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 إبن 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 acetic acid (NAA)، β-Naphthyloxy acetic acid (NOA)، Indol-٣-acetic acid (IAA) والسايتوكينين N-(٢-isopentyl) adenine (٢,ip) من خلال زراعة النماذج في أوساط زرعية 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 ١، ١، ١ ملغم/لتر للأوكسينات NAA، NOA، IAA على التوالي و٠,١ ملغم/لتر للسايتوكينين ٢,ip في الوسط الزرعي الخالي من الفحم المنشط. كما بينت النتائج بأن التخلص من ظاهرة الإسمرار يكون بواسطة الإنجماد قبل الزراعة بدرجة حرارة −١٨° م لمدة ثلاثين يوماً بدلاً من إستخدام محلول مضاد الأكسدة ١٥٠ ملغرام / لتر Citric acid، ١٠٠ ملغم / لتر Ascorbic acid.وإستعمل الـ Polyvinyl pyrolidone (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

المقدمة:

تعود نخلة التمر (صنف الزهدي) *Phoenix dactylifera* L. الى عائلة Arecacea وتنتشر زراعتها عموما في المناطق الحارة والمعتدلة في مختلف دول العالم [١] .تتميز عائلة النخيل (Palmae) Aracacea بكونها من أهم النباتات التي تشكل أهمية جوهرية في زراعة الأنسجة النباتية [٢] .تنتمي الى هذه العائلة النباتية أكثر من ٢٠٠ جنس وأكثر من ٢٥٠٠ نوع وهي مجاميع مختلفة منتشرة في المناطق الحارة وصنفت على اساس تمايز الصفات التشريحية والمظهرية المحددة لكل منها [٣]. وتنتمي إلى رتبة Palmales وهي من أهم الرتب النباتية المعروفة لما ينتسب إليها من أنواع كثيرة من النخيل [٤ ، ٥] . ومن أهم أجناس هذه العائلة التي تزرع بشكل واسع لأهميتها الإقتصادية العالية و لثمارها هي نخلة التمر(Date palm) (*Phoenix dactylifera* L.) ونخلة جوز الهند Coconut palm (*Cocos nucifera* L.) ونخلة الزيت (*Elaesis quieeusis* Jacq) Oil palm. وهناك أجناس أخرى مثل النخيل المروحي *Washingtonia filifera* ونخيل لاتانيا *Latania borbonica* [٦].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 أيضا الإكثار من مصادر مختلفة من النخلة مما يوفر حرية إختيار النموذج الأمثل لطريقة البحث ، و أخيرا خلو نبيتات النخيل المكثرة بهذه الطريقة من الأمراض البكتيرية والفطرية وذلك بعزل النماذج المصابة المزروعة في الأوساط الغذائية وأبعادها[٧]. هنالك ثلاث طرائق إتبعت في إكثار النخيل نسيجياً وهي:- الطريقة الأولى: تحفيز نشوء الأعضاء على نسيج الكالس Callus والذي هو نسيج متكون من خلايا برنكيمية غير منتظمة تنشأ على مناطق القطع والجروح من الأجزاء النباتية) المتكونة على الأجزاء المفصولة وهذا مايصطلح عليه بـOrganogenesis والطريقة الثانية: تحفيز نشوء الأجنة الجسمية (اللاجنسية) من انسجة الكالس المستحثة من بادئات الأوراق والقمم النامية والبراعم الأبطية وانسجة الجمار والغلاف الفلقي والشماريخ الزهرية وهذا مايصطلح عليه بـ Embryogenesis [٨] . في عام ١٩٨٨ م أوضح الباحثون العراقيون. في دراسة عن المتغيرات الشهرية لفعالية بعض أنزيمات

