2011, Volume 3, issue 9,pp 55-73

مجلة جامعة الفرات سلسلة العلوم الأساسية العدد : 2011

Effect of auxin on calllus induction and somatic embryogenesis in leaf explants

تأثير الأوكسين في تكون الكالوس والأجنة الجسدية في أجزاء من أوراق النخيل الثمري صنف زغلول

of date palm,phoenix dactylifera L.,cv. zaghlool

د. زياد الحسين
قسم البساتين – كلية الزراعة
جامعة الفرات

الملخص

أجريت هذه الدراسة لتحقيق إنتاج وتطور سريع لعدد كبير من الأجنة الجسدية من زراعة الكالوس في النخيل الثمري صنف زُغلولْ . يتم إنتاج الكالوس من خلال زراعة أجزاء من أوراق فتية على بيئة موراشي وسكوك لعام 1962 (MS/1962) مع إضافة أنواع مختلفة من الاوكسينات (Pic – 2,4-D – NAA – IBA) بتراكيز (0 – 1 – 10 مغ / ل) .

تظهر النتائج بأن تكون الكالوس تأثر معنويا بنوع وتركيز الاوكسين المضاف للبيئة الغذائية ، حيث يلاحظ أن نسبة تشكل الكالوس زادت مع زيادة تركيز الأوكسين . وأعلى نسبة لتكون الكالوس على الأجزاء النباتية كانت في بيئة تحتوي البيكلورام (Pic) بتركيز (10 مغ / ل) يليه بالنتائج 2,4-D بنفس التركيز مقارنة بجميع الاوكسينات الأخرى . تكون الأجنة الجسدية شوهد بعد نقل الكالوس إلى البيئة الغذائية (MS/1962) الصلبة أو السائلة والمحتوية NAA بتركيز (0,1 مغ / ل) . وبشكل عام فان نمو الأجنة الجسدية في البيئة السائلة كان أفضل بكثير من نتائج البيئة الصلبة المحتويةعلى نفس الإضافات . وكان أعلى عدد للأجنة الجسدية (64,5) والوزن الطازج للكالوس المتمايز (2,97 غ) في البيئة السائلة .

الكلمات المفتاحية : النخيل الثمري . الأجنة الجسدية . أجزاء من الورقة . الاوكسين

المقدمـــــــة:

شجرة النخيل التمري (Phoenix dactylifera L.) أحاديـــة الفلقـــة وليفيـــة ، تزرع بشكل واسع في الشرق الأوسط وشمال أفريقيا ، وتعتبر من أهم المحاصيل الاقتصادية في هذه المناطق حيث ينتج فيها تقريبا (90%) من الإنتاج العالمي (Al-Khayri , 2001) . يتكاثر النخيل التمري جنسيا بالبذور أو خضريا بالفسائل وفي حالات قليلة بالترقيد الهوائي . أسهل طريقة لإكثار النخيل هي استخدام البذور ، ولكن هذه الطريقة تظهر كثيرا من السلبيات مثل سكون البذور وانخفاض نـسبة الإنبات ، بالإضافة إلى أن النخيل من الأنواع ثنائية المسكن غيـر ثابتـة وراثيـا وبالتالي الإكثار عن طريق البذور ينتج أجيالا غير متجانسة ومتكونة مـن أشـجار مذكرة ومؤنثة 50 : 50 (Hornung and Mentz , 2000) . يعتبر الإكثـار بالفسائل هو أكثر الطرائق الخضرية التقليدية شيوعاً ونجاحا لإنتاج النخيل ، إلا أنها طريقة غير اقتصادية ومجهدة ، فمن ناحية أن عدد الفسائل التي تـشكلها الـشجرة الواحدة خلال حياتها قليل ونموها أيضا بطيء ، وعلاوة على ذلـك فـان بعـض الأصناف لا تكون فسائل تماما أو بعضها يكون ولكن هذه الفسائل صعبة التجـذير (Othmani et al ., 2009) بالإضافة إلى إمكانية انتقال الأمراض والآفـات بهذه الطريقة (Hornung and Mentz , 2000) . ولهذا تمثل تقنيات زراعـة الأنسجة النباتية أهمية كبيرة في إكثار النخيل التمري حيث تسمح خلال فترة زمنية قصيرة بالحصول على أعداد كبيرة من النباتات السليمة الخاليـة مـن الأمـراض والحشرات والمشابهة لنبات الأم الذي أخذت منه العينة النباتية (McCubbin and Zaid , 2007) . ومنذ عام 1970 بدأت الأعمال والدراسات لإكثـار النخيـل بزراعة الأنسجة حيث استخدمت طرق وعينات نباتية مختلفة (Tisserat , 1979) . وقد استخدمت لإكثار النخيل مخبريا في الدراسات المختلفة ثلاث طـرق تـضم تكون مباشر للأعضاء (Organogenesis) بزراعة البراعم الجانبية والأنسجة المرستيمية ، أو تكون الأجنة الجـسدية (Somatic embryogensis) بـشكل

مباشر بزراعة الأجنة (الامبريو) أو غير مباشر بزراعة الكـــالوس والامبريــو (McCubbin and Zaid , 2007) .

وفي الحقيقة تطبق تقنية الأجنة الجسدية حاليا كطريقة سريعة لإنتاج أعداد كبيرة من النباتات في طيف واسع من الاجناس والأنواع النباتية (Huong et al , 1999) . وحسب المراجع فان الأجنة الجسدية استخدمت في إكثار النخيل الثمري مخبريـــا أكثر من الأجزاء النباتية الأخرى (Elhadrami et al , 19999 ., Fki et al , 2003 ., Rival and Parveez , 2004 ., Sani et al , 2010 ., Thuzar and Vanavichit , 2011) .

