دراسة التعبير الجيني للأجنة المزروعة خارج الجسم الحي لصنفين من نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. والمعامل بحامض البرولين والساليسيليك

بتول حنون فالح الزبيدي
مركز أبحاث النخيل / العراق / جامعة البصرة

الخلاصة

اجري البحث بمركز ابحاث النخيل/ جامعة البصرة وذلك بزراعة الأجنة لصنفين من نخيل التمر(النيرسي والبرحي) بوسط غذائي يحتوي حامض البرولين بتراكيز (0 و 2.5 % و5 %) ووسط غذائي يحتوي حامض الساليسيليك بتراكيز(0 و2.5 % و5%) ،أظهرت النتائج أن معاملة المقارنة لصنف النيرسي أظهرت خمس حزم بروتينة اما معاملة المقارنة لصنف البرحي اظهرت اربعة حزم بروتينية .

اوضحت النتائج ان الصنف نيرسي معاملة البرولين تركيز (2.5%) أعطت ثلاث حزم بروتينية في حين معاملة البرولين (5 %) اظهرت خمس حزم بروتينية امامعاملةحامض الساليسيليك تركيز (2.5 % و 5%) فقد اعطت حزمة بروتينة لكل منهما ، اما الصنف برحي فأن معاملة البرولين تركيز (2.5 %) أظهرت اربع حزم بروتينة، اظهرت معاملة البرولين تركيز (5 %) ومعاملة حامض الساليسيليك تركيزي (2.5% و5 %) حزمتان بروتينيات لكل معاملة عند مقارنتها مع معاملة السيطرة .

المقدمة

تعد نخلة التمر . *Phoenix dactylifera* L أشرف الشجر وأعلاها مرتبة , ويعد من المحاصيل الاقتصادية المهمة التي تنمو في العراق، وهو واحد من أقدم الأشجار المثمرة التي زرعت في وادي الرافدين (جبرائيل , 1993).

وبالرغم من أهمية هذا النبات إلا أن التوسع في زراعته لم يتطور بشكل كبير جداً يتناسب ومكانته العالمية بين النباتات الأخرى بسبب العديد من المشاكل منها عدم وجود طريقة أو وسيلة علمية دقيقة لتحديد جنس (ذكر أو أنثى) أو صنف النخيل في المراحل

الأولية من النمو ، كما أن طرائق اكثارها محدودة وليست ذات كفاءة عالية على النطاق التجاري، (Al-Khayn , 2001 ; قابيل , 2002). فضلا عن تدهور أعدادها في القرن الماضي نتيجة للظروف الاقتصادية والاجتماعية والحروب مما أدى إلى انعكاسها سلباً على النخيل وإنتاج التمور. ولتجاوز هذه الصعوبات جرت محاولات عديدة لتطبيق تقنية زراعة الأنسجة لعدد من أصناف نخيل التمر (حميد ,2001) إذ تعد هذه التقنية نظاماً سريعاً لإكثار النباتات والحصول على أعداد كثيرة من النباتات بفترة زمنية قصيرة والخالية من الأمراض وبعيدة عن الاختلافات الوراثية ومطابقة للنبات الأم والنباتات الناتجة صغيرة الحجم مما يسهل نقلها وتداولها (Bahttacharjee, 2006 ؛ عبد الواحد والخليفة،2009).

ويتم إكثار نخيل التمر نسيجياً بواسطة التكوين المباشر للبراعم Organogenesis من البراعم القمية والابطية من دون المرور بمرحلة الكالس أو بواسطة التكوين الجنيني الخضري Somatic embryogenesis بدءً من الكالس من خلال زراعة الأجزاء النباتية explants على أوساط غذائية صناعية وهو من العوامل المؤثرة في استجابة الأجزاء النباتية المزروعة سواء بالنسبة للنخيل أو لغيره من النباتات (Hartmann *et al.* , 1996) . وتأتي أهمية الوسط الغذائي من تأمين العناصر الغذائية كافة المتطلبات اللازمة لنمو وتكشف الجزء المزروع ، ذلك أن الخلايا والأنسجة المزروعة رمية المعيشة معتمدة على ما يتوفر لها في الوسط الغذائي(Henrickson *et al.* ,1997) .