الأكسدة في أنسجة نخلة التمر. إن ظاهرة إسمرار 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 [٩]. في بحث آخرعن ظاهرة إسمرار أنسجة نخيل التمر في الوسط الغذائي السائل معاناة العاملون في زراعة أنسجة النخيل من مشكلة إسمرار الأجزاء المستأصلة بعد زراعتها في الوسط الغذائي وإنتقال 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 اوضح [١٠] عام ١٩٧٤ م أن الإسمرار 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 [١١]. وبالنسبة لنخلة التمر فأن الجروح الناتجة من تقطيع الانسجة تسبب إفراز هذه المواد إلى الوسط وان العضو الكامل كالجنين أو الأوراق الفتية الكاملة للقمم النامية لاتعاني من الإسمرار وتنمو جيداً في الوسط الزرعي. إن سبب الإسمرار يحدث بسبب أكسدة الـ Polyphenols ضمن أنسجة النبات [١٢] وتكوين الكوينونات خلال تكسر الخلايا أثناء القطع وجعل المواد الفينولية مندمجة مع أنزيمات الأكسدة البيروكسديز Peroxidase والـ بولي فينول أوكسديز Polyphenoloxidase [١٣]. 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 [١٤]. تختلف شدة ظاهرة الإسمرار بإختلاف الأجزاء الخضرية المستخدمة والأصناف الزراعية كما تختلف أيضاً بإختلاف المواسم حيث تزداد شدتها في بعض أشهر السنة من غيرها [١٥] ، كما أنها تؤدي دورا كبيرا في إبطاء عملية نمو و تطور النباتات [١٣] . و بشكل عام يتكون اللون البني نتيجة للجروح التي تحدث عند تحضير و قطع الجزء النباتي لزراعته [١٦]. أن أول من اشار الى أهمية الهرمونات النباتية في الأوساط الغذائية الخاصة بزراعة الأجنة النباتية هو الباحث [١٧] عام (١٩٣٦) عندما أشار الى أن الأوكسين IAA تركيز ٠,٠٥ ملغم/لتر يساعد في نمو وتخصص الجنين للعديد من الأنواع النباتية ومنها *Zea mays*.وتختلف إستخدامات منظمات النمو في النوع والتراكيز إعتماداً على تطور الحالة الفسلجية للنماذج المزروعة وعلى مراحل البحث. من الأوكسينات المستخدمة في زراعة أنسجة النخيل من

الممكن تأشير مايلي:-(٢,٤D) Dichlorophenoxy acetic acid ٢,٤ ، NAA، NOA، IAA، Indol-٣-butaric acid (IBA). ومن السايتوكينينات المستخدمة من الممكن تأشير مايلي:- ٢,ip ، Kinitine (K)، ٦-benzyl amino purine (BA). إن الفحم المنشط يعمل كمادة صلبة تستعمل لإزالة مادة مذابة من الماء في عملية تسمى بالإدمصاص (Adsorption) . أن الفحم المنشط يصنّع نوعياً ليحتوي على مساحة داخلية كبيرة تراوح من (١٥٥-٥٠٠ م^{٢}/غم) وهذه المساحة الداخلية الكبيرة تجعل الفحم المنشط مثالياً لعملية الإدمصاص. [١٨، ١٩ ، ٢٠] . إن الهدف من الدراسة هو دراسة تأثير الفحم المنشط على إدمصاص منظمات النمو و إستخدام توليفة هرمونية محددة تكون فيها نسبة الأوكسين أكبر من نسبة السايتوكينين 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، NAAو IAA أذيب ١٠ مليغرام من كل منها بقطرة من NaOH (١M) ثم أكمل الحجم الى ١٠٠ مللتر من الماء المقطر. أما عن السايتوكينين ٢,ip فتم إذابة ١٠ مليغرام منه بقطرة من HCl (١M) ثم أكمل الحجم الى ١٠٠ مللتر من الماء المقطر. أما عن تحضير وسط السيطرة الزرعي حضرواحد لتر منه، سحب ٥٠ مللتر من NOA للتعبير عن التركيز المطلوب ٥ مليغرام/لتر، ١٠ مليلتر من IAA للتعبير عن التركيز المطلوب واحد ملغم/لتر، ١٠ مليلتر من NAA للتعبير عن التركيز المطلوب و الذي هو ١ ملغم/لتر كما سحب ٣٠ مللتر من السايتوكينين ٢,ip للتعبير عن التركيز المطلوب و هو ٣ مليغرام/لتر. حضر ١ لتر من معاملات التركيز لكل من الهرمونين NAA و AAI كلا على حدة فإن التركيزين المستعملين (٠,٧٥ و ١) ملغم / لتر و حضر أيضا ١ لتر من معاملات التركيز المختلفة للهرمون ٢,ip و حضرت معاملات التركيز الفعالة لمنظمات النمو بغياب الفحم المنشط كالآتي :

١- حضر ١ لتر من معاملات التراكيز المختلفة للهرمون NOA للتراكيز الآتية ٠,٧٥،١،٣،٥ مليغرام/لتر.

