

دراسة التركيب التشريحي لأوراق نبات الضمران باستخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية

* ابوبكر ابراهيم محمد سعد و نجيه ادريس صالح

قسم النبات، كلية العلوم، جامعة سبها، ليبيا

للمراسلة: abo.saad@sebhau.edu.ly

المخلص استتبت اجزاء من اوراق الضمران *Tragnum nudatum* علي وسط MS مضاف اليه تراكيز مختلفة من (BA، Kin، 2،4-D) درس التركيب التشريحي للأوراق (بعد اسبوعين 4،6،8،10،12 اسبوعا) حيث لوحظ وجود خلايا برانكمية رقيقة الجدران ومن خلايا مستطيلة الشكل واوعية خشب ناقصة وخلايا اسكلرنكمية. سجلت افضل استجابة عند استخدام وسط MS + Kin (1مجم /ل) بعد 10 اسابيع من استتبات الاوراق بنسبة 50% حيث تكونت خلايا مرستمية ثم مراكز مرستمة منتشرة خلال القطاع. وايضا علي وسط MS+D- 2.4 (1مجم /ل) تكونت خلايا مرستمية متجمعة بنسبة 20% بعد 10 اسابيع من الاستتبات.

الكلمات المفتاحية: الضمران، الاوراق، التشريح، الكالس.

Anatomical Study of Leaves of *Tragnum nudatum* by plant tissues culture technique

*Abobker Saad, Najyh Salah

Botany Department, Faculty of Science, Sebha University, Libya

*Corresponding author: abo.saad@sebhau.edu.ly

Abstract The Segments of leaves of *Tragnum nudatum* were Cultured on MS medium supplemented with different concentrations of (2,4-D,BA,Kin) in order to study anatomy of the explants after 2,4,6,8,10,12 weeks. The study revealed that parenchyma cells with thin cell wall and rectangular shape, tracheids and Sclerenchyma. The best responses were recorded in the case of using MS + Kin (1mg/l) as meristematic cells were scattered through sections after 10 weeks. When the explants were cultured on MS + (1mg/l)+2,4-D meristematic cells were formed in groups in 20% and meristematic centers were observed after 10 weeks of culture.

Keywords: Anatomical, Callus, Leaves, *Tragnum*.

المقدمة

نبات الضمران *Tragnum nudatum* عبارة عن شجيرة معمرة تتبع العائلة الرمامية *Chenopodiaceas* يتراوح ارتفاعها من 15-40 سم وقد يصل (1) متر لها اغصان بيضاء واوراق عسارية ابرية خضراء تزهر في شهر مارس، ويعتبر من النباتات الصحراوية حيث يستعمل في علاجات مختلفة مثل معالجة الجروح والروماتيزم والامراض الجلدية والبواسير والام الاذن والظهر والارهاق والاسهال ويعتبر نبات الضمران ذات اهمية رعوية وتعتبر الشجيرة المفضلة عند الجمال عندما تكون خضراء ويابسها وذلك لاحتوائها علي مواد فعالة (العابد2005).

ويمتاز هذا النبات بقدرته على التكيف والحفاظ علي عمليات النمو وتوفير المياه في ظل المعيشة الصعبة (Kherraze2018). يتوزع النبات في المناطق الصحراوية في مختلف مناطق الوطن العربي في الجزيرة العربية وبلاد الشام ومصر والمغرب العربي. (2010USDA،2010efloras).

اما في ليبيا يتواجد هذا النبات في اودية فزان في مدينة سبها وفي منطقته تمنهنت تحديداً وكذلك في وادي الشاطئ على طريق زلاف. (Jafri، واخرون 1983).

الهدف من الدراسة:

دراسة التركيب التشريحي لأوراق نبات الضمران بعد إستتباته على وسط MS مضاف اليه (Kinetin) (KIN) ، (2.4-D)dichlorophenoxy acetic acid، (BA)Benzyl ، (adenine).