لقد استعملت العديد من منظمات النمو Growth regulators في الأوساط الغذائية وهي تلك المركبات الكيميائية العضوية غير المغذية التي تعمل بتراكيز قليلة جدا" على تنشيط أو تثبيط أو تحوير العمليات الفسيولوجية داخل الخلايا ، اضافة الى البروتينات (الحوامض الأمينية) التي تقوم بتسيير معظم العمليات الحيوية في الخلية الحية إضافة

الى قيامها كأجسام مضادة لغرض الحفاظ على استمرارية الخلية في النشاط والنمو (Calendar, 2014 ; Azad *et al*., 2012).

إن طبيعة تركيب الوسط الغذائي يعمل على زيادة وحدات الطاقة مما يؤدي إلى حدوث عملية تصنيع نشطة للبروتينات (Blanc *et al*., 1999) ، فأن إضافة الأحماض الأمينية تحفز نمو الخلايا الأمر الذي يؤدي الى سهولة تجديد النباتات وتشكل الأحماض الأمينية أهم مصادر تجهيز الوسط الغذائي بالنتروجين العضوي (Thom *et al*.,1980), حيث أكدت الدراسات على أهمية هذه الأحماض في تحفيز ونمو الكالس لنخيل التمر (El-Shafey *et al*., 1999 ; Kacker *et al*., 1989) ان تجهيز الوسط الغذائي بالنتروجين العضوي عامل مهم في زراعة أنسجة نخيل التمر , ومن هذه الحوامض الأمينية (البرولين والساليسااليك) ،أن الحامض الأميني البرولين يقوم بتجهيز الخلايا النباتية بمصدر متاح للنيتروجين أكثر جاهزية للامتصاص من قبل النسيج مقارنة بالنتروجين غير العضوي (Abo El-Nil,1986 ; Thom *et al*.,1980).

و حامض الساليسااليك اسمه الكيميائي 2-hydroxy benzoic acid يعود الى مجموعة واسعة من الفينولات النباتية Plant phenols . ان المركبات الفينولية عادة تعرف على أنها مواد تمتلك حلقة عطرية Aromatic ring تحتوي مجموعة هيدروكسيل واحده على الأقل أو أحد مشتقاتها الفعالة ,وحامض السالسيليك يمكن أن ينتقل بصورة فعالة (نشطة) وتحدث له تحولات ايضية ، أو يحدث له إرتباط Conjugation وينتقل بسرعة من مكان إضافتة الى العديد من الأنسجة النباتية (Popova *et al*.,1997), وهو منظم نمو داخلي Endogenous growth regulator يسهم في تنظيم الفعاليات الفسيولوجية للنبات مثل عملية البناء الضوئي

وتمثيل النترات وإنتاج الأثلين (Hayat *et al*.,2010) ويعطي أيضاً حمايه ضد الشدود الحيوية واللاحيوية (Kaya *et al*.,2002).

فأن هذا المركب قد تمت أضافته الى قائمة الهرمونات النباتيه المعروفه كالأوكسينات والجبرلينات والسايتوكاانينات ، وفي الوقت الحاضر فأنة يعتبر من الهرمونات النباتية الطبيعية A natural Plant Hormone (Hayat and Ahmed,2007) .

المواد وطرائق العمل

نفذت الدراسة في مركز أبحاث النخيل جامعة البصرة واستخدم لتنفيذ الدراسة الأجنة الخضرية المنتج من أرباع البراعم القمية لنخيل التمر صنف النيرسي والبرحي والنامي على الوسط الغذائي (Murashige and Skoog , 1962) والمعروف بأملاح MS المزود بالمواد التالية على أساس غم.لتر$^{-1}$ (30 سكروز، 0.200 ارثوفوسفات الصوديوم الحامضية، 0.0005 فيتامين الثيامين، 0.040 كبريتات الأدنين، 3 مسحوق الفحم المنشط، 0.030 نفثالين حامض ألخليك(Naphthalene Acetic Acid (NAA ، 0.003 ايزو بنتنايل أدنين2-ip و 7 مسحوق الاكار).

