إكثار نبات (*Bupleurum gibraltaricum* lam.)عن طريق زراعة الأنسجة النباتية.

عبد الكريم جمعه التائب[1]، سالم علي ضياف[2]، فتحي بشير الرطيب[2]

1. قسم البستنة – كلية الزراعة – جامعة طرابلس- ليبيا، 2. قسم علم النبات – كلية العلوم – جامعة طرابلس- ليبيا.

المستخلص

أجريت هذه الدراسة بمركز بحوث التقنيات الحيوية طرابلس - ليبيا بالتعاون مع كلية الزراعة – جامعة طرابلس، لإيجاد أفضل طريقة لإكثار نبات ببلوريوم جبرالتيكم (*Bupleurum gibraltaricum* Lam) عن طريق تقنية زراعة الأنسجة النباتية. اتضح من هذه الدراسة أن أفضل طريقة لتعقيم الأجزاء الخضرية النباتية هو بغمرها فى محلول التعقيم هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 2.5% لمدة 15 دقيقة، وأفضل فترة لجمع تلك الأجزاء من النبات الأم كان فى شهر مارس. كما تبين أن أفضل وسط غذائي لإنتاج النموات الجديدة من المستأصل النباتي (العقد المفردة) هو الوسط الغذائي (MS) مدعوماً بتركيز 1 ملجرام/لتر من منظم النمو بنزايل أدينين (BA) حيث؛ أعطى أفضل مجموع خضري (طول النموات وعدد الأوراق على النموات). كما أوضحت الدراسة أن إعادة استزراع تلك النموات على الوسط الغذائي (MS) المدعوم بتركيز 6 ملجرام/لتر إندول حمض البيوتريك (IBA) قد أعطى أفضل مجموع جذري (نسبة التجذير، عدد وطول الجذور لكل نمو). كما أوضحت - أيضا- أن نسبة النباتات الحية بعد الأقلمة لنموات ذات المجموع الجذري الجيد كانت 70%.

الكلمات الدالة: ببلوريوم جبرالتيكم، زراعة الأنسجة، بنزايل ادنين، أندول حامض البيوتريك و الكاينتين.

المقدمة

العديد من الأنواع النباتية ذات القيمة الطبية والاقتصادية والمسجلة ضمن الموسوعة النباتية الليبية تتعرض للاختفاء من البيئة الليبية حتى أصبحت مهددة بالانقراض وذلك لعدة أسباب مثل الاستغلال الجائر وغيرالمرشد للموارد الطبيعية، التغير في بعض العوامل البيئية والتي ساهمت في انقراض بعض الأنواع والعديد من النباتات، ولصعوبة إنبات بذور بعضها بصورة طبيعية بالإضافة إلى الجفاف الناتج عن نقص الأمطار في السنوات الأخيرة والتوسع العمراني بدون رقابة من جهة الاختصاص فى الدولة مما ساهم فى قلة تواجد تلك الأنواع النباتية مثل نبات ببلوريوم جبرالتيكم (*Bupleurum gibraltaricum* Lam) والذى يتبع جنس (*Bupleurum*) التابع لفصيلة الخيمية (Apiaceae) (حسن وآخرون، 2009). نبات ببلوريوم جبرالتيكم هو عبارةعن نبات شجيري صغير الحجم دائم الخضرة يصل ارتفاعه إلى 1.5 متر أوراقه متبادلة رمحية الشكل (Walter *et al.*, 2008) وينتج نوره خيمية مركبة فى شهر يوليو والأزهار تكون صفراء اللون ثنائية الجنس والثمار منشقة(زايد، 2005). ينمو هذا النوع النباتى فى أسبانيا والمغرب، والجزائر (Ana *et al.*, 2006)، ويعتبر من النباتات النادرة والمهددة بالإنقراض في ليبيا؛ حيث يتركز وجوده بعدد قليل فى منطقة مسلاته (محميةالشعافين) فقط ويعتبر إضافة جديدة لموسوعة النباتات الليبية (حسن وآخرون، 2009). تم إكتشاف هذا النبات فى سنة (2007) خلال إحدى الرحلات لدراسة الغطاء النباتى فى تلك المنطقة (حسن، 2007)، ونظرا لندرة

للاتصال: عبد الكريم جمعه التائب. قسم البستنة - كلية الزراعة - جامعة طرابلس - ليبيا.
هاتف: 218927586046+. **البريد الالكتروني: .....**

استلمت بتاريخ: 2018/2/13 **أجيزت بتاريخ: 2018/11/11**

تواجده وعدم التعرف عليه من قبل الأشخاص المحليين فلم يعط له اسم محلي.

