مجلة العلوم البحثة والتطبيقية
Journal of Pure & Applied Sciences
www.Suj.sebhau.edu.ly ISSN 2521-9200
Received 13/11/2017 Revised 05/02/2018 Published online 30/06/2018

استنبات اوراق وسيقان نبات الضمران باستخدام زراعة الأنسجة النباتية

* نجية ادريس صالح و ابوبكر ابراهيم محمد سعد
علم النبات، كلية العلوم، جامعة سبها، ليبيا
*للمراسلة nagi.almadani@sebhau.edu.ly

الملخص نميت اوراق وسيقان نبات الضمران على وسط MSمضاف اليه تراكيز مختلفة من (2-4D،BA،kin) لوحظ ان وسط 1)MS+Kinملجم/ ل) أعطي كميات كبيرة من كألس متفتت كروي الشكل بعد10أسابيع من الاستنبات وبقية المعاملات لم تعطي أي استجابة بعد اسبوعين، أربعة، ستة، ثمانية وأثنى عشر أسبوعا للاوراق، أعيد استنبات أجزاء من كألس متفتت على نفس الوسط لوحظ سرعة وزيادة نمو الكاس بكميات كبيرة وفى بقية المعاملات MSبدون هرمونات لم تلاحظ أي استجابة للأوراق بعد12 اسبوع و في حالة استخدام السيقان كمستأصلات على وسط MS لم تسجل أي استجابة وكذلك في حالة استخدام MS بدون هرمونات، 1(MS+BAملجم/ل(2-4- D +ملجم/ل(،(MS+ Kinملجم/ل(بعد اسبوعين ،أربعة، ستة ،ثمانية ، عشرة ، اثنى عشر اسبوعا.

الكلمات المفتاحية: الضمران، الاوراق، السيقان، الكالس، زراعة الانسجة.

Cultured of leaves and stems of Tragnum nudatum in vitro

*Nigia Idreus Salha, Abobaker Abrahem M Saad
Botany Dept., Faculty of Science/Sebha University, Libya
*Corresponding author: nagi.almadani@sebhau.edu.ly

Abstract The leaves and stems of Tragnum nudatum were cultured on MS medium supplemented with different concentrations of 2,4-D,BA,kin .When leaves were inoculated on MS+Kin (1mg/l) high amounts of friable callus were obtained after 10 weeks. No responses were noticed on other treatments after 12 weeks. Those calluses were subcultured on same medium, they showed increases in growth when compared with other treatments. In case of cultured stems , no responses were recorded in all combinations even after 12 weeks of culture.

Keywords: Tragnum, leaves, Stems, callus, in vitro.

1- المقدمة

نبات الضمران*Tragnum nudatum* عبارة عن شجيرة معمرة تتبع العائلة الرمرامية Chenopodiacees يتراوح ارتفاعها من 01 11- سم وقد يصل الي1 متر، ويعتبر نبات الضمران من النباتات الصحراوية حيث يستعمل في علاجات مختلفة مثل معالجة الجروح والروماتيزم والمراض الجلدية والبواسير وألم الأدن والظهر و الارهاق واالسهال ويعتبر نبات الضمران ذات اهمية رعوية وهي الشجرة المفضلة عند الجمال عندما تكون خضراء او يابسة وذلك لأحتوائها على المواد الفعالة [1].يتوزع النبات في المناطق الصحراوية في مختلف المناطق الوطن العربي في الجزيرة العربية وبلاد الشام ومصر والمغرب العربي [3]في ليبيا فيتواجد هذا النبات في اودية فزان في مدينة سبها وفي منطقه تمنهنت تحديدا وكذلك في وادي الشاطئ على طريق زلاف[4].

الهدف من الدراسة:

تحفيز الاوراق لنبات الضمران لتكوين كالس عن طريق تقنية زراعة الانسجة النباتية

المواد وطرق العمل

أجريت جميع التجارب على نبات الضمران في معمل زراعة الانسجة النباتية بقسم علم النبات.

ازيلت الأتربة منها وغسلت بالماء الجاري ،ووضعت الاوراق الناضجة كاملة والسيقان في كحول إثيلي 70%لمدة دقيقه واحدة في و هيبوكلوريت الصوديوم1% لمدة خمس دقائق وفي ماء معقم مقطر لمدة خمس دقائق بواقع ثلاث مرات متتالية.

