

تأثير مضادات الأكسدة على تقليل التلون البني في مستأصلات التين والرمان

خليفة محمد خليفة^{1*}، عبد السلام بن حميدة²، حنان الحاج³
3:2:1 قسم البستنة، مركز البحوث الزراعية، ليبيا

Effect of Antioxidants on Browning Reduction in Fig and Pomegranate Explants

Khalifa Mohammed Khalifa^{1*}, Abdulsalam bin Hameeda², Hanan ElHaj³
^{1,2,3}Horticulture Department, Agricultural Research Center, Libya

*Corresponding author

www.khalefa62@gmail.com

*المؤلف المراسل

تاريخ النشر: 2025-02-18

تاريخ القبول: 2025-01-16

تاريخ الاستلام: 2024-12-10

المخلص

يعتبر التلون البني من المشاكل التي تواجه الزراعة النسيجية في النباتات الخشبية بسبب افرازها للمركبات الفينولية. أجريت هذه التجربة لمعرفة تأثير مضادات الأكسدة على التقليل من التلون البني في العقد المفردة المزروعة نسيجياً لكل من التين والرمان، حيث عوملت المستأصلات النباتية قبل التعقيم السطحي بالفحم المنشط Activated charcoal بتركيز (0.0، 500، 1000، 1500 ملجم /لتر) وحمض الستريك Citric acid بتركيز (0.0، 100، 150، 200 ملجم /لتر) وحمض الأسكوربيك Ascorbic acid بتركيز (0.0، 150، 200، 250 ملجم /لتر) قبل زراعتها على وسط Murashige & Skoog سجلت القراءات أسبوعياً لمدة شهر من الزراعة على نسبة التلون البني. اشارت النتائج الى ان الفحم المنشط سجل أقل نسبة للتلون البني في كلاً من التين والرمان حيث بلغت 20% و15% عند التركيز.

الكلمات المفتاحية: زراعة الأنسجة، التلون البني، مضادات الأكسدة، الفحم المنشط، حمض الستريك، حمض الأسكوربيك.

Abstract

Browning is a major problem facing tissue culture in woody plants due to their secretion of phenolic compounds. This study was conducted to assess the impact of antioxidants on reducing browning in explants of figs and pomegranates. Activated charcoal was used at concentrations of 0.0, 0.500, 1000, and 1500 mg/L, citric acid at 0.0, 100, 150, and 200 mg/L, and ascorbic acid at of 0.0, 150, 200, and 250 mg/L. The explants were cultured on Murashige & Skoog (MS) medium and data were taken after one week of culture. The results indicated that activated charcoal recorded the lowest browning percentages in fig and pomegranate explants at 20% and 15%, respectively.

Keywords: Tissue Culture, Browning, Antioxidants, Activated Charcoal, Citric Acid, Ascorbic Acid

مقدمة:

يعتبر التلون البني من أهم المشاكل التي تعاني منها زراعة الأنسجة النباتية وهي أحد المخاطر التي تهدد زراعة الأنسجة وتسبب في موت المستأصلات النباتية حيث تتعرض الأجزاء المستزرعة من الأشجار الخشبية عند زراعتها على البيئات الغذائية إلى ظاهرة التلون البني وذلك نتيجة للتغيرات الفسيولوجية داخل الأنسجة المستزرعة، والتي تؤدي تدريجياً إلى موت الجزء المستزرع [1]. تحدث هذه الظاهرة بسبب أكسدة المواد الفينولية في الأنسجة بواسطة إنزيمات البيراكسيديز أو بواسطة إنزيم البولي فينول أكسيديز والمركبات المتأكسدة تثبط النشاط الإنزيمي وتؤدي إلى موت المنفصل النباتي [2].

