مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الثاني – العدد الأول – ديسمبر 2020
ISSN 2708-8588

الإكثار الدقيق لنبات كزبرة البئر Adiantum Capillus باستخدام الجراثيم Spores

سالم العارف حمود* محمد سالم أبوسنينة المندر عبدالحميد أبوغنية احمد يوسف شعبان عادل مختار المغربي
مركز بحوث التقنيات الحيوية
salem9969@yahoo.com

https://doi.org/10.36602/jmuas.2020.v02.01.04 استلم البحث في 15/7/ 2020 وأجيز البحث في 2020/11/17

الملخص

أجريت هده التجربة لغرض الاكثار الدقيق لنبات كزبرة البئر *Adiantum Capillus* -veneris عن طريق (الأبواغ) Spores ، وهو من النباتات المهددة بالانقراض في ليبيا، وقد تم دراسة تأثير منظمات النمو(السيتوكينات) بنزايل أدينين BA و الكاينتين K بتركيز 0.0، 0.5، 1.0، 2.0 ملجم/ لتر باستخدام الوسط الغذائي MS. وتشير النتائج أن نمو الجراثيم المتمثل في زيادة طول وحجم الكتل الخضرية في الوسط الغذائي MS المزود بمنظم النموBA بتركيز 2.0 ملجم/ لتر تفوقه معنويا عن باقي المعاملات ، تم اقلمة النباتات في وسط الانماء المعقم من خليط بيتموس و رمل بنسبة 1:2 في غرفة النمو وتكونت الافرع والجذور عند نقل النبات للصوبة البلاستكية في نفس وسط الانماء .

الكلمات المفتاحية: زراعة الانسجة النباتية– كزبرة البئر – منظمات النمو.

1.المقدمة

نبات كزبرة البئر Maidenhair Fern وهو نبات يشبه نبات الكزبرة ويعرف في ليبيا باسم معدنوس الساقية أو عشبة قرى وهو من النباتات المهددة بالانقراض في ليبيا بسبب جفاف العيون الطبيعية واختفاء الآبار القديمة المفتوحة التي ينمو عليها و زيادة ملوحة المياه ،الرطيب (2005). الاسم العلمي *Adiantum Capillus* - veneris يتبع العائلة Adiantaceae موطنه الأصلي المناطق الدافئة المعتدلة والمناطق المدارية وتحت المدارية الدافئة أمريكا الجنوبية وينتشر في منطقة البحر المتوسط ، يضم النبات اكثر من 150 نوع (Fernandez. Revilla, 2003) وهو نبات من السرخسيات ذات ريزومات زاحفة قصيرة، الأوراق ذات نصل مركب ريشية ثنائية أو ثلاثية من وريقات مستديرة أو بيضاوية طولها من 1- 2.5 سم وعرضها 3سم، يتكاثر النبات بالجراثيم (الأبواغ) ، (القيعي والسعداوي, 1996).

يزرع النبات لجمال أوراقه إذ يستخدم كنبات زينة ونبات طبي، ينمو بريا على ضفاف البرك المائية أو القنوات المائية في الوديان والشلالات وبجانب الآبار، (القيعي والسعداوي, 1996). لكنه أختفى حاليا من الآبار لأن مياهها مالحة، كما جفت العيون وكذلك التوسع في أنتشار المزارع الحديثة وزحف المباني، وعدم الاهتمام بالنبات من حيث اكثاره والمحافظة عليه لهذا أصبح من النباتات المهددة بالانقراض ، يعتبر النبات من النباتات الطبية المهمة لاحتوائه على العديد من المواد الفعالة فهو يستعمل كمدر للبول ومرطب للبشرة وعلاج الربو والسعال وطارد للبلغم ومقوى للشعر وعلاج تعوقات الكبد والطحال، كما أنه مضاد لبعض البكتريا والفطريات، (القاضي وبشينة, 1997) و (Maridass et al, 2010).

