مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد الخامس والعشرون - المجلد الخامس - علوم الحياة - آذار 2025 م
doi.org/10.52866/esj.2025.05.25.05

تحديد التركيز المثالي من منظم النمو (2,4-D) في استحثات الكالس من بذور نبات الحلبة *Trigonella foenum-graecum* L. تحت ظروف الضوء والظلام

شهد حيدر علي / سهام عبد الرزاق سالم

مستخلص:

تهدف الدراسة الحالية الى استحثاث الكالس من بذور نبات الحلبة *Trigonella foenum-grae-cum L* وتحديد التركيز المثالي لمنظم النمو 2,4-D حيث تضمنت التجربة دراسة تراكيز مختلفة من منظم النمو 2,4-D (0.0, 1.0,2.0,3.0,4.0 ملغم. لتر) وأُختير التركيز المثالي (2.0 ملغم. لتر) الذي اعطى أعلى وزن طري للكالس بلغ 0.431ملغم في ظروف الضوء و 0.737ملغم في ظروف الظلام.

Determining the ideal concentration of the growth regulator (2,4-D) in callus induction from fenugreek seeds *Trigonella foenum-graecum* L.

under light and dark condition

Abstract :

The current study aims to Induce callus from seeds of the fenugreek plant, Trigonella foenum-graecum L., and determine the Ideal concentration of the growth regulator 2,4-D, where The experiment includeincludeed studying different concentrations of the growth regulator 2,4-D (0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg. L). The ideal concentration (2.0 mg. L) was chosen, which gave the hlghest fresh weight of the callus, whichh amounted to 0.431 mg In light conditions and 0.737 Amalgam In dark conditions.

المقدمة Introduction

تستخدم النباتات طبياً في بلدان العالم المختلفة وهي مصدر للعديد من الأدوية الفعالة، ومنها نبات الحلبة *Trigonella* foenum-graecum .L (Petropoulos,2002) الذي يعد من اقدم النباتات الطبية المعروفة ويعتبر محصول متعدد الأغراض لاستخداماته وخصائصه الغذائية والعلاجية (Ven-kata et al, 2017), حيث ان له فوائد صحية متعددة مضادة لأمراض السكر والسرطان وله تأثيرات وقائية للكبد وخصائص مضادة للأكسدة منظمة الغذاء والدواء (FDA) -Food and Drug Administration ، تحتوي الحلبة على كمية كبيرة من الألياف، والدهون الفوسفاتية، والسكرية، واحماض الأوليك و اللينولينيك و اللينوليك (Chatterjee et al.2010)، وبذور الحلبة غنية بالسكريات الصمغية (25-45٪) وتحتوي على كمية صغيرة من الزيت العطري (0.015٪) ومجموعة من المركبات الثانوية، بما في ذلك القلويدات الأولية والتريجونيلين (0.37٪) والكولين (0.05٪)والصابونين (0.6-1.7٪) المشتقة من الديوسجينين والياموجنين والتيجونين ومركبات اخرى (WHO,2007) -World Health Organization

لقد ادت الأبحاث في مجال تقنية زراعة الأنسجة النباتية Plant tissue culture technology إلى إنتاج العديد من المواد الطبية لعلاجات جديدة. وقد أتاح التقدم في مجال مزارع الخلايا والمعلقات الخلوية Cell suspensions انتاج مجموعة واسعة من المركبات الفعالة التي تشمل القلويدات والتيربينويدات والمنشطات والصابونين والفينولات والفلافونويدات والاحماض الأمينية (Jordan and Wilson,1995). وان اساليب التقنيات الحيوية، وعلى وجه التحديد مزارع الأنسجة النباتية لها امكانات كمكملة للزراعة التقليدية في الانتاج الصناعي للأيض النباتي النشط بيولوجياً وبمعدل مماثل او اعلى من معدل النباتات السليمة في السنوات الماضية (Ramachandra rao and Ravis-hankar,2002). حيث تم الحصول على مواد جديدة فعالة من الناحية الفسيولوجية ذات أهمية طبية عن طريق الاختبار الحيوي.