٢- حضر ١ لتر من معاملات التراكيز لكل من الهرمونين NAA وIAA كلا على حدة.

٣- حضر ١ لتر من معاملات التراكيز المختلفة للهرمون ip,٢ و حضرت التركيز الآتية ٠,٠٩ ، ٠,١ ، ٠,٥ ، ٠,٧٥ ، ١ ، ٢ ، ٣ ملغم / لتر على التوالي.

وفي ما يخص تحضير الأجزاء النباتية (تحضير قلب الفسيلة) فقلعت فسائل تمر الزهدي من الأمهات المزروعة في الحديقة النباتية لكلية التربية–إبن الهيثم بعمر ٣ سنوات، و حدد عمر الفسيلة من خلال حساب عدد الأوراق والكرب (قاعدة الأوراق المزالة أو الميتة) اذ ان الفسيلة تعطي من ١٠–١١ سعفة في السنة. أزيلت الأوراق الخارجية وقواعدها بالتتابع لحين الوصول إلى قلب الفسيلة بقطر ٥ سم تقريباً، و قطعت الأوراق المتبقية إلى مسافة ٥ سم تقريباً فوق قلب الفسيلة أما عن تحضير أوساط مختلفة لعلاج ظاهرة الإسمرار فتمت دراسة تأثير التجميد المسبق لنموذج كامل لقلب الفسيلة بدرجة حرارة –١٨° م بعمر ٣ سنوات في محلول حاوي على ١٥٠ ملغم/لتر Citric acidو ١٠٠ ملغم/لتر من حامضascorbic acid ومن ثم زرعت النماذج في وسط السيطرة الحاوي على الفحم المنشط والـ .P.V.P وبعدها حضنت ٥٠% من النماذج بفترة ضوئية ٨ ساعة ظلام و١٦ ساعة ضوء و العينات ٥٠% الاخرى حضنت في الظلام. كما درس تأثير التجميد المسبق لنموذج كامل لقلب الفسيلة بدرجة حرارة – ١٨°م بعمر ٣ سنوات في الماء المقطر ومن ثم زرعت في وسط السيطرة الحاوي على الفحم المنشط والخالي من .P.V.P وبعدها حضنت ٥٠% من النماذج بفترة ضوئية ٨ ساعة ظلام و١٦ ساعة ضوء و العينات ٥٠% الأخرى من النماذج حضنت في الظلام، كما في أعلاه . زرعت النماذج في وسط السيطرة الخالي من الفحم المنشط والحاوي 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 أخيرا 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

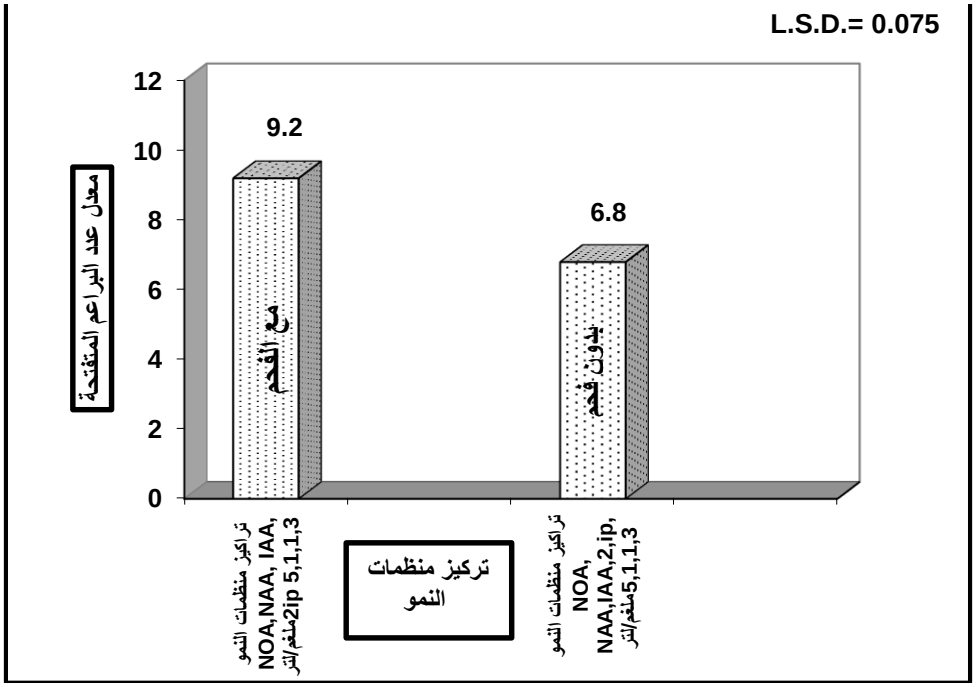
العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D) كما حللت نتائج التجربة لإيجاد أقل فرق معنوي .L.S.D وعند مستوى إحتمالية ٥%[٢١].