ينتج التلون من اكسدة المركبات الفينولية عند تفاعلها مع مكونات البيئة ويتحول اللون إلى بني أو أرجواني حول النسيج وقد ينتشر في البيئة [3]. يوجد مدى واسع من المركبات الفينولية في النبات وهذه المركبات موجودة في النسيج النباتي كما أنها تؤدي دورا كبيرا في إبطاء عملية نمو وتطور النباتات [4]. وكذلك تعمل المركبات الفينولية على نمو الخلية وتقلل من تخليق البروتين، ووجود مزيد من السكر في البيئة الزراعية يساعد على زيادة تخليق المركبات الفينولية وهذه المركبات هامة للنبات وتأكسد لتكوين كينون الذي يتبلر بسرعة ويرتبط بالبروتين. وتمنع مركبات البولي فينولية إزالة مجموعة الكربوكسيل الموجودة في اندول حامض الخليك IAA ولذلك يشجع النمو [5]، بينما تشجع الفينولات الأحادية إزالة مجموعة الكربوكسيل وهذا يفسر أهمية الدور الذي تلعبه الفينولات في الاتزان الهرموني للنباتات. يعمل الفحم المنشط على رفع الرقم الهيدروجيني لبيئة MS بعد التعقيم وأثناء تخزين البيئة لمدة 14 يوم، كذلك يشجع تجذير العقل وقد يعزى ذلك إلى منع الضوء الذي يثبط التجذير [6]. وقد ذكر [7] أن الاستزراع على البيئات السائلة Liquid media يعمل على سرعة تخفيف المواد السامة التي تنطلق إلى البيئة، وأن التلون البني الذي يحدث عند قاعدة الأفرع في الظلام أثناء الزراعة لمنع تخلل الضوء إلى هذه القاعدة. إذا ما تم وضع قواعد هذه الأفرع في الظلام أثناء الزراعة لمنع تخلل الضوء إلى هذه القاعدة.

تعتبر أنواع الأشجار الخشبية حساسة جدا للمواد السامة التي تفرزها البيئات الغذائية المزروعة عليها المستأصلات، حيث ذكر عدد من الباحثين أن إضافة الفحم المنشط للبيئة بمعدل من 2 إلى 3% يعمل على امتصاص المركبات الفينولية السامة التي تفرزها الأنسجة النباتية في بداية الزراعة والتي تسبب ظاهرة التلون البني [8]، كذلك استعمل بعض الباحثين مركبات أخرى مثل حمض الستريك (Citric acid) وحمض الأسكوربيك (Ascorbic acid) وغيرها من المركبات المانعة للأكسدة [9] وفي دراسة قام بها [10] وجد أن البيئة المحتوية على الفحم المنشط كان لها تأثير فعال في استحداث النسيج النمو في أشجار البرتقال ثلاثي الأوراق *Poncirus trifoliata* يؤدي الفحم المنشط إلى إزاله تأثير المواد المثبطة للنمو في البيئة مما يشجع على استطالة الأفرع.

كما أن الفحم المنشط يمكن أن يسرع من إكثار الأصناف أخرى كالقطن [11]. والتقليل من تأثير التلون البني أستخدم الباحث [12] بيئة مغذية تحوي $MS \frac{1}{2}$ مزودة بتركيز مختلفة من IBA, IAA, NAA كلا على حدة حيث أعطى تركيز $MS \frac{1}{2}$ المضاف إليه 2 ملجم / لتر من الفحم أفضل استطالة للأفرع، ولكن يجب تجديد الوسط الغذائي لأن بقاء الفحم مدة طويلة قد يسبب امتصاص بعض المركبات الأساسية للبيئة من العناصر المغذية ومنظمات النمو وبالتالي حدوث خلل في التوازن في تركيب البيئة الغذائية.

أشارت دراسة قام بها [13] إلى أن قمع الرمان المزروعة في وسط MS أظهرت مشكلة التلون البني الذي يتبعه موت الأجزاء النباتية التي بدون إضافة الفحم النشط. وفي بحث [14] لغرض التقليل من التلون البني في العقد المغردة في الرمان لصنفيين التاجوري والخضوري وجد أن استخدام الفحم المنشط بتركيز 0.1% في وسط MS مع إضافة حمض الستريك بتركيز 150 ملجم/لتر قد منع التلون البني بنسبة 95%. أشار الباحث [15] أن التلوث البني يحدث في مزارع الأنسجة النباتية عند استزراع المستأصلات من الأشجار الخشبية مثل المانجو والزيتون والرمان وذلك بسبب افراز المواد الفينولية بكثرة وتعرض هذه المواد للأكسدة عند خروجها من الأسطح المجروحة من المستأصل النباتي، ويؤدي تراكمها إلى موت النسيج النباتي.