وحسب الدراسات فان التطور الطبيعي للنباتات من خلال تقنيــة الأجنــة الجــسدية يتكون من ثلاث مراحل متتالية تشمل تكون الكالوس وتكون الأجنة الجسدية وتطور النبات (Thuzar et al , 2011) . وهذه المراحل تتأثر وتتحكم بهـــا مجموعــة من العوامل والظروف مثل تركيب البيئة الغذائية ومنظمات النمو ومصدر الجــزء النباتي وغيرها (Feher et al. , 2003 ., Asemotal et al. , 2010). وفـــي إكثار النخيل يعتبر تكون وإنتاج الكالوس مرحلة حرجة وضرورية وهي التي تتحكم في المراحل التالية من الإكثار (Gueye et al. , 2009b) .

وكما تشير الدراسات فانه يمكن زراعة أجزاء نباتية مختلفة لإنتاج الكالوس ، بينما استخدمت أجزاء الورقة في إكثار النخيل الثمري أكثر من أي أجزاء نباتية أخرى (Sani et al , 2010) . وقد أشير إلى نجاح إكثار النخيل بزراعــة أجــزاء مــن الورقة في أعمال عدة (Geuye et al., 2009 a+b ., Asemota et al ., 2010) .

ومن العوامل المهمة والمؤثرة في نجاح زراعة الأجنة الجسدية هو محتوى وتركيب البيئة الغذائية ، وفي هذا الخصوص هناك بيئات عديدة تستخدم في زراعة الأجنة ، وفي إكثار النخيل الثمري ،وتعتبر بيئة موراشي وسكوك لعام 1962 (M/S 1962) هي الأكثر استخداما (Aslam and Khan , 2009 ., Asemota et al , 2010 ., El-Fatiha and Badereldin , 2010) .

وتبين الدراسات أن إضافة منظمات النمو وخاصة الاوكسينات ضرورية لتكون الكالوس وإنبات وتطور الأجنة الجسدية في ظروف الزراعة المخبرية (Michalczuk et al , 1992 ., Rajesh et al. , 2003) . حيث أن الاوكسينات مهمة لتكون وتكاثر الخلايا وتمايزها إلى أجنة جسدية (Jime´nez and Bangerth , 2001 ., Gay et al , 2006) .

وقد أشير إلى أهمية إضافة الاوكسينات إلى البيئة الغذائية لتكون الكالوس خلال زراعة أجزاء من أوراق النخيل الثمري في أعمال عدة (Sane et al , 2006 ., Gueye et al ,2009 a+b ., Steinmacher et al , 2007 ., D'Onofrio and morni , 2006) . ولزراعة الأجنة الجسدية تستخدم أنواع مختلفة من الاوكسينات وخاصة التركيبية أو الصناعية (Othmani et al , 2009 ., Gay 2004 ., Somleva et al , 2000) .

مراجع عدة تبين أهمية البيئة الغذائية السائلة في إكثار الأجنة الجسدية (Huong et al , 19999 ., Ducos et al , 2003) . وقد أشير في إكثار النخيل إلى نجاح تكون وتطور الأجنة في بيئة M/S 1962 السائلة (Bhaskaran and Smith , 1992 ., Sharma et al , 1986 ., Bekheet et al , 2007 ., DeTouchet et al ., 1991).

خلال مراحل زراعة الأنسجة يمكن أن تنتج مركبات مثبطة أو سامة مثل المركبات الفينولية (Tisserat , 1979) ، لذلك غالبا ما يضاف للبيئة الغذائية الفحم النشط لتخفيض أو تقييد هذه المركبات المثبطة وبالتالي تشجيع استجابة الأجزاء النباتية وتطورها (Sani et al , 2010). وأهمية استخدام الفحم النشط تعود لمنع الاسمرار وتحسين تكون وتطور الأجنة في إكثار النخيل الثمري، وأشير إليها في مراجع عدة (Gabr and Tisserat , 1985 ., Thuzar et al. , 2011 ., Rajesh et al , 2003 ., McCobbin and Zaid , 2007) .

الهدف من البحث دراسة تأثير أنواع وتراكيز مختلفة من الاوكسينات وحالة البيئة (مع أو بدون آجار) في تكون الكالوس والأجنة الجسدية عند زراعة أجزاء من أوراق فتية من النخيل الثمري صنف زغلول .

مواد وطرائق البحث :

1-المادة النباتية : اجري هذا البحث في قسم البستنة بكلية الزراعة بجامعة همبولدت ببرلين خلال الفترة (2010/10 – 2011/2) . استخدمت في هذه الدراسة أوراق فتية من عينات نباتية نامية في أنابيب على بيئة غذائية (M/S 1962) ، تم الحصول عليها من زراعة قمم مرستيمية لفسائل النخيل التمري صنف زغلول . أخذت من قاعدة الورقة ثلاثة أجزاء بأبعاد (2 – 3 مم) . وزرعت الأجزاء النباتية على البيئة الغذائية بمعدل 2 – 3 جزء في كل أنبوب (15 – 2,5 سم) يحتوي (20 مل بيئة) . بعد تكون الكالوس تم فصله وزراعته على بيئة خاصة لنمو الأجنة بمعدل (250 مغ كالوس) في مخروط (سعة 150 مل) ويحتوي (30 مل بيئة غذائية) . وفي جميع المراحل تترك العينات النباتية في غرف الحضن عند حرارة 26 ± 2 م وإظلام كامل (تغطية الأوعية بأغطية قماشية سوداء اللون) .

