

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/316604916>

Using Temporary Immersion System (TIS) for Induction of Somatic Embryos in Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) '....

Article · January 2017

CITATIONS

0

READS

60

1 author:



Ahmed Al mayahi

University of Basrah

24 PUBLICATIONS 27 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Cultivation and breeding of tilapia in ponds, lakes or cages in Iraq [View project](#)



Micropropagation of date palm [View project](#)

استخدام نظام الغمر المؤقت (TIS) لاستحثاث الأجنة الجسدية لنخيل التمر (*Phoenix dactylifera*) (L. صنف البرحي المزروع معمليا)

(1) أحمد ماضي وحيد المياحي (2) عبد المنعم حسين الموسوي

(1) مركز أبحاث النخيل / جامعة البصرة/ البصرة / العراق

(2) وحدة أبحاث الخلية / كلية العلوم/جامعة البصرة/ البصرة/ العراق

(قدم للنشر في 1437/1/19 هـ ؛ قبل للنشر في 10 / 8 / 1437 هـ)

الكلمات المفتاحية: المفاعل الحيوي Plantform bioreactor " نظام الغمر المؤقت"، نخلة التمر، تكوين الأجنة الجسدية.

مخلص البحث: أجريت هذه الدراسة لبحث كفاءة استخدام " المفاعل الحيوي " Plantform Bioreactor الذي يعمل بنظام الغمر المؤقت (Temporary Immersion system) في استحثاث الأجنة الجسدية لنخيل التمر صنف البرحي التي أستعمل فيها فترات غمر مختلفة بمعدل 2 و 5 دقيقة كل 8 ساعات و 5 دقيقة كل 12 ساعة، وقد أظهرت معاملة الغمر 2 دقيقة كل 8 ساعات تفوقها في عدد الأجنة الجسدية ومعدل أوزانها الرطبة والتي بلغت 102 جنين/500 ملغم كالس جنيني و 1.480 غرام على التوالي مقارنة بفترة الغمر 5 دقيقة كل 8 و 12 ساعة ولمدة 10 أسابيع. كما أظهرت الدراسة التفوق المعنوي لنظام الغمر المؤقت "TIS" بفترة غمر 2 دقيقة كل 8 ساعات في عدد الأجنة الجسدية المستحثة من الكالس الجنيني ومعدل أوزانها الرطبة وسرعة تشكل الأجنة المتكونة فضلا عن تفوقها في معدل أطوالها وأقطارها مقارنة بالأجنة النامية بالوسط الصلب. ومن تتابع تغيرات محتوى النشا خلال تطور الأجنة الجسدية لنخيل التمر صنف البرحي في كلا الوسطين تبين أن الأجنة النامية في المفاعل الحيوي " بنظام الغمر المؤقت كانت متفوقة في محتواها من النشا طيلة فترات الدراسة مقارنة بتلك النامية في الوسط الصلب .

1- المقدمة

تعد نخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. واحدة من أهم أشجار الفاكهة مستديمة الخضرة التي تنتشر زراعتها في مختلف بلدان العالم لما تشكله من أهمية اقتصادية وغذائية عالية (Al- Khalifah and Shanavaskhan, 2012). أثبتت زراعة الأنسجة النباتية لنخيل التمر كفاءتها من حيث وفرة النباتات وتجانسها التي يمكن إنتاجها من نبات واحد ومطابقة النباتات الناتجة لأصولها "True-to-type" التي اخذت منها، وخلوها من مسببات المرضية والحشرية (Zaid et al., 2011). وقد أكدت الأبحاث على النطاق التجاري الواسع كون النباتات المنتجة متناسقة من حيث النمو (Mii, 2001; Jayanthi and Mandal, 2001; Tokuhara and Zaid, 2015). وبالرغم من التقدم الحاصل في زراعة الأنسجة النباتية بواسطة الأجنة الجسدية الذي يمكن أن يكون نظاماً كفوياً وأكثر إنتاجاً إلا أن هناك العديد من المشاكل التي تواجه إكثار النخيل بهذه الطريقة منها محدودية عدد الأجنة المتكونة وتلاصقها فضلاً عن اندماجها في خلايا الكالس وانخفاض نسبة إنباتها التي تتراوح بين صفر - 50% نتيجة استخدام الطرق التقليدية في الإكثار باستخدام الأوساط الصلبه Anjaran (1995, et al.; Mazri and Meziani 2015). لكن استعمال الأوساط السائلة حسنت كثيراً طريقة التضاعف الخضري، كما إنها ساعدت في الإكثار الواسع لبعض أصناف نخيل التمر كالبرحي ودقلة نور والقنطار (Bhaskaran and Smith, 1992; Zouine et al., 2005؛ Mazri, 2014). أما طريقة الزراعة بنظام الغمر المؤقت (TIS) فهي واحدة من أكثر الطرق الواعدة للإكثار الدقيق، وهناك عدة تقارير تناولت دور المفاعلات الحيوية في الإكثار الواسع لنخيل التمر باستخدام طريق تولد الأجنة الجسدية أو السيقان (Okere et al., 2010؛ Al- Othmani et al., 2011؛ Ibraheem, et al., 2013؛ Mayahi, 2015). وأظهرت دراسة Tisserat and Vandercook (1985) زيادة نمو وتطور أجنة الجزر ونخلة التمر المزروعة بالوسط السائل بنظام الغمر المؤقت بمعدل 1.9 أضعاف للجزر و4 أضعاف لنخلة التمر مقارنة بالزراعة في