استخدم نبات ببلوريوم جبرالتيكم في مجال الطب التقليدي الماضي والحاضر لاحتواء أجزائه النباتية على العديد من المركبات التي لها نشاط بيولوجي مهم من الناحية الطبية مثل (saikosaponins, Phenols) والتي تشمل "glycosides, polyphenolic, triterpenoid, phenylpropanoids" (Nose *et al.*, 1989) و "Flavonoids, Coumarins" (Mansour, 1998) و "Alkaloids, Saponins" (Barrero*et el.*, 2000) و Terpens (Bohlmann*et al.*, 1975)، كما أن بعض المراجع العلمية أثبتت أن هذا النبات يحتوي على الزيوت الاساسية في جذوره وأوراقه كما أن هذه الزيوت تحتوي على العديد من المركبات ذات الأهمية الطبية الاقتصادية، حيث استخدمت معالجة بعض الحالات المرضية مثل أعراض التشنج في الإنسان (Ocete *et al.*, 1989) كما ادخلت هذه المواد في صناعة بعض المسكنات والأدوية المضادة للحساسية والالتهابات في جسم الإنسان (Cabe *et al.*, 1986)، ومقاومة بعض أنواع الميكروبات الممرضة مثل بكتيريا (*Micrococcus lutes*) و (*Escherichia coli*) وفطر (*Candida albicans*)(Cabe *et al.*, 1986). نظرا لأهمية النبات طبيا واقتصاديا مع انخفاض معدل إكثاره طبيعيا بالطرق التقليدية وخاصة عن طريق إنبات البذور التي تفقد حيويتها في زمن قصير (Fraternale *et al.*, 2002) ، كما أن احتياجات الأشخاص في الدول النامية مثل ليبيا الى موارد دوائية دون التفكير في ما قد يهدد هذا النبات من خطر الإنقراض يشجع على إكثار هذا النوع من النباتات عن طريق الإكثار بزراعة الأنسجة النباتية، التي تتميز بالحصول على أعداد كثيرة في زمن قصير مع احتياجها لحيز صغير من المساحة مقارنة بطرق الإكثار الأخرى.

إن الإكثار عن طريق زراعة الأنسجة النباتية تعتبر من أهم الطرق التي تستخدم في مجال إكثار النباتات خاصة البرية منها والمهددة بالانقراض مثل نبات جنس (*Bupleurum*) الذي يتبع العائلة الخيمية، ومن مراجعة الدراسات السابقة وجد في دراسة قام بها (Hsu *et al.*, 1993) لإكثار نبات (*Bupleurum falcatum*) عن طريق زراعة الأنسجة النباتية أن المستأصل النباتي (القمة النامية) قد أعطت أفضل استجابة من حيث الزيادة في النمو الخضرى عندما زرعت على وسط غذائي سائل (MS) يحتوى على أحماض أمينية (جلوتامين، تربتوفان، برولين وأسباراجين) أو يحتوى على حليب جوز الهند بتركيز 10%. كما أوضحت دراسة علمية أخرى لإكثار نبات (*Bupleurum kaoi-an*) عن طريق زراعة الأنسجة النباتية قام بها(Uei-Chern *et al.*, 2006) أن استخدام منظم النمو بنزايل آدينين (BA) والكاينتين (Kin) أعطى أفضل النتائج من حيث الحصول على نموات خضرية، بينما استخدام منظم النمو إندول حمض البيوتريك (IBA) أو نفثالين حمض الخليك (NAA) لتكوين الجدور العرضية.

أما الدراسة التي قام بها Karuppusamy and Pullaiah (2007) في جنوب الهند لإكثار نبات (*Bupleurum disticho-phyllum*)عن طريق زراعة الأنسجة النباتية قد أوضحت أن العقد المفردة أعطت أفضل النتائج مقارنة بالمستأصلات النباتية الأخرى ، كما أعطى التركيز 1 ملجم/لتر من منظم النمو بنزايل آدينين(BA) أفضل النتائج بالنسبة للنموات الخضرية وأعطى منظم النمو أندول حمض البيوتريك(IBA)أفضل نموات جذرية.

أما محليا فلا توجد إلا دراسة واحدة على إكثار نبات (*Bupleurum fruticosum*) بزراعة الأنسجة النباتية قام بها أبو غنية (2015) أوضحت أن زراعة العقد المفردة لنبات على الوسط الغذائي MS المحتوي على تركيز 1 ملجم/لتر من منظم النمو الكاينتين (Kin) أو بنزيلآدينين (BA) قد أعطت أفضل نموات خضرية، واستخدام التركيز 4 ملجم/لتر من منظم النمو إندول حمض البيوتريك (IBA) أعطى أفضل نموات جذرية. أما بالنسبة

للنبات الذي تحت الدراسة ببلوريوم جبرالتيكم (*Bupleurum gibraltaricum* Lam.) فمن مراجعة الأبحاث السابقة لوحظ أنه لا توجد دراسة خاصة في ليبيا على إكثاره سوى عن طريق الإكثار التقليدي أو بزراعة الأنسجة النباتية، ولذلك تهدف هذه الدراسة لإكثار هذا النبات عن طريق زراعة الأنسجة النباتية تمهيداً للمحافظة عليه من الإنقراض من البيئة المحلية.