المواد وطرق العمل

أجريت جميع التجارب على اوراق نبات الضمران في معمل زراعة الانسجة النباتية بقسم النبات باستخدام غرفة الشفط الانسيابي حيث تم نقل اجزاء من الاوراق بعد استتباتها على MS (Murashige)، (Skoog1962)، ووضع في المثبت (FAA، Formalin-)، (Alcohol-Acetic acid) تم وضعت في سلسلة من تراكيز مختلفة من الكحول الايثيلي (70%، 80%، 90%، 100%، 100%) لمدة ساعة واحدة لكل منها، تم طمرت في البرافين والاكسلان (1:3) لعمل قالب من البرافين علي هيئة مكعبات تم قطعت باستخدام الميكروتوم (m20-m12) لعمل شريط من البرافين محتويا علي العينة تم

Salah.

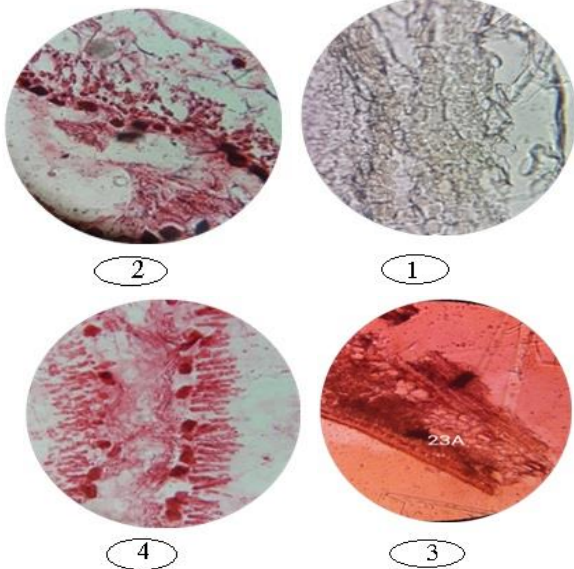
حيث ترتبت في مجموعات علي شكل مراكز مرستمية مبعثرة خلال القطاع (صورة 9)، ومن خلايا إسكلرنكية وكولنكية ذات جدران مغلظة بعدما أعيد استنبات الكالس علي وسط GA₃ + Kin+MS (1ملجم/ل) بعد 10 اسابيع (صورة) و بعد مرور 12 اسبوعا لوحظ ان بعض الخلايا برانكمية كبيرة الحجم لا تحتوي على السيتوبلازم.

Kin (1ملجم/ل) + BA (1ملجم/ل) + MS -4

تتكون من خلايا برانكمية ذات جدار رقيق مرتبة في صف واحد من الخلايا و اخرى برانكمية اخرى صغيرة منتشرة في القطاع وتحتوي على اوعية خشب ناقصة حلزونية الشكل واكسالات الكالسيوم بعد 4 أسابيع (صورة10) ومن خلايا برانكمية مختلفة الاحجام والاشكال تحتوي على كميات متفاوتة من السيتوبلازم بعد 12 اسبوعا.

MS-5 + D-2.4 (1ملجم/ل) + BA (1ملجم/ل).

خلايا برانكمية صغيرة الحجم رقيقة الجدران منتشرة في القطاع بالإضافة الى اوعية خشب ناقصة حلزونية الشكل وخلايا مرستمية صغيرة الحجم وتكوين كالس مفتت اصفر باهت اللون بعد اسبوعين من الاستنبات (صورة)، ومن خلايا برانكمية مختلفة الاحجام والاشكال تحتوي على كميات متفاوتة من السيتوبلازم وجدار رقيق ونواة بارزة و بلورات اكسالات الكالسيوم واوعية خشب ناقصة حلزونية الشكل بعد 10 اسابيع. (صور 14).



صبغت باستخدام صبغة السفرائين والازرق الأثلين ثم غلقت الشرائح باستخدام لاصق (كندا بلسم) ثم وضعت في الحضانة عند درجة حرارة 37° م (الطردة، واخرون 2000) وسجلت الملاحظات تحت الميكروسكوب بعد 10 ايام.

درست الشرائح تحت الميكروسكوب بعد فترات مختلفة من الاستنبات وهي (اسبوعين ،4، 6، 8، 10، 12 اسبوعا)، وصورت الشرائح باستخدام الة تصوير (Galaxy j6).

النتائج

التركيب التشريحي للأوراق. (الشاهد).