لقد ثبت أن نشاط التخليق الحيوي للخلايا المستزرعة يمكن تعزيزه عن طريق تنظيم العوامل البيئية وكذلك عن طريق الانتقاء الاصطناعي لإنتاج بعض المركبات الطبية الموضعية في أنسجة أو أعضاء نباتية محلية متخصصة من الناحية الشكلية في أنظمة الاستزراع ليس فقط عن طريق تحريض مزارع منظمة محددة، ولكن أيضا عن طريق مزارع الخلايا غير المتمايزة كمزارع الكالس على سبيل المثال (Ravishankar and Ramachandra rao, 2000).

نبات الحلبة واهميته الطبية

Trigonella foenum-graecum

And medical importance

يعد احد اشهر النباتات الطبية التي استخدمت منذ العصور القديمة في الطب التقليدي من خلال استخدام البذور والاجزاء الهوائية كمصدر قيم للبروتين في تغذية الانسان والحيوان وفي الطب التقليدي لمختلف الحالات. والمثير للاهتمام حول الحلبة هي المجموعة الواسعة من آثارها العلاجية بما في ذلك تخفيف الالم ومضاد لتصلب الشرايين ومضاد للالتهاب ومضاد للتشنج ومنشط للقلب وخفض الدهون الثلاثية واستخدم أيضاً لتسهيل الولادة والمساعدة على الهضم ومنشط عام

لتحسين عملية التمثيل الغذائي(Salih surma-ghi, 2008) . حيث يعتبر محصول متعدد الاغراض لأستخداماته الغذائية وغير الغذائية كالأعشاب والتوابل والأعلاف لما له من خصائص غذائية وطبية علاجية فيستخدم على نطاق واسع في الابحاث حول الامراض البشرية والخصائص المضادة للأمراض، وهو يحتوي على نسبة عالية من الألياف الغذائية والفيتامينات والمعادن بالإضافة إلى المركبات النشطة حيوياً مثل الأحماض الأمينية والأحماض الفينولية والقلويدات والصابونين وله فوائد صحية متعددة كمضاد لمرض السكر ومضاد للسرطان ومدر للّبن ويساعد في الهضم وله تأثيرات وقائية للكبد ووظائف تنظيمية وخصائص مضادة للأكسدة ويعمل ضد فقدان الشهية ومضاد للحصوات والعديد من الخصائص الطبية الأخرى كما انه معترف به أثناء استخدامه كنكهة عموماً على انه آمن. ويعد موطن النبات هو السواحل الشرقية للبحر الأبيض المتوسط وشمال أفريقيا ، وتزرع الحلبة على نطاق واسع في الهند والصين وافريقيا والجزائر والسعودية وباكستان ومصر وتركيا واوكرانيا واسبانيا وايطاليا وتنتشر زراعته على نطاق محدود في العراق (Salih surmaghi, 2008)

وقد تم التعرف على اكثر من مئة نوع من انواع الحلبة البرية المزروعة في العالم ويعد نبات الحلبة عشبياً سنوياً من فصيلة البقوليات، من نباتات مغطاة البذور ينتمي إلى رتبة الورديات عائلة Fabaceae فصيلة فرعية pupilonaceae و.Trigonela L جنس من مجموعة ثلاثية الوريقات Trifolia يأتي اسم هذا النبات من الكلمة اليونانية trigonon وتعني المثلث بسبب الشكل المثلث لوريقاته، المصطلح foenum_graecum يعني القش اليوناني او العشب اليوناني بسبب استخدامه على نطاق واسع في اليونان القديمة. يحتوي هذا النبات على ساق واحد غالباً ما يكون ملتوياً والاوراق بيضوية مسننة مكونة من 3 وريقات موزعة من نقطة واحدة والزهور صفراء باهتة او ارجوانية بيضاء قطرها 0.8 – 1.8 سم والثمار عبارة عن قرون منحنية يتراوح طولها 3– 11 سم وتحتوي على 20–5 بذرة بزاوية يتراوح طولها 6–4 ملم. (Dini, 2006).