النتائج والمناقشة

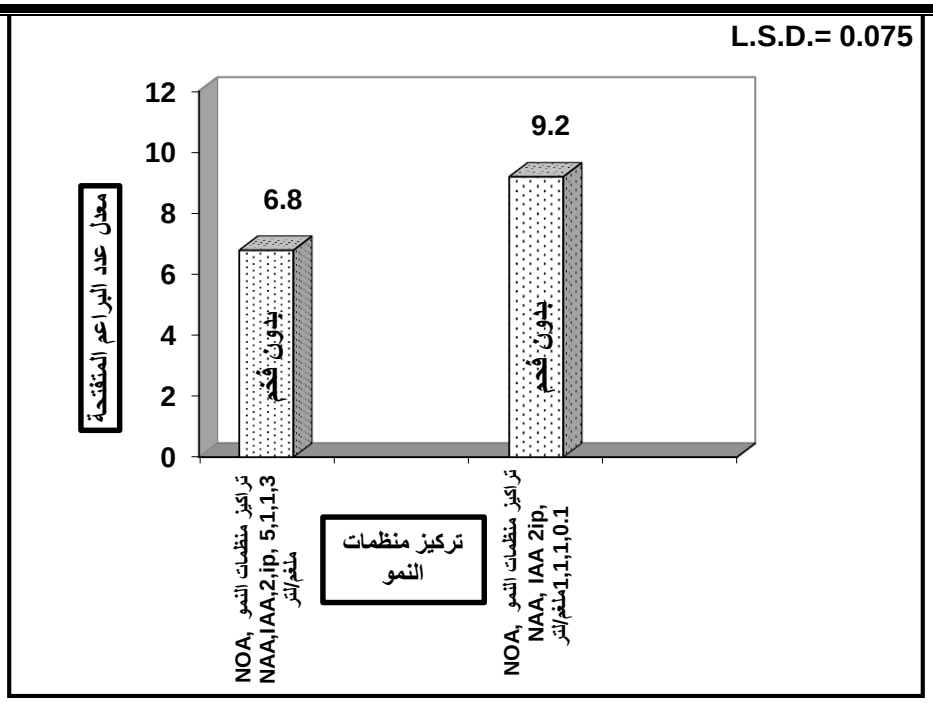
١-علاقة الفحم المنشط بتراكيز منظمات النمو

The relationship between activated charcoal and growth regulators

أوضحت نتائج تجارب تراكيز مختلفة من منظمات النمو في معدل عدد البراعم الأولية المتفتحة بأن التراكيز ٥، ١،١ ،٣ مليغرام/لتر لـ NOA و NAA و IAA و٢,ip على التوالي مع الفحم المنشط قد تفوقت معنوياً على نفس التراكيز بدون فحم عند مستوى إحتمالية ٥% كما في الشكل (١أ). كما اوضحت النتائج أن التراكيز ١، ١، ١، ٠,١ مليغرام/لتر لكل من NOA، NAA، IAA و ٢,ip على التوالي بدون فحم قد تفوقت معنوياً على التراكيز ٥، ١، ١، ٣ مليغرام/لتر من NOA، NAA، IAA، ٢,ip على التوالي بدون فحم كما في الشكل (١ ب).



