تكوين الأجنة الخضرية من البراعم الزهرية لنخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L) صنف البرحي خارج الجسم الحي

عباس مهدي جاسم **خيون علي محسن***

كلية الزراعة- جامعة البصرة- العراق

*مركز أبحاث النخيل- جامعة البصرة- العراق**

الخلاصة

بينت نتائج الدراسة أن الأزهار الأنثوية لنخيل التمر المزروعة داخل المختبر لديها المقدرة على تكوين الكالس من خلاياها المرستيمية وان الأزهار المأخوذة من الطلع في المرحلتين الأولى (طلع مكتمل النمولم يخرج من آباط السعف) والثانية(طلع في بداية خروجه من آباط السعف) قد تفوقت في تكوين الكالس على المرحلة الثالثة(طلع مكتمل النمو وخارج من السعف غير متفتح مهيأ للتلقيح) وأوضحت نتائج الدراسة ايضاً عن عدم وجود فرق معنوي بين التركيزين ٥٠ و ١٠٠ ملغم/لتر من الاوكسين 2,4-D في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس في حين تفوق التركيز ٣٠ ملغم/لتر من الاوكسين NAA على التركيز ١٥ ملغم/لتر منه في النسبة ذاتها. وبينت نتائج الدراسة ايضاً تفوق التركيز ٥٠ملغم/لتر من الاوكسين ٢,٤D- على التركيز ١٠٠ ملغم/لتر منه في كمية الكالس المتكونة مع عدم وجود فرق معنوي بينهما. كما تفوق التركيز ٣٠ملغم/لتر NAA وبفارق معنوي عن التركيز ١٥ملغم/لتر منه في كمية الكالس المتكونة في حين تفوقت المرحلة الأولى معنوياً عن المرحلتين الاخرتين باستخدام الاوكسينين 2,4-D و NAA في كمية الكالس المتكونة، وعند تجزئة الكالس الأولي تطور الى كالس عقدي هش محبب ومن ثم الى اجنة خضرية اسطوانية في المرحلتين الاولى والثانية فقط.

الكلمات المفتاحية:نخيل التمر ، براعم زهرية ،كالس ،اجنة جسمية ،خارج الجسم الحي .

المقدمة

يعد نخيل التمر من أهم أشجار الفاكهة المستديمة الخضرة النامية في العراق ولا يزال إكثارهُ الخضري يعتمد بلوحة مباشرة على الفسائل offshoots والتي تنشأ عادةً من قاعدة النخلة في طور الحداثة Juvenil phase حيث توجد أصناف عالية الجودة ونادرة بنفس الوقت ومهددة بالانقراض لعدم مقدرتها على إنتاج فسائل نتيجة لارتفاع ساقها بسبب تقدمها في العمر والآن تعتبر تقنية زراعة الأنسجة في التقانات الحديثة لإكثار نخيل التمر وقد استخدمت البراعم القمية لهذا الغرض (١٢) shoot tip والبراعم الابطية axillary buds (٩) والأوراق الأولية والبراعم الزهرية(١٤). والجنين الجنسي (١٣) ، وأشار (٦) و (١) الى إمكانية استخدام البراعم الزهرية الأنثوية لإكثار نخيل التمر عن طريق زراعتها داخل المختبر بهدف استحثاث الكالس ومن ثم الأجنة الجسمية التي تتطور لاحقاً الى نبيتات plantlets وكذلك عن طريق توالد الأعضاء Organogenesis ونظراً لقلة الدراسات تحت الظروف المحلية في هذا المجال أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير بعض منظمات النمو في استحثاث الكالس من الأزهار الأنثوية لنخيل التمر صنف البرحي .

المواد وطرائق العمل

نفذت هذه الدراسة في مختبر زراعة الأنسجة التابعة الى مركز أبحاث النخيل/جامعة البصرة للفترة من آذار ٢٠٠٥ ولغاية نيسان ٢٠٠٦ استخدم لهذا الغرض نخيل تمر مثمر صنف البي (بعمر ٣٠ سنة) من منطقة الهارثة شمال البصرة.

١ - تشريح واستئصال البراعم الزهرية (الطلع):

جرى تشريح رأس النخلة بعد قطعه تصاعدياً وأزيلت أوراقها ومن خلال التشريح تم استئصال الطلع من مناطق اتصاله بالجذع وقد ميزت فيه ثلاثة مراحل:

المرحلة الأولى: طلع مكتمل النمو لم يخرج من آباط السعف (الأوراق).

المرحلة الثانية: طلع في بداية خروجه من آباط السعف.