وجد الباحث [16] في دراسة إكثار نخيل التمر صنف الخضراوي من وجود اختلافات في استجابة الأجزاء النباتية في النمو حيث تفوقت البراعم القمية على البراعم الأبطية والبداءات الأوراق التي فشلت في النمو بسبب تعرض عدد كبير منها إلى التلون البني وماتت في النهاية. تمكن الباحث [17] من إكثار نخيل التمر صنف الفرسى عن طريق زراعة الأنسجة ولغرض التقليل من التلون البني حيث وضع الأجزاء المستخدمة في الإكثار في حمض الستريك يتكون من 150 ملجم/ لتر و حمض الأسكوربيك بتركيز 100 ملجم /لتر لإيقاف عملية الأكسدة واستمرار الأنسجة. أكد الباحث [18] إلى أن معاملة الأولية للجزء النباتي بمضادات الأكسدة حمض الستريك والأسكوربيك بتركيز 150 ملجم /لتر كان أكثر فعالية في تقليل التلون البني مقارنة باستخدام PVP. وأستخدم [19] البراعم القمية والبراعم الأبطية لنخيل التمر حيث نقعت في محلول مانع للأكسدة مكون من حمض الستريك بتركيز 150 ملجم /لتر وحمض

الأسكوربيك بتركيز 100 ملغم / لتر. وللحد من التلون البني وضعت المستأصلات في محلول مضاد للأوكسدة الذي يتكون من 150 ملجم / لتر حمض الستريك و100 ملجم / لتر حمض الأسكوربيك [20]. كذلك استخدم [21] حمض الستريك وحمض الأسكوربيك 150 ملجم / لتر و100 ملجم / لتر على التوالي لمقاومة التلون البني.

أوضح الباحثون في زراعة الأنسجة أن التغييرات الفعالة في انزيمات الأوكسدة وهي ظاهرة استمرار أجزاء المستأصلة عند زراعتها على الأوساط الغذائية مازالت السيطرة على هذه الظاهرة هي أحد أهداف الباحثين حيث ذكر الباحث [22] في بحث عن ظاهرة تلون أنسجة نخيل التمر في الوسط الغذائي بعد زراعتها مما يؤثر في نموها بسبب افراز الأنسجة النباتية مواد عديمة اللون (الفينولات) على الوسط الغذائي حيث تثبط نموها وأن هذه المركبات الفينولية تعد من أهم نواتج الأيض الخلوي الثانوي في المملكة النباتية. كما أكد [2] ان سبب التلون البني يحدث بسبب أكسدة الـ Polyphenols ضمن أنسجة النبات وتكون الكوينونات خلال تكسر الخلايا أثناء القطع وجعل المواد الفينولية مندمجة مع أنزيمات الأوكسدة البيروكسيداز Peroxidase إلى بولي فينول أكسيداز.

ذكر [5] ان أنزيمات الأوكسدة تؤكسد الفينولات إلى كوينات فعالة جداً وذات سمية عالية لنسيج النبات. تختلف شدة التلون البني باختلاف الأجزاء الخضرية المستخدمة والأصناف كما تختلف أيضاً باختلاف موسم النمو [23]. درس الباحث [1] تأثير الفحم المنشط على امتصاص منظمات النمو ومعرفة التركيزات الفعالة للفحم المنشط في معالجة ظاهرة التلون البني. أن الهدف من البحث هو دراسة تأثير مضادات الأوكسدة الفحم المنشط وحمض الستريك وحمض الأسكوربيك على امتصاص المواد الفينولية والمركبات الأخرى والحصول على تركيز محددة تعطي نسبة من التلون البني منخفضة.