شكل (١أ): علاقة الفحم المنشط بإدمصاص منظمات النمو وتاثيره في معدل نشوء البراعم الأولية.



شكل (١ب): تأثير التراكيز المثالية لمنظمات النمو بدون فحم في معدل نشوء البراعم الأولية.

تأثير عدم إستعمال 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 [٢٢] أظهرت النتائج أن إستعمال التراكيز ٥، ٣ مليغرام/لترمن هرموني NOA و ٢,ip على التوالي مع الفحم وإستعمال التراكيز نفسها بدون الفحم قد قللت معدل عدد البراعم الناشئة من ٩,٢ الى ٦,٨ برعم/نموذج وهذا يعني أن هذه الهورمونات المستعملة بدون الفحم قد جاوزت الحد الملائم لها لنشوء براعم نخلة التمر كما في الشكل (١أ). ان إستعمال التراكيز ١، ٠,١ مليغرام/لتر لـ NOA و ٢,ip على التوالي بدون الفحم بدلاً من التراكيز ٥، ٣ مليغرام/لتر بدون الفحم كما في شكل (١-ب) قد سببت زيادة عدد البراعم الناشئة من ٦,٨ الى ٩,٢ برعم/نموذج في حين حافظ كل من الأوكسينات IAA و NAA على تراكيزهما ١ مليغرام/لتر، وهذا يوضح أن الهورمونات ليست جميعها تستجيب للإدمصاص بالدرجة نفسها وهذا يعتمد على طبيعة المركب وهذا يتفق مع ماتطرق إليه [١٨] في تحليله وتصنيفه للعوامل التي تؤثر في كفاءة إدمصاص الفحم المنشط.

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 مثبط لتفتح ونمو البراعم الجانبية بتراكيز معينة في حين أن ٢,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 [٢٣، ٢٤، ٢٥]، وان النتائج أوضحت ان وسط غني بالأوكسينات بتراكيز ١ ملغم/لتر لكل من IAA و NOA و NAAبغياب 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 ماتطابق مع ماذكره [٢٦]. وبتتابع الأيام أثرت الأوكسينات في تنشيط النماذج فسلجياً وتهيئتها لفعل السايتوكينينات في إنقسام الخلايا وإشتراكهما معاً في نشوء البراعم وهذا يتفق أيضاً مع مأشار إليه [٢٥]. ان الأوكسينات تفكك إرتباط أشكال الانسجة المتحدة الى مجاميع نسيجية متفرقة، إضافة الى ماهو معروف عن دور الأوكسينات في إستطالة الخلايا ومن ثم تهيئتها للإنقسام[٢٧]. ان الموازنة بين الأوكسينات والسايتوكينينات اذ ان الزيادة الكبيرة للأوكسينات ١بتركيز ١ مليغرام/لتر لكل من IAA و NOA و NAA على السايتوكينينات ٠,١ ملغم/لتر للip,٢ أدت الى تفكك إرتباط 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 السايتوكينينات في إنقسام الخلايا ولاسيما دور الـ ip,٢ في إنقسام الخلايا إضافة الى أهميته في نشوء البراعم [٢٨] مما ادى الى زيادة حجم النموذج في الأسبوع الأول ثم بروز البراعم لاحقاً التي تميزت ببياضها ونشاط انسجتها.واكدت النتائج أن هذه التوليفة من الاوكسينات والسايتوكينينات 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 ماأشار إليه[٢٧] ان نشوء البراعم يعود الى دور السايتوكينين في تضاعف DNA وبالتالي إنقسام الخلايا. وكما اوضحت النتائج أيضاً ان السايتوكينين ip,٢ قد لائم جداً أنسجة نخلة التمر وكما هو

موضح من قبل [١٦] مقارنة مع السايتوكينينات الأخرى.وأشار [٢٦] أيضاً أن هذا يعود أيضاً الى زيادة السايتوكينين الداخلي على الأوكسين الداخلي (داخل أنسجة النبات) على غير ماهو موجود في الوسط. واكد[٢٩] أهمية الأوكسينات والسايتوكينينات بتحفيز النمو لنخلة التمر كما وضح [٣٠] أن تكوين الاعضاء في نباتات ذات الفلقة الواحدة (Monocot) بشكل عام يتحفز بزيادة مفاجئة كبيرة لتركيز السايتوكينين (الداخلي). ومن جانب آخر فأن بدأ عملية تكوين البراعم لاتعتمد فقط على التأثير المشترك للأوكسينات والسايتوكينينات ولكنها تحتاج أيضاً الى تراكيز محددة لكل منها في المحلول. وقد أشار[٣١] الى أهمية تركيز السايوكينين والأوكسين كقيم مطلقة ونسبتها في تكوين البراعم.