2- البيئة الغذائية : لزراعة الأجزاء النباتية استخدمت بيئة Murashige and Skoog (1962) أضيف إليها : ميوإينوزيتول(125)مغ/ل – ثيامين هيدروكلوريد(0.5)مغ/ل – جلوتامين(2)مغ/ل – بيرودوكسين هيدروكلوريد(0.5)مغ/ل – بيوتين(0,2)مغ/ل – بانتونات الكالسيوم(0.4)مغ/ل مع سكروز(30)غ/ل و آجار ــ آجار(7)غ/ل (في البيئات الصلبة)

وأضيفت الاوكسينات للبيئة الأساسية (حسب المعاملات المدروسة) . تم ضبط الحموضة(PH) على درجة (5,8) قبل التعقيم بالأوتوغلاف على درجة حرارة(120 ْم) وضغط (1,4 كغ / سم 2) ولمدة(15)دقيقة .

3- عوامل الدراسة :

أ – **مرحلة تكون الكالوس** : تم دراسة تأثير أربعة أنواع من الاوكسينات بالتراكيز : 0-1-10 مغ / ل ، والاوكسينات هي :

- Picloram

- 2,4-D – 2,4-dichlorophenoxyacetic) 2 , 4 – D
acid)
- IBA (indole-3-butyric acid)
- NAA (1-naphthaleneacetic acid)

ب – **مرحلة تكون وتطور الأجنة** : تم دراسة تأثير :

- حالة البيئة الغذائية (مع / أو بدون آجار)
- NAA بتركيز 0,1 مغ / ل

4 – التحليل الإحصائي :

نفذت التجربة بتصميم القطاعات العشوائية الكاملة وتم تحليل التباين باستخدام البرنامج SPSS، وتم حساب الفروق المعنوية للنسب المئوية باختبار (X2) والمتوسطات باختبار (Tukey-HSD) عند مستوى معنوية (5%).

5 – القراءات :

1- في مرحلة الكالوس : بعد 8 أسابيع من زراعة الأجزاء الورقية على البيئة الغذائية تم تدوين نسبة تكون الكالوس (بعد حساب الأجزاء التي كونت كالوس)

2- في مرحلة تكون الأجنة : بعد 6 أسابيع من نقل الكالوس الى بيئة جديدة تم تسجيل الملاحظات التالية :

- الزيادة في وزن الكالوس (بالنسبة للمخروط الواحد)
- عدد الأجنة الجسدية (بالنسبة للمخروط الواحد)

النتائج والمناقشة :

- إنتاج الكالوس

بدا ظهور الكالوس على أطراف الأجزاء الورقية تقريبا بعد 3 – 4 أسابيع من الزراعة في بيئة الكالوس ، واستمر تشكله لمدة 8 أسابيع من الزراعة وكانت بنيته المتشكلة غضة صفراء بنية .

وتبين من خلال النتائج المتحصل عليها أن الكالوس تكون في بيئة M/S وفي جميع الإضافات الاوكسينية ، مع الاختلاف في نسبة تكون الكالوس حسب نوع

وتركيز الاوكسين . أما الأجزاء الورقية المزروعة على بيئة خالية من الأوكسين بقي معظمها اخضراللون ولكن لم تعط كالوس . وقد اكدت دراسات عدة قدرة أجزاء الأوراق الفتية على تكون الكالوس ومن هذه الدراسات نذكر (Gueye et al , 2009a+b ., Sudhersan et al , 1993) . وعند مقارنة تأثير الأنواع المختلفة من الاوكسنات تبين أن أفضل نسبة للكالوس كانت في بيئة تحتوي بيكلورام (الجدول 1 والمخطط 1) ، والذي أعطى أعلى نسبة وفي التركيزيين (على التوالى 23,46 و 46,3 %) والتي تفوقت معنويا على جميع المعاملات الأخرى . أما أقل نسبة مئوية للكالوس كانت في بيئات تحتوي IBA و NAA (بالتركيز 1 مغ/ ل) . هذه النتائج تتوافق مع نتائج العديد من الباحثين ومنها نتائج (Steinmacher et al , 2007 ., D-Onofrio and morni , 2006) كما أن تفوق البيكلورام على أنواع أوكسينية أخرى في تكون الكالوس تنسجم مع نتائج أبحاث مختلفة (Huong et al , 1999 ., Omar & Novak, 1990 ., Thuzar & Vanavichit , 2011)

وبشكل عام تؤكد هذه النتائج أهمية التراكيز المرتفعة من الاوكسين لحث وتشجيع تكون الكالوس في أجزاء من أوراق النخيل وهذا يتفق مع دراسات أخرى (Sane et al , 2006 ., Sani et al , 2010)

وقد اشار (Fe´her et al ,2003) الى أن كثيراً من خلايا الورقة يمكن أن تعود تحت تأثير التراكيز المرتفعة من الاوكسينات إلى الحالة الجنينية (مرستيمية) وبالتالي تكون صالحة لتكاثر مع / أو لتطور وتكوين كالوس وأجنة جسدية .