الأوساط الصلبة. إن العديد من الدراسات تناولت إكثار النباتات بتقانة زراعة الأنسجة بواسطة الأجنة الجسدية باستخدام الأوساط الصلبة، ونظراً لقلة الدراسات التي تناولت تطور الأجنة الجسدية ونضجها باستخدام الأوساط السائلة بنظام الغمر المؤقت "TIS" في نخيل التمر فقد أجريت هذه الدراسة للبحث عن أفضل الشروط اللازمة لاستحثاث وتطور الأجنة الجسدية من الكالس الجنيني لنخلة التمر صنف البرحي باستخدام حاويات المفاعل الحيوي ومدة الغمر، علاوة على ذلك تقييم تكوين الأجنة في المفاعل الحيوي بنظام الغمر المؤقت والأوساط الصلبة.

2- مواد البحث وطرقه

نُفذ هذا البحث في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لمركز أبحاث النخيل في جامعة البصرة تم الحصول على الكالس الجنيني وحسب الطريقة الموصوفة من قبل Al-Mayahi, 2015 نُقل الكالس الجنيني لنخيل التمر صنف البرحي المزروع في الوسط الغذائي الصلب والمزود بـ 10 ملغم لتر⁻¹ NAA و 1.5 ملغم لتر⁻¹ 2iP لمدة 12 اسبوع إلى وسط MS السائل (Murashige and Skoog, 1982) الخاص بتكوين الأجنة الخضرية المزود بـ 1.0 ملغم لتر⁻¹ 0.500 Activated charcoal(AC)+ Dichlorophenoxy¹ acetic acid (2,4 D) غرام. لتر⁻¹ لمدة 12 أسبوع. وحضنت الزروع تحت ظروف الإضاءة بمعدل 16 ساعة ضوئية و 8 ساعات ظلام وشدة إضاءة 1000 لوكس وعلى درجة حرارة (27 ± 2)°م ورطوبة (35-40)%. استخدمت عدة فترات غمر للأنسجة 2 و 5 دقائق لكل ثماني ساعات و 5 دقائق لكل 12 ساعة. عملية ضخ الهواء تم بواسطة مضخة عبر فلاتر معقمة ومتصلة بمنظم كهربائي ينظم عملها وفقاً للفترات المطلوبة للغمر، وكما هي موضحة في اللوحة 1. حُسب عدد الأجنة الجسدية المتكونة ومعدل أوزانها بعد 10 أسابيع من زراعة الكالس الجنيني. تم تعديل حموضة الوسط الغذائي قبل التعقيم إلى 5.8، ثم تم تعقيم الوسط الغذائي السائل مع المفاعل الحيوي باستخدام جهاز الموصده (Autoclave) على درجة حرارة 121°م ولمدة 20 دقيقة. تم تعقيم الفلاتر

الخضرية المتكونة ومعدل أوزانها بعد 10 أسابيع من زراعة الكالس الجنيني.

وبعد تحديد فترة الغمر المثلى لنمو وتطور الأجنة الجسدية في التجربة الأولى ثبتت فترة الغمر 2 دقيقة لكل ثماني ساعات في التجارب اللاحقة التي قورن فيها نظام الزراعة المؤقت مع الوسط الصلب وتأثيرهما على نمو الأجنة الجسدية وتطورها ، وقد استعمل الوسط الصلب MS وزود بـ 7 غرام/ لتر من الأجار و 0.1 ملغم لتر⁻¹ NAA.

2-1: الوزن الرطب للأجنة: أخذت أجنة عشوائيا وغسلت عدة مرات بالماء المقطر ثم جففت بمنديل ناعم لإزالة الماء ثم قيس الوزن وتمت هذه العملية في كابينة الزراعة المعقمة.

2-2: طول الأجنة الجسدية وقطرها: قيست أطوال الاجنة وأقطارها بوساطة Vernier scale.

2-3: التحليلات النباتية : قدر محتوى الأنسجة خلال تطور الاجنة الخضرية من النشا في كلا الوسطين الصلب والسائل بنظام الغمر المؤقت وذلك بعد 30 و 60 و 75 و 90 يوم من الزراعة حسب طريقة (McCready et al., 1950). واستخدم ثلاثة مكررات لكل معاملة.

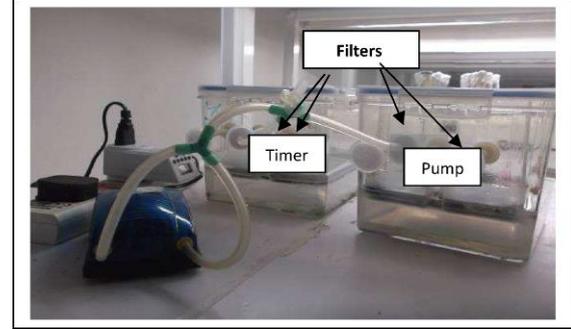
تصميم التجربة والتحليل الإحصائي. نفذت تجارب هذه الدراسة كتجارب بسيطة وحسب التصميم العشوائي الكامل، واجري اختبار الفرق بين المتوسطات باستخدام اقل فرق معنوي للمعدل R.L.S.D وبمستوى احتمال 5% (Snedecor and Cochran, 1967).