٢-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 والـP.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 (١أ). 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 (١): مقارنة في درجات الإسمرارفي فسائل النخيل صنف الزهدي

أ- تأثير التجميد لوحده إذ لوحظ عدم ظهور الإسمرار .

ب- تأثير إستعمال P.V.P. والفحم بدون تجميد و لوحظ إسمرارا بسيطا.

ج-بدون تجميد وبدون فحم و P.V.P إذ لوحظ وجود ظاهرة الإسمرار و بشكل كبير.

إن إستعمال تجميد نماذج زراعة أنسجة النخيل خارج الجسم الحي لتقليل أو ثتبيط ظاهرة إسمرار الأجزاء المزروعة والوسط الزرعي لم تدرس بشكل واسع . ان الدراسات المنشورة شملت تأثير مضادات الأكسدة Antioxidative مثل (Citric acid وAscorbic acid) كعامل إختزال واهب الكترون يزيل الأوكسجين الفعال للفينولات [٣٢] وتأثير إستعمال الـ P.V.P. (Polyvinylpyrrolidone) بطبيعته في تشكيل معقد مع واهب الهيدروجين مثل الفينولات [٣٣] .وتأثير إستعمال 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 ١٥٠-٥٠٠ م^{٢}/غم [٣٥،٣٤].وتأثير إستعمال الظلام التام منعاً لبناء Flavonal (وهي مشتقات الفينولات) في البلاستيدات الخضراء والسايتوبلازم من قبل الضوء [٣٧،٣٦]. كما وجد أن المزروعات النامية في الظلام تظهر إسمراراً أقل [٣٨]. 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[١٥] حول قدرة التكون المظهري للضوء في نبات *Pinus sylvestris* من الكالس المتكون من القمم النامية للأشجار الناضجة للصنوبر اذ أشارت نتائجهم إلى أن إستعمال درجة حرارة ٥ °م لمدة ٥ أشهر لنماذج الزراعة Explants (القمم النامية) قد حققت زيادة في تكوين النبيتات بنسبة ٣٠% وعزوا ذلك إلى أن التبريد يعمل على إيقاف نشاط أنزيمات الأكسدة. وكذلك ماذكره [٣٩] عن الخزن في النايتروجين السائل بأن زروعات أنسجة غير متخصصة خزنت بالنايتروجين السائل Cryopreserved نجحت في الإخلاف وتكوين زروعات ذات نتؤات نشأت على وسط MS مجهزة بـ ١٠ ملغم/لتر D-٤-٢ و ٣ ملغم/لتر ٢ip وبالتعامل مع السكروز 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 ٣ ملم والمجروحة من جميع الجهات تحرر الفينولات من حجيراتها الخلوية بغزارة مما يسبب مشكلة حقيقية تقف أمام تكاثر النخيل خارج الجسم الحي

[٤٠،٤١،٤٢].لقد أظهرت النتائج أن التجميد في درجات الحرارة إلى –١٨ °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 إستخدام 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

١–كانت أفضل التراكيز لمنظمات النمو بغياب الفحم المنشط للأوكسينات NOA و NAAو IAA هي ١,١,١ ملغم/لتر ، على التوالي و للسايتوكين 2ip هو ٠,١ ملغم/لتر لإعطاء أفضل معدل لنشوء البراعم الأولية وهو ٩,٢ برعم / نموذج.

٢–يمكن السيطرة على ظاهرة الإسمرار و القضاء عليها بإستعمال التجميد بدرجة حرارة – ١٨ درجة مئوية و لمدة ٣٠ يوما.