ولتنفيذ الدراسة استخدم الوسط الغذائي MS والمزود بالمواد المذكورة تفاصيلها أعلاه باستثناء إضافة مسحوق الفحم بتركيز 0.500 غم.لتر$^{-1}$ ، استعملت ثلاثة تراكيز من حامض البرولين (0 و2.5% و5%) وثلاثة تراكيز من حامض الساليساليك (0 و 2.5% و 5%) ، بعد إضافة مكونات الوسط أعلاه تم ضبط حموضة الوسط على 5.7 وبعدها أضيف الاكار ومن ثم سخنت الأوساط بواسطة هيتر مزود بخلاط مغناطيسي على درجة حرارة 95 مْ ثم وزع الوسط الغذائي وبواقع 25 مل في أنابيب قياس 2.5 ×20سم وسدت فوهة الأنابيب بالقطن ولفت بأوراق الألمنيوم وبعدها عقمت الأنابيب وأدوات الزراعة تعقيما بخاريا في جهاز التعقيم البخاري

Autoclave على درجة حرارة 121مْ وتحت ضغط بخاري 1.05 كغم.سم^2 ولمدة 20 دقيقة بعد الانتهاء من التعقيم أخرجت الأنابيب وأدوات الزراعة وتم رج الأنابيب لغرض تجانس الوسط الغذائي وتركت لتبرد وحفظت في الثلاجة لحين موعد الزراعة ، استخدم 10 مكررات لكل معاملة تم زراعة 50 ملغم من الأجنة تقريبا في كل انبوبة حضنت الزروعات على درجة حرارة 27±1 مْ وإضاءة بشدة 3000 لوكس وتم إعادة الزراعة مرة كل شهر

الترحيل الكهربائي للبروتينات Electrophoresis for proteins

1 : تجفيد العينات

جفدت عينات من الأجنة لنخيل التمر صنف النيرسي والبرحي والناتجة من معاملات الدراسة في مختبر التقانات الاحيائية في كلية الزراعة وذلك بتقنية التجفيد بواسطة التجميد (Freezer − Dryer Lyophilization Technique) حيث وضعت العينات في اطباق بلاستيكية صغيرة وبعدها وضعت في جهاز التجفيد (Lyophilization) الماني المنشأ موديل Christ نوع Alpha − 2LD وبدرجة حرارة (26−)° م ولفترة زمنية الى ان تم التخلص من الماء الموجود في النسيج النباتي .

2 : تحضير محلول الاستخلاص

حضر محلول استخلاص العينات حسب طريقة (Bradford ,(1976 والمحورة من قبل (Vahid *et al*. ,2011) وذلك بأخذ (1.5756 غم) من مادة Tris − HCl وتم اذابتة في كمية قليلة من الماء , وبعدها أخذ (0.0174 غم) من مادة (PMSF) Phenyl Methane Sulfonyl Fluoride وأذيب في كمية قليلة من الماء وأضيف إلى المحلول الأول وبعدها تم ضبط قيمة الأس الهيدروجيني PH للمحلول على (7.5) وأكمل الحجم إلى (100 مل) بالماء المقطر .

3 : تحضير العينة

اخذ (0.3 غم) من كل عينة من العينات المجفدة وسحقت في هاون خزفي مع (1 مل) من المحلول المحضر على درجة حرارة (4° م) وبعدها اجريت عملية النبذ المركزي للمستخلص بسرعة (15000) دورة / دقيقة لمدة (30 دقيقة) على درجة حرارة (4° م) ثم اخذ الراشح وركز (ترك مفتوحاً لمدة قليلة) وبعدها حفظ في الثلاجة على درجة حرارة (4° م) لحين اجراء عملية الترحيل .

4 : الترحيل الكهربائي

اجري الترحيل الكهربائي لمعرفة النمط البروتيني للكالس الجنيني لنخيل التمر صنف البرحي والنيرسي للمعاملات المدروسة على هلام Polyacrylamide (متعدد الاكريل امايد) بحسب طريقة (Leammli , 1970) والموصوفة من قبل (Carffin , 1990) .

5 : المحاليل المستعملة

5 – 1 : المحلول الدارئ لهلام الفصل Resolving gel buffer

حضر المحلول بتركيز (1.5 مولاري) وذلك باذابة (18.2 غم) من مادة (Tris base) Hydroxymethyl methylamine في (80 مل) من الماء المقطر وعدل الاس الهيدروجيني الى 8.8 باستعمال (1 مولاري) من حامض الهيدروكلوريك واكمل الحجم الى (100 مل) بالماء المقطر .

5– 2 : المحلول الدارئ لهلام الرص Stacking gel buffer

حضر بتركيز (0.5 مولاري) وذلك باذاية (6 غم) من مادة (Tris base) Hydroxymethyl methylamine في (40 مل) من الماء المقطر وعدل الاس

الهيدروجيني الى 6.8 باستعمال (1 مولاري) من حامض الهيدروكلوريك واكمل الحجم الى (100 مل) بالماء المقطر .

5– 3 : محلول SDS 10%

حضر باذابة (10 غم) من مادة Sodium dodycyl sulphate في كمية من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى (100 مل) بالماء المقطر .