3- النتائج والمناقشة

3-1: تأثير فترات الغمر " بنظام الغمر المؤقت "TIS" في تطور الأجنة الجسدية لنخيل التمر صنف البرحي.

تُشير النتائج في (الجدول 1) إلى أن فترات الغمر في حاويات المفاعل الحيوي 2 دقيقة لكل ثماني ساعات قد اثرت معنويا في زيادة عدد الأجنة الجسدية ومعدل أوزانها الرطبة لنخيل التمر صنف البرحي إذ بلغت 102 جنين/500 ملغم من الكالس الجنيني ومعدل وزن الجنين 1.480 غرام ، بينما سببت زيادة فترات الغمر في حاويات المفاعل الحيوي 5 دقائق لكل 12 ساعة او 5 دقائق لكل 8 ساعات الى خفض أعداد الأجنة الجسدية ومعدل أوزانها الرطبة

الميكروبية الخاصة بالمفاعل الحيوي (Plant form bioreactor) بشكل منفصل لتلافي الضغط الناتج من عملية التعقيم والذي قد يسبب تلف المفاعل الحيوي وباستخدام نفس الجهاز ونفس درجة الحرارة المذكورين اعلاه، ثم تم ربط الفلاتر بالمفاعل الحيوي بعد التعقيم داخل كابينة الزرع لمنع التلوث.؛ المفاعل الحيوي المستخدم في هذه التجربة تم الحصول عليه بمساعدة الدكتور Sayegh. تم تطوير هذا المفاعل من قبل الباحثين (Welandar and Sayegh, 2012)، ويعتمد هذا الجهاز على تسليط الضغط على الوسط الغذائي لرفعه الى المكان الذي يحتوي على المواد النباتية (سيقان اجنة او غيرها) باستخدام مضخة بسيطة كتلك المستخدمة في احواض الاسماك عبر فلتر دقيق لتنقية الهواء من الملوثات (Welandar and Sayegh, 2012)، يمكن تعقيم هذه المفاعلات بسهولة بجهاز المعقم البخاري (Autoclave).



لوحة (1). زراعة كالس نخيل التمر صنف البرحي في حاويات Bioreactor بنظام الغمر المؤقت (TIS) بغية استحثاث الاجنة الجسدية، والمزودة بمنظم Timer ومضخة Pump وفلاتر Filters. حضنت الزروع تحت ظروف الإضاءة بمعدل 16 ساعة ضوئية و 8 ساعات ظلام وشدة إضاءة قدرها 1000 لوكس وعلى درجة حرارة (27 ± 2)°م ورطوبة (35-40)%. استخدمت عدة فترات غمر للانسجة 2 و 5 دقائق لكل ثماني ساعات و 5 دقائق لكل 12 ساعة. عملية ضخ الهواء تم بواسطة مضخة عبر فلاتر معقمة ومتصلة بمنظم كهربائي ينظم عملها وفقا للفترات المطلوبة للغمر، وكما هي موضحة في اللوحة 1. حُسب عدد الأجنة

وبفارق معنوي 42 و 68 جنين/ 500 ملغم التوالي. وقد ظهرت الأجنة الجسدية في بادئ الأمر على شكل نتوءات بيضاء صغيرة على سطح نسيج الكالس الجنيني المزروع في حاويات المفاعل الحيوي ثم تطورت إلى أجنة جسدية متكاملة ومنفصلة عن بعضها البعض (لوحة 2).

وتأتي هذه النتائج متفقه مع ما ذكره كل من (Etienne and Berthouly, 2002) من أن مدة الغمر في نظام (TIS) هي الأكثر تأثيراً وفعالية على هذا النظام. كما تتفق هذه الدراسة مع (Etienne *et al.*, 1997a,b) من أن الغمر لفترات قصيرة 1 دقيقة لكل 12 ساعة حفزت تكوين الأجنة الجسدية في نباتي القهوة والمطاط المكثرة نسيجياً. وأكد (Albarran *et al.*, 2005) أن لفترات الغمر المختلفة تأثير على كفاءة تجديد الجنين الجسدي، حيث أدى الغمر القصير 1 دقيقة/ 4 ساعات إلى الحصول على عدد أكبر من الأجنة في نبات القهوة. كما تتفق الدراسة مع ما أورده (Gatica-Arias *et al.*, 2008) على أن الغمر المتكرر ولفترات قصيرة أكثر فعالية على نمو وتطور الأجنة الجسدية. إن اتباع التجفيف الجزئي Partial desiccation على الكالس الجنيني يساعد على نضوج الأجنة الجسدية وهذا يؤدي إلى الحصول على أعداد لا بأس بها من الأجنة الناضجة ومن المعتقد أن هناك علاقة معقدة بين المحتوى المائي من الكالس الجنيني وعملية نضوج الأجنة الجسمية. وعلى هذا الأساس هناك عوامل أخرى تشترك مع نقصان المحتوى المائي للكالس الجنيني منها ارتفاع تركيز السكر المتعدد والمسمى gellan gum وهذا يسهل كثيراً في نضوج الأجنة الخضرية كما وأن من المعتقد أن التجفيف الجزئي للكالس الجنيني يسبب ارتفاع مستوى حامض الأبسيسيك والذي يساعد على أحداث النضوج (Klimaszewska *et al.*, 2000).