المرحلة الثالثة: طلع مكتمل النمو وخارج من السعف غير متفتح مهيأ للتلقيح (لوحة ،١) بعد الانتهاء من استئصال الطلع تم مسح غلافها بالكحول الاثيلي تركيز ٧٠% ومن ثم تم فتح الغلاف الزهري واستخرجت الشماريخ ، جزئت الشماريخ الناتجة من الطلع في المرحلة الأولى الى أطوال تراوحت من (١-٢)سم أما المرحلة الثانية فقد تم فصل الأزهار من الشماريخ بمسافة ثلثي طول الشماريخ ابتداءاً من منطقة اتصالها بالحامل الزهري. أما المرحلة الثالثة فقد فصلت الأزهار منها كما مر في المرحلة الثانية وبمسافة ثلث الشمراخ السفلي تقريباً بعد الانتهاء من تقطيع الشماريخ وفصل الأزهار (لوحة،٢) وضعت جميعاً في محلول مانع للأكسدة antioxidant تكون من ١٠٠ملغم/لتر من حامض الستريك و ١٥٠ملغم/لتر من حامض الاسكوربيك ولمدة ساعة كاملة.

٢ - تعقيم الأجزاء النباتية:

بعد استخراج الأجزاء النباتية من المحلول المضاد للأكسدة وضعت في وعاء زجاجي يحتوي على القاصر التجاري (٢٠%) حجم/حجم الذي يحتوي على هيبوكلورايت الصوديوم (Sodium Hypochlorite) مضافاً إليه قطرة واحدة من المادة الناشرة (Tween-80) لكل ١٠٠سم^{٣} من المحلول مع الرج والتحريك بين الحين والآخر ولمدة (١٥) دقيقة وبعدها استخرجت الأزهار وغسلت بالماء المقطر المعقم ثلاثة مرات وبذلك أصبحت مهيئة للزراعة، تمت هذه العملية داخل منضدة انسياب الهواء الطبقي (Laminer air flow cabinet) المعقمة مسبقاً بالايثانول ٧٠% والفورمالديهايد المخفف بالماء المقطر المعقم وحسب(١١).

٣ - الوسط الغذائي:

تكون الوسط الغذائي من أملاح (١٢) مع اضافة المواد التالية:

المادة	الاسم الإنكليزي	الكمية/ملغم/لتر
سكروز	Succrose	٣٠٠٠٠
ارثروفوسفات الصوديوم	Sodium dihydrogen ortho phosphate	١٧٠
ثيامين	Thiamine-HCl	٠.٥
سلفات الادثين	Adenine sulfate	٤٠
ميروانيستول	Meso-inositol	١٠٠
مسحوق الفحم	Activated-charcoal	٣٠٠٠

الاگر	Ager	٧٠٠٠

ضبطت حموضة الوسط على (٥.٧) وذلك بمعايرة الوسط بـ ٠.١ عياري من هيدروكسيد الصوديوم وحامض الهيدروكلوريك تم استخدام تركيزان من الاوكسين 2,4-D (٥٠ و ١٠٠)ملغم/لتر وتركيزان من الاوكسين NAA (١٥ و ٣٠)ملغم/لتر وزودت الأوساط بالسايتوكاسين 2-ip بتركيز ٣ملغم/لتر.

بعد الانتهاء من ضبط الحموضة أضيف الاگر وسخنت الأوساط على حرارة ٩٧مْ باستخدام هيتر مزود بخلاط مغناطيسي تم توزيع الوسط الغذائي في أنابيب حجم (٢.٥ × ١٨)سم وبمقدار ٢٠مل للأنبوبة الواحدة وبعدها سدت فوهتها بالقطن الطبي وبأوراق الالمنيوم وبعدها وضعت في جهاز التعقيم المغلاي المعقام (Autoclave) على حرارة ١٢١مْ وضغط ١.٠٥كغم/سم٢ ولمدة (١٥) دقيقة، بعد الانتهاء من التعقيم استخرجت الأنابيب ورجت لغرض تجانس الوسط الغذائي وتركت لتبرد ووضعت في الثلاجة لكي تتصلب حتى موعد الزراعة.

٤ - زراعة الأجزاء النباتية:

تم زراعة الأزهار وللمراحل الثلاثة على الأوساط الغذائية التي مر شرحها في الفقرة (٣) بحيث تكون الأجزاء الزهرية ملامسة لسطح الوسط الغذائي وكذلك الأزهار المفردة. بحيث تكون محل اتصالها بالشمراخ وملامس للوسط الغذائي بعد الانتهاء من عملية الزراعة، حضنت الزروعات في الظلام وعلى حرارة ٢٧ ± ١مْ ولحين تكون الكالس.

نفذت التجربة بطريقة التصميم العشوائي الكامل (CRD) وبعاملين واختبرت المعنوية بين المتوسطات حسب اقل فرق معنوي معدل RLSD وبمستوى احتمال ٥% (2) .