بذور الحلبة

نبات الحلبة

مزارع الكالس Tissue culture

يعرف الكالس بأنه كتلة من الانسجة غير المنظمة المكونة من كتل خلايا برنكيمية غير متمايزة يتطور كجزء من استجابة الجرح في النباتات. ويتم تشكيل الكالس عبر ثلاثة مراحل في عملية التطور وهي الحث والانقسام والتمايز وتتطور الخلايا على التوالي (George, 2008) وفي معظم الحالات يجب إضافة هرمونات نباتية محددة إلى الوسط لتحفيز نمو الكالس حيث يتم تكوين الكالس بواسطة هرمونات نباتية مثل الأوكسينات والسيتوكينينات والجبرلينات. يسمى تجديد النباتات الكاملة من أنسجة الكالس بتكوين الأعضاء أو التشكل (Or-ganogenesis) وتلعب مزارع الكالس أدواراً مهمة في توليد نباتات معدلة وراثياً ذات ميزات محسنة مثل المقاومة ضد الجفاف ودرجات الحرارة المرتفعة والإجهاد الملحي والهجوم الميكروبي وغيرها من الضغوط.(Ben-Hayyim and Goffer, 1989) .

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

نفذت تجارب الدراسة الحالية بهدف دراسة فعالية منظمات النمو لاستحثاث كالس نبات الحلبة Trigonella foenum-graecum L.

للحصول على الكمية المطلوبة للكالس من بذور الحلبة اجريت التجربة الحالية لتحديد افضل تركيز من منظم النمو(2,4-D) في استحثات الكالس . حيث زُرِعَت البذور بعد تعقيمها على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من الاوكسين (2,4-D) لمعرفة تأثيره في تحفيز نشوء الكالس بعد اربعة اسابيع من الزراعة حيث نقلت البذور المعقمة في طبق بتري معقم داخل كابينة انسياب الهواء الطبقي وزرعت على وسط MS متصلب حاوي على تراكيز مختلفة من (2,4-D) وحُضن قسم من الزروعات في غرفة النمو بدرجة حرارة 2±24مْ واضاءة لمدة 16 ساعة و 8 ساعات ظلام وحُضن القسم الآخر في الظلام تحت نفس ظروف درجة الحرارة وسجلت النتائج بعد مرور 45 يوماً من الزراعة .

النتائج و المناقشة

Result and Discussion

تم حساب

1- النسبة المئوية لاستحثاث الكالس كما يلي :

عدد الاجزاء النباتية المكونة للكالس / العدد الكلي للأجزاء المزروعة × 100 ٪

ظروف الاضاءة	تراكيز 2,4-D (ملغم . لتر)	R1	R2	R3	R4	R5
ضوء Light	0.0	0٪	0٪	0٪	0٪	0٪
	1.0	100٪	67٪	33٪	100٪	100٪
	2.0	100٪	100٪	67٪	100٪	67٪
	3.0	100٪	67٪	67٪	67٪	33٪
	4.0	67٪	33٪	100٪	33٪	33٪

ظروف الاضاءة	تراكيز 2,4-D (ملغم . لتر)	R1	R2	R3	R4	R5
ظلام Dark	0.0	0٪	0٪	0٪	0٪	0٪
	1.0	100٪	67٪	67٪	100٪	100٪
	2.0	100٪	100٪	67٪	67٪	100٪
	3.0	67٪	67٪	67٪	100٪	33٪
	4.0	33٪	67٪	33٪	67٪	67٪

2- بعد حساب النسبة المئوية تم قياس الوزن الطري والجاف للكالس المستحث (ملغم) حيث حُسب الوزن الطري باستعمال الميزان الحساس بعد استخراج الكالس من انابيب الزراعة ووضعه على ورق ترشيح للتخلص من الماء.

ظروف الاضاءة	تراكيز 2,4-D (ملغم . لتر)	R1	R2	R3	R4	R5	المعدل
ظلام Dark	0.0	0	0	0	0	0	0
	1.0	0.555	0.509	0.756	0.587	0.649	0.611
	2.0	0.521	1.305	0.858	0.535	0.466	0.737
	3.0	0.583	0.473	0.662	0.545	0.600	0.572
	4.0	0.261	0.415	0.264	0.535	0.376	0.370

ظروف الاضاءة	تراكيز 2,4-D (ملغم . لتر)	R1	R2	R3	R4	R5	المعدل
ضوء Light	0.0	0	0	0	0	0	0
	1.0	0.268	0.863	0.345	0.301	0.360	0.427
	2.0	0.205	0.342	0.401	0.561	0.65	0.431
	3.0	0.432	0.394	0.517	0.604	0.137	0.416
	4.0	0.535	0.586	0.220	0.343	0.362	0.409

اما الوزن الجاف فتم قياسه بعد تجفيف الكالس في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 60 مْ لمدة 48 ساعة.