بعد أسبوعين من نقل الكالوس إلى بيئة تكون الأجنة بدأ تكون وتطور الأجنة الجسدية واستمرار نمو الكالوس وظهور تغيرات مورفولوجية في كتلة الكالوس . واظهرت النتائج أن تطور الكالوس والأجنة بعد 6 أسابيع من الزراعة على بيئة جديدة اختلف باختلاف حالة البيئة ووجود الاوكسين . وكان أعلى متوسط للوزن الطازج من الكالوس في بيئة سائلة أضيف إليها اوكسين ، الذي تفوق معنويا (عند

5 %) على البيئة الصلبة ، حيث بلغ وزن الكالوس المتكون على هذه البيئة (2,97 غ / المخروط الواحد) .

الجدول (1) : تأثير الاوكسينات في نسبة تكون الكالوس على أجزاء من أوراق النخيل الثمري (صنف زغلول)

نوع الاوكسين	تركيز الاوكسين (مغ / ل)	نسبة تكون الكالوس
Pic	0 1 10	0.0 23.46 46.3
NAA	0 1 1	0.0 13.73 26.15
IBA	0 1 10	0.0 8.07 10.9
2.4-D	0 1 10	0.0 18.07 28.3

*- المتوسطات التي تحمل احرف متشابهة لا يوجد بينها فرق معنوي

- تكون الأجنة الجسدية :

بالإضافة لتكون الكالوس تدل النتائج أيضا أن أفضل تكون وتطور للأجنة الجسدية كان في البيئة السائلة مع وجود الاوكسين . وقد أشير إلى أهمية وجود تراكيز منخفضة من الاوكسينات لتكون وتطور الأجنة في أعمال مختلفة لإكثار النخيل منها (Thuzar & Vanavichit , 2011 ., Huong et al , 1999 ., Zein El-Din et al , 2007 ., Bekheet , 2007 ., Bhaskaran & Smith , 1992) .

يلاحظ من الجدول (2) أن أعلى متوسط لتكون الأجنة الجسدية كان في البيئة السائلة (64,5 / المخروط الواحد) مقارنة بالبيئة الصلبة (9,25 / المخروط الواحد) والذي تفوق عليها معنويا (عند 5%) . وهذه النتيجة بخصوص أهمية البيئة السائلة لتكون الأجنة الجسدية في كالوس النخيل الثمري تنسجم مع أعمال عدة

الجدول (2) تأثير حالة البيئة والاوكسين في متوسط الوزن الطازج للكالوس (غ / المخروط الواحد)

حالة البيئة	تركيز الاوكسين NAA (مغ / ل)	متوسط الوزن الطازج للكالوس (غ / المخروط الواحد)
بيئة صلبة	0	1,5 b
	0,1	1,8 b
بيئة سائلة	0	2,2ab
	0,1	2,97a

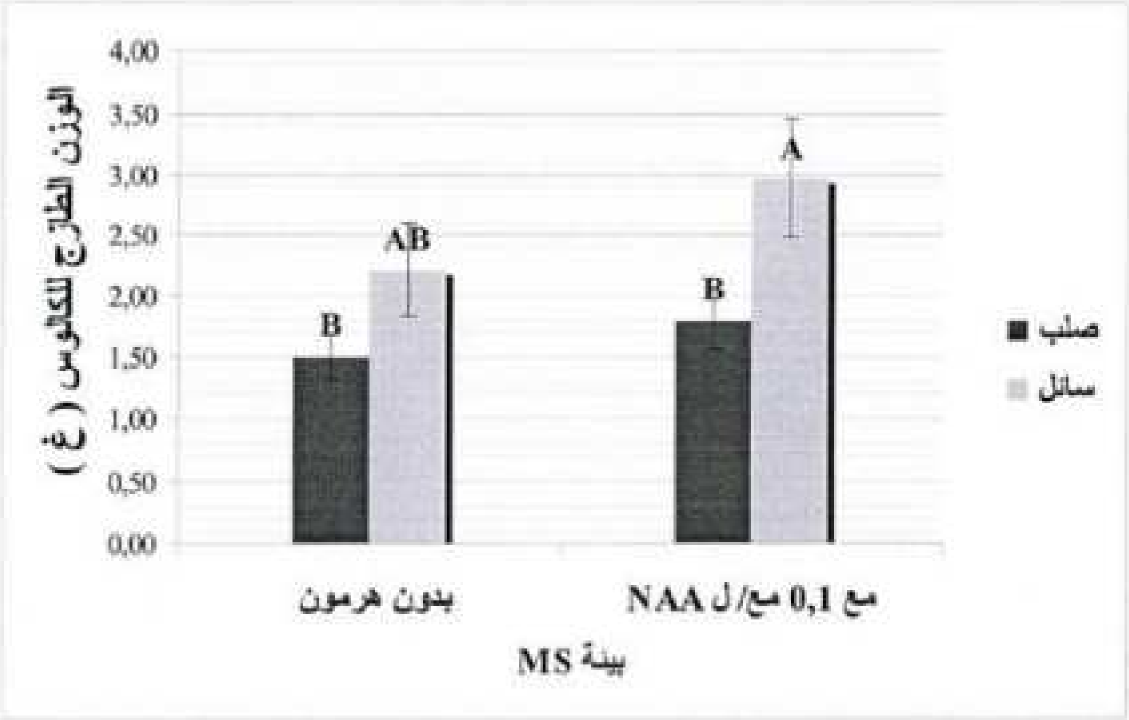
*- المتوسطات التي تحمل احرف متشابهة لا يوجد بينها فرق معنوي

لإكثار النخيل بزراعة الأجنـــة الجـــسدية (Ducos et al , 2003 ., Tisserat ,1982 ., Jones & Petolino , 1988 ., Gawel & Robacker , 1990 ., Tisserat B & Vandercook , 1985 ., De Touchet et al , 1991 ., Zouine et al , 2005).وأهمية البيئة السائلة في تكون الأجنـــة يـــشير إليهـــا (Thuzar et al , 2011) في إكثار النخيل حيث يفترض أن العناصر والمركبات الغذائية في البيئات السائلة كانت متاحة أكثر من البيئـــات الـــصلبة لنمـــو الخلايـــا وتمايزها لأنسجة كالوس جسدي .