المواد وطرائق البحث

أجريت هذه الدراسة بمختبرات زراعة الأنسجة النباتية بمركز بحوث التقنيات الحيوية طرابلس ليبيا بالتعاون مع كلية الزراعة – جامعة طرابلس على النحو التالي :

تجهيز العينات وعملية التعقيم السطحي:

جمعت الأجزاء الخضرية من النبات الأم النامي بمنطقة الشعافيين على فترات مختلفة (مارس، ومايو، ونوفمبر لسنة 2014)، وأحضرت الأجزاء إلى المختبر في نفس اليوم؛ حيث قطعت إلى أجزاء تناسب عملية التعقيم قبل وضعها تحت الماء الجاري لمدة نصف ساعة، لتخلص من الملوثات السطحية مثل الأتربة وبقايا الحشرات، ثم غسلت بالماء والصابون قبل نقلها إلى غرفة العزل المعقمة. غسلت الأجزاء الخضرية مرة أخرى بالماء ثنائي التقطير والمعقم قبل معاملتها بالكحول الإيثيلي (الإيثانول) بتركيز 70% لمدة دقيقة واحدة مع التحريك المستمر لضمان فعالية المعاملة، ثم غسلت مرة أخرى بماء ثنائي التقطير معقم قبل معاملتها بالغمر فى محاليل الكلوركس التجاري بتركيزات مختلفة (1.5%، 2%، 2.5%)، وذلك لمدة 15 دقيقة مع التحريك المستمر قبل غسلها بالماء ثنائي التقطير المعقم ثلاث مرات مع التحريك المستمر لمدة 5 دقائق لكل مرة وذلك للتخلص من بقايا محلول التعقيم قبل أن يتم تقسيم الأجزاء النباتية إلى مستأصلات (عقد مفردة) والتي تحمل برعم واحد في كل عقدة.

زراعة العقد المفردة لتحديد أفضل طريقة تعقيم وفترة جمع الأجزاء الخضرية:

زرعت العقد المفردة المعقمة على الوسط الغذائى المعقم (MS) الخالي من منظمات النمو تحت ظروف كاملة التعقيم في غرفة الزراعة قبل نقلها إلى غرفة النمو تحت شدة إضاءة 24 µ $M/s^{-1}/ {}^{-1}/ m^2$ والتي تعادل (2000 Lux)، وطول فترة إضاءة 16 ساعة، و درجة حرارة (25 ±2 س°).

زراعة العقد المفردة لإنتاج نموات خضرية:

نقلت العقد المفردة التي تم الحصول عليها فى الفقرة السابقة من المزارع النسيجية الخالية من التلوث بعد 10 أيام من الزراعة وأعيد زراعتها على نوعين من الأوساط الغذائية (MS) (Murashige and Skoog 1962)، Woody plant medium (WPM) يحتوى كل منهما على نوع من نوعين من منظمات النمو Benzyleadinine (BA) و Kintine , (Kin) بتراكيز (0 ، 0.5، 1.0، 1.5 ملجرام/لتر). كررت كل معاملة 10 مرات ووزعت توزيع عشوائي كامل في غرفة النمو تحت نفس ظروف التحضين سالفة الذكر.

تجذير النموات الخضرية الناتجة:

زرعت النموات الخضرية المتحصل عليها من العقد المفردة المزروعة في الفقرة السابقة على الوسط الغذائي (MS) مضاف إليه منظم النمو إندول حمض البيوتريك Indol butyric acid (IBA) بتراكيز (0، 4، 6، 8، 12ملجم/لتر) قبل تحضينها في غرفة النمو تحت ظروف التحضين سالفة الذكر؛ حيث احتوت كل معاملة على 10 مكررات.

أقلمة النبيتات:

تم استخراج النبيتات الناتجة من أوعية الزراعة وغسل مجموعها الجذري لإزالة بقايا الوسط الغذائي العالق بالجذور قبل إعادة زراعتها في أوعية بلاستيكية تحتوي على بيئة معقمة من بيتموس ورمل بنسبة (1:1) حجم:حجم. وضعت الأوعية الزراعية في غرفة النمو

تحت نفس ظروف التحضين السابقة وغطيت الأوعية البلاستيكية التي تحتوي على النبيتات بغطاء بلاستيكي شفاف لتوفير الرطوبة حول النبيتات مع إحداث عدد من الثقوب فى الغطاء البلاستيكي بعد ثلاثة أيام من التغطية وزيادة عدد تلك الثقوب كل 3 أيام لخفض الرطوبة النسبية تدريجيا.

رويت النبيتات بمحلول معقم يحتوي على نصف تركيز أملاح الكبرى والصغرى للوسط الغذائي (MS) كل 3 أيام لمدة أسبوعين قبلنزع الغطاء البلاستيكي تدريجيا. ترك النبيتات لمدة أسبوعين آخرين تحت ظروف التحضين في غرفة النمو مع ريها بالماء المقطر والمعقم كل ثلاثة أيام قبل نقلها إلى الظروف الخارجية الصوبة.