يتكاثر النبات بواسطة الجراثيم Spores وهى دقيقة تشبه الغبار حيث يتم جمع هذه الجراثيم من الحوافظ الجرثومية Spores Cases الناضجة التي توجد على السطح السفلى للأوراق, (القيعي والسعداوي, 1996). تعتبر السرخسيات من النباتات المهمة في التنوع الحيوي والتي تأثرت بسبب ظروف المناخ وتدخل البشر وأصبحت نباتات مهددة بالانقراض في الوقت نفسه جذبت السراخس العديد من فرق البحث العالمية (Fernandez & Revilla, 2010). .

وتعتبر طريقة الأكثار عن طريق زراعة الأنسجة النباتية باستخدام الجراثيم من الطرق الحديثة لإكثار النبات الأخذة في الانتشار و يعتبر إنبات الجراثيم تحت ظروف معقمة أفضل من الإنبات العادي في البيئة الطبيعية للنبات حيث أظهرت انواع مختلفة من السراخس استجابة للنمو باستخدام أوساط غذائية مختلفة من بينهم *Adiantum Capillus* (Wu et al, 2010).

قدّر الاتحاد الدولي لحفظ الطبيعة (IUCN) في عام 2012 أن هناك على مستوى العالم167 نوعًا من السرخسيات التي تم تقييمها وعددها 311 مهددة بالانقراض (IUCN, 2012).

تهدف الدراسة إلى استخدام تقنية زراعة الانسجة النباتية في اكثار وأقلمة نبات كزبرة البئر بزراعة الجراثيم.

2. مواد وطرق البحث

أجريت هده التجربة بمختبر الأنسجة النباتية التابع لمركز بحوث التقنيات الحيوية لعام 2016.

1.2. مصدر النباتات

تم الحصـــول على النبات من أحد المزارع القديمة بمنطقة طريق الشـــوك (الفرناج) بمدينة طرابلس ، حيث اختيرت العينات النباتية الجيدة (الأوراق) التي تحتوى على الحوافظ الجرثومية شكل (5).

2.2. التعقيم السطحي

تركت أولا أوراق النبات التي تحتوى على الحوافظ الجرثومية لتجف لمدة أسـبوع في درجة حرارة الغرفة مع ملاحظة عدم تفتح الحوافظ الجرثومية التي تحتوي على الابواغ ، وضعت تحت الماء الجاري لمدة 30 دقيقة. نقلت إلى كابينة العزل المعقمة (Laminar Air Flow Cabinet) حيث غمرت بالكحول الايثيلى بتركيز 70% لمدة دقيقة واحدة مع التحريك المســـتمر، وتم التعقيم بغمر الأوراق في محلول الكلوراكس بتركيز 2% من مادة التعقيم الفعالة هيبوكلورات الصوديوم مع اضافة قطرات من مادة Tween-20 قطرة لكل 100 مل من المحلول كمادة ناشرة لمدة 10دقائق مع التحريك المســـتمر قبل غســـلها ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم لمدة 5 دقائق في كل مرة لإزالة اثار المادة المعقمة تركت الأوراق لتجف داخل كابينة العزل.

3.2. مرحلة تأسيس المزرعة النسيجية

في المرحلة الأولى من التجربة تأسيس المزرعة النسيجية وزع 20 مل من الوسط الغذائي MS (Murashige & Skoog, 1962) الخالي من منظمات النمو مع اضافة 3%جم سكروز و0.7%جم أجار في برطمانات حجم 200 مل، بعد تعقيم الوســـط الغذائي MS في جهاز التعقيم بالبخار (autoclave) على درجة حرارة 121 درجة مئوية

وضغط جوى 1.02 بار لمدة 15دقيقة ، زرعت الجراثيم بواسطة المجهر الضوئي داخل غرفة العزل حيث وضعت الحوافظ المحتوية على الجراثيم على ورق ألمونيوم المعقم بواسطة المشرط وابرة صغيرة وسكبت الجراثيم على الوسط الغذائي MS ثم حضنت البرطمانات التي تحتوى على الجراثيم في غرفة النمو تحت ظروف25 ±2درجة مئوية وفترة إضاءة 18 ساعة وظلام 6 ساعات في اليوم بشدة إضاءة 2000 لوكس (Lux) مصدرها مصابيح فلورسنت بيضاء على ارتفاع 45 سم من البرطمانات لمدة 4 أسابيع للحصول علي مزرعة نسيجية ، وسجل بداية أنبات الجراثيم بعد أسبوع من الزراعة شكل(5).