5– 4 : المحلول الدارئ للأقطاب Electrode buffer

حضر باذابة (1.5 غم) من مادة (Tris base) Hydroxymethyl methylamine و (7.2 غم) من الكلايسين في كمية من الماء المقطر واكمل الحجم الى (500 مل) بالماء المقطر مع اضافة (5 مل) من محلول SDS 10% .

5– 5 : محلول الأكريل امايد الخزين Acrylamide stock solution

حضر بإذابة (29.2 غم) من مادة الاكريل امايد مع (0.8 غم) من مادة Bis – acrylamide في (60 مل) من الماء المقطر وأكمل الحجم إلى (100 مل) بالماء المقطر ثم رشح المحلول خلال ورقة ترشيح Wathmane رقم (1) ثم أضيف له (4 مل) من محلول SDS 10% .

5– 6 : محلول برسلفات الأمونيوم (APS) Ammonium persulfate

حضر آنياً بتركيز (1.5%) وذلك بإضافة (0.15) من مادة (APS) في (10 مل) من الماء المقطر.

5– 7 : TEMED N , N , N , N , – tetra methyl ethylene diamine

جاهز للأستعمال .

5 –8 : محلول التصبيغ (0.1 %) Staining Solution

حضر بإذابة (0.25 غم) من صبغة Coomassie brilliant blue R – 20 في (250 مل) من خليط مكون من حامض الخليك , كحول مثيلي , ماء مقطر بنسبة 1 : 4 : 5 على التوالي .

5– 9 : محلول إزالة الصبغة Destaining Solution

حضر من خليط من حامض الخليك والكحول المثيلي والماء المقطر بنسبة 1 : 4 : 5 على التوالي .

6 : البروتينات القياسية

الجدول(1):ألبروتينات القياسية المستعملة في اختبار الترحيل الكهربائي بطريقة SDS-PAGE.

البروتين القياسي	الوزن الجزيئي (دالتن)
Lysozyme	14400
Trypsin	23000
Pepsin	34000
Ovalbumin	43000
Bovin Serum Albumin	67000
Aldolase	158000

7 : طريقة العمل

7– 1 : تحضير الهلام

7– 1 – 1 : تحضير هلام الفصل

حضر هلام الفصل تركيز (% 7.5) وذلك بمزج (14.55 مل) من الماء المقطر و (7.5 مل) من محلول الاكريل امايد – بز اكريل امايد و (7.5 مل) من المحلول الدارئ

لهلام الفصل و (0.3 مل) من محلول SDS وأضيف (150 مايكروليتر) من محلول بيرسلفات الامونيوم و (15 مايكروليتر) من TEMED .

7– 1 – 2 : تحضير هلام الرص

حضر هلام الرص بمزج (12.2 مل) من الماء المقطر مع (5 مل) من المحلول الدارئ لهلام الرص و (2.6 مل) من محلول الاكريل امايد و (0.2 مل) من محلول SDS وأضيف (50 مايكروليتر) من محلول بيرسلفات الامونيوم و(10 مايكروليتر) من التمد TEMED .

7– 1– 3 : تحضير العينة

حضرت العينة وذلك بأخذ (40 مايكروليتر) من الراشح الناتج من الخطوة (3) وأضيف له (0.5 مل) من محلول التصبيغ وبذلك تكون العينة جاهزة للترحيل .

7 – 2 : تشغيل الجهاز

مزجت مكونات هلام الفصل ثم زرقت بواسطة محقنه طبية Syringe بعناية بين لوحيين زجاجيين في مستودع جهاز الترحيل الكهربائي نوع Cleaver scientific انكليزي المنشأ وترك الهلام لفترة لإكمال التصلب ثم أضيف هلام الرص ووضع المشط المخصص لغرض تكوين حفر في الهلام لزرق النموذج وترك الهلام لإكمال التصلب بعدها رفع المشط بعناية لمنع حدوث تشوه في الحفر المتكونة .

ثم زرقت العينات بواسطة محقنه دقيقة Micro syringe قياس (50 مايكروليتر) وبعد إكمال زرق العينات وضع المستودع في جهاز الترحيل الكهربائي وأضيف له محلول دارئ الأقطاب ثم احكم غلق الجهاز ووصل بمجهز القدرة بواسطة أسلاك ملحقة بالجهاز , ضبط مجهز القدرة على 2.5 ملي أمبير (70 فولت) لمدة ساعتين وبعدها على 5 ملي أمبير (100 فولت)

لمدة ساعتين ايضاً , وبعد انتهاء الوقت اخرج الهلام من الجهاز وغمر بمحلول التصبيغ مدة (3 ساعات) بعدها نقل الهلام إلى محلول إزالة الصبغة مع عدة تبديلات حتى ظهور الحزم بشكل واضح .