النتائج والمناقشة

١ - استحثاث الكالس:

عند استخدام الاوكسين 2,4-D يتضح من الجدول (١-أ) أن المبادئ الزهرية المزروعة وبالمراحل الثلاثة من النمو على الأوساط الغذائية المزودة بالتركيزين (٥٠ و ١٠٠) ملغم/لتر من الاوكسين نفسه لديها القدرة في استحثاث الكالس وقد تفوقت المرحلة الأولى على المرحلتين الآخرين من النمو في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس البالغة ٦٠% في حين بلغت أوطأ نسبة استحثاث للكالس في المرحلة الثالثة والتي بلغت ١٣.٧٥%.

ويلاحظ من نتائج الدراسة ايضاً عدم وجود فرق معنوي بين التركيزين المدروسين في نسبة استحثاث الكالس والتي بلغت فيهما وعلى التوالي (٣٨.٣٣% و ٣٦.٦٦%) وبينت نتائج الجدول ايضاً أن التداخل كان معنوياً وتفوق تداخل المرحلة الأولى مع التركيزين انفي الذكر من الاوكسين إذ بلغت النسبة المئوية لاستحثاث الكالس فيهما وعلى التوالي ٦٢.٥ و ٥٧.٥ في حين بلغت اقل نسبة استحثاث للكالس ١٥.٠% و ١٢.٥% على التوالي نتيجة لتداخل التركيزين من الاوكسين نفسه في المرحلة الثالثة. أما بوجود الاوكسين NAA نلاحظ من الجدول (١- ب) انخفاض النسبة المئوية لاستحثاث الكالس من المبادئ الزهرية وبالمراحل الثلاثة من النمو عن سابقتيها وبالتركيزين (١٥ و ٣٠) ملغم/لتر منه إذ تفوقت المرحلة الأولى معنوياً على المرحلتين الاخرتين لتصل فيها نسبة استحثاث الكالس الى ١٦.٢٥% في حين انخفضت نسبة استحثاث الكالس في المرحلة الثالثة الى ٢.٥% مع وجود فرق معنوي مع المرحلة الثانية ويلاحظ من الجدول ايضاً التفوق المعنوي للتركيز ٣٠ملغم/لتر على التركيز ١٥ملغم/لتر إذ بلغت نسبة استحثاث الكالس فيهما وعلى التوالي (١٣.٣٣% و ٣.٣٣%) وأتضح من الجدول ايضاً التفوق المعنوي لتداخل المرحلة الأولى من التركيز ٣٠ملغم/لتر على جميع التداخلات الأخرى إذ بلغ نسبة استحثاث للكالس فيه ٢٥% أما اقل نسبة استحثاث بلغت صفر% وذلك نتيجة لتداخل المرحلة الثالثة مع التركيز ١٥ملغم/لتر من الاوكسين NAA.

أن سبب تفوق المرحلة الأولى عن المراحل الأخرى في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس يعود الى أن البراعم الزهرية تبدأ بالظهور على شكل قمم مرستيمية وأعداد كبيرة دون أي تمايز ثم تتوضع السيلات والبتلات والأعضاء الذكرية الاثرية ثم الكرابل(٥). وتكون الأزهار في هذه المرحله ليست مرستيمية بالكامل ولا هي متمايزة تماماً (1)(لوحة ، ٣). أما سبب انخفاض استحثاث الكالس في المرحلين الثانية والثالثة يعود الى أن معظم الأزهار تكون متمايزة تماماً وكذلك محتواها من الهرمونات الداخلية قد يكون مختلف عن سابقتها.

٢- كمية الكالس:

نلاحظ من الجدول (٢-أ) وجود اختلافات معنوية بين مراحل النمو المختلفة للبراعم الزهرية في كمية الكالس المتكونة وتفوقت المرحلة الأولى وبفارق معنوي عن المراحل الأخرى إذ بلغت (١٣٦)ملغم ، أما اقل كمية من الكالس المتكونة بلغت (٣٥.٥)ملغم في مرحلة النمو الثالثة.

يتضح من الجدول أيضاً عن تفوق التركيز ٥٠ملغم/لتر من الاوكسين 2,4-D في كمية الكالس المتكونة إذ بلغت (٨٦.٣٣)ملغم مع عدم وجود فرق معنوي مع التركيز ١٠٠ملغم/لتر من الاوكسين نفسهِ إذ بلغت كمية الكالس المتكونة فيه (٨٥.٦٦)ملغم.

وأتضح من الجدول ايضاً وجود اختلافات معنوية نتيجة لتداخل تركيزي الاوكسين مع المراحل الثلاثة وتفوق تداخل ٥٠ملغم/لتر مع المرحلة الأولى وبفارق معنوي عن التداخلات الأخرى إذ بلغت كمية الكالس المتكونة ١٤٠ملغم مع عدم وجود اختلاف معنوي مع تداخل التركيز ١٠٠ملغم/لتر مع المرحلة الأولى والبالغة ١٣٢ملغم. أما اقل كمية للكالس ظهرت نتيجة لتداخل التركيز ٥٠ملغم/لتر مع المرحلة الثالثة إذ بلغت كمية الكالس المتكونة فيه بعد ثلاثة اشهر من ظهوره (٣٤)ملغم مع عدم وجود اختلاف معنوي مع تداخل التركيز ١٠٠ملغم/لتر مع المرحلة الثالثة والتي بلغت (٣٧)ملغم.