4.2. دراسة تأثيرالسيتوكينات على طول وحجم النباتات

في المرحلة الثانية من التجربة وزع 20 مل من الوسط الغذائي MS حيث أضيف له بنزايل ادنين BA و الكاينتين K بتركيز (0.0، 0.5، 1.0، 2.0) ملجم/لتر ، زرعت الكتل الخضرية ألناتجة من إنبات الجراثيم في الوسط الغذائي MS في المرحلة الأولى وذلك بوضع كتلة خضرية واحدة بطول 2.0 مم تقريبا في كل برطمان لمعرفة تأثير السيتوكينات على الزيادة في طول وحجم الكتل الخضرية، زرعت 10 برطمانات في كل معاملة ووضعت البرطمانات تحت نفس الظروف النمو السابقة وتم تسجيل البيانات عن طول وحجم الكتل الخضرية المتكونة بعد مرور 6 أسابيع من الزراعة .

5.2. اقلمة النباتات

في المرحلة الثالثة تم اقلمة النباتات في وسط انماء بيتموس ورمل بنسبة 1:2بالحجم ، تحت ظروف متحكم فيها أولا في غرفة النمو ونزع الغطاء البلاستيكي تدرجيا لمدة أسبوعين ولوحظ تكون مبادى الجذور مباشرة من الكتل الخضرية وزيادة في النمو وتكون الافرع الخضرية عند نقل النباتات الى الصوبة البلاستيكية في نفس وسط الانماء شكل(5) .

تم تحليل البيانات إحصائيا باستخدام النظام العشوائي الكامل Completely Randomized Design (CRD) وبعدد 10 مكررات لكل معاملة وعند وجود فروق معنوية قورنت المتوسطات باستخدام اختبار دنكن (Duncan).

3.النتائج والمناقشة

أوضحت نتائج المرحلة الأولى مرحلة تأسيس المزرعة النسيجية نجاح عملية التعقيم السطحي لأوراق النبات الحاملة للحوافظ الجرثومية بمادة هيبوكلورت الصوديوم تركيز 2% لمدة 10 دقيقة بنسبة اكثر من 80% من الجراثيم المزروعة في الوسط الغذائي ، وتشير نتائج المرحلة الأولى الى انبات الجراثيم بعد مرور أسبوع من الزراعة ، وتتفق هذه النتائج مع ما أشار اليه Banks ،(1999) في انبات الجراثيم لنبات كزبرة البئر في الوسط الغذائي MS بعد مرور5 أيام من الزراعة . وأصبحت النباتات على شكل كتل خضرية بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة بإحجام صغيرة متقاربة ، وهذه النتائج تتفق مع Soare ،(2008) في استجابة وتكون الكتل الخضرية لنبات كزبرة البئر بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة من انبات الجراثيم. وتوضح نتائج المرحلة الثانية جدول (1) مرحلة تضاعف النباتات على تأثيرالسيتوكينات على طول وحجم النبات بعد مرور 6 أسابيع من الزراعة في الوسط الغذائي MS المحتوى على السيتوكينينات BA وK بتركيز (0.0، 0.5،