7- 3 استخدم برنامج Photocapt في تحديد عدد الحزم البروتينية واوزانها الجزيئية الناتجة من الترحيل الكهربائي .

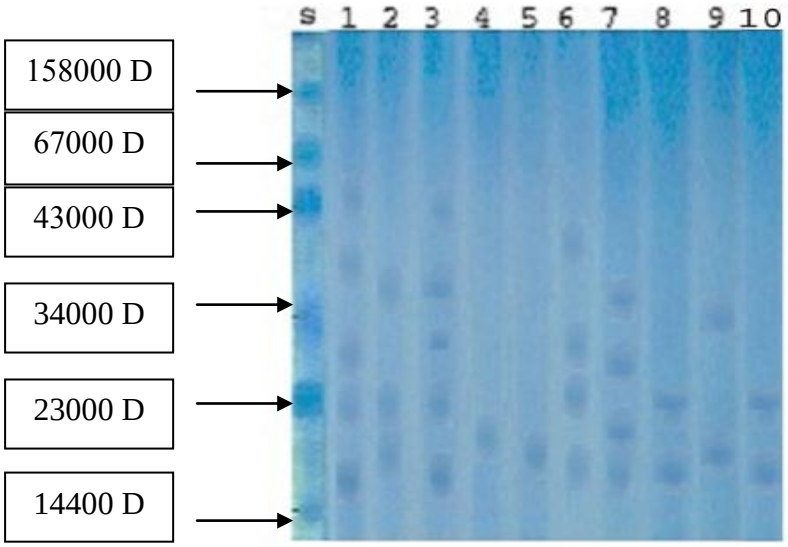
النتائج والمناقشة

تاثير الحامض الاميني البرولين في عملية التعبير الجيني.

اظهرت النتائج في اللوحة (1) والجدول (2) معاملة الحامض الاميني البرولين تركيز (2.5%) صنف النيرسي قد ادت الى ظهور ثلاث بروتينات ذات اوزان جزيئة (37.3 و 23.0 و 17.4 كيلو دالتن) ومعاملة الحامض الأميني البرولين تركيز (5%) لنفس الصنف قد اظهرت خمس حزم بروتينية ذات اوزان جزيئية (42.8 و 37.3 و 30.7 و 23.1 و 16.4 كيلو دالتن) وهي مقاربة لاوزان جزيئية لبروتينات ظهرت في معاملة السيطرة لصنف النيرسي .

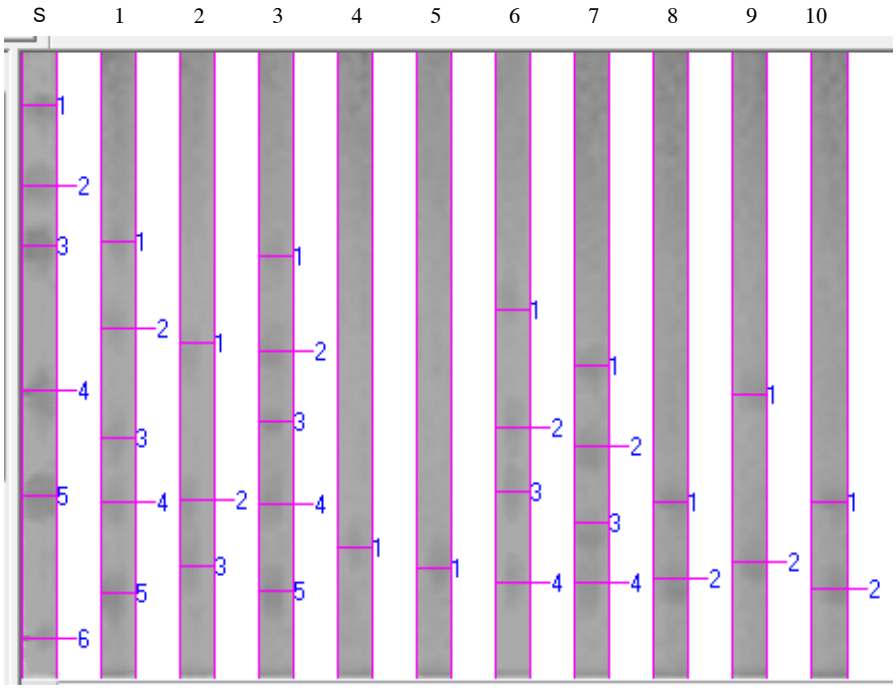
يلاحظ من النتائج ان معاملة الحامض الاميني البرولين لصنف البرحي بتركيز (2.5 %) قد اظهرت اربع حزم بروتينية (36.6 و 28.0 و 20.1 و16.2 كيلو دالتن)، في حين بينت النتائج ان معاملة الحامض الأميني البرولين بتركيز (5%) اظهرت حزمتين بروتينية (22.9 و 16.5 كيلو دالتن)، ان اضافة الحامض الأميني البرولين الى الوسط الغذائي يؤثر في عملية التعبير الجيني مما يؤدي الى تغييرات في النمط البروتيني ويؤدي الى اختفاء بروتينات وظهور بروتينات جديدة , اضافة الى ذلك فان الحامض الأميني البرولين يعمل على ابعاد الجذور الحرة التي تسبب تثبيط فعالية الانزيمات واكسدة البروتينات وبالتالي يؤدي ذلك الى زيادة تكوين