استخدام وسطMS(Skoog,Murashige1962) (2,4-D)dichlorophenoxy,(Z)Zeatin,(Kin)Kinetin,(BA)Benz yl adenine,(GA3)Gibberllic acid بتراكيز مختلفة من الاوكسينات والسيتوكينات عقمت الاوساط باستخدام الاوتوكلاف لمدة 20 دقيقة عند ضغط15 جوي ضعت خمس أوراق وخمس مقاطع من السيقان على وسط(MS) مضافا اليه تراكيزمختلفة من (2,4-D,BA,Kin)عقمت الغرفة لمدة 15 دقيقة واجريت جميع التجارب باستخدام غرفة السفط الانسيابي ووضعت المستاصلات في الوسط الغذائي لجميع

المعاملات في الظلام المدة سبعة أيام وعند درجة 25مْ وبعدها وضعت في الضوء لفترة ضوئية 16ضوء و8ظلام وضعت الاوراق في الوسط الغذائي علي شكل افقي ملامسة للوسط تم سجلت الملاحظات اسبوعيا لاستجابات المختلفة للمستأصلات (الاوراق –السيقان) حيث وضعت الاوراق في الوسط الغذائي علي شكل افقي ملامسة له. وصورت العينات بأستخدام آلة التصوير (Samsung).

النتائج:

1–اولا/استنبات الاوراق على وسط(MS)

MS.1 بدون هرمونات.

عند استنبات اوراق خضراء اللون علي وسط MS بدون هرمونات لم يلاحظ أي استجابة بعد 4 أسابيع و لوحظ تغير لونها الى اللون البني بعد ستة أسابيع ولم يلاحظ آي تغير في الاسبوع الثامن والعاشر والثاني عشر) جدول1/صورة.

2. MS+BA (ملجم /ل)

لم تسجل أي استجابة بعد اسبوعين فقد تغير لون الاوراق الى اللون الاخضر الباهت خلال الأسبوع الرابع ،السادس ، الثامن، العاشر ،الثاني

MS.3 2,4-D+(1ملجم/ل(BA+)1ملجم/ل

تكون كميه قليله من كالس مفتت أصفر اللون بنسبة 20% بعد 11 أسابيع من الاستنبات ثم تغير لون الاوراق من الاخضر الي الاخضر الباهت.

MS.4 +Kinملجم/ل

لم نلاحظ أي استجابة للأوراق وبقيت محافظه علي لونها الاخضر بعد اسبوعين ،ولوحظ بداية تكون كألس باهت اللون على سطح الاوراق بعد اربع اسابيع وتكون كالس ابيض مصفر اللون في الاسبوع العاشر من الاستنبات وبنسبة50% (جدول1 /صورة3) ،كما لوحظ زياده في تكون كمية كبيرة من كألس أبيض اللون حيث تحول نصف أسفل الاوراق الملامسة للوسط الغذائي الى كالس عندما أعيد استنبات كالس من نفس الوسط لوحظ زيادة نموه علي شكل كروي أبيض مصفر بعد7 أيام (جدول1/صوره) ،استمر الكالس في الزيادة وتكونة كميات كبيرة من كالس مفتت أصفر اللون في حين إن بعض الاوراق لم تعطي استجابة.

عندما أعيد استنبات الكالس علي وسط MS +ملجم/ل BA(1 ملجم/ل) 2,4-D) لوحظ تكون كالس أصفر بعد10 أسابيع ،وعندما نقل الى وسطMS +BA (1 ملجم/ل) لوحظ ضعف نموه و تحول الى اللون البني بعد 20 يوما (جدول1/صورة 4)عندما أعيد استنبات الكاس علي وسط GA3+Ms)1ملجم/ل(+kin)1ملجم/ل لوحظ تغير لون الكاس الى اللون البني الداكن(جدول1 صوره5).

وعندما أعيد استنبات الكاس على وسط Zeatin+MS(0.5ملجم/ل) لوحظ ضعف نموه وتغير لونه الي البني بعد اسبوعين (جدول1. صوره6) .

ثانياً: استنبات السيقان علي وسطMS.

MS.1 بدون هرمونات.