الجدول رقم (1). تأثير فترات الغمر في حاويات المفاعل الحيوي "Plant Form Bioreactor" بنظام الغمر المؤقت (TIS) على تكوين الأجنة الجسدية لنخيل التمر صنف البرحي من 500 ملغم كالس جنيني بعد 10 اسابيع من الزراعة.

فترات الغمر	عدد الاجنة الجسدية / 500ملغم كالس جنيني	وزن الاجنة الجسدية (gm.)
2 min every 8 hrs.	102a	a1.480
5 min every 8 hrs.	c 42	0.953c
5 min every 12 hrs.	68b	b1.269

*المعدلات التي يتبعها الحرف نفسه في داخل العمود لا تختلف عن بعضها معنوياً واختلافها دلالة على وجود فروق معنوية على مستوى احتمالية 5% .



لوحة (2). الأجنة الجسدية المستحثة من الزراعة في حاويات المفاعل الحيوي الذي يعمل بنظام الغمر المؤقت TIS.

ساعات إلى الحصول على عدد أكبر من الأجنة في نبات القهوة. كما تتفق الدراسة مع ما أورده Gatica-Arias *et al.*, (2008). على أن الغمر المتكرر ولفترات قصيرة أكثر فعالية على نمو وتطور الأجنة الجسدية. ان اتباع التجفيف الجزئي Partial desiccation على الكالس الجنيني يساعد على نضوج الاجنة الجسدية وهذا يؤدي الى الحصول على اعداد لا بأس بها من الاجنة الناضجة ومن المعتقد ان هناك علاقة معقدة بين المحتوى المائي من الكالس الجنيني وعملية

وتأتي هذه النتائج متفقه مع ما ذكره كل من (Etienne and Berthouly, 2002) من ان مدة الغمر في نظام (TIS) هي الأكثر تأثيراً وفعالية على هذا النظام. كما تتفق هذه الدراسة مع Etienne *et al.*, (1997a,b) من ان الغمر لفترات قصيرة 1 دقيقة لكل 12 ساعة حفزت تكوين الأجنة الجسدية في نباتي القهوة والمطاط المكثرة نسجياً. وأكد Albarran *et al.*, (2005) ان لفترات الغمر المختلفة تأثير على كفاءة تجديد الجنين الجسدي، حيث أدى الغمر القصير 1 دقيقة/ 4

الناضجة، حيث ازداد طول الأجنة وقطرها الذي استمر بالنمو حتى وصل أقصى طول وقطر بلغ 1.7 و 0.19 سم وذلك بعد 10 أسابيع مقارنة بالأجنة النامية في الوسط الصلب الذي بلغ 0.9 و 0.10 سم على التوالي (لوحة 3).

أن التفوق في عمل المفاعل الحيوي "Bioreactor" ربما قد يكون ناتجا عن زيادة جاهزية المواد الغذائية وسهولة امتصاصها في الوسط السائل المتحرك مقارنة بالوسط الصلب فضلا عن حركة الأجزاء النباتية في الوسط الغذائي السائل تؤدي الى تبادل الغازات والتخلص من ظاهرة نقص بعض العناصر التي قد تظهر على الأجزاء النباتية نتيجة لتجمعها وانتشارها (Ducos et al., 2003). وذكر Al Khateeb and Alturki (2014) ان الزراعة في الوسط الصلب قد يعيق امتصاص المغذيات والذي بدوره يؤثر على النمو وتضاعف النوات الجسدية مقارنة بالوسط السائل.

كما ان المفاعل الحيوي حقق حالة مفيدة للانفصال الأقصى من الخلايا عبر ضخ الهواء النقي وهي حالة مفيدة لحدوث حالات انفصال الاجنة عن بعضها من جهة وعن خلايا الكالس الجنيني من جهة اخرى الامر الذي ادى الى زيادة اعداد الاجنة المتكونة. وربما يكون السبب في زيادة تكوين الأجنة الجسدية في الوسط السائل بنظام الغمر المؤقت "TIS" الى اسهامه بزيادة انتشار الاوكسجين الامر الذي ادى الى نمو وتطور الكالس الجنيني نتيجة الحركة المتولدة من تجهيز الهواء الخارجي بنظام الغمر المؤقت TIS. كما ان زيادة المنطقة السطحية للخلايا المعرضة مباشرة إلى الوسط المغذي تسبب في زيادة عدد الأجنة الجسدية المتكونة وزيادة نسبة نضجها (Duval et al., 1995, Mujib et al., 2007, Mehrotra et al., 2014, at. وأشار (2006, Roels et al. (2005 ان الزراعة بالوسط السائل بنظام الغمر المؤقت "Bioreactor" يمنع تراكم ثنائي اوكسيد الكربون والاثيلين اللذان لهما تأثيرات ضارة على الانسجة المزروعة الذي يحصل نتيجة الزراعة فوق الوسط الصلب. تتفق هذه الدراسة مع تلك التي اجريت على الزراعة بنظام الغمر المؤقت و اكدت تفوقها في تكاثر