بروتينات جديدة (Hare *et al*. ,1996) , فضلاً عن ذلك فان البرولين يحافظ على نشاط الانزيمات من الدنترة في الوسط الغذائي والتي تكون مسؤولة عن تكوين بروتينات جديدة (Demir and Kocacaliskan , 2001) .وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل الية (El – Enany , 1995) فقد اوضح حدوث تغييرات في النمط البروتيني كاستجابة لتراكيز الحامض الاميني البرولين بظهور بروتينات جديدة واختفاء اخرى



اللوحة (1) النمط البروتيني SDS – PAGE للاجنة المزروعة خارج الجسم الحي لنخيل التمر صنف النيرسي والبرحي والمعامل بحامض البرولين و الساليسياليك.بتراكيز مختلفة

* الارقام الموجودة في اعلى اللوحة من اليسار الى اليمين من (1 – 10) تشير الى نفس ارقام المعاملات الموجودة في الجدول (2) .



الجدول (2) عدد البروتينات الناتجة من الترحيل الهلامي الكهربائي واوزانها الجزيئية للأجنة المزروعة خارج الجسم الحي للنخيل التمر صنف النيرسي والبرحي .

الصنف	المعاملـــــــــــة	عـــــدد البروتينات	الوزن الجزيئي KD (كيلو دالتن)
النيرسي	1.السيطرة 0 %	5	15.8 , 22.2 , 29.7 , 39.4 , 46.4
	2. حامض البرولين 2.5%	3	17.4 , 23.0 , 37.3
	3. حامض البرولين 5 %	5	16.4 , 23.1, 30.7 , 37.3, 42.8
	4. حامض الساليسالليك 2.5%	1	19.1
	5. حامض الساليسالليك 5 %	1	17.7
البرحي	6. السيطرة 0 %	4	16.7 , 23.5 , 30.6 , 40.8
	7. حامض البرولين 2.5%	4	16.2 , 20.1 , 28.0 , 36.6
	8. حامض البرولين 5 %	2	16.5 , 22.9
	9. حامض الساليسيلك 2.5 %	2	17.7 , 33.5
	10.حامض الساليسالليك 5 %	2	15.3 , 34.7

تاثير حامض الساليسااليك في عملية التعبير الجيني .

اظهرت النتائج في اللوحة (1) والجدول (2) ان معاملة حامض الساليسااليك بتركيز (0%) معاملة المقارنة لصنف النيرسي قد اظهرت خمس حزم بروتينيةاوزانها الجزيئية (46.4 و39.4 و29.7 و22.2 و15.8 كيلو دالتون) في حين اظهرت معاملتي حامض الساليسااليك تركيزي (2.5 % و 5%) الى ظهور بروتين واحد جديد لكل منهما بلغ وزنة الجزيئي (19.1 و 17.7 كيلو دالتن) على التوالي وبذلك اختفت حزم بروتينة بالمقارنة مع معاملة المقارنة.

وتبين النتائج ان معاملة حامض الساليسااليك بتركيز (2.5% و5%) لصنف البرحي ادت الى اختفاء بروتينات وظهور بروتينين جديدين لكل تركيز (33.5 و 17.7 كيلو دالتون) و (34.7 و 15.3 كيلو دالتون) على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة حامض الساليسااليك تركيز (0%) صنف البرحي التي اظهرت اربعة بروتينات ذات اوزان جزيئية (40.8 و30.6 و23.5 و. 16.7 كيلو دالتون).