المصادر :

١. 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)). ٢٠١٠،٣٦ (٦) http://www.docudesk.com

٢. Magellan , T. ; Tomlinson , P. and Hugget , B. Stem anatomy in the spiny american palm *Bactris* (Arecaceae-Bactridinae). Hoehnea J. ٢٠١٥, ٤٢(٣) :٥٦٧-٥٧٩.

٣. Tomlinson, P.B. Anatomy of the monocotyledons. II. Palmae. Clarendon Press. ١٩٦١, Oxford.

٤. غالب ، حسام حسن علي . التقسيم النباتي Botancial Classification لشجرة نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* و الأنواع الأخرى في جنس (phoenix) . ٢٠١٢ ، www.iraqi-datepalms.net

٥. إبراهيم ، عبد الباسط عودة . زراعة النخيل و إنتاج التمور في العراق . ٢٠١١ ، www.iraqi-datepalms.net

٦. الكاتب، يوسف منصور. تصنيف النباتات البذرية. جامعة بغداد، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.١٩٨٩ ، العراق.

٧. Bhagrava, S.C.; Saxena, S.N. & Sharma, R. *in vitro* multiplication of (*Phoenix dactylifera* L.) J. Plant Biochem.& Biotech. ١٩٨٩, ١٢:٤٣-٤٧.

٨. الباقر، علاء حيى؛ 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. ١٩٨٨، ٨(١): ٢٦٣-٢٧٤.

٩. الباقر، علاء حيى؛ جراح، آمنة ذا النون؛ نجم، حسين عباس . دراسة ظاهرة إسمرار أنسجة نخيل التمر في الوسط الغذائي السائل . ١٩٨٨ .

١٠. Reuveni, O. & Lillien-Kipnis, H. Studies of the *in vitro* cultures of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissues and organs. Pamphlet No. ١٤٥, Volcani Institute for Agricultural Rsearch, Bet Dagan.١٩٧٤,pp. ٤٠.

١١. Ahmed , I. ; Hussain , T. ; Ashraf , I ; Nafees , M ,; Rafay , M. and Iqbal , M. American – Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.٢٠١٣, ١٣(٤):٥٣٩-٥٤٧.

١٢. Morfein , E. Effect of Anti-Browning on initiation phaseof Musa Species Grand Naine *in vitro*. J. Forest Products & Industries , ٢٠١٣. ٢(٢) : ٤٥-٤٧.

١٣. Dowd, P.W. & Norton, R.A. Browning-associated mechanism of resistance to insects in corn callus tissues. J. Chem. Ecol.١٩٩٥, ٢١:٥٨٣-٦٠٠.

١٤. Titov, S.; Bhowmik, S.K.; Mandal, A.; Alam, S. & Uddin, S.N. (٢٠٠٦). 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. ٢(٣): ٩٧-١٠٤.

١٥. Anderson, U. & Ievinsh, G. Changes of morphogenic competence in mature *Pinus stlvestris* L. buds *in vitro*. Ann. Bot. Comp. ١٩٩٥, ٩٠: ٢٩٣-٢٩٨.

١٦. الجبوري ، حميد جاسم و زايد ، عبد الوهاب . طرق تكاثر نخيل التمر Date palm propagation methods. ٢٠١٢ ، http//www. Iraqi-datepalms.net

١٧. La Rue, C.D. The growth of plant embryos in culture. Bull. Torrey Bot. Club ٦٣:٢٦٥-٢٦٨, ١٩٣٦.

١٨. 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. ١٩٧٦, ١٢: ٢٦٠-٢٦٢.

١٩. Anagnostakis, S.L. Haploid plants from anthers of tobacco enhancement with charcoal, Planta.١٩٧٤, ١١٥: ٢٨١-٢٨٣.

٢٠. Ernst, R. The use of activated charcoal in a symbiotic seedling culture of paphiopedilum. Am. Orchid. Soc. Bull.١٩٧٤, ٤٣: ٣٥-٣٨.

٢١. الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز، محمد. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. جامعة الموصل، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . ١٩٨٠، العراق.

٢٢. Scharma, D.R.; Kumari, R. & Chowdhury, J.B. *In vitro* culture of female date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Tissues Euphytica.١٩٨٠, ٢٩: ١٦٩-١٧٤.