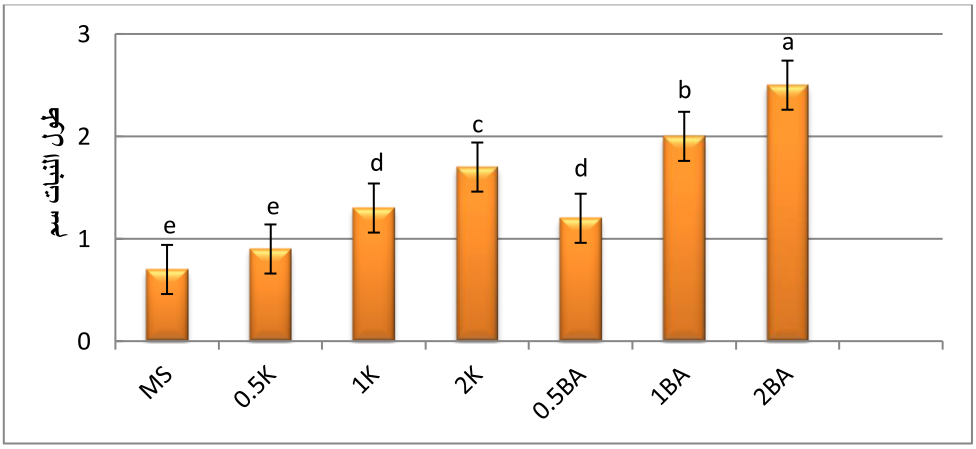
1.0، 2.0) ملجم/ لتر ، حيث تفوقت المعاملة 2 ملجم/لتر BA معنويا عن باقي المعاملات في صفتي طول وحجم الكتل الخضرية بتسجيله متوسط 2.5 سم لكل منهما وهذا يتفق ما وجده Bertraand & Fernadez, (1999) في اكثار واستجابة بعض أصناف من النباتات السرخسية باستخدام توليفة من السيتوكينينات في الوسط الغذائي MS.

وتوضح النتائج شكل (1) تأثيرا BA وK على طول النبات ، حيث اظهرت السيتوكينينات المستخدمة تفاوت في تأثيرها عل صفة طول النبات فتوفقت المعاملة 2 ملجم/لتر BA عن باقي المعاملات بتسجيلها متوسط 2.5 سم، بينما لم تسجل فروق معنوية بين المعاملات1 ملجم/لتر BA و1,2 ملجم/لتر K حيث بلغت 2.0 و 1.7 و1.3سم شكل (2). وتوضح نتائج شكل (3) تأثير BA وK على حجم الكتل الخضرية سم²، حيث اظهرت السيتوكينينات المستخدمة تفاوت في تأثيرها على حجم النبات فتوفقت المعاملة 2 ملجم/لتر BA عن باقي المعاملات بتسجيلها متوسط 2.5 سم²، وسجلت فروق معنوية بين المعاملة1 ملجم/لتر BA وباقي المعاملات الأخرى بمتوسط بلغ 2.0 سم² شكل (4).

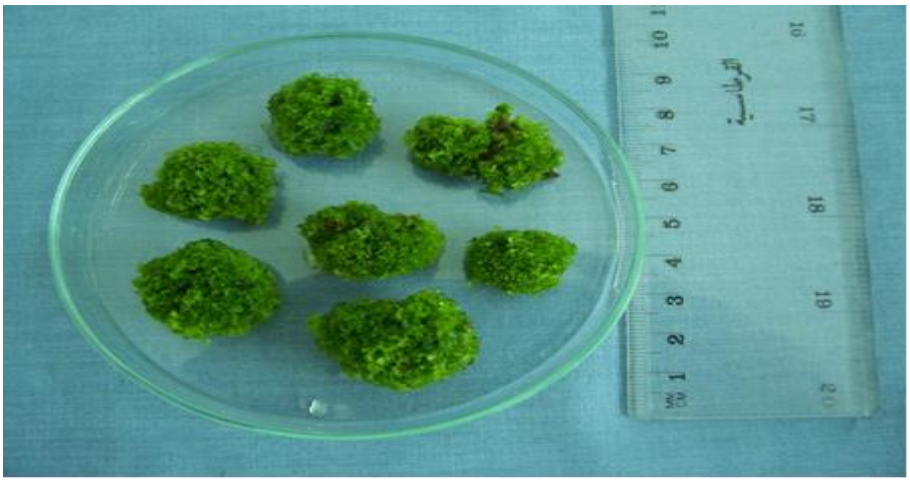
جدول (1) تأثير تركيز BA و K على طول وحجم النبات بعد مرور 6 أسابيع من الزراعة.