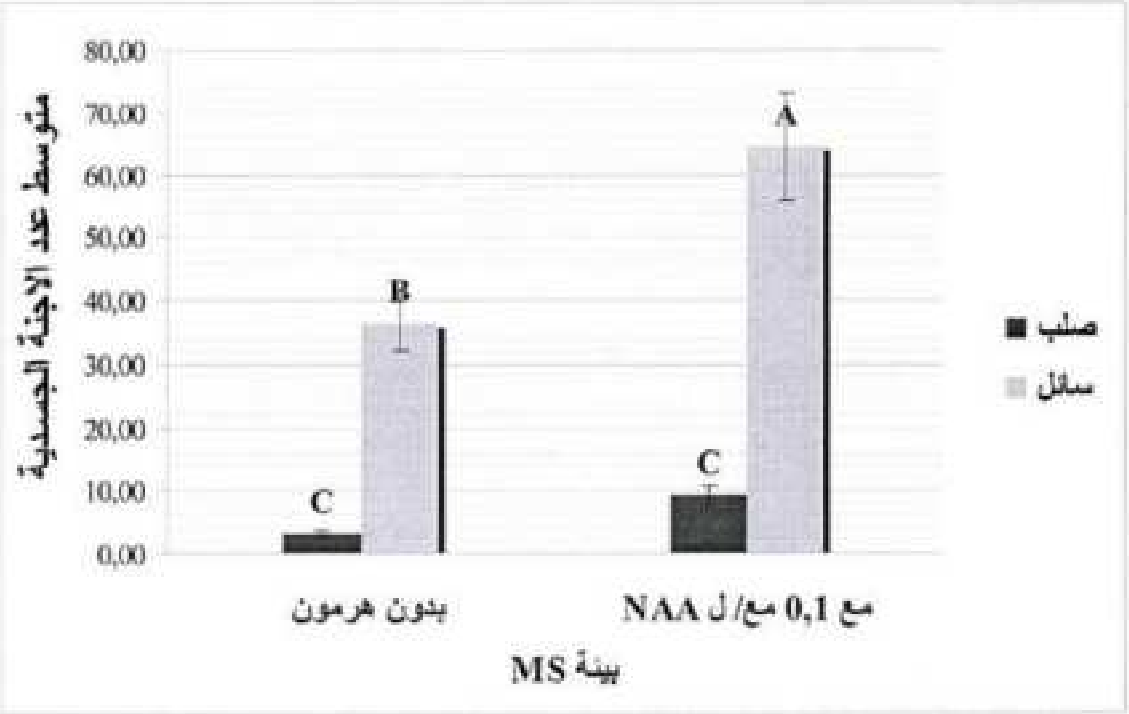
الجدول (3) : تأثير حالة البيئة والاوكسين في متوسط عدد الأجنة الجسدية (في المخروط الواحد)

حالة البيئة	تركيز الاوكسين NAA (مغ / ل)	متوسط الوزن الطازج للكالوس (غ / المخروط الواحد)
بيئة صلبة	0	3,12 c
	0,1	9,25 c
بيئة سائلة	0	36,25 b
	0,1	64,5 a