نضوج الاجنة الجسمية. وعلى هذا الاساس هناك عوامل اخرى تشترك مع نقصان المحتوى المائي للكالس الجنيني منها ارتفاع تركيز السكر المتعدد والمسمى gellan gum وهذا يسهل كثيرا في نضوج الاجنة الخضرية كما وان من المعتقد ان التجفيف الجزئي للكالس الجنيني يسبب ارتفاع مستوى حامض الاليسيك والذي يساعد على احداث النضوج (Klimaszewska et al. (2000).

2-3: تأثير نوع الوسط الغذائي على تطور الأجنة الجسدية لنخيل التمر صنف البرحي.

تظهر البيانات في (الجدول 2) إلى أن تكاثر الأجنة الجسدية كان مختلف في النظامين، حيث ازداد عدد الاجنة بعد 8 و 10 اسبوع من الزراعة ومعدل اوزانها الرطبة المستحثة من الكالس الجنيني المزروع في الوسط الغذائي السائل بنظام الغمر المؤقت" (2 دقيقة لكل ثماني ساعات) معنوياً مقارنة بتلك المتكونة على الوسط الصلب. حيث ادى الغمر المتكرر إلى زيادة عدد الأجنة الى 112 لكل حاوية مفاعل حيوي" مزروع بـ 500 ملغم كالس جنيني بالمقارنة بأعداد الأجنة وأوزانها في الوسط الصلب.

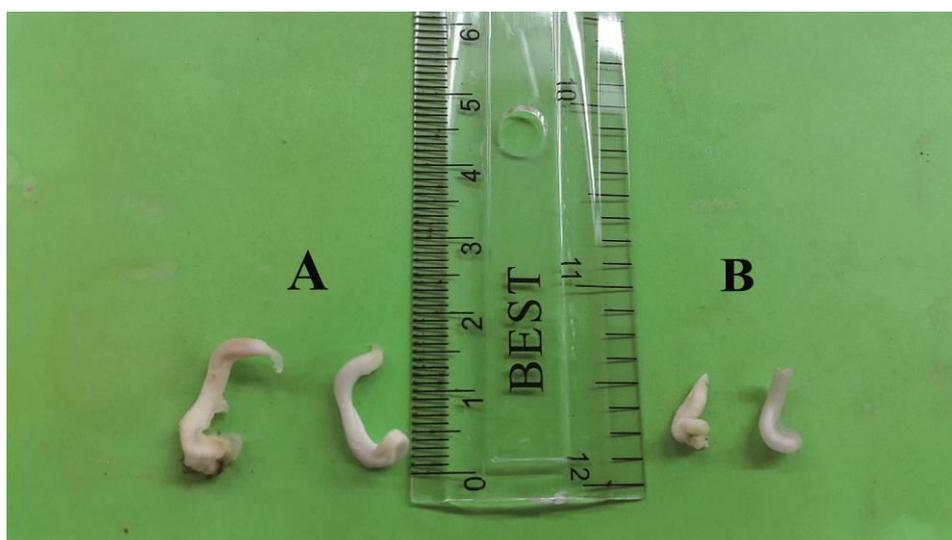
ان الوسط السائل لم يزد عدد الأجنة الجسدية فحسب لكنه سرّع من تشكيلها أيضا خلال 6 أسابيع من زراعة الكالس الجنيني حيث كان تشكيل الأجنة الجسدية واضحا في وسط الزراعة السائل (المفاعل الحيوي) بنظام الغمر المؤقت مقارنة بالوسط الصلب الذي تميز بانخفاض تطور الكالس الجنيني وتشكيل الأجنة الجسدية حتى الأسبوع 8 حيث بلغ 56 و 12 جنين لكل زراعة على التوالي. أبقى الوسط السائل تفوقه المعنوي على الوسط الصلب الذي يصل نهاية عملية تشكيل الجنين الجسدي في الأسبوع 10. بالمقابل الأوساط الصلبة واصلت إنتاج أكثر في الأسبوع 10 في نهاية التجربة، أنتجت الأوساط السائلة 112 جنين جسدي بالمقارنة مع الوسط الصلب 27 جنين (جدول 2). كما يتضح من النتائج في الجدول نفسه الى التفوق المعنوي لنوع الوسط في نسبة الأجنة

الأجنة مقارنة باستخدام أنظمة الزراعة التقليدية
 لنبات القهوة *Coffea arabica* Berthouly et al., 1995;
 (Berthouly and Etienne, 2005).

الجدول رقم (2). تأثير نوع الوسط الغذائي على توالد الأجنة الجسدية لنخيل التمر صنف البرحي المكثف نسيجياً .