المعاملة ملجرام / لتر	طول النبات سم	حجم النبات سم²
الشاهد	0.7 e	0.9 f
0.5k	0.9 e	1.2 e
1K	1.3 d	1.4 e
2K	1.7 c	1.7 c
0.5BA	1.2 d	1.6 d
1BA	2.0 b	2.0 b
2BA	2.5 a*	2.5 a

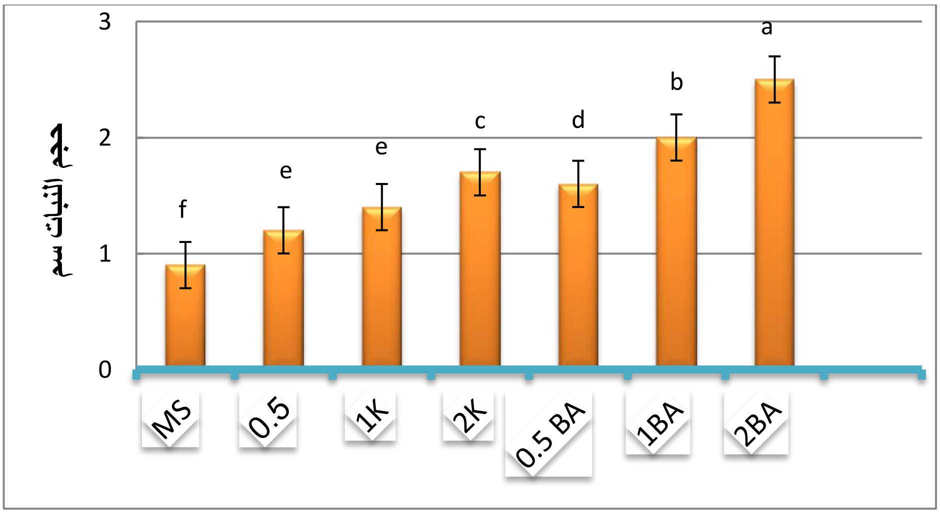
* المتوسطات المتبوعة بأحرف متشابهة عموديا لا توجد بينها فروق معنوية على مستوى معنوية**0.05**.



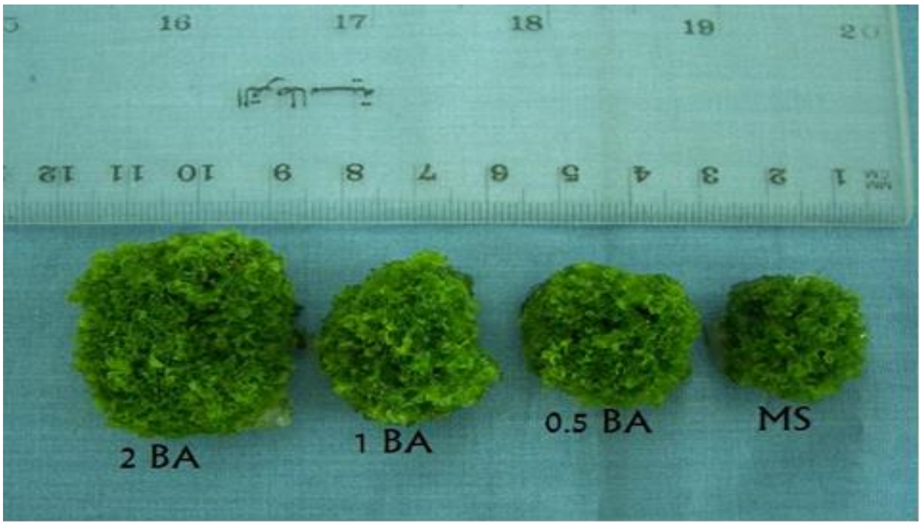
شكل (1) تأثيرتركيز السيتوكينات ملجم/ لتر على طول النبات



شكل (2) تأثير تركيز BA على طول النبات سم^2.