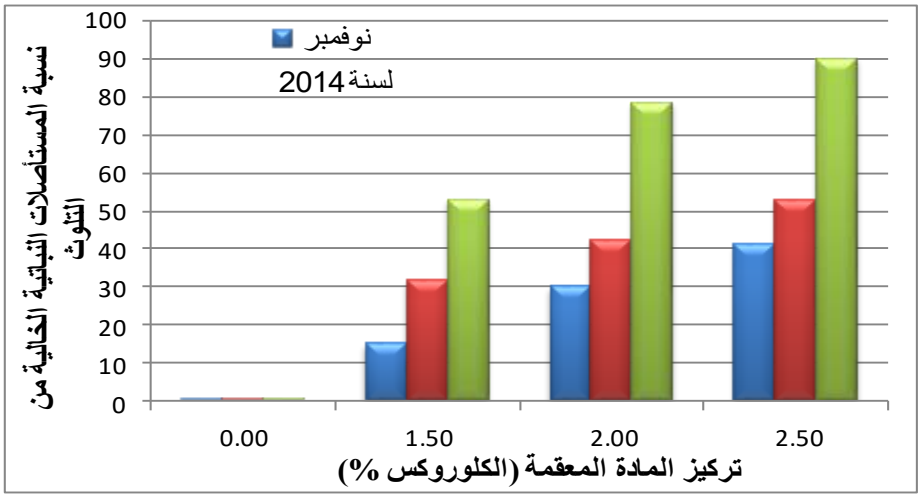
سجلت النتائج والتي تشمل نسبة المزارع النسيجية الخالية من التلوث معدل إنتاج النموات الخضرية من العقل المفردة وطولها وعدد الأوراق عليها، معدل التجدير من حيث نسبة وعدد وطول الجدور ونسبة النباتات الحية بعد الأقلمة. حللت النتائج إحصائيا وقورنت المتوسطات باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود باستثناء نتائج نسبة المزارع الخالية من التلوث، النباتات الحية بعد الأقلمة.

النتائج والمناقشة

نظرا لأهمية نبات(*Bupleurum gibraltaricum* lam) المهدد بالانقراض من البيئة الليبية فقد أجريت العديد من التجارب خلال هذه الدراسة لإكثاره والمحافظة عليه، حيث تبين من هذه الدراسة إمكانية الحصول على مزارع نسيجية خالية من التلوث وإيجاد أفضل فترة لجمع الأجزاء النباتية من النبات الأصل لاستخدامها كمصدر للمستأصلات النباتية (العقد المفردة) قبل دراسة تأثير كل من نوع الوسط الغذائي ومنظمات النمو (السيتوكينينات) على معدل إنتاج النموات الخضرية من العقد المفردة من حيث طولها وعدد الأوراق عليها، وتأثير الأكسينات على معدل التجذير من حيث نسبة التجذير، عدد الجذور، كما تمت أقلمة بعض النبيتات الناتجة مع الظروف البيئية خارج المختبر كمرحلة أخيرة من هذه الدراسة وحساب نسبة النباتات الحية وكانت النتائج كالتالي :

تجهيز المستأصلات النباتية وتعقيمها :

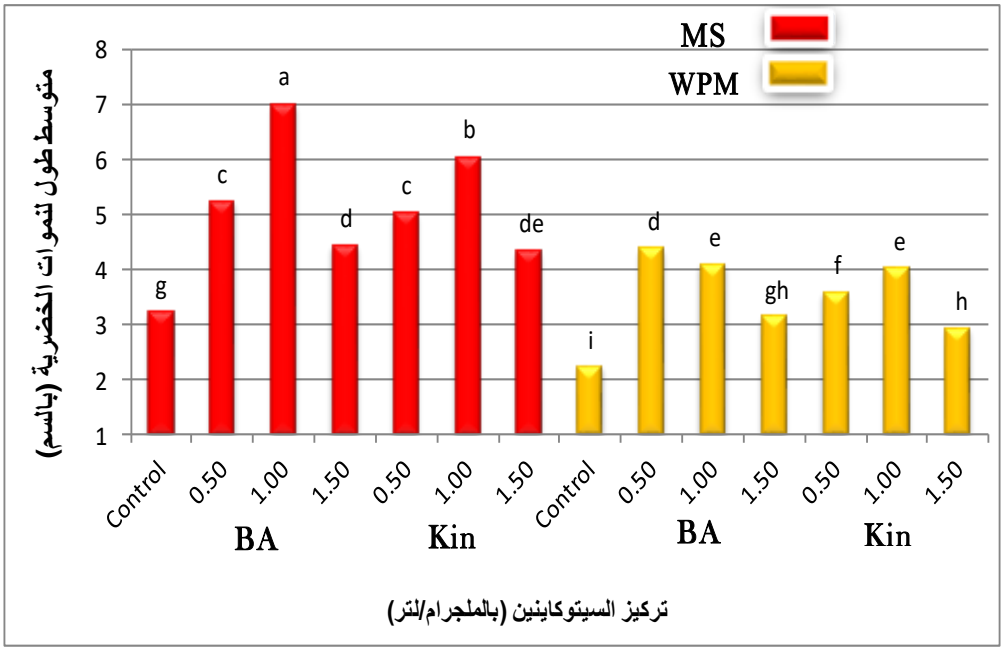
زرعت العقد المفردة لتحديد أفضل فترة جمع المستأصلات النباتية وطريقة تعقيمها. أوضحت النتائج المتحصل عليها أن أفضل طريقة لمحلول لتعقيم الأجزاء الخضرية التي تم جمعها في فترات مختلفة كان بغمرها في محلول التعقيم هيبوكلورات الصوديوم (الكلوركس) تركيزه 2.5% لمدة 15 دقيقة لجميع الأجزاء النباتية التي تم جمعها خلال فترات مختلفة (مارس، مايو، نوفمبر) شكل (1)؛ حيث كانت نسبة المزارع الخالية من التلوث عند هذه المعاملة (90%، 53 %،41 %) على التوالي، بينما كانت نسبة المزارع النسيجية الخالية من التلوث عند استخدام التراكيز المختلفة الأخرى (1.5%، 2%) من محلول التعقيم تراوحت ما بين (15% - 31.5 %، 30 %- 42 %) على التوالي، ومعاملة الشاهد كانت نسبة المزارع الخالية من التلوث في جميع مراحل جمع الأجزاء الخضرية (0%) (شكل 1)، وبذلك يتضح من النتائج أن غمر الأجزاء النباتية (مصدر المستأصلات) في محلول التعقيم تركيزه 2.5% قد أعطى أفضل طريقة لتعقيم الأجزاء الخضرية النباتية التي تم جمعها في شهر مارس من السنة؛ حيث كانت نسبة المزارع النسيجية الخالية من التلوث (90%)، وهذا يتفق مع ما وجده كل من (Bertoli *et al.*, 2004)، (Fraternal *et al.*, 2002)؛ حيث ذكروا أن أفضل تركيز لمحلول التعقيم هيبوكلوريتالصوديوم كانت 2.5%، وأفضل فترة جمع للأجزاء الخضرية النباتية من النبات الأم هو شهر مارس ويعزا هذا إلى أن الأجزاء الخضرية التى تم تجميعها فى هذه الفترة كمصدر للمستأصلات تكون حديثة النمو وقليلة التلوث الخارجي.