أما فيما يخص استخدام الاوكسين NAA وبتركيزيه ٣٠ و ١٥ملغم/لتر أوضح الجدول (٢- ب) عن التفوق المعنوي للتركيز ٣٠ملغم/لتر على التركيز ١٥ملغم/لتر إذ بلغت كمية الكالس فيهما وعلى التوالي (٣٦.٣٣ و ٨.٣٣)ملغم. كما تفوقت المرحلة الأولى وبفارق معنوي عن المراحل الأخرى لتصل كمية الكالس المتكونة فيها ٤١.٥ ملغم أما اقل كمية ظهرت في المرحلة الثالثة والبالغة (٦.٥)ملغم مع وجود فرق معنوي مع المرحلة الثانية.

وأتضح من الجدول ايضاً وجود اختلافات معنوية نتيجة لتداخل تركيزي الاوكسين مع المراحل الثلاثة للنمو وتفوق تداخل التركيز ٣٠ملغم/لتر مع المرحلة الأولى لتصل كمية الكالس المتكونة فيه ٦٧ملغم وبفارق معنوي عن التداخلات الأخرى وبلغت اقل كمية للكالس المتكونة ٩ ملغم نتيجة لتداخل التركيز ١٥ ملغم/لتر مع المرحلة الثانية في حين لم يتكون الكالس نتيجة لتداخل التركيز (١٥) ملغم/لتر مع المرحلة الثالثة إذ بلغت (صفر) ملغم/لتر.

من هنا نستنتج أن أي من التركيزين من الاوكسين 2,4-D يمكن استخدامها في عملية زراعة الأزهار داخل المختبر ويفضل استخدام التركيز ٥٠ ملغم/لتر لتقليل الكلفة وكذلك ان التراكيز العالية تحدث طفرات وراثية (4) وتشير النتائج الى افضلية استخدام التركيز ٣٠ملغم/لتر من الاوكسين NAA على التركيز ١٥ ملغم/لتر منه حيث يُعد هذا التركيز هو المناسب في استحثاث الكالس وبشكل جيد(7،8).

٣- استحثاث الكالس الجنيني والأجنة الجسمية:

عند تجزئة الكالس الأولي من الأزهار (لوحة، ٤) وإعادة زراعته على أوساط غذائية مشابهة وعلى شدة إضاءة ١٠٠٠ لوكس لمدة ١٦ ساعة تطور الكالس في المرحلتين الأولى والثانية الى كالس هش امتاز بلونه الأبيض ومظهرهِ العقدي وذلك بعد شهرين من زراعته وهذه العقد ما هي إلا بادئات للأجنة الخضرية (لوحة، ٥) (3) وعند نقل هذه العقد الى أوساط مشابهة مزودة بـ ٠.١ ملغم/لتر من الاوكسين NAA تطور الى أجنة اسطوانية (لوحة ، ٦). أما الكالس الأولي المجزأ من المرحلة الثالثة عند نقله على أوساط مشابهة وفي الإضاءة أصيب بالاسمرار browning التام ولم يتطور على الإطلاق (لوحة، ٧) .

يمكن الاستنتاج من هذه الدراسة الى إمكانية استخدام البراعم الزهرية كأجزاء نباتية بديلة عن الفسائل في اشجار النادرة والتي لا توجد فيها فسائل بهدف إنتاج الكالس وتحفيز تكون الأجنة الخضرية للحصول على نبيتات بطريقة الزراعة خارج الجسم الحي.

جدول (١-أ) تأثير الاوكسين 2,4-D ومراحل نمو الأزهار لنخيل التمر صنف البرحي والتداخل بينهما في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس

تركيز الاوكسين 2,4-D ملغم/لتر / مراحل النمو	٥٠	١٠٠	معدل المراحل
المرحلة الاولى	٦٢.٥	٥٧.٥	60 a
المرحلة الثانية	٤٠.٠	٣٧.٥	38.75 b
المرحلة الثالثة	١٢.٥	١٥.٠	13.75 c
معدل الاوكسين	38.33 a	36.66 a	
R.L.S.D	الاوكسين ٤.٧	للمراحل ٦.٥	للتداخل ٨

جدول (١-ب) تأثير الاوكسين NAA ومراحل نمو الأزهار لنخيل التمر صنف البرحي والتداخل بينهما في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس

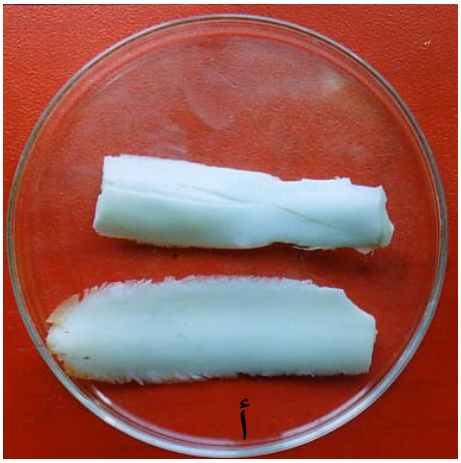
تركيز الاوكسين NAA ملغم/لتر / مراحل النمو	١٥	٣٠	معدل المراحل
المرحلة الاولى	٧.٥	٢٥.٠	16.250 a
المرحلة الثانية	2.5	10.0	6.250 b
المرحلة الثالثة	0	5.0	2.5 c
معدل الاوكسين	3.33 b	13.33 a	
R.L.S.D	الاوكسين ٢.٣	للمراحل ٤	للتداخل ٥

جدول (٢-أ) تأثير الاوكسين 2,4-D ومراحل نمو الأزهار لنخيل التمر صنف البرحي والتداخل بينهما في كمية الكالس المتكونة (ملغم)

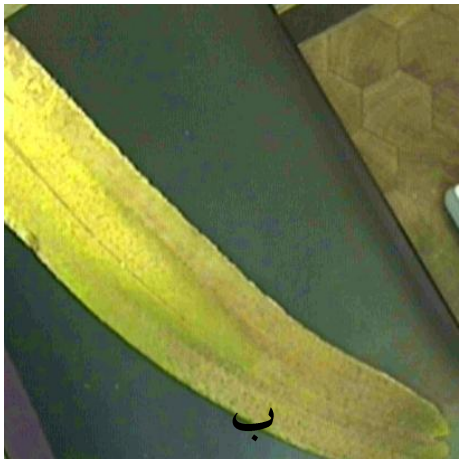
تركيز الاوكسين 2,4-D ملغم/لتر / مراحل النمو	٥٠	١٠٠	معدل المراحل
المرحلة الاولى	١٤٠	١٣٢	136 a
المرحلة الثانية	٨٥	٨٨	86.5 b
المرحلة الثالثة	34	37	35.5 c
معدل الاوكسين	86.33 a	85.66	
R.L.S.D	الاوكسين 6	للمراحل 8.8	للتداخل ١٠

جدول (٢ـب) تأثير الاوكسين NAA ومراحل نمو الأزهار لنخيل التمر صنف البرحي والتداخل بينهما في كمية الكالس المتكونة (ملغم)

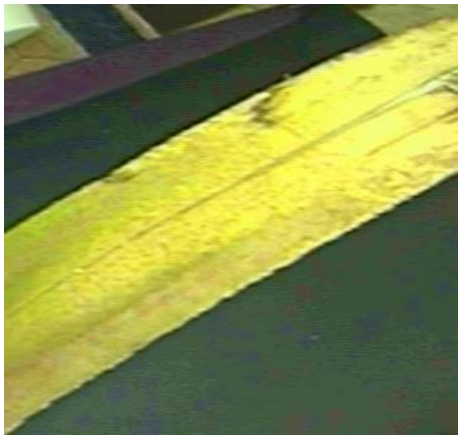
تركيز الاوكسين NAA ملغم/لتر / مراحل النمو	١٥	٣٠	معدل تركيز NAA
المرحلة الاولى	١٦	٦٧	41.5 a
المرحلة الثانية	9	29	19 b
المرحلة الثالثة	0	13	6.5 c
معدل الاوكسين	٨.٣٣ b	36.33 a	
R.L.S.D	الاوكسين ٣.٦	للمراحل ٥.٢	للتداخل ٧