تتكون من خلايا برانكمية رقيقة الجدران بها سيتوبلازم كثيف واوعية خشب ناقصة حلزونية الشكل منتشرة خلال القطاع و خلايا برانكمية دائرية صغيرة الحجم كثيفة السيتوبلازم و اخرى مستطيلة الشكل كثيفة سيتوبلازم رقيقة الجدران وخلايا برانكمية اخرى كبيرة الحجم بها كمية قليلة من السيتوبلازم وخلايا اسكلرنكية والياف (صورة1).

*استنبات الاوراق علي وسط MS :-

MS-1 بدون إضافة هرمونات

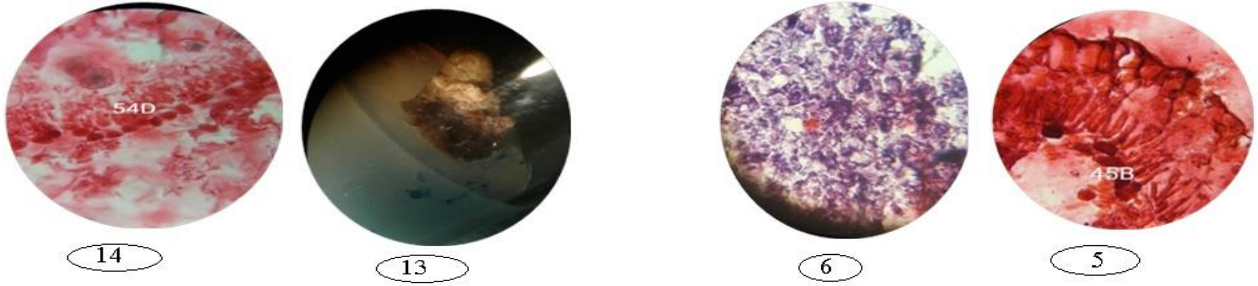
تتكون المستأصلات من خلايا برانكمية مختلفة الاحجام والاشكال رقيقة الجدران بها كميات متفاوتة من السيتوبلازم و اخرى كبيرة الحجم تحتوي علي كمية قليلة منها بالإضافة الي خلايا برانكمية صغيرة الحجم تحتوي علي نواة وبلورات من اكسالات الكالسيوم واوعية خشب ناقصة حلزونية الشكل بعد مرور 6 أسابيع من الاستنبات (صورة2)، و خلايا برانكمية رباعية الشكل مرتبة في صفوف بها سيتوبلازم كثيف و بعد مرور 10 اسابيع من الاستنبات. (صورة3).

MS-2 + BA (1 ملجم/ل).

وجود خلايا برانكمية دائرية و خلايا رباعية وطولية الشكل مرتبتان في صف واحد بها جدار رقيق واوعية خشب ناقصة حلزونية الشكل واكسالات الكالسيوم بعد مرور 8 اسابيع من الاستنبات. (صورة4)، وخلايا برانكمية كبيرة الحجم لها جدار واضح وسيتوبلازم كثيف بعد 12 اسبوعا (صورة5).

MS-3 + Kin (1ملجم/ل).

تتكون من خلايا برانكمية رقيقة الجدران طولية ودائرية الشكل تحتوي علي كميات مختلفة من السيتوبلازم و من خلايا اخرى برانكمية كبيرة الحجم بها فجوات ولوحظ تكون خلايا مرستمية صغيرة الحجم مرتبة في مجموعات ولوحظ تكوين كالس مفتت اصفر اللون بعد اسبوعين. (صورة8)، وبعد عشرة اسابيع لوحظ زيادة في عدد الخلايا البرانكمية صغيرة الحجم كثيفة السيتوبلازم ذات جدار رقيق ونواة واضحة وكذلك في عدد الخلايا المرستمية