متوسط أقطار الأجنة سم	متوسط أطوال الأجنة سم	المدة اللازمة لظهور الأجنة (يوم)	وزن الأجنة الجسدية "g" بعد 10 أسبوع	عدد الأجنة/ 500 ملغم كالس جنيني، بعد		نوع الوسط الغذائي
				10 اسبوع	8 اسبوع	
0.19 a	1.7 a	45 a	1.483a	112a	56 a	المفاعل الحيوي مع نظام الغمر المؤقت "(TIS)
0.10 b	0.9 b	60 b	0.909 b	27 b	12 b	الصلب

*المعدلات التي يتبعها الحرف نفسه لا تختلف عن بعضها معنوياً واختلافها دلالة على وجود فروق معنوية على مستوى
 احتمالية 5%



لوحة (3). تأثير نوع الوسط على صفات الأجنة الجسدية في الطور الفلحي المتولدة لنخيل التمر صنف البرحي (A) الأجنة المتولدة في المفاعل الحيوي Bioreactor بنظام الغمر المؤقت (B) الأجنة المتولدة عند الوسط الصلب.

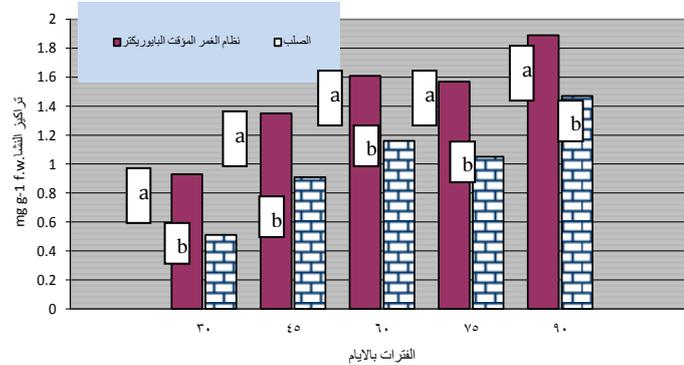
طيلة فترات الدراسة (30 و 45 و 60 و 75 و 90) يوم مقارنة بتلك النامية في الوسط الصلب (شكل 2) .

إن التوجه صوب الزراعة بأنظمة الغمر المؤقت تكمن في منع ترسيب المغذيات والسماح بالنمو الأمثل للأنسجة النباتية (Scragg, 1992). حيث يعتبر محتوى العناصر الكبرى المسؤولة عن التراكم النشوي وتشكيل الأجنة الجسدية. كما ان توفر الكربوهيدرات في وسط الزراعة يمكن أن يسبب في زيادة المستويات الداخلية للنسيج النباتي (Borisjuk et al., 2004). وهذا ما اكده Sané et al., (2006) بالكشف عن التراكم الهام من النشا والبروتين في أنسجة نخلة التمر المزروعة بالأوساط السائلة أن تقييم التغيرات الكيموحيوية المختلفة من الممكن ان تفسر استجابة تطوير الانسجة المزروعة بنظام الغمر المؤقت مقارنة بأنظمة الزراعة الأخرى.

إن الكفاءة في تكاثر الأجنة الجسدية لنخلة التمر بنظام الغمر المؤقت مقارنة بالوسط الصلب، يؤكّد نتائج سابقة اجريت على اصناف مختلفة لنخلة التمر من قبل (Fki et al., 2003)، حيث حصل على اعلى عدد من الاجنة في الوسط السائل بنظام الغمر المؤقت بلغ 200 جنين لكل 100 ملغم كالس جنيني مقارنة بـ 10 اجنة فقط في الوسط الصلب. بينما ادى زراعة نسيج الكالس الجنيني لصنفي Bousthami noir و Jihel في الوسط السائل إلى إنتاج 72 جنين لكل 100 مليلتر من وسط الزراعة خلال شهرين مقارنة بتلك المزروعة على الوسط الصلب أنتج 16 جنينا بعد 4 شهور (Zouine et al., 2005).

3-3: تأثير نوع الوسط في محتوى الأنسجة النباتية من النشا خلال تطور الأجنة الجسدية.

من تتبع التغيرات في محتوى الانسجة من النشا خلال تطور الأجنة الجسدية لنخيل التمر صنف البرحي في كلا الوسطين تبين أن الأجنة النامية في Bioreactor بنظام الغمر المؤقت كانت متفوقة في محتواها من النشا



الشكل رقم (2). تأثير نوع الوسط الغذائي في محتوى الأجنة الجسدية من النشا بعد فترات زمنية مختلفة لنخيل التمر صنف البرحي.

أثرت فترات الغمر بنظام الغمر المؤقت على نمو وتطور أجنة نخيل التمر صنف TIS

Ducos JP, Alenton R, Reano JF, Kanchanomai C, Deshayes A, Pétiard V. "Agronomic performance of *Coffea canephora* P. trees derived from large-scale somatic embryo production in liquid medium". *Euphytica* 131, (2003),215-223

Ducos JP ; Lambot ,C. and Pétiard V. "Bioreactors for Coffee Mass Propagation by Somatic Embryogenesis". *Int. J. Plant Dev. Bio.* 1(1), (2007),1-12.