شكل1. تأثير تركيزات مختلفة من محلول الكلوركس التجارى على تعقيم الأجزاء الخضرية مصدر المستأصلات لنبات (*Bupleurum gibraltaricum* Lam.) لمدة 15 دقيقة والتى جمعت فى فترات مختلفة.

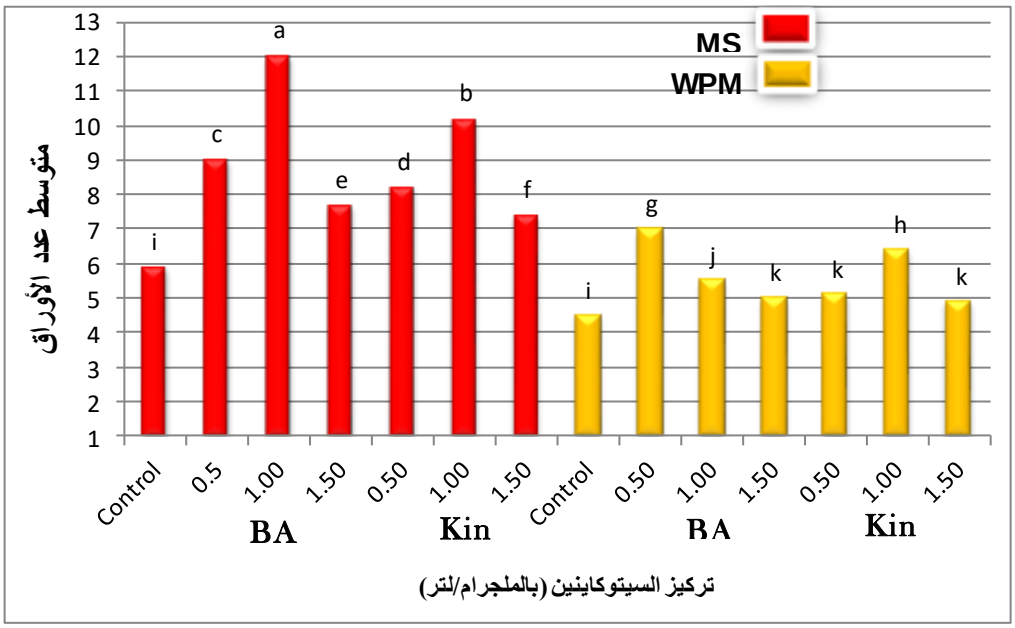
زراعة العقد المفردة لإنتاج النموات الخضرية :