شكل صورة (7) تكون كالس مفتت اصفر اللون بعد 10 اسابيع صورة (8) استنبات الاوراق على وسط MS + (1ملجم/ل) Kin بعد 10 اسابيع .صورة (9) اعادة استنبات الاوراق على وسط MS + (1ملجم/ل) + (1ملجم/ل) GA بعد مرور 10 اسابيع .صورة (10) استنبات الاوراق على وسط MS + (1ملجم/ل) BA بعد مرور 10 اسابيع .صورة (11) استنبات الاوراق على وسط MS + (1ملجم/ل) BA + (1ملجم/ل) Kin بعد مرور 12 اسبوعا .صورة (12) استنبات الاوراق على وسط MS + (1ملجم/ل) BA + (1ملجم/ل) 2,4-D بعد مرور اسبوعين .صورة (13) تكون كالس مفتت اصفر باهت اللون بعد مرور 10 اسابيع .صورة (14) استنبات الاوراق على وسط MS + (1ملجم/ل) BA + (1ملجم/ل) 2,4 - D بعد مرور 10 اسابيع.

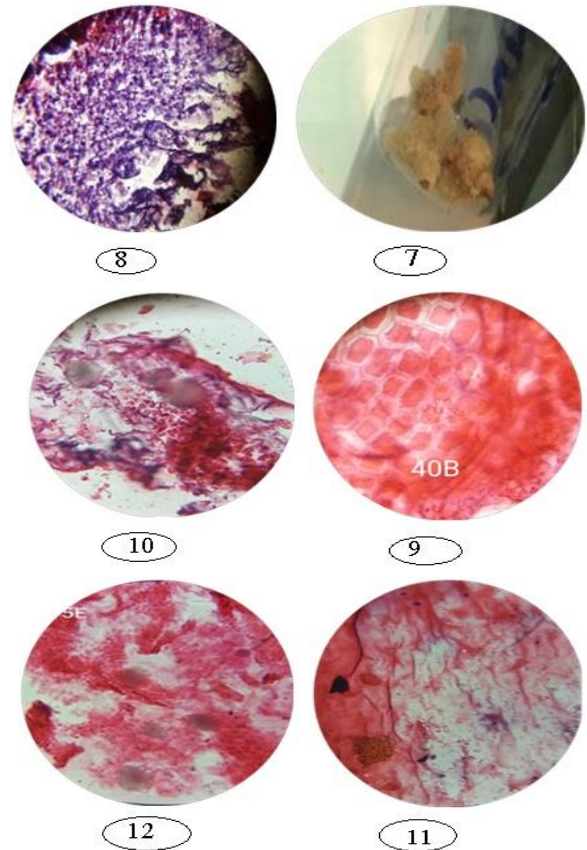
المناقشة

اتبنت نتائج الدراسة ان التركيب التشريحي لأوراق نبات الضمران *Tragnum nudatum* مكون من انواع مختلفة من خلايا برانكمية مختلفة في الشكل والحجم و من خلايا اسكلرنكمية كطبيعة تركيب النباتات الصحراوية , ولوحظ (Apter واخرون 1993) وجود فروقات في التركيب التشريحي بين بعض المستأصلات المستخدمة عند استنباتها على اوساط تحفيزه وبين الشاهد في زراعة الانسجة مثل السيقان والجذور والاوراق في النباتات *maple, raspberry, apple, birch*, من حيث انتشار الانسجة الكولنكمية والاسكلرنكمية في المستأصلات، هذه النتائج تشبه نتائجنا موضوع الدراسة.

واشار (Kherraza, واخرون 2018) ان وجود اكسالات الكالسيوم في انسجة اوراق نبات الضمران لها اهمية كبرى في عمليات الايض والمساعدة في مقاومة الملوحة.

عند استخدام وسط MS و اضيفت اليه تراكيز مختلفة من BA، 2,4-D، Kin، GA₃ ولوحظ تاثير ذلك علي التركيب الداخلي للأوراق , حيث سجلت تكوين خلايا مرستمية داخل القطاع عند استنبات الأوراق علي وسط MS مضاف إليه BA (1ملجم/ل)

شكل (1) التركيب التشريحي للورقة (الشاهد). صورة (2) استنبات الاوراق على وسط MS بدون هرمونات بعد 6 اسابيع من الاستنبات .صورة (3) استنبات الاوراق على وسط MS بدون هرمونات بعد 10 اسابيع من الاستنبات. صورة (4) استنبات الاوراق على وسط MS + (1ملجم/ل) BA بعد مرور 8 اسابيع من الاستنبات . صور (5) استنبات الاوراق على وسط MA + (1ملجم/ل) BA بعد مرور 12 اسبوعا .صورة (6) استنبات الاوراق على وسط MS + (1ملجم/ل) Kin بعد مرور اسبوعين من الاستنبات.