Duval, Y., F. Engelmann. and T. Durand-Gassel. "Somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq)". In: Y. P. S. Bajaj (Ed.), pp. 235-352. Somatic embryogenesis and synthetic seed. Vol. 1. Springer, Berlin. (1995).

Etienne H., Bertrand B., Anthony F., Côte F. & Berthouly M. L. "Embryogénèse somatique: un outil pour l'amélioration génétique du caféier " In: ASIC Publishers (eds) 17th International Scientific Colloquium on Coffee, Nairobi. (1997a) ,457-465), Vevey.

Etienne, H., M. Lartaud, N. Michaux-Ferrière, M. P. Carron, M. Berthouly, and Teisson C. "Improvement of somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* (Müll. Arg.) using the temporary immersion technique". *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant* 33.(1997b), 81-87.

Etienne H., Berthouly M. "Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell, Somatic embryogenesis and genetic transformation in Coffea arabica* L". *Tiss. Org. Cult.* 69(3). (2002), 215- 231.

Fki, L., Masmoudi, R.; Drira N. and Rival. A" An optimised protocol for plant regeneration from embryogenic suspension cultures of date palm, *Phoenix dactylifera* L. cv. Deglet Nour". *Plant Cell Rep.* 21,(2003),517-524.

Gatica-Arias A.M., Arrieta-Espinoza G., Esquivel A.M.E. " Plant regeneration via indirect somatic embryogenesis and optimisation of genetic transformation in *Coffea arabica* L. cvs. Caturra and Catuaí. ". *J. Biotechnol.*, 11,(2008),1-12.

Ibraheem Y., Pinker I., and Böhme M. "A comparative study between solid and liquid cultures relative to callus growth and somatic embryo formation in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Zaghlool". *Emir. J. food Agric.* 25(11), (2013), 883-898.

Jayanthi M, Mandal P. K. " Plant regeneration through somatic embryogenesis and RAPD analysis pf regenerated plants in *Tylophora*

البرحي حيث سجلت فترة الغمر 2 دقيقة لكل ثماني ساعات أفضل النتائج من حيث عدد الأجنة ومعدل أوزانها الرطبة ، كما ان الزراعة بنظام الغمر المؤقت حققت تفوقا معنويا مقارنة بالوسط الصلب من حيث عدد الأجنة الجسدية وأوزانها الرطبة وفترة ظهورها فضلا عن تفوقها في المؤشرات الكيموحيوية والمتمثلة بمحتوى الأجنة من النشا.

5- المصادر

Albarran J, Bertrand B, Lartaud M, Etienne H "Cycle characteristics in a temporary immersion bioreactor affect regeneration, morphology, water and mineral status of coffee (*Coffea arabica*) somatic embryos".(2005). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 81,(2005),27-36. .

AlKhatieb, A.A. and Alturki, S.M " A comparison of liquid and semi-solid cultures on shoot multiplication and rooting of three date palm cultivars (*Phoenix dactylifera* L.) in Vitro". *Adv. Env. Biol.* 8(16) Special (2014), 263-269

Al-Khalifah N.S. And ,Shanavaskhan AE." *Micropropagation of Date Palms. Asia Pacific Consortium on Agricultural Biotechnology (APCOAB) and Association of Agricultural* ". Research Institutions in the Near East and North Africa. (AARINENA). (2012),54.

Al-Mayahi, A W. " An efficient protocol for indirect somatic embryogenesis and organogenesis from leaf segments of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Quntar. *African J. of Agricultural research*, 10(10), 2015, 1031-1042.

Anjaran, M., Bougerfaoui, M., Cheick, R. and Aitchitt, M. "Production de in vitro plants de palmier datter parla techniqed organogenese in vitro. *Experience marocaine Journeesintern ationales surle palmier dattier dans agriculture oisenne pays mediter aniens*" -Elche Espagne.,(1995),25-27.

Berthouly, M. and H. Etienne. "Temporary immersion system: a new concept for use liquid medium in mass propagation". In: A. Hvoslef-Eide and W. Preil (Éds.), pp. 165- 203. *Liquid culture systems for in vitro plant propagation.* Springer, Dordrecht, Netherlands. (2005).

Bhaskaran S. and Smith, R. H. " Somatic embryogenesis from shoot tip and immature inflorescence of *Phoenix dactylifera* cv. Barhee". *Plant Cell Reports.* 12,1,(1992),,22-25

Borisjuk L.; Rolletschek H.; Radchuk, R.; Weschke W.; Wobus, U.; Weber, H. "Seed development and differentiation: a role for metabolic regulation". *Plant Biology*,6,(2004),375-386.