لم يحدث تغير في السيقان حتي بعد اثني عشر اسبوعا (جدول1/صورة8)

MS.3 BA+(1ملجم/ل(+2,4-D)1 ملجم/ل

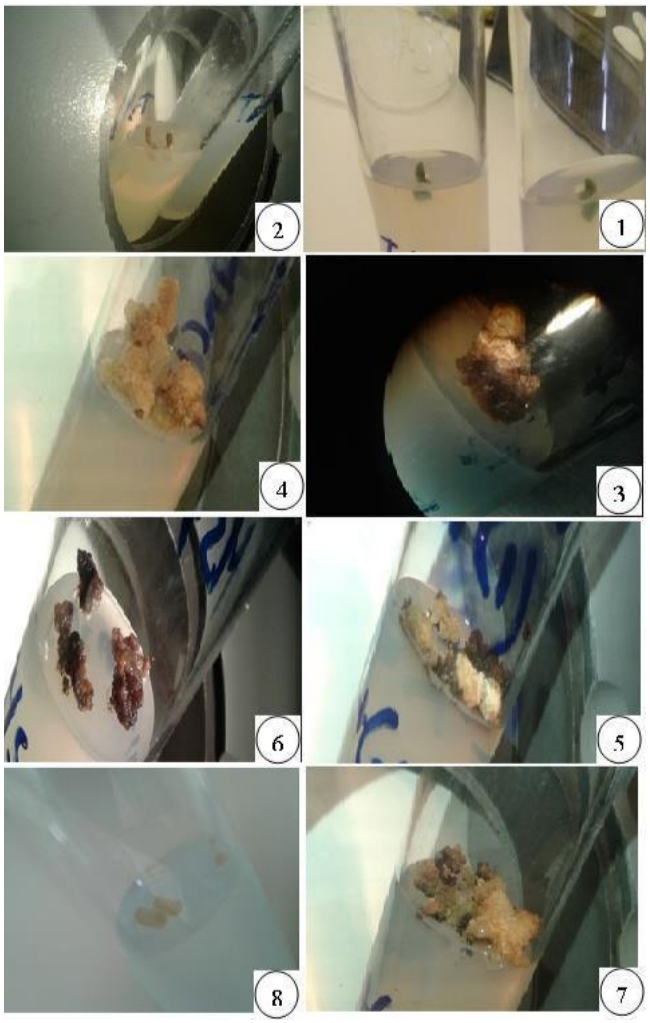
لم تسجل أي استجابة للسيقان بعد مرور أثنى عشر اسبوعا حيث بقيت المستاصلات محافظه علي شكلها الأصلي 4 MS+Kinملجم/ل .

لم تحدث أي استجابة بعد اسبوعين ولكن تغير لون أطراف السيقان إلى اللون الوردي الفاتح بعد أربع أسابيع أما بقية السيقان لم يحدث أي استجابة.

جدول: استنبات الاوراق السيقان على وسطMS مضاف اليه(BA ،4,2-D ،Kin ملجم/ل)

		2-4-D	BA	Kin	النسبة المئوية	الاستجابة
الاوراق	1	-	-	-	%0	-
	2	-	1	-	%0	-
	3	1	1	–	%20	+
	4	–	–	1	%50	++
	5		1	1	%0	-
السيقان	1	–	–	–	%0	-
	2	–	1	-	%0	-
	3	1	1	-	%0	-
	4	-		1	%0	-

لايوجد كالس.+ كمية قليلة من كالس،++ كمية كبيرة من كالس



شكل1: صورة.1 ورقة خضراء كاملة على وسطMS بدون هرمونات بعد اسبوعين. صورة.2 تغير لون الاوراق الي اللون البني على وسطMS+BA(1 ملجم/ل) صورة.3 كالس من على وسط MS +2,4-D ملجم/ل)+BA (1ملجم/ل) بعد10 اسابيع صورة.4 كالس ابيض مفتت على وسط +Kin (1 MSملجم/ ل) بعد 10 اسابيع صورة.5 كالس على وسطBA(1ملجم/ل) بعد20 يوما صورة.6+ كألس على وسط MS+GA_3(1ملجم/ل) بعد اسبوعين. صورة.7 كالس على وسطMS+Z(0.5 ملجم/ل) بعد اسبوعين صورة.8 سيقان على وسطMS بدون هرمونات.

المناقشة:

أثبتت العديد من الأبحاث والدراسات صعوبة استجابة الاشجار الخشبية الصحراوية لتقنية زراعة الانسجة النباتية ويعزي ذلك لتأثير الهرمونات الخارجية والداخلية من (kin، BA ، 2-4-D) وتكوين مركبات الفينول وايضا الي الاختلافات الوراثية[6]حيث يعتبر نبات الضمران من النباتات الخشبية الصحراوية موضوع الدراسة.