مواد وطرق البحث

أحضرت المستأصلات النباتية (التين والرمان) من مزرعة سيدي المصري بطرابلس إلى مختبر زراعة الأنسجة، حيث تم إزالة الأوراق وغسلت بالماء والصابون ووضعت تحت الماء الجاري لمدة نصف ساعة بعدها قطعت المستأصلات وضعت في برطمانات معقمة وغمرت في محلول حمض الستريك وحمض الأسكوربيك كلا على حدة حسب التراكيز التجريبية لمدة نصف ساعة نم عقت في الكحول بتركيز 70% لمدة دقيقة بعدها تم إضافة هيبوكلورات الصوديوم بتركيز 20 % لمدة 15 دقيقة مع إضافة قطرتين مادة توين 20 لغرض زيادة كفاءة التعقيم السطحي مع التحريك ، تم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات حتى تتمكن من إزالة مواد التعقيم ، اما الفحم المنشط حضر مع الوسط الغذائي، بعدها زرعت المستأصلات على MS المحضر والمعقم سابقاً في الاوتوكليف على درجة حرارة 121م° و ضغط واحد بار لمدة 15 دقيقة. وضع المستأصلات المزروعة على وسط MS في التحضين وأخذت القراءت لنسبة التلون البني. مضادات الأوكسدة المستخدمة في التجربة.

- الفحم المنشط استخدم بتركيز (0.0، 0.500، 1000، 1500 ملجم / لتر)
- حمض الستريك استخدم بتركيز (0.0، 100، 150، 200 ملجم / لتر)
- حمض الأسكوربيك استخدم بتركيز (0.0، 150، 200، 250 ملجم / لتر)

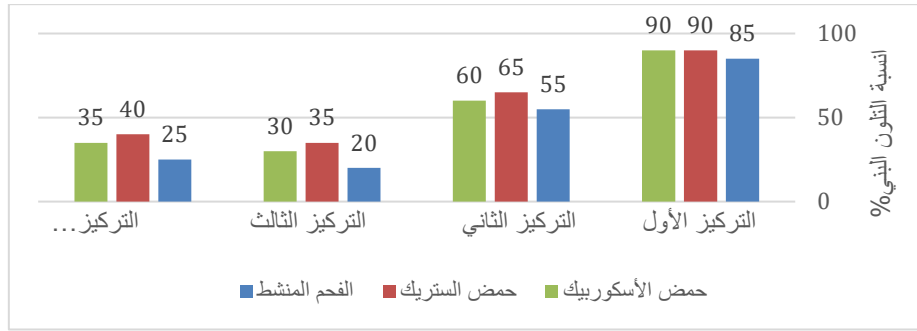
مناقشة النتائج

تأثير مضادات الأوكسدة على تقليل من التلون البني في مستأصلات التين أظهرت النتائج المتحصل عليها في الشكل رقم (1) بتفوق الفحم المنشط بتسجيل أقل مستوى من التلون البني مقارنة مع حمض الأسكوربيك وحمض الستريك بلغ 20% مقابل 30% و35% على التوالي. كذلك سجل حمض الأسكوربيك أقل مستوى من التلون البني مقارنة مع حمض الستريك بلغ 30%، 35% على التوالي. كما تفوقت جميع التراكيز على المقارنة.

تتفق النتائج المتحصل عليها مع بعض الباحثين إلى أن استخدام الفحم المنشط له القدرة على امتصاص المواد الفينولية والمواد السامة الأخرى والمركبات العضوية كما أن له تأثير مشجع على نمو. كذلك تتفق مع ما ذكره الباحث [9] أن تحسين جودة ونوعية المستأصلات المزروعة من التين يمكن تحقيقها بواسطة زراعة الأجزاء النباتية على بيئة تحتوي على 3 جرام لتر من الفحم المنشط مع بعض منظمات النمو. كما أشارت دراسة قام بها [24] على اكنار التين صنف براون تركي بواسطة تقنية زراعة الأنسجة أن إضافة

الفحم المنشط 2 ملجم لتر إلى وسط الزراعة MS أدى إلى حدوث فرق معنوي في متوسط عدد النوات الخضرية حيث تم الحصول على 2.4 نمواً خضرياً مقارنة بالمعاملة الخالية من الفحم المنشط. كذلك تحصل الباحث [19] عند استخدام بيئة [25] لإكثار أشجار التين على أفضل تفرع عند إضافة 2 ملجم لتر من الفحم المنشط إلى البيئة والمحتوية على منظمات النمو وتم الحصول على أفضل تفرع (4.43 نمواً خضرياً). ودرس الباحث [1] تأثير الفحم المنشط على امتصاص منظمات النمو ومعرفة التركيزات الفعالة للفحم المنشط في معالجة ظاهرة التلون البني.