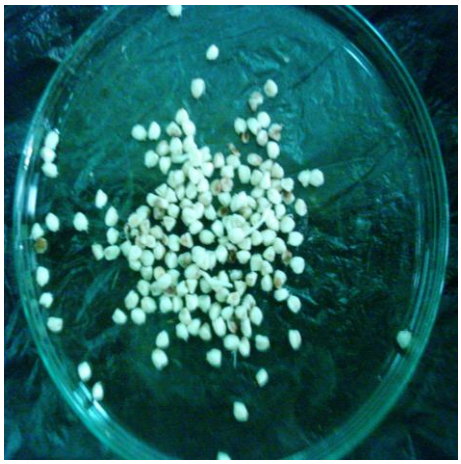
أ



ب



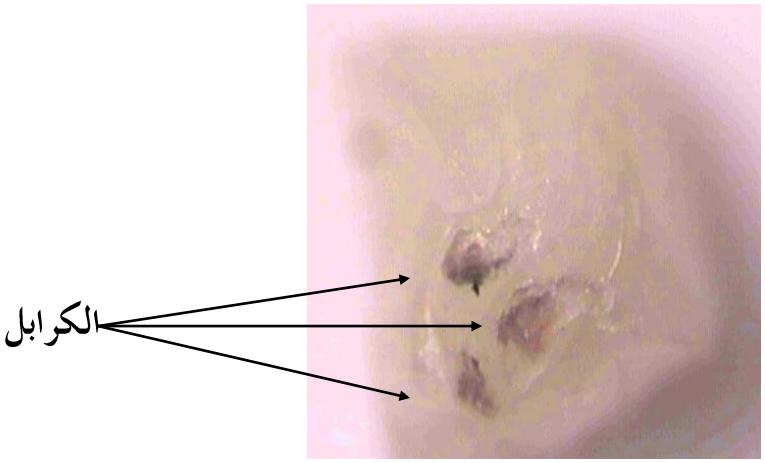
أ



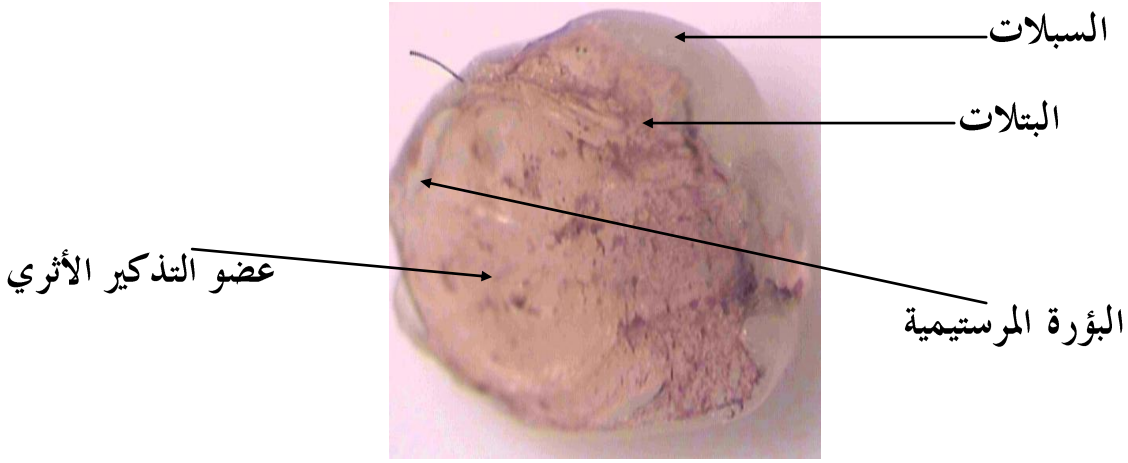
ب

لوحة(٢) فصل الأزهار.

أ- المرحلة الأولى. ب- المرحلة الثانية والثالثة.