أشار[7] الى إن إضافة تراكيز مختلفة من السيتوكينات مع االكسينات له فاعلية لتكوين كالسمن نبات Monordica charantia،كما تحصل[8] على كالس من اوراق نباتJusticia gendarussa و[9] عندما استخدام Rumex vesicirus و[10] على نباتJatropha curcas. هذه النتائج تتوافق مع نبات الضمران عند استنبات االوراق على وسط(MS+Kinملجم/ل) اعطي كميات كثيرة من كالس ،وايضا تحصل[11]على كالس من نباتAdenium obsum.

يعتبر نوع منظمات النمو وتركيزها وتداخلها في الوسط الغذائي أهم العوامل التي تحفز تكوين الكالس وان إعادة استنبات الكالس عدة مرات يضعف استجابته وكذلك الخلايا غير المتمايزة[12].

أتبث الدراسة إن وسطMS مضاف إليه (Kin) أفضل المعاملات المستخدمة حيث لوحظ بطء استجابة في الاوراق والسيقان وهذه من صفات النباتات الصحراوية الخشبية ،مقابل ذلك إن اضافة(2,4-D) كون كمية قليله من كالس.

أستخدم[13] اوراق من نباتCalligonum comosum حيث تحصل على كالس واشار الى إن ذلك يعتمد على نوع وتركيز الهرمونات المستخدم وهذه النتائج التشبه نتائجنا ويعزى ذلك لطبيعة النبات المستخدم، أشار[14] إلي إن أضافة تراكيز مختلفة من (AC،BA، IAA،Z،Kin،BA،2,4−D) عند استنبات اوراق نباتMaerua crassifolia لم تعطي إي استجابة.

تعتبر هذه الدراسة أول بحث عن استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية على نبات الضمران في ليبيا.

المراجع:

[1]محمد، ابوبكر ابراهيم ،الخيالي، يونس(2005) تطبيقات تقنية زراعة الانسجة النباتية على نبات الرسو الصحراوي Calligonum Comosum المؤتمر الوطني الثالث للتقنيات الحيوية 138-145 .

[2]العابد إبراهيم(2009) دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران، جامعة قاصدي مرباح ورقلة. رسالة ماجستير.

tumefaciens using a leaf disk regeneration system.plant cell reports.9(6):293- 298.

[10] Kakaria L., Rama C., Botlagunta M.2014. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf explants of Rumex vesicarius .African journal of bioitchnology.

[11] George E.,hall M.,Jan de klerk G.2008.Plant tissue culture procedure-background.in Plant propagation by tissue culture. 3ed,springer, Dordrecht. Netherland.1-28.

[12] Agastian P.,Willimas I., Ignacimuthu S.(2006).In vitro propagation of Justicia gendrussa Burm.f.-A medicinal plant.Indian biotechnology.5:24-248.

[13] Saad A., Abdulla K.,Emhemed F.,(2016).Anatomy study of seeds of Calligonum comosum in vitro. World Academy Science, Engineering and Technology.3.

[14] Saad A., Abdaslam A.2017.In vitro culture of stem node segments of Maerua crassifolia.World Academy of Science, Engineering and Technology.4:4-10.

[3] Jafri.S.M.H.,El-Gadi.A. 1983. Flora. Of Libya Al-faateh University, faculty of Science Tripoli.106-2-4

[4] Mahmoud O.,Kosr M (2013). Regeneration and Histological of plants dervied from leaf explants in vitro culture of Strawberry. International jounral of Agriculture and Crop Sciences..5(9):943-950.

[5] USDA, Information Resources (2010) .Germplasm Resources Network -Grin-National Genetic Program. National Germplasm Resources Laboratory Beltsville,Maryland..

[6] T.and Skoog, F.1962.A revised medium for rapid, Murashige Growth and bioassays with tobacco tissue plantarum15:473-479.

[7] Yadav K,Singh N(2011). in vitro propagation and biochemical analysis field established wood Apple (Agle marmelon .Anaele, Universitatii din Oradea-fasciulua.(18):23-28.

[8] Rajore S., Batra A.2007.An alternative source for regenerable organogenic callus induction in L.indian journal of Jatropha curcas biotechnology.6(5):45-548.

[9] Nehra N S., Chibbar R N., Karth K K.(1990).Genetic transformation of Strawberry by Agrobacterium