ذكر عدد من الباحثين أن بقا الفحم المنشط مدة طويلة في البيئة بدون تجديدها فإنه قد يتسبب في امتصاص لبعض المركبات الأساسية للبيئة من العناصر المغذية ومنظمات النمو وبالتالي حدوث خلل في التوازن في تركيب البيئة، كما أن بعض الباحثين يستبدل الفحم المنشط بمواد أخرى مثل حمض الستريك وحمض الأسكوربيك وغيرها من المركبات المانعة للأكسدة [9]. وللمحد من التلون البني وضعت المستأصلات في محلول مضاد للأكسدة الذي يتكون من 150 ملجم /لتر حمض الستريك و100 ملجم حمض الأسكوربيك [20]. كذلك استخدم [21] حمض الستريك وحمض الأسكوربيك 150 ملجم لتر و100 ملجم على التوالي لمقاومة التلون البني. في حين تتعارض هذه النتائج مع ما توصل إليه [15] في دراسة على إكثار لصنفين من الرمان التاجوري والخضوري لغرض التقليل من التلون البني حيث استعمل كل من الفحم المنشط وحمض الستريك وحمض الأسكوربيك وتحصل على أفضل النتائج باستخدام حمض الستريك وحمض الأسكوربيك.

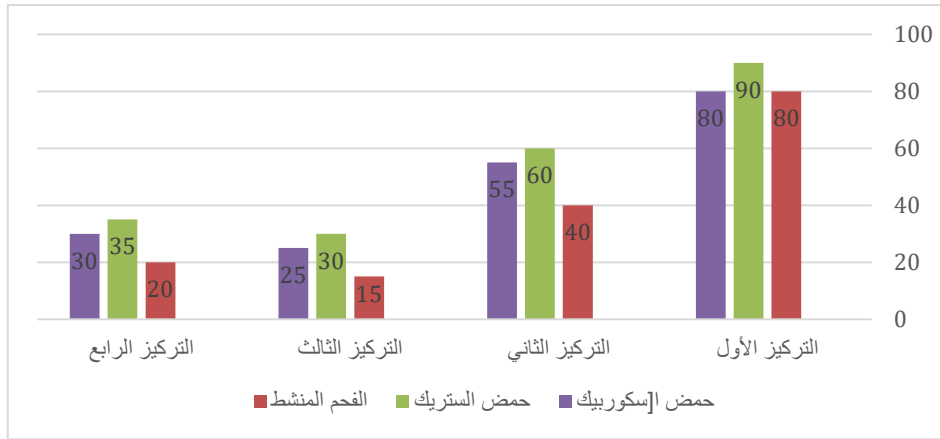


شكل 1: تأثير مضادات الأكسدة على تقليل من التلون البني في مستأصلات التين.

تأثير مضادات الأكسدة على تقليل من التلون البني على مستأصلات الرمان

تشير النتائج في الشكل (2) إلى تفوق الفحم المنشط على حمض الأسكوربيك وحمض الستريك حيث حقق أقل مستوى من التلون البني بلغت 15% مقابل 25% و30% على التوالي، في حين سجل حمض الأسكوربيك أقل نسبة لتلون البني من حمض الأسكوربيك، كما تفوقت جميع التراكيز على معاملة المقارنة. يحدث التلون البني نتيجة الجروح التي تحدث عند تحضير الجزء النباتي لزراعته [1]. ذكر الباحث [13] في دراسة أولية لغرض إكثار الرمان صنف وردي أحمر أن أغصان الرمان المزروعة في وسط MS أظهرت مشكلة التلون البني الذي يتبعه موت الأجزاء النباتية ولغرض التغلب على هذه المشكلة قام بغمر المستأصلات في مخلوط من حمض الأسكوربيك بتركيز 150 ملجم /لتر وحمض الستريك بتركيز 100 ملجم /لتر بذلك حصل على نسبة خلو من التلون البني بلغت 84.8%. تختلف شدة الإصابة بالتلون البني باختلاف الأجزاء الخضرية المستخدمة والأصناف كما تختلف أيضاً باختلاف موسم النمو حيث تزداد شدتها في بعض أشهر السنة عن غيرها [1].