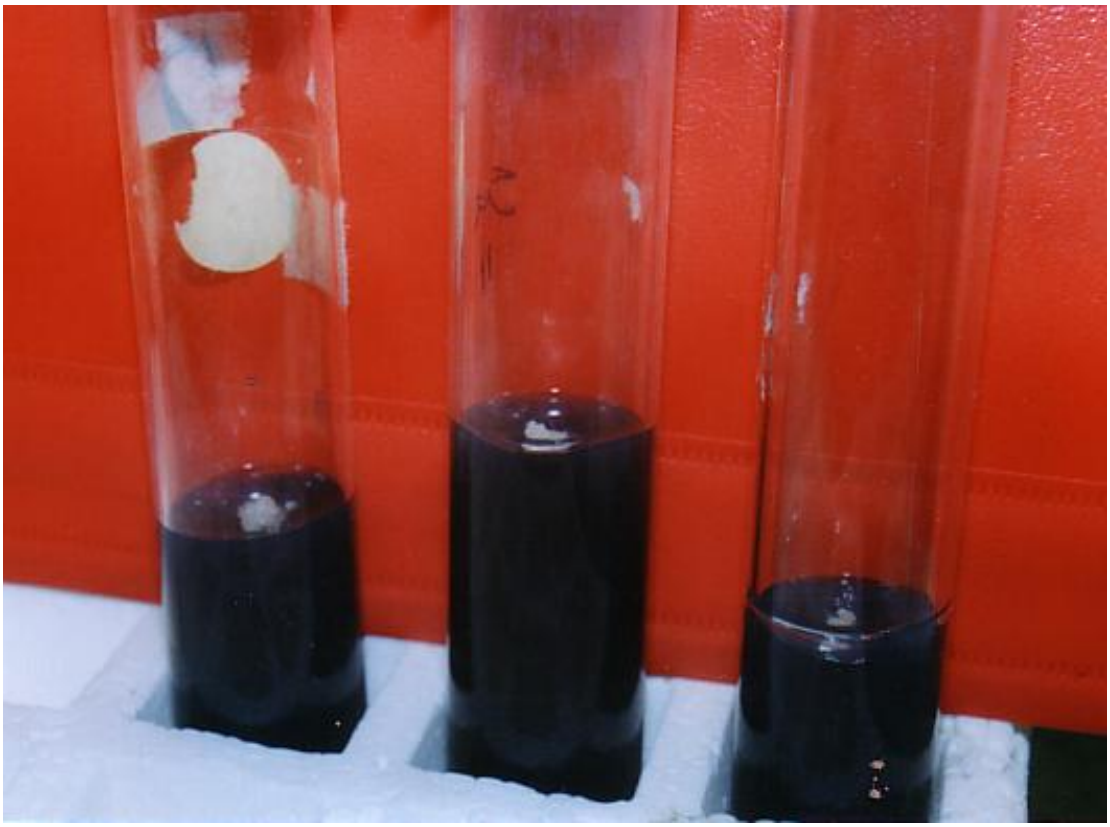


أ

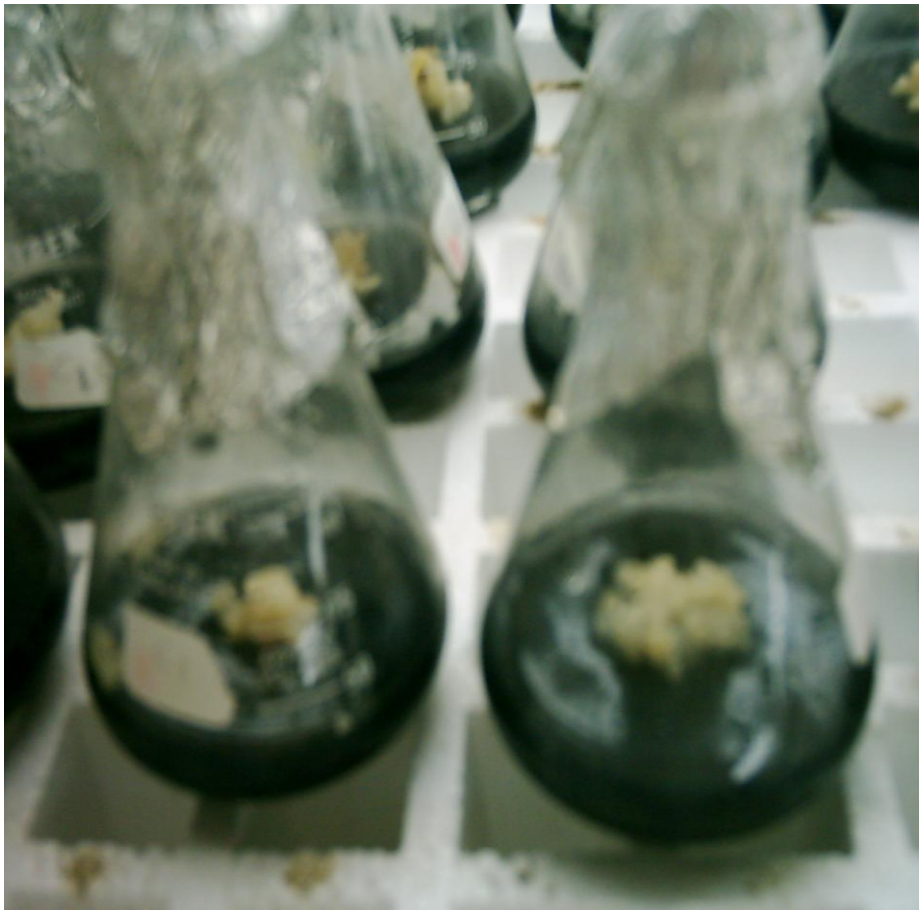


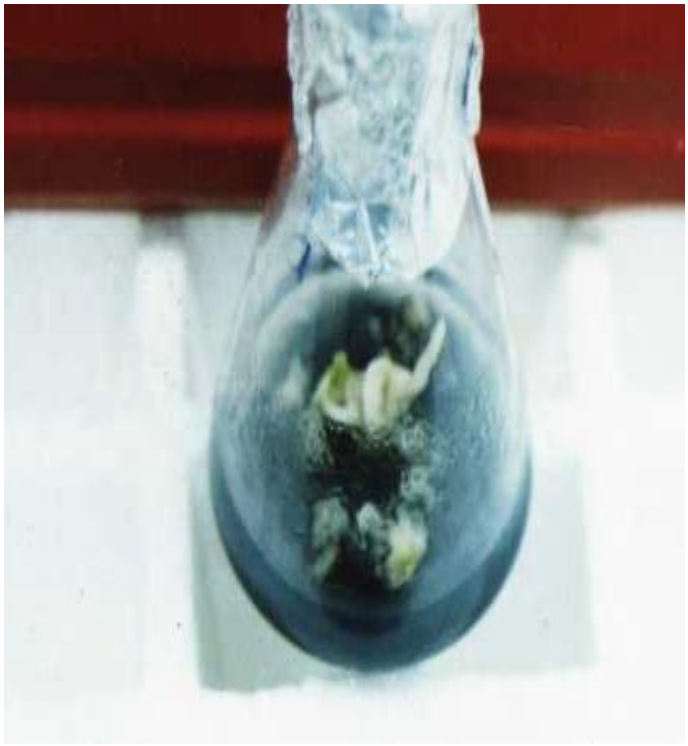
ب

لوحة(٣) صورة تشريحية لزهرة ناضجة.