٢٣. Beauchesne, G. Techniques pour la multiplication vegetative par culture *in-vitro* du palmier dattier. Rapport personal ecrit.١٩٩٧ ,٢٠٩.

٢٤. Gaspar, T. Multiplication vegetative des plantes superieures. Par culture *In-vitro*. in: cultures de cellules, tissus et organes vegetaux. Fondements theoriques et utilisation pratiques. Ed. Presses poly techniques Romand. Lavoisier . ١٩٨٨ ,Paris. ٣٠٨.

٢٥. Margara, J. Bases de la multiplication vegetative. Les meristemes et lorganogense. I.N.R.A. Paris. ١٩٨٤, p. ٢٦٢.

٢٦. Rashid, H.; Hussain, I.; Muhammad, A. & Quraishi, A. *in vitro* Multiplication of Date palm. Pak. J. Bot. ٢٠٠١, ١٨(٢): ٢٠١-٢٠٣.

٢٧. Auge, R. Les phenomenes physiologigues lies a la realisation des cultures *in-vitro*. In: La culture *in-vitro* et ses applications horticoles, Ed, Technique et documentation LA VOISIER. Paris. ١٩٨٤, p.١٥٢

٢٨. Dodds, J.H. & Roberts, L.W. Experiments in plant tissue culture. Cambridge University Press.١٩٨٢.

٢٩. 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. ١٩٨٥, p.٩٦

٣٠. Duhoux, E. Organogens et multiplication vegetative chez les arbres. In: Cultures de cellules, tissus et organes vegetaux. Fondements theoriques et utilisation patiques. Ed. Presses poly techniques Roamnd. Lavoisier. Paris. ١٩٨٨, p.٣٠٨

٣١. Skoog, F. Aspects of growth factors interactions in morphogenesis of tobacco tissue cultures. In: Les cultures de tissus des plants. Colloq. Int. CNRS.١٩٧١, ١٩٣: ١١٥-١٣٦.

٣٢. 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. ٢٠٠٦, ٢(٣): ٩٧-١٠٤.

٣٣. Zaid, A. & Tisserat, B. Survey of the morphogenetic potential of excised palm embryos *in vitro*. Crop. Res. (Hortic Res.). ١٩٨٤, ٢٤: ١-٩.

٣٤. Toth, K. & Hohtola, A. Alleviation of browning in oak explants by chemical pretreatments. Biol. Plantarum. ١٩٩٤, ٣٦: ٥١١-٥١٧.

٣٥. 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.١٩٨٨, ٢٦: ٤٤٣-٤٥٠.

٣٦. Kefeli, VI., Kalevitch, M.V. & Borsari, B. Phenolic cycle in plants and environment. J. Cell Mol. Boil.٢٠٠٣, ٢: ١٣-١٨.

٣٧. Zapprometov, M. The formation of phenolic compounds in plant cell and tissue cultures and possibility of its regulation. Adv. Cell Cult.١٩٨٩, ٧: ٢٤٠-٢٤٥.

٣٨. Zaid, A. & Wet, P.F. Chapter ٥: Date palm propagation. Date palm J. ٢٠٠٢, ٦(٤): ١٦-٣٦.

٣٩. 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, ٢٠٠٤, ٤٨(١): ١٩-٢٠.

٤٠. الندوة العراقية الفرنسية لزراعة أنسجة نخيل التمر. أيلول. ١٩٨٨، ٢٦–٢٩.

٤١. Compton, M.E. & Preece, J.E. Exudation and explant establishment. NS Int. Assn. Plant Tissue Culture.١٩٨٦, ٥٠: ٩-١٨.

٤٢. 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. Phisiologica plantarum. ١٩٩٩, ١٠٦: ٣٣٧-٣٤٣.

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-٣-acetic acid (IAA) and the cytokinin N-(٢-isopentyl) adenine (٢,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 ١, ١, and ١ mg/L for the auxins NAA, NOA, IAA, respectively, and ٠,١ mg/l for the

cytokinin ٢,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 -١٨ ºC for ٣٠ days instead of using ; antioxidant solution (١٥٠ mg/L citric acid and ١٠٠ 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 controling the browning phenomenon than the other factor.

Keywords : growth regulation . browning . date palm