant auxins including 2, 4-D; NAA and Dicamba on the cells of date palm procallus of Hillawii cv. Cross anatomical sections has been performed on procallus cells produced by these auxin treatments. Results revealed the significant damages which caused by 2, 4-D at high concentration (100 mg/ l), these damages were evident by dense distribution patterns of tannin compounds across the whole tissues.These patterns were accompanied with a severe and high percentage of browning (80 %) for examined procallus, compared with the same auxin at low concentration (50 mg/ l), which showed a restricted distribution pattern of tannin compounds beneath epidermal cells, hence, all the examined procallus of this treatment were healthy with no browning phenomenon, followed by the treatments of NAA and Dicamba.

Additionally, our results explained that the treatment of 2, 4-D at high concentration (100 mg/ l) led to an evident histological change of examined procallus, the thickness of parenchyma tissue cells were increased, both length and width were reached the averages of 77 and 52 µm, respectively, this increase was accompanied with a reduction in the cell number which was 653 cells, compared with what were observed at low concentration of 2, 4-D (50 mg/ l) which reported the number of cells 671.5 cells, and a size of 57.5 and 42.5 µm, respectively. It's noteworthy that the treatment of 2, 4-D at 100 mg/ l led to reduce the thickness of epidermal cells which found to be 27.5 µm, in comparison with 37.5; 35 and 37.5 µm in 2, 4-D (50 mg/ l); NAA and Dicamba, respectively.

Keywords: Auxins, date palm, Hillawii cv., histological effect, micropropagation.