Salah.

- [9]- Jafri, S.M.H –Gadi ,A(1983).Flora of Libya . Alfaateh University, faculty of Science, Tripoli - 106:2-4.
- [10]- Apter R.C ., Mcwilliams E L .,Davisf.T .J. R1993. In vitro and ex vitro-Adventitious root formation in Asian Jasmine (*Trachelospermum asiaticum*)I.Comparativemorphology.J.Am.Soc .Hortic.Sci.118,902-905.
- [11]- Kherraze.,Belhamra Mohamed,Grgare Marira-Nicusar.2018.Aspects of ecological anatomy of *Tragum Nudatum* Del.(Amarartihaceae)From the Northeast of the Algerian Sahara.Acta Biologica Szegediensis.64,25-36.
- [12]- MurashigeT., and Skoog,F.1962 .A revised medium for rapid, Growth and bioassays with tobacco tissue cultures.physiologia plantarum15:473-479.

،وهذه النتائج تشبه النتائج التي تحصل عليها (سعد وميجنة 2014) عند استنبات نبات *Salvadora persica* . سجلت نتائج متفاوتة من حيث تمايز خلايا مرستمية ثم مراكز مرستمية وهي خطوة نحو التمايز الي اعضاء نباتية ، هذه النتائج تشبه النتائج التي تحصل كل من (سعد وميجنة 2014، Besse، و اخرون 1992) عند دراسة نبات *Salvadora persica* علي وسط NAA I + MS (0.1 ملجم/ل) BA+ (1 ملجم/ل) بعد 8 اسابيع و نبات و *Elaeis guineensis* باستخدام IAA علي التوالي . اشار (Gledlie و اخرون 1983) ان المركز المرستمية تكونت بتاثير الاكسينات فقط ، اكدت الدراسة ان استخدام (Kin،BA) من الهرمونات المستخدمة لها تاثير علي تحفيز تكوين مراكز مرستمية من اوراق نبات الضمران موضوع الدراسة وذلك من خلال دراسة التركيب التشريحي للمستأصلات المستخدمة علي وسط .MS

قائمة المراجع

- [1]- العابد ، ابراهيم (2005) دراسة الفعالية المضادة للبكتريا والمضادة للأكسدة لمستخلص الفلويديات الخام لنبات الضمران . جامعة قاصدي .رسالة ماجستير .
- [2]- محمد ، ابوبكر ابراهيم ، الخيالي ، يونس (2005) تطبيقات تقنية زراعة الانسجة النباتية علي نبات الرسو الصحراوي *Calligonum comosum* المؤتمر الوطني الثالث للتقنيات الحيوية 138-145 .
- [3]- الطردة ، محمود محمد ، عثمان جمال محمد الوية، محمد و الرطورطة ، اسامة خالد . 2000. اساسيات علم التحضير النسيجي . دار الثقافة للنشر والتوزيع ، عمان - الاردن .
- [4]- Abobkar A.M .saad .Mansuar Megna .Anatomy Study of Shoot Tips,Shoots and Immature Fruits Of *Salvadora persica* in vitro American Journal of Biology and Life Science.Vol.2,NO. 6,2014.PP.150-153
- [5]- GieIie ,s,Keller ,W, Sellerfield, G,(1983) Somatic embrogenesis and plant regeneration from Leaf ex plant and Cell Suspension of *Solanum melongena* L..(egg plant).Can J .Bot.62-656-666.
- [6]- BESSE,J, Jverdeil.,Y.Dural.B.sotta., R.Maldiney.,E.Mginiac .oil plant. Journal of Experimental Botany.34,NO.252,pp 983-989. 1992.
- [7]- USDA, 2010 .Germplasm Resources InformationNetwork -Grin-National Genetic Resources Program. National Germplasm Resources Laboratory ,Beltsville,Maryland.
- [8]- efloras ,efloras Floras of worth America ,chile ,Ecuador,Pakistan Madagascar,china and Nepal.Harvard university.2010.