*- المتوسطات التي تحمل احرف متشابهة لا يوجد بينها فرق معنوي

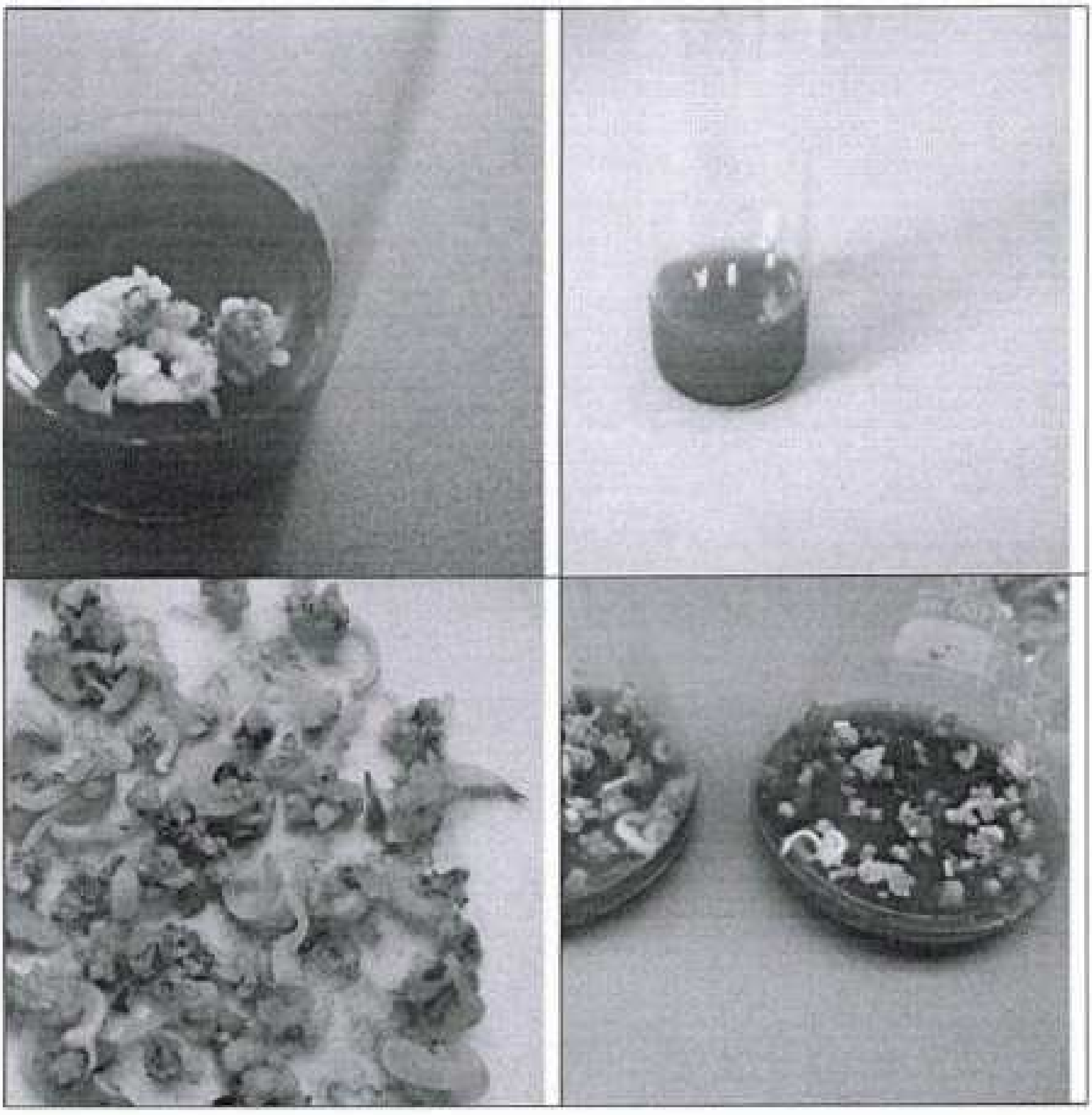


شكل (2) تأثير حالة البيئة والاوكسين في متوسط الوزن الطازج للكالوس



شكل (3) تأثير حالة البيئة والاوكسين في متوسط عدد الاجنة الجسدية

ومن خلال النتائج التي توصلنا اليها يمكن تأكيد نجاح تقنية الأجنة الجسدية كطريقة ناجحة لإكثار النخيل بكميات كبيرة . ففي هذه الدراسة أمكن الحصول على الكالوس من زراعة اجزاء الورقة تحت تأثير التراكيز المرتفعة من الاوكسينات وخاصة البيكلورام (10 مغ / ل) . كما بينت النتائج أهمية البيئة السائلة والاوكسين (NAA) بتركيز منخفض (0,1 مع / ل) لتكون وتطور الأجنة الجسدية خلال 6 أسابيع من نقل الكالوس إلى بيئة جديدة . وتؤكد إمكانية الحصول على عدد كبير من الأجنة الجسدية بزراعة أوراق النخيل الثمري صنف زغلول .ولاستكمال هذا البحث ينبغي دراسة بقية مراحل تطور الأجنة إلى نبات كامل ونقله إلى الظروف الطبيعية ، ولتوسيع هذه الطريقة وتطويرها لابد من اختبار التقنية على أصناف أخرى من النخيل الثمري .



شكل (1) المراحل المختلفة لزراعة أجزاء من الورقة وتطور الأجنة الجسدية من النخيل الثمري – صنف زغلول

المراجع :

Al-KHAYRI , J.M., 2001 - **Optimization of biotin and thiamine requirements for somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.)**. *IN VITRO CELL. DEV. BIOL. PLANT* 37: 453-456.

ASEMOTAL , O., C.R. EKEL, ., B.O. EMOGHENEL ., N.O. AISUENIL , . O.A. ADETUNJI ., R.M. GIDADO , and B.O. SOLOMON ., 2010 - **Investigation of Somatic Embryogenesis for In Vitro Cultures of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.).** *Proc. 4th Int. Date Palm Conference .Acta Hort. 882, ISHS* 2010 : 225 – 232

ASLAM , J. and KHAN , S., 2009 - ***IN VITRO* MICROPROPAGATION OF 'KHALAS' DATE PALM (*Phoenix dactylifera* L.), AN IMPORTANT**
FRUIT PLANT . *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* Vol. 17(1) 2009: 15-27

BEKHEET, S., M.E. SOLLIMAN and H.S. TAHA., 2007 - **In Vitro Differentiation of Zygotic Lines of Date Palm: Biochemical and Molecular Approaches to Sex Determination** . *Proc. IIIrd IC on Date Palm . Acta Hort 736, ISHS 2007* : 117 - 125

BHASKARAN , S. and SMITH , R., 1992 - **Somatic embryogenesis from shoot**
tip and immature inflorescence of Phoenix dactylifera L. cv. Barhee. *Plant Cell Rep* 12:22–25

De TOUCHET, B., Duval ,Y. and Pannetier ,C .,1991- **Plant regeneration**
from embryogenic suspension cultures of oil palm (Elaeis guineensis Jacq.). *Plant Cell Rep* ,10:592–532

D'ONOFRIO, C.and MORINI , S., 2006 - **Somatic embryo, adventitious root and**
shoot regeneration in vitro grown quince leaves as influenced by treatments of different length with growth regulators. *Sci Hortic (Amsterdam)* 107:194–199. doi:

DUCOS, J.P. , R. ALENTON ., J.F. REANO., C. KANCHANOMAI ., A. DESHAYES. And V. P´ETIARD ., 2003 - **Agronomic performance of *Coffea canephora* P. trees derived from large-scale somatic embryo production in liquid medium .** *Euphytica* **131:** 215–223, 2003.