وتختلف هذه النتائج مع ما توصل إليه [15] في دراسة لإكثار الرمان بتقنية زراعة الأنسجة النباتية حيث أشارت النتائج الي تحصل عليها المتعلقة بتقليل تأثير التلون البني عن طريق أكسدة المركبات الفينولية باستخدام الفحم المنشط بتركيز 1 جرام لتر وحمض الستريك 100 ملجم /لتر وحمض الأسكوربيك بتركيز 150 ملجم /لتر حيث حقق حمض الأسكوربيك أقل نسبة في التلون البني بلغت 73% في حين كان الفحم المنشط أقل نسبة بلغ 37%، وقد يعزى هذه التفوق إلى مستوى التركيز الفحم المنشط.



شكل 2: تأثير مضادات الأكسدة على تقليل من التلون البني في مستأصلات الرمان.

خاتمة

يعد التلون البني أحد المشاكل التي تعاني منها زراعة الأنسجة النباتية لما تسببه من مخاطر على الزراعات النسيجية لذا يلجأ الباحثين إلى استخدام مضادات الأكسدة وفي هذا البحث ومن خلال النتائج المتحصل عليها كان تأثير مضادات الأكسدة دور فعال في التقليل من التلون البني والحد من خطورتها وكانت أفضل النتائج باستخدام الفحم المنشط كذلك له فوائد أخرى في المساعدة على التجذير.

قائمة المراجع:

1. محمود، عبد الحكيم محمود (2007) أساسيات زراعة الأنسجة النباتية. منشورات جامعة سبها. الطبعة الأولى. الدار الكتب الوطنية. بنغازي.
2. Ahmad, I., Hussain, T., Ashraf, I., Nafees, M., Maryam, R. M., & Iqbal, M. (2013). Lethal effects of secondary metabolites on plant tissue culture. *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 13(4), 539-547.
3. Morfin, E. (2013) Effect of Anti-Browning on initiation phase of Musa species Grand Naine in vitro. *J. forest Products and Industri* 2 (2):45- 47.
4. Ahmad, I., Hussain, T., Ashraf, I., Nafees, M., Maryam, R. M., & Iqbal, M. (2013). Lethal effects of secondary metabolites on plant tissue culture. *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 13(4), 539-547.
5. Titov, S., Bhowmik, S. K., Mandal, A., Alam, M. S., & Uddin, S. N. (2006). Control of phenolic compound secretion and effect of growth regulators for organ formation from Musa spp. Kanthali floral bud explants. *Am. J. Biochem. Biotechnol*, 2(3), 97-104.
6. فهمي، فكري جلال محمد. (2003). زراعة الأمسية النباتية. دار الكتيب للنشر والتوزيع. كلية الزراعة جامعة أسيوط، القاهرة. مصر. ص 98.
7. شريف، حسين جاسم وأحمد ماضي وحيد المياحي ولونا قحطان محسن (2016) الاكثار الدقيق لنخيل التمر (*Phoenix dactylifera L.*) صنف الفرسى خارج الجسم الحي. مجلة جامعة ذي قار للبحوث الزراعية المجلد 5 (1).
8. Scharma, D.R.; Kumari, R. & Chowdhury, J.B(1980). In vitro culture of female date palm (*Phoenix dactylifera L.*). *Tissues Euphytica*. 29: 169-174.
9. Tang, W., & Newton, R. J. (2004). Increase of polyphenol oxidase and decrease of polyamines correlate with tissue browning in Virginia pine (*Pinus virginiana Mill.*). *Plant science*, 167(3), 621-628.
10. Deng, X. X., Deng, Z. A., Xiao, S. Y., & Zhang, W. C. (1992, March). Pollen derived plantlets from anther culture of Ichang papeda hybrids No.