شكل (3) تاثيرتراكيز السيتوكينات ملجم/ لترعلى حجم النبات

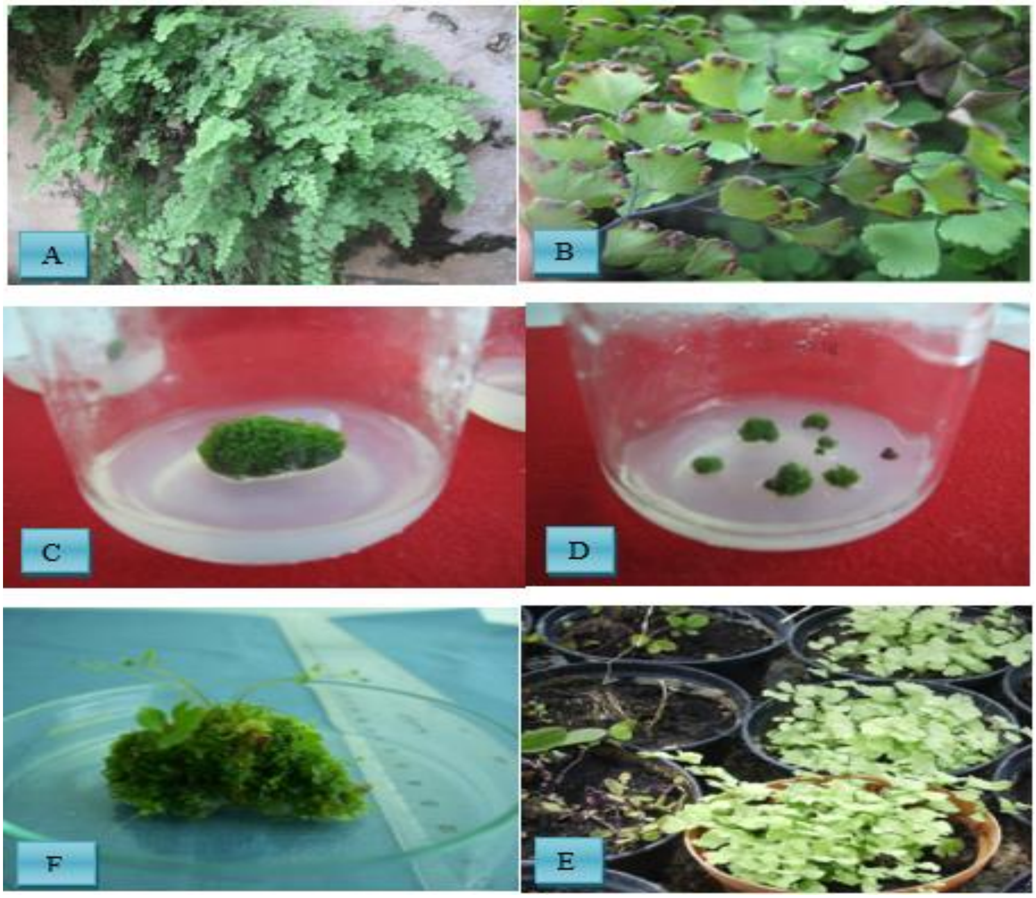


شكل (4) تأثير تركيز BA ملجم/لتر على حجم النبات سم^2

وتبين نتائج المرحلة الثالثة اقلمة الكتل الخضرية التي تحتوي علي نبيتات صغيرة في وسط الانماء بيتموس ورمل المعقم بنسبة 1:2 بالحجم تحت ظروف متحكم فيها أولا في غرفة النمو ونزع الغطاء البلاستيكي بعد الأسبوع الأول من الأقلمة ونزعه نهائيا بعد اسبوعين ولوحظ تكون مبادى الجذور مباشرة من الكتل الخضرية وتكون الافرع الخضرية عند نقل النباتات الى الصوبة البلاستيكية بعد 4 أسابيع من الزراعة في الأصص الصوبة في نفس وسط الانماء وهذا يتوافق مع نتيجة (Fernadez, 1999) شكل (5) .

4.الاستنتاج

من خلال نتائج هذه الدراسة تبين أنه يمكن اكثار نبات كزبرة باستخدام الجراثيم عن طريق تقنية زراعة الأنسجة وإنتاج نباتات أعداد كبيرة من النبات لتغطية الحاجة إليه للاستخدام الطبي والزينة ، مما يسهم في الحفاظ على المصادر الوراثية والحفاظ على النبات من الانقراض. حيث أظهرت النتائج استجابة النبات لزراعة الجراثيم في الوسط الغذائي MS وتضاعف طول وحجم الكتل الخضرية عند استعمال منظم النمو BA بتركيز2ملجم/لتر ،وأقلمة النبات في وسط الانماء بيتموس ورمل بنسبة 1:2بالحجم.