- AAB) shoot proliferation and quality". *Plant Cell. Tiss. Organ Cult.* 84,(2006),155-163
- Sané D., Aberlence- Bertossi F., Gassama-Dia Y. K., Sagna M., Trouslot M. F., Duval Y. , Borgel A.** "Histocytological analysis of callogenesis and somatic embryogenesis from cell suspensions of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.)". *Ann Bot.* 98,(2006), 301–308.
- Scragg, A. H.** "Large-scale plant cell culture: methods, applications and products". *Current Opinion Biotech.* 3,(1992),105–109.
- Snedecor, G M and Cochran, W.G.** "Statistical methods". Iowa State Collage, Press, Amr Iowa, USA, (1967),
- Tisserat B., Vandercook C.E.** "Development of an automated plant culture system". *Plant Cell Tissue Organ. Cult.* 5,(1985),107-117.
- Tokuhara, K, Mii M** " Induction of embryogenic callus and cell suspension culture from shoot tips excised from flower stalk buds of *Phalaenopsis* (Orchidaceae). *In Vitro Cell*". *Dev. Biol. Plant* 37,(2001),457-461.
- Welandar M. and Savegh A.** " A temporary immersion bioreactor method and relative product" patent No. WO 2012044239 A1, (2012), Plant form: [http:// www. plantform. se/pub/](http://www.plantform.se/pub/).
- Zaid A., El-Korchi B. and Visser H. J.** "Commercial date palm tissue culture procedures and facility establishment". In: S. M. Jain, J. M. Al-Khayri and D. V. Johnson (Eds.),(2011),137-180. Date Palm Biotechnology, Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Zouine J., El-Bellaj M., Meddich A. , Jean-Luc V. and El-Hadrami, I.** "Proliferation and germination of somatic embryos from embryogenic suspension cultures in *Phoenix dactylifera* L.". *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 82,(2005),83- 92.
- indica* (Burm.f.Merrill.)" *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 37,(2001),576-580.
- Klimaszewska K., Grain E, Cardou M.B., Isabel N. and Plourde A.** "Effect of sugars, amino acid and culture technique on maturation of somatic embryos of *Pinus strubus* on medium with two gellan gum concentrations". *Plant Cell Tissue and Organ, Culture*,(2000), 62:27-37.
- McCready, R.M.; Guggolz, J.; Owens, H.S** "Determination of starch and amylose in vegetables" *Analytical Chemistry*, 22,(1950),1156-1158.
- Mehrotra, S., Goel K. M., Kukreja A. K. and Mishra B. N.** " Efficiency of liquid culture systems over conventional micropropagation: A progress towards commercialization". *Afr. J. Biotech.* 6(13) ,(2007),1484-1492
- Mazri M.A.** "Effect of liquid medium and in vitro pre-acclimatization stage on shoot elongation and acclimatization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Najda". *J. of ornamental and Horticultural Plants* 2(4), (2014),225-23.
- Mazri M.A. and Meziani R.** "Micropropagation of Date Palm: A Review". *Cell Dev. Biol*, 4(3) (2015),1-5.
- Mujib A., Ali M., Isah T.and Dipti.** " Somatic embryo mediated mass production of *Catharanthus roseus* in culture vessel (bioreactor) - a comparative study". *Sau. J. of Bio.Sci.* ,(2014).
- Murashige T, Skoog F** "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture". *Physiol. Plant.* 15,(1962),473-497.
- Othmani R. Mzid C., Bayouhdh, A, Trifi M., and Drira N.** "Bioreactors and Automation in Date Palm Micropropagation". In: Date Palm Biotechnology , eds. Shri Mohan Jain *et al* , Siproinger, (2011) 119 -137.
- Okere, A.U, Odofoin, W.T Aladele, S.E, Fajimi, O, Adetunji, O.A, Gidado, R.M and Solomon, B.O.** "Cultivation of *Phoenix dactylifera* L. (Date Palm) for Combating Desertification and Enhanced Livelihood": *Nacgrab R and D Focus*. (2010)<http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.882.8>
- Roels S., Escalona M., Cejas I., Noceda S., Rodriguez R., Canal M.J., Sandoval J., Debergh P.** "Optimization of plantain (*Musa AAB*) micropropagation by temporary immersion system". *Plant Cell. Tissue. Organ Cult.* 82,(2005),57-66.
- Roels S., Noceda S., Escalona M, Sandoval J, Canal MJ, Rodriguez R, Debergh P.** "The effect of headspace renewal in a Temporary Immersion bioreactor on plantain (*Musa*

Using Temporary Immersion System (TIS) for Induction of Somatic Embryos in Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) 'Barehi'

¹Ahmed Madi Waheed Al-Mayahi ² Abdulminam Hussien Ali,

⁽¹⁾ Department of Plant Tissue Culture, Date Palm Research Centre, University of Basra, Basra, Iraq

⁽²⁾ Cell Research Unit, Science Collage, Basrah University, Basrah, Iraq.

(Received 19/1/1437H ; accepted for publication 10/8 /1437H)

Keywords: Temporary immersion system, Date palm, Somatic embryogenesis.

Abstract. This study was conducted to evaluate the temporary immersion system (TIS) for induction of somatic embryos in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) 'Barehi' at different immersion frequency at 2, 5 and 8 minute every 8 and 12 hours.

Two minutes immersion every 8 hours for 10 weeks culturing period significantly increased the numbers of somatic embryos (112) and their fresh weight (1.843g) as compared with solid culture at 27 and 0.953g, respectively. Moreover , a high frequency of normal formed of somatic embryos, their length and diameter rate and high level of starch content were recorded on embryogenic callus grown on TIS as compared with solid medium.