اتضح من النتائج المتحصل عليها فى شكل (2، 3) أنه توجد فروق معنوية بين العقد المفردة المزروعة على الوسط الغذائي (MS) و (WPM) حيث تراوحت متوسطات طول النموات الخضرية وعدد الأوراق على تلك النموات الناتجة من العقد المفردة المزروعة على الوسط الغذائي (MS) بين (3.21 – 7 سم ، 5.9 – 12 ورقة)، بينما متوسطات أطوال النموات الخضرية الناتجة وعدد الأوراق عليها للعقد المفردة المزروعة على الوسط الغذائي (WPM) تراوحت بين (2.22 – 4.37 ، 4.5 – 7 ورقة). كما اوضحت النتائج –أيضا- أنه توجد فروق معنوية بين العقد المفردة المزروعة على الوسط الغذائي (MS) الذي يحتوي على تراكيز مختلفة من (BA) والعقد المفردة المزروعة على الوسط الغذائي (MS) الذي يحتوي على نفس التراكيز من (Kin)؛ حيث تراوحت متوسطات أطوال النموات الخضرية الناتجة وعدد الأوراق على تلك النموات (5.22 – 7 سم ، 7.7 – 12 ورقة، 4.33 – 5.02 سم ، 7.4 – 10.2 ورقة) على التوالي. كما تبين النتائج في شكل (2 ، 3) أن منظم النمو (BA) قد تفوق معنويا على منظم النمو (Kin) من حيث متوسط طول النموات وعدد الأوراق خاصة عند تركيز 1 مليجرام/لتر لمنظم النمو BA، Kin حيث بلغ متوسط طول النموات الخضرية وعدد الأوراق الناتجة من العقد المفردة والمزروعة على الوسط الغذائي (MS) المحتوي على 1ملجرام/لتر من (Kin) (6 سم، 10.2 ورقة) بينما العقد المزروعة على الوسط الذي يحتوي على 1 ملجم / لتر من BA أعطى نموات بلغت متوسط طولها (7 سم) وعدد الأوراق الناتجة (12 ورقة). ومن هذه النتائج يتضح أن العقد المفردة والمزروعة على الوسط الغذائي (MS) يحتوي علي 1 مليجرام/لتر من (BA) أعطى أفضل متوسط طول للنموات الخضرية ومتوسط عدد الأوراق على تلك النموات، وهذا يتفق مع ما وجده (Karuppusamy and Pullaiah., 2007) حيث وجدا أن إضافة منظم النمو بنزيل آدينين BA إلى الوسط الغذائي MS تفوق معنويا على منظم النمو كاينتين (Kin) بالنسبة لمتوسط طول النموات الخضرية عدد الأوراق مقارنة بمنظم النمو (Kin).



شكل 2. تأثير إضافة التركيزات المختلفة من منظمات النمو (BA,Kin) إلى الأوساط الغذائية (WPM , MS) على متوسط طول النبيتات (بالسنتمتر) الناتجة من تكشف المستأصلات النباتية لنبات(*Bupleurum gibraltaricum* Lam.).

الأعمدة التي تحتوي على نفس الحروف لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى 5%.



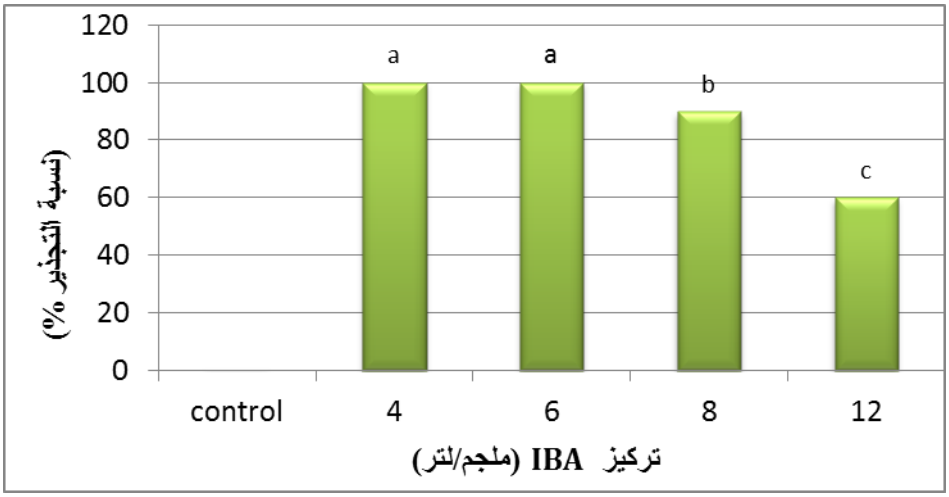
شكل 3. تأثير إضافة التركيزات المختلفة من منظمات النمو (BA,Kin) إلى الأوساط الغذائية (WPM , MS) على متوسط عدد الأوراق للنبيتات الناتجة من تكشف المستأصلات النباتية لنبات .*Bupleurum gibraltaricum* Lam.

الأعمدة التي تحتوي على نفس الحروف لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى 5%.