El –FATIHA , M.M. and H. H- BADERELDIN ., 2010- **Cultivar Differences of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Somatic Embryogenesis Micropropagation .** *Proc. 4th Int. Date Palm Conference . Acta Hort. 882, ISHS 2010* : 193 - 198

El- HADRAMI,,I., El- BELLAJ , M., El IDRISSI ,A., J'AITI , F., El JAAFARI ,S.and DAAZF, F., 1998 - **Biotechnologie ve´ge´tales et amelioration du palmier**
dattier (phoenix dactylifera L.) Pivot de l'agriculture oasienne Marocaine. *Cah Agric,* 7:463–468

FE´HER A, PASTERNAK, TP., DUDITS, D.,2003- **Transition of somatic plant**
cells to an embryogenic state. Review of plant Biotechnology and Applied Genetics. *Plant Cell Tiss Org Cult* 74:201–228

FKI, L ., MASMOUDI , R., N. DRIRA and RIVAL ,A.,2003 - **An optimised protocol for plant regeneration from embryogenic suspension cultures of date palm, Phoenix dactyliferaL., cv. Deglet Nour**. *Plant CellRep.,* 21:517-524

GABR, MF and TISSERAT , B., 1985 - **Propagating palms *in vitro* with special emphasis on the date palm (*Phoenix dactylifera* L.)**. *Scientia Horticulturae* , 25: 255–262

GAJ, MD., ZHANG, S, TROJANOWSKA, A., UJCAK, A., MEDREK, M., KOZIOL, A., and GARBACIAK, B.,2006 - **Hormone-response mutants of Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. Impaired in somatic embryogenesis.** *Plant Growth Regul* 49:183–197

GASPAR, T., KEVERS, C., PENEL, C., GREPPIN, H., REID, DM. and THORPE, TA., 1996 - **Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture.** *In vitro Cell Dev Biol-Plant* , 32:272–289

GAY , MD., 2004 - **Factors influencing somatic embryogenesis induction and plant regeneration with particular reference to Arabidopsis thaliana (L.) Heynh**. *Plant Growth Regul* ,43:27–47

GAWEL, NJ. And ROBACKER, CD., 1990 - **Somatic embryogenesis in two *Gossypium hirsutum* genotypes on semi-solid *versus* liquid proliferation media**. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 23: 201–204

GUEYE , B., MORCILLO , F., MYRIAM , M., DANIEL D., OVERVOORDE , P ., Aberlenc-Bertossi , F., TRANBARGER, T., SANE , D ., JAMES, W., TREGEAR, J., Borgel , A., and J-Luc VERDEIL., 2009 - **Acquisition of callogenic capacity in date palm leaf tissues in response to 2,4-D treatment** . *Plant Cell Tiss Organ Cult* (2009) 99:35–45

GUEYE , B., H. SAI'D-AHMED ., F. MORCILLO., A. BORGEL ., D. SANE′ ., J.-L. HILBERT ., J.-L. VERDEIL ., A.-S. BLERVACQ., 2009 b., **Callogenesis and rhizogenesis in date palm leaf segments:are there similarities between the two auxin-induced pathways?** . *Plant Cell Tiss Organ Cult* ,98:47–58

HORNUNG , R.K.and C-D. MENTZ ., 2000 - **Recent developments in the propagation of date palm (Phoenix dactylifera l.)** . *Proc. 2nd Conf. (Sub) trop. Ftuits . Acta Hort.531. ISHS.2000*: 223 -228

HUONG , Le- THI ., M. BAIOCCOL., B. HUY., B. MEZZETTI., R.SANTILOCCHI and P. ROSATI., 1999 - **Somatic embryogenesis in Canary Island date palm** . *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **56:** 1–7, 1999.

JIME′NEZ, VM and BANGERTH , F.,2001- **Hormonal status of maize initial explants and of the embryogenic and non-embryogenic callus cultures derived from them as related to morphogenesis in vitro**. *Plant Sci* 160(2):247–257

JONES , AM . and PETOLINO ,JF., 1988 - **Effects of support medium on embryo and plant production from cultured anthers of soft-red winter wheat**. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. 12: 243–261

LUIS , S., G. HERRERA-HERRERA ., F. U-BALLOTE ., J. CHAN .and C. OROPEZA., 2010 - **Influence of form of activated charcoal on embryogenic callus formation in coconut (Cocos nucifera).** *Plant Cell Tiss Organ Cult* , 100:301–308

McCUBBIN , M. and A. ZAID , 2007 - **Would a Combination of Organogenesis and Embryogenesis Techniques in Date Palm Micropropagation be the Answer? .** *Proc. III[rd] IC on Date Palm . Acta Hort 736, ISHS 2007* : 255-259

MICHALCZUK , L., COOKE , TJ.and COHEN , JD., 1992 - **Auxin levels at different stages of carrot somatic embryogenesis.** *Phytochemistry* 31:1097–110