ظروف الاضاءة	تراكيز 2,4-D (ملغم . لتر)	R1	R2	R3	R4	R5	المعدل
ضوء Light	0.0	0	0	0	0	0	0
	1.0	0.021	0.07	0.033	0.024	0.058	0.0412
	2.0	0.067	0.060	0.040	0.047	0.010	0.044
	3.0	0.041	0.047	0.042	0.029	0.040	0.039
	4.0	0.057	0.049	0.029	0.023	0.011	033.0

ظروف الاضاءة	تراكيز 2,4-D (ملغم . لتر)	R1	R2	R3	R4	R5	المعدل
ظلام Dark	0.0	0	0	0	0	0	0
	1.0	0.047	0.042	0.038	0.046	0.037	0.042
	2.0	0.058	0.067	0.059	0.041	0.055	0.056
	3.0	0.039	0.045	0.022	0.039	0.036	0.036
	4.0	0.018	0.022	0.017	0.010	0.022	017.0

حيث اعطى التركيز 0.2 اعلى وزن طري للكالس في ظروف الضوء والظلام

التحليل الإحصائي Statistical Analysis

نفذت التجارب التي تضمنتها الدراسة باتباع التجارب العاملية (Completely Randomized De-sign (CRD وقورنت المتوسطات باستعمال اقل فرق معنوي (L.S.D) Significant Difference Least لبيان الفروق المعنوية باستعمال البرنامج الإحصائي SPSS .

تراكيز منظم النمو 2,4-D	ظروف الضوء	ظروف الظلام	المعدل
0.0	0.000	0.000	0.000
1.0	0.427	0.611	0.519
2.0	0.427	0.737	0.584
3.0	0.417	0.573	0.495
4.0	0.409	0.370	0.390
	0.337	0.458	
L.S.D.0.05	ظروف الضوء= 0.0985 ، ظروف الظلام= 0.1557 ، التداخل= 0.2202		

الوزن الطري للكالس

تراكيز منظم النمو 2,4-D	ظروف الضوء	ظروف الظلام	المعدل
0.0	0.0000	0.0000	0.0000
1.0	0.0412	0.0420	0.0416
2.0	0.0448	0.0560	0.0504
3.0	0.0398	0.0362	0.0380
4.0	0.0338	0.0178	0.0258
	0.0319	0.0304	
L.S.D.0.05	ظروف الضوء= 0.00716 ، ظروف الظلام= 0.01133 ، التداخل= 0.01602		

الوزن الجاف للكالس

تراكيز منظم النمو 2,4-D	ظروف الضوء	ظروف الظلام	المعدل
0.0	0.0	0.0	0.0
1.0	80.0	86.8	83.4
2.0	86.8	86.8	86.8
3.0	66.8	66.8	66.8
4.0	53.2	53.4	53.3
	57.4	58.8	
L.S.D.0.05	ظروف الضوء=11.78 ، ظروف الظلام=18.62 ، التداخل= 26.34		

النسبة المئوية للكالس

References المصادر

Petropoulos, G. A. (Ed.). (2002). Fenugreek: the genus Trigonella. CRC Press.

Nagulapalli Venkata, K. C., Swaroop, A., Bagchi, D., & Bishayee, A. (2017). A small plant with big benefits: Fenugreek (Trigonella foenum-graecum Linn.) for disease prevention and health promotion. Molecular nutrition & food research, 61(6), 1600950.

Jordon, M. A., & Wilson, L. (1995). Microtubule polymerization dynamics, mitotic block, and cell death by paclitaxel at low concentrations.

Rao, S. R., & Ravishankar, G. A. (2002). Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. Biotechnology advances, 20(2), 101-153.

Ravishankar, G. A., & Ramachandra, R. S. (2000). Biotechnological production of phyto-pharmaceuticals.

Dini, M. (2006). Scientific name of medicinal plants used In traditional medicine. Forest and Rangeland Research Institute Publication, Iran, 299-300.

Ben-Hayyim, G., & Goffer, Y. (1989). Plantlet regeneration from a NaCl-selected salt-tolerant callus culture of Shamouti orange (Citrus sinensis L. Osbeck). Plant cell reports, 7, 680-683.