تجذير النموات الخضرية الناتجة من العقد المفردة:

يتضح من النتائج في شكل (4، 5، 6) أن زراعة النموات الخضرية الناتجة على الوسط الغذائي (MS) المحتوي على تركيز 4 أو 6 ملجم/لتر منظم النمو (IBA) قد أعطى أعلى نسبة تجذير النموات الخضرية بفروق معنوية مع المعاملات الأخرى (8، 12 ملجم/لتر) من (BA)؛ حيث تراوحت نسبة التحذير (100%، 100%، 90%، 60%)، بينما معاملة الشاهد كانت (0%) (شكل 4)، أما من حيث عدد الجذور فإن النموات الخضرية المزروعة فى الوسط الغذائي (MS) المحتوي على 6 مليجرام/لتر قد أعطت وبفروق معنوية أعلى متوسط لعدد الجذور (24) مقارنة بالمعاملات الأخرى التي تراوح فيها متوسط عدد الجذور (4.9 – 12.3) والشاهد (0) (شكل 5) كما أن زراعة النموات الخضرية فى الوسط الغذائي (MS) يحتوي 6 ملجرام/لتر قد أعطت أعلى متوسط طول للجذور (1.95 سم) وبفروق معنوية مقارنة بالمعاملات الأخرى التي تراوحت فيها متوسط طول الجذور (0.59 – 1.64 سم) ومعاملة الشاهد (0) (شكل 6).

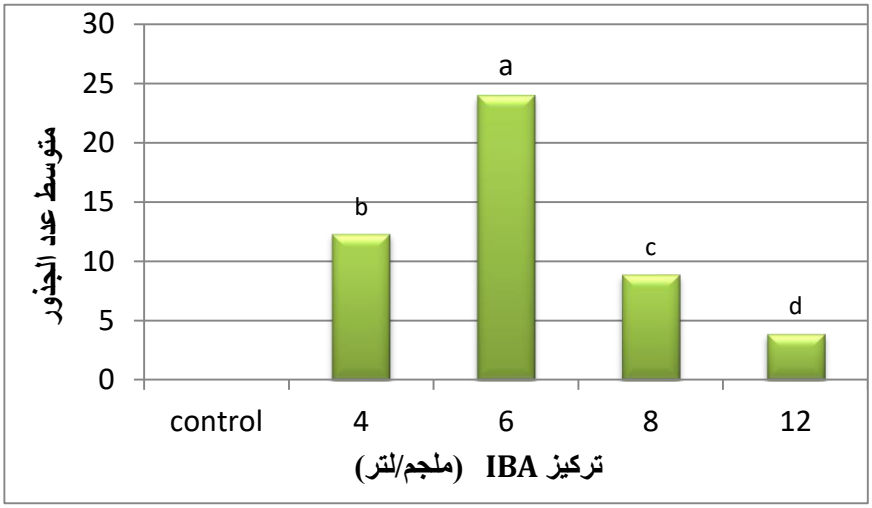
ومن هذه النتائج يتضح أن زراعة النموات الخضرية في الوسط الغذائي (MS) يحتوي على 6 مليجرام/لتر من (IBA) قد أعطت أفضل نتائج بالنسبة إلى نسبة التجذير وعدد وطول الجذور، وهذا يتفق مع كل من (Karuppusamy and Pullaiah., 2007)، Makunga *et al.*, 2006)؛ حيث أوضحت أن أفضل منظم نمو(IBA) يمكن استخدامه لتجذير النموات الخضرية الناتجة من زراعة الأنسجة لبعض النباتات التابعة للفصيلة الخيمية (*Apiaceae*) الذي يتبعها النبات الذي تحت هذه الدراسة.



شكل 4. تأثير إضافة التركيزات المختلفة من منظم النمو إندول حمض البيوتيريك(IBA) إلى الوسط المغذى MS على نسبة التجذير.

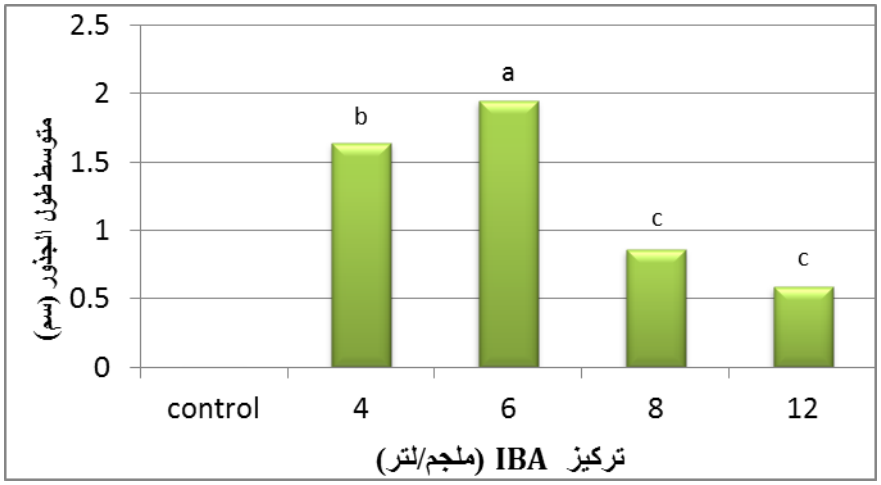
الأعمدة التي تحتوي على نفس الحروف لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى 5%.