شكل (5) مراحل اكثار نبات كزبرة البئر بزراعة الانسجة النباتية.

A.نبات كزبرة البئر في البيئة الطبيعية B.الحوافظ الجرثومية الناضجة على أوراق النبات C.انبات الجراثيم في الوسط الغذائي MS
D.نمو الكتل الخضرية باستخدام 2ملجم/لترBA E.استطالة الافرع F.اقلمة نبات كزبرة البئر في الصوبة.

المراجع

الرطيب ،ف .2005. النباتات النادرة والمهددة بالانقراض. المجلد الثالث العدد الأول . مجلة أفاق العلم والثقافة .الهيئة الوطنية للبحث العلمي.

القيعى، ط،.السعداوى ،ف .1996.نباتات الزينة والديكور الداخلي دارالمريخ للنشر–الرياض.

القاضي ،ع،. بشينة ،ص .1997. استعمالات بعض النباتات فى الطب الشعبي الليبي. الجزء الأول .الطبعة الخامسة .الشركة العامة للورق والطباعة . مطابع الوحدة العربية . الزاوية.

Banks, J.A. 1999.Gametophyte development in Ferns. Annual Rev. Plant Physiology, 50:163-86.

Bertrand, A.M. Albuerne, M.A. Fernandez, H. Gonzalez, A. & Sanchez-Tames, R. 1999.Invitro organogenesis of *Polypodium cambricum*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 57: 65-69.

Fernandez, H. Bertrand , A.M & SanchezTames, R. 1999.Biological & nutritional aspects involved in fern multiplication. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 56: 211-214.

Fernandez,H., & M.A.Revilla. 2010. Working with Ferns: Issues and Applications, *Springer*, New York. 386 pp.

Fernondez, H & M.A .Revilla. 2003.In vitro culture of ornamental ferns, *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*, 73:1-13.

IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species. Version. http://www.iucnredlist.org/ Accesed: May 8, 2012.

Maridass,M. R.Mahesh,G.Raju & K.Muthuchelian. 2010.Clon propagation of *Adiantum capillus* –veneris.Inter.*J.of Biological Technology*, 1(1).33-37.

Murashige, T & Skoog, F. A .1962. Revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant*.15: 473- 497.

Soare,A. 2008.In- vitro development of gametophyte and sporophyte in several fern species *Liliana ristina*, Not. Bot. *Hort. Agrobot.* Cluj. 36(1): 13-19.

Wu, H., Y. Li-Ping, W. Yang y C. Long-Qing. 2010.Studies on in vitro culture of *Adiantum flabellulatum* from spores, *Acta Horti Sinica* 37(3):457- 464.

Micro propagation of Adiantum Capillus plant through culture of plant spores

***Salem Hammud, Moohamed Abosneena, Munder Abugnia, Ahmed Shaaban, Adel Elmograbi**

Biotechnology research center

salem9969@yahoo.com

https://doi.org/10.36602/jmuas.2020.v02.01.04 Received: 15/7/2020; Accepted: 17/11/2020

Abstract

This experiment was conducted in Biotechnology research center BTRC for the purpose of studying the possibility of propagate *Adiantum Capillus* plant by using spores through plant tissues culture technology, which is one of the endangered plants in Libya. MS media was used in this study supplemented with some growth regulators (cytokines) of benzyl adenine BA and Kinten K at different concentrations (0.0, 0.5, 1.0, 2.0) mg / l. The results indicate that the growth of spores represented by the increase in the length and size of the vegetative masses in the MS nutritional medium equipped with BA growth regulator at a concentration of 2.0 mg / l is significantly higher than other treatments. The obtained plants were adapted by using growth medium of the Betmos and sand mixture in a ratio of 1: 2 in the growth room. The branches and roots formed when the plant moved to the greenhouse in the same medium of development.

Keywords: plant tissue cultivation- MS media- growth regulators.