لوحة(٤) الكالس الأولي.





لوحة(٦) الجنين الأسطواني.

المصادر

1.دريرة، نور الدين، أنيسة الشعري، رجاء المصمودي (١٩٩٣). تحليل قدرات المبادئ الزهرية الأنثوية لنخيل التمر بواسطة زراعة الأنسجة. إصدارات ندوة النخيل الثالثة، المملكة العربية السعودية، جامعة الملك فيصل، الجزء الأول ص ١٦١-١٧٠.

2.الراوي، خاشع محمود وخلف الله، محمد عبد العزيز (١٩٨٠). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.

3.مطر، عبد الأمير مهدي (١٩٨٦). دراسة تشريحية لنخلة التمر المكثرة خارج الجسم الحي، إصدارات ندوة النخيل الثانية، جامعة الملك فيصل، الجزء الأول، ص ٧٦-٨٦ المملكة العربية السعودية.

4.Al-Wasel, A. S. (2001). Phenotypic comparison of tissue culture derived and convenionaly propagated by offshoots date palm (*Phoenix dactylifera* L.) CV. Barhee Trees 1, veyetative characteristics. J. 12 SU. Vol. 13, Agric. Sci. (1): 65-73.

5.Demason, D. A., K. Stoite and B. Tisserat (1982). Floral development in (*Phoenix dactylifera* L.). the 1st sympos. on the date palm Saudi Arabia 46-59.

6.Drira, N. and Benbadies (1985). Multiphcation vigititative dupalmaier (*Phoenix dactylifera* L.) par reversion en culture in vitro depauches floral depieds femeiles. J. plant physiol. Vol. 111: 227-235.

7.Jasim, A. M. (1999). Response of different date palm culture (*Phoenix dactylifera* L.). tom in Vitro. Basrah J. Agric. Sci. 12 (2): 9-17.

8.Jasim, A. M. (2000). Production of somatic embryos of date palms (*Phoenix dactylifera* L.). In Vitro by liquid media culture. J. Basrah, reseaches, Vol. 24, part 1, 1-6.

9.Khan, M. A., M. S. Khalil and M. S. Al-Khahtani (1982). In vitro culture of culture of different tissue of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) offshoots 1st sympos. on the date palm Saudi Arabia 152-157.

10. Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture physiol. Plaut.15:473-497.

11.Omar, M. S., Hameed, M. K. and Al-Rawi, M. S. (1992). Micropropagtion of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). In: bajaj, Y.P.S. ed. Biotechnology in agricvlture and foresty Vol. 18 High. Tech and micropropagation II. Springer-verlag, Berlin, Headel. Berg, 471-492.

12.Tisserut, B. (1981). Production of free living date palm through tissue culture date palm J. (1): 43-54.

13. Tisserut, B. (1988). Palm tissue culture. ARS-55, USDA.
14. Vermandi, J. and Navaro, L. (1997). Influence of explant sources of adult date palm (*Phoenix dactylifera* L.). on embryogenic calluse formation. Hort. Sci. J. 72 (5): 665-671.

FORMATION OF SOMATIC EMBRYOS FROM FLOWER BUDS OF DATE PALM (*PHOENIX DACTYLIFERA* L.) CV. BARHI BY *IN VITRO*

Abbas M. Jasim
Collage of Agriculture, Univ. of Basrah – Iraq.

Khaun A. Muhsin
Date palm Resarch center, Univ of Basrah – Iraq.

SUMMARY

Results showed that the female flowers of date palms cultured *in vitro* were able to form callus from its meristimatic cells. Flowers which were taken at first(influences are complete but still not seen in the axial of leaves) and second stage (influences started to release out of leave axial) were superior in callus formation and quality of callus compared with that taken at third stage(Complete influences and grown out of leave axial but not opened and ready for pollination) . Results also showed no significant differences between 50 and 100mg/L of 2,4-D in their effect on percentage of callus induction and quality of callus producted. Whereas, NAA at 30mg/L has more significant effect than 15mg/L on callus induction and quality of callus producted. Primary callus which were produced from first and second stages were developed to nodular callus which was a primordia of somatic and cylinderical embryos.

Key words: Date palm , flower buds , callus , somatic emberyos , *in vitro* .