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 , MS and NOVAK , FJ., 1990 - ***In vitro* plant regeneration and ethylmethanesulphonate (EMS) uptake in somatic embryos of date palm (*Phoenix dactylifera* L.).** *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 20: 185–190

OTHMANI , A., C.BAYOUDH and DRIRA , N., 2009 - ***Somatic embryogenesis and plant regeneration in date palm (Phoenix dactylifera* L.) cv. Boufeggous is significantly improved by fine chopping and partial desiccation of embryogenic callus.** *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 97: 71–79

RAJESH, MK., RADHA, AKE. and PARTHASARATHY,VA., 2003 - **Plant regeneration from embryo-derived callus of oil palm; the effect of exogenous polyamines**. *Plant Cell Tissue Organ Cult* ,75:41–47

RIVAL, A. and PARVEEZ, M., 2004 - **Elaeis guineensis, oil palm.** *In: Litz R (ed) Biotechnology of fruit and nut crops. Biotechnology in agriculture series. CABI Publishing, Wallingford*, pp 113–143

SANE, D., ABERLENCE-BERTOSSI, F., SASSAMA-DIA, Y.K., SAGNA, M., TROUSLOT, M.F., DUVAL, Y.and BORGEL, A., 2006 - **Histocytological analysis of callogenesis and somatic embryogenesis from cell suspensions of date palm (*Phoenix dactylifera*).** *Annals of Botany*,98:301-308.

SANI, L., M.D. ALIYU., A. HAMZA., O.A. ADETUNJI., R.M. GIDADO and B.O. SOLOMON., 2010 - **Exploring the Nigerian Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Germplasm for In Vitro Callogenesis .** *Proc. 4th Int. Date Palm Conference . Acta Hort. 882, ISHS 2010* : 177-184

SHARMA, D.R., DEEPAK, S.and CHOWDHURY , JB .,1986- **Regeneration of plantlets from somatic tissues of date palm (Phoenix dactylifera L.)** . *Indian J Exp Biol*, 24:763–766

- SOMLEVA, MN ., SCHMIDT, EDL. and de VRIES, SC .,2000- **Embryogenic cells in Dactylis glomerata L. (Poaceae) explants identified by cell tracking and by SERK expression**. *Plant Cell Rep* 19:718–726

STEINMACHER , D. A. , CANGAHUALA-INOCENTE , G. C., CLEMENT, C. R. and M. P. GUERRA., 2007 - **Somatic embryogenesis from peach palm zygotic embryos** . *In Vitro Cell.Dev.Biol. Plant* 43:124–132

-TISSERAT, B.,1979 - **Propagation of date palm (Phoenix dactylifera L.) in vitro.** *J Exp Bot* , 30:1275–1283

SUDHERSAN, C., M.M.ABOEL-NAIL and A.Al-BAIZ., 1993 - **Occurrence of direct somatic embryogenesis on the sword leaf of in vitro plantlets of of *Phoenix dactylifera* L. cultivar barhee .** *CURRENT SCIENCE* ,vol.65 , NO: 11 ,10 December : 887 – 889 .

THUZAR , M., VANAVICHIT , A., TRAGOONRUNG , S.and CHATCHAWAN , J .,2011 - **Efficient and rapid plant regeneration of oil palm zygotic embryos cv. 'Tenera' through somatic embryogenesis** . *Acta Physiol Plant* , 33:123–128

TISSERAT , B., 1982 - **FACTORS INVOLVED IN THE PRODUCTION OF PLANTLETS FROM DATE PALM CALLUS CULTURES** . *Euphytica* , 31 (1982) 201-214

TISSERAT, B. and VANDERCOOK, CE., 1985 - **Development of an automated plant culture system**. *Plant Cell Tiss. Org.* Cult. 5: 107–117

ZEIN El-DIN, A., F.M., M. ABDEl-RASOUL and I.S. IBRAHIM .,A.S. ALY and H.A.M. SHARAF ELDEEN., 2007 - **Micropropagation of Some Date Palm Cultivars: Changes of Some Chemical Constituents Related to Embryogenesis** . *Proc. IIIrd IC on Date Palm. Acta Hort 736, ISHS 2007* : 233 - 243

Effect of auxin on callus induction and somatic embryogenesis in leaf explants of date palm, Phoenix dactylifera L., cv. Zaghlool

Dr.Ziad Al-Hussin	**Ing.M. Yamin Abrahim**

ABSTRACT

The present study demonstrates a procedure for the rapid development of a high number of somatic embryos from callus culture of Phoenix dactylifera L., cv. Zaghlool .

The calluses were induced from leaf segments as explants subcultured on Murashige and Skoog medium supplemented with 1 and 10 mg L-1 picloram, 2,4-D, IBA and NAA.

The results showed that the formation of callus was significantly affected by type and concentrations of auxins . The highest percentage of callus formation from explants was induced by media supplemented with 10mg L-1 picloram (46.3%) followed by 10mg L-12,4-D (28.3%) .

Somatic embryo formation and development was achieved when calluses were transferred into liquid and agar MS medium including NAA at 0 . 1mg L-1 concentrations . In general, the growth of somatic embryos in liquid medium gave better results than solid medium with the same composition.

The highest number of pro-embryos (64.5) and the highest value of fresh weight of differentiated cultures (2.97 g) were observed with liquid medium containing NAA.

Key words:, Phoenix dactylifera, leaf segments, somatic embryogenesis, auxins