فقد اقترح Shakirova *et al.* , (2003) ان المعاملة بحامض الساليسااليك تعمل على زيادة التحلل للسكريات غير الذائبة او البروتينات وبذلك توفر كميات من الذائبات المتالفة والتي تعتبر مهمة في عملية التكيف الازموزي وان تحلل البروتينات قد يكون من شانة ان يؤدي الى اختفاء بعض البروتينات . كما ان لحامض الساليسااليك دوراً في زيادة مستويات ايون الكالسيوم في السايتوبلازم وان ايون الكالسيوم يعتبر Second messenger في العديد من العمليات الفسيولوجية , بما في ذلك حث عملية التعبير الجيني في بناء بروتينات تساعد النبات في التكيف لظروف الشد (Kim *et al.* , 2007) .

ويعتقد ان حامض الساليساليك لة علاقة بالمستويات العالية من الهرمون النباتي ABA مما يؤدي الى حماية النبات عن طريق نقل الاشارة التي تؤدي الى حث عملية التعبير الجيني وتكوين بروتينات لها وظيفة حماية ازموزية (Munns , 2005) .

المصادر

حميد, محمد خزعل (2001). إكثار بعض أصناف نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. خضرياً باستخدام تقانة زراعة الأنسجة. أطروحة دكتوراه, كلية الزراعة, جامعة بغداد.

جبرائيل، جلادت محمد صالح. (1993) . استخدام تقنيات الهندسة الوراثية في التشخيص المبكر لأصناف وجنس نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. في العراق . مجلة إباء للأبحاث الزراعية ، 2 (3): 237 – 239 .

عبد الواحد, محمود شاكر والخليفة و عقيل عبود سهيم (2009). تأثير موعد الزراعة ومنظمات النمو النباتية في نجاح زراعة فسائل نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنفي البريم والقنطار . مجلة البصرة لأبحاث، نخلة التمر, 8(2):12-21.

قابيل ، طارق. (2002) . نخيل الأنابيب .. تجربة رائدة .انترنيت، إسلام اون لاين ، علوم وتكنولوجيا :1-7 .

Abo-El-Nil, M.(1986). Refining methods of date palm micropropagation In: 2nd . Symp. on Date Palm. KFV. Saudi Arabia (1) : 29-41.

Al- Khayn, J.M. (2001). Optimization of biotin and thiamine requirements for somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Biol. Plant . 37: 453-456.

Al-Chamidi, A. S. (1993). True to type date palm (*Phoenix dactylifera* L.) production through tissue culture techniques, cv. Safry. 3rd. Symp. Date palm, KFV. Saudi Arabia., (1) :1-13.

Azad, A. K.; Rabbani, G. and Amin, L. (2012). plant regeneration and somatic embryogenesis from immature embryos derived through interspecific hybridization among different carica species. Int. J. Mol. Sci., 13: 17065-17076.

Bahttacharjee, S. K. (2006). Advances in ornamental . Horticulture Pointer Jaipot, 6, 2065, ISBN, 81-7132-432-0.

Blanc, G.; Michaux-Ferriere, N.; Teisson, C.; Lardet, L. and Crron, M. P. (1999). Effect of carbohydrate addition on the induction of somatic embryogenesis (*Hevea barasilliensis*). Plant Cell Tiss. Org. Cult,. 59: 103-112.

Bradford , M. M. (1976) . A Rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein .Utilizing the Principle of Protein Dyebinding . Anal. Biochem. 38 : 248 – 252 .

Calendar, (2014). Plantlet regeneration of (*Protea cynaroides*) through direct somatic embryo genesis and multiple shoot. development. Uni. Van./Kal/CALENDAR 2014.

Carffin , D. E. (1990) . Purification Producers Electrophoretic Methods In : Methods in Enzymology , Murray , E. D. and Dentsher , P. J. (eds) 182 : 425 – 441 .

Demir , Y. and Kocacaliskan , I. (2001). Effect of NaCl and proline on polyphenol oxidase activity in bean seedlings. Biol. Plantarum. 44: 607- 609.

El-Enany, A. E. (1995). Proline effects on shoot organogenesis and protein synthesis in salinity stressed tomato culture. JIAS 8: 1-7.