- 14 and Trifoliate orange. In Proceedings of the International Society of Citriculture (Vol. 190, p. 192). Italy: Acireale.
11. Hazar, S., A. Kulkarni., A. Banerjee., A. B. Dhage., D. Agrawal., K. V. Krishnamurthy and S. M. Nalawade. (2002) A rapid and simple method for in vitro plant regeneration from split embryo axes of six cultivars of cotton. Biol. Plant. (45): 317-319.
 12. Chrystiane B. F., M. Pasqual., L. F. Dutra and J. O. Cazetta. (2004). Micropropagation of Ficus carioca L., Roxo de valingos plants Plat Columbia seploct vol.40 (35):471-475.
 13. Bondok, A. Z., El-Agamy, S. Z., Gabr, M. F., El-Din, I. S., & Khalil, F. A. (1986). In vitro micropropagation of Wardi Red pomegranate (Punica granatum L.). Egyptian journal of horticulture, 13(2), 103-108.
 14. الماحي، وحيد وأحمد ماضي (2010) تأثير بعض معاملات الإكثار المخبري الدقيق لنسج نخيل التمر (Phoenix dactylifera L.) صنف القنطار في نضج الأجنة الخضرية وإنتاج النباتات. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية. المجلد (26) العدد 2، الصفحات: 129-145.
 15. ميلاد، خليفة محمد خليفة (2014) الإكثار الدقيق لصنفين من الرمان التاجوري والخضوري. رسالة ماجستير. جامعة طرابلس، كلية الزراعة، قسم البستنة. ليبيا.
 16. أحمد ماضي وحيد المياحي. (2004) إكثار نخيل التمر (Phoenix dactylifera L.) صنف الخضراوي بطريقة التحفيز المباشر البراعم مخبريا. المجلة الأردنية في العلوم الزراعية .
 17. بن سعد، زهير مصطفى، عبد السلام بن حميد، سامي مائة، رمزي جرن ازو علي العريفي (2003) الإكثار الدقيق للرمان المحلي المؤتمر الوطني الثاني للتقنيات الحيوية. البيضاء. ليبيا: 151-158.
 18. Othmani, A., Bayouhd, C., Drira, N., Marrakchi, M., & Trifi, M. (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, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 97, 71-79.
 19. Tisserat, B. (1991). Clonal propagation of palms. In Plant Tissue Culture Manual: Supplement 7 (pp. 473-486). Dordrecht: Springer Netherlands.
 20. Zaid, A (1984) In vitro browning of tissues and media with special emphasis to date palm cultures: A review. Date Palm J., 3 :269-275.
 21. الخبير، عامر بن ياس (2008) إكثار أشجار التين (صنف براون تركي) بواسطة تقنية زراعة الأنسجة. رسالة ماجستير. كلية علوم الأغذية والزراعة، قسم الإنتاج النباتي. المملكة العربية السعودية.
 22. Reuveni, O., & Lilien-Kipnis, H. (1974). Studies on the in vitro culture of date palm (Phoenix dactylifera L.) tissues and organs. Pamphlet No. 145, Volcani Inst. Agric. Res., Israel.
 23. Anderson, U., & Levinsh, G. (1995). Changes of morphogenic competence in mature Pinus sylvestris L. buds in vitro. Annals of botany, 90(2), 293-298.
 24. ياسين، سميرة مؤيد (2018) تأثير الفحم المنشط على المصاص منظمات النمو وعلاج ظاهرة الاسمرار بين فساتل نخلة التمر (صنف الزهدي) Phoenix dactylifera L خارج الجسم الحي in vitro. مجلة كلية التربية الأساسية. المجلد 24 – العدد 100، الصفحات 67-80.
 25. Linsmair, E. M. and F. Skoog (1965) Organ growth Factor requirements of tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 18:100-127.