El- Shafey , Y. H. ; Nesiem , M.R.A. ; Habib , M. W. and abdel - Sattar M.M. (1999). Browning phenomenon : a serious problem in date palm tissue culture . In : the Inter Conf. Date Palm , Nov.1999, Assiut Univ. Egypt : 53-74.

Hare, P. D. ; Plessis, S. ; Cress , W. A. and Van Staden , J. (1996). Stress induced changes in plant gen expression. South African. J. Sci, 92: 431- 439.

Hartmann, H.T.; D.E. Kester; F.T. Davies, and R.L. Genever. 1996. Plant Propagation: Principles and Practices. Hall Inc., New jersey, USA.

Hayat , Q. ; Hayat , S. ; Irfan , M. and Ahmad , A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. Environ. Exp. Bot. 68 : 14- 25.

Hayat , S. and Ahmed ,A. (2007). Salicylic Acid : a New Plant Hormone .Springer , Netherlands.

Henrickson, C.H.;Byrd L. and Hunter, N.W. (1997) .A Laboratory for general, organic and biochemistry. Second edition. Mc Graw – Hill comp.Bostin: 400-450.

Kacker, N. L.; Solank, K.R. and Joshi, S. P. (1989). Micropropagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) c.v. Khadrawy using tissue culture technique. Annals of Arid Zone 28: 1 and 2 : 137- 141.

Kaya, C. ; H. Kirnak , E. ; Higgs , D. and Saltali , K. (2002). Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high salinity. Sci. Hort., 93: 65- 74

Kim ,M.J. ; Lim , G.H. ; Kim, E.S. ; Ko , K.Y. ; Yang , C.B. ; Jeong , J.A. ; Lee , M.C. and Kim , C.S. (2007) . Abiotic and biotic stresses tolerance in Arabidopsis overexpressing the multi protein bridging factor La (MBF1a) transcriptional coactivator gene. Biochem. and Biophy. Res. Commun., 354 : 440 – 446 .

Leammli , U. K. (1970) . Cleavage of structural proteins during assembly of the head bacteriophage T4. Nature , 227 : 680 – 685

Munns , R. (2005). Salinity stress and its impact. In : Blum A, ed. Plant Stress http//www.Plant Stress.com/Articles/index.asp.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures physio. Plant., 15:473-497.

Popova , L. ; Pancheva , T. and Uzunova , A. (1997) . Salicylic acid : Properties, Biosynthesis and physiological role . Bulg. J. Plant Physiol. 23 : 85 - 93.

Shakirova , F.M ; Sakhabutdinova , A.R. ; Bezrukova , M.V. ; Fatkhutdinova, R.A. and Fatkhutdinova , D.R. (2003) . Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 164 : 317 - 322.

Soad, A. A. and Mahdi, S.M. (2010). Commercial production of tissue culture date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by Inflorescence Tech . Orig. Art. Jgeb., 8(2):39-44

Thom, M.; Maretzki, A.; Jomer, E. and Soaki, W.S. (1980). Nutrient uptake and accumulation by sugar cane cell culture in relation to growth cycle. Plant Cell Organ. Cult., 1-3.

Vahid , B. ; Behrouz , S. ; Mahmood , K. and Abolfazal , R. (2011) . Protein electrophoretic profiles and physiochemical indicator of salinity tolerance in sorghum (*Sorghum biocolor*) . African J. Biotec. 10 (14) : 2683 – 2697 .

Study of gene expression *in vitro* of somatic embryogenic of two cv. in the date palm *Phoenix dactylifera* L. treatment by Proline and Salicylic acid

Batool Hanoon Falih Al-Zubaidi

Date Palm Research Center, University of Basra, Basra, Iraq

Abstract

This study was conducted at the date palm research center , It focused on somatic embryogenis culture of two date palm Cltivars (Nursi and Birhi) on anutrient medium containing Proline acid (0%, 2.5% ,5%) and another medium containing Salicylic acid (0% , 2.5% , 5%) . the results showed that the control treatment of Nursi produced five protein bands , while the control treatment for Birhi produced four ones .

The result , also , showed that Proline treatment of Nursi (2.5%) produced three protein bands whereas Proline treatment (5%) showed five onse . As for the Salicylic acid treatment (2.5% , 5 %) produced one protien bends for each one on the other band , Proline treatment (2.5%) of Birhi produced four protein bands , whil Proline treatment (5%) and Salicylic acid treatment (2.5% ,5 %) produced two protein bands for each treatment .