المجلة الليبية للعلوم الزراعية، المجلد (23)، العددان (1-2) 2018: 30-41



شكل 5. تأثير إضافة التركيزات المختلفة من منظم النمو إندول حمض البيوتيريك (IBA) إلى الوسط المغذي MS على متوسط عدد الجذور المتكونة على النموات الخضرية.

الأعمدة التي تحتوي على نفس الحروف لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى 5%

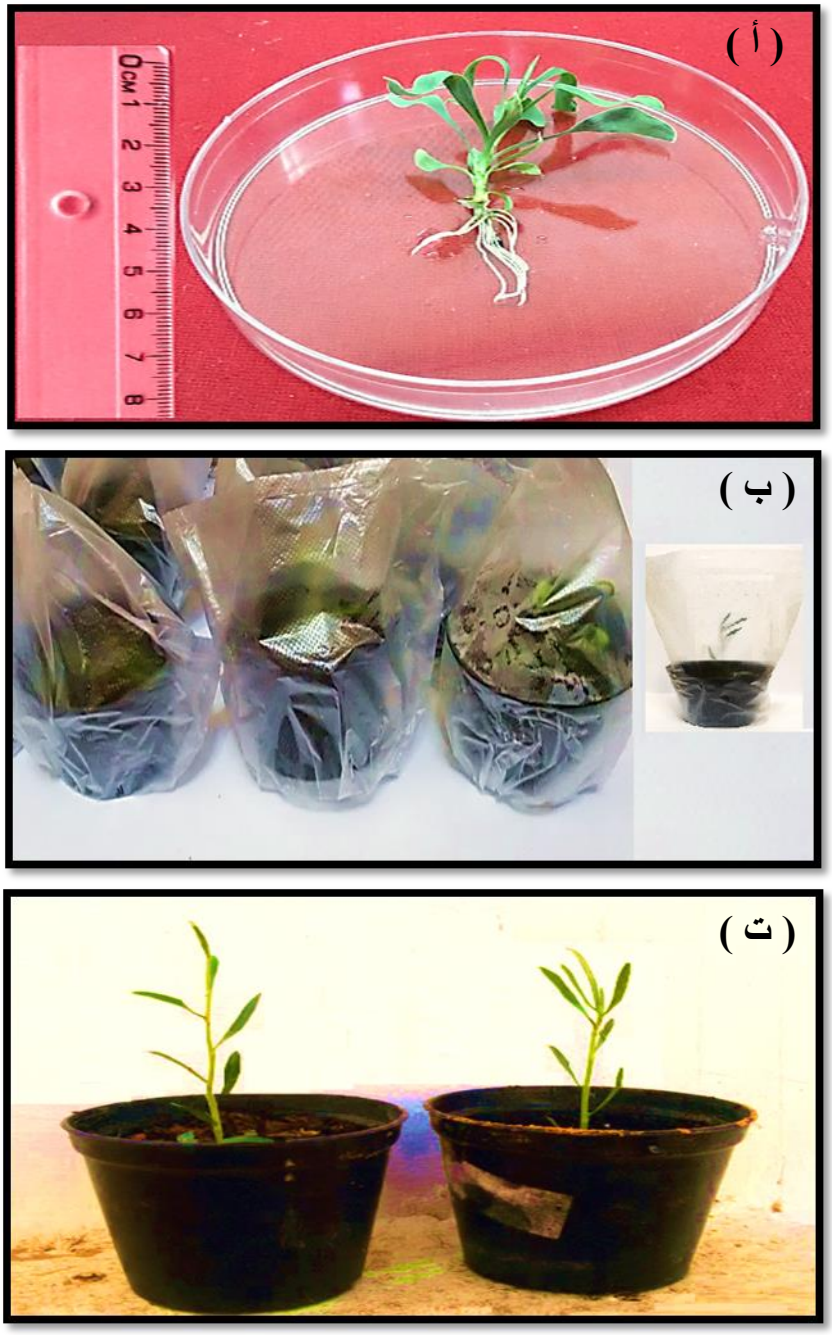


شكل 6 . تأثير إضافة التركيزات المختلفة من منظم النمو إندول حمض البيوتيريك (IBA) إلى الوسط المغذي MS على متوسط طول الجذور (بالسنتمتر) المتكونة على النموات الخضرية.

الأعمدة التي تحتوي على نفس الحروف لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى 5%.

أقلمة النبيتات الناتجة:

من خلال مراحل عملية الأقلمة شكل (7) يتضح أنه يمكن أقلمة النبيتات الناتجة والحصول على نسبة 70% للنبيتات المتبقية حية بعد عملية الأقلمة ومن النبيتات التي تم أقلمتها، وهذه النسبة تتفق مع ما وجده Karuppusamy and Pullaiah (2007)، حيث ذكروا أن نسبة النباتات الباقية حية لنبات *Bupleurum disticho-phyllum* الذى تم إكثاره بتقنية زراعة الأنسجة النباتية قدبلغت 71% بعد عملية الأقلمة.



شكل 7. مراحل عملية أقلمة النبيتات

أ. الجذور المتكونة على النموات الخضرية بعد إخراجها وغسيل الوسط الغذائي العالقة بها وقبل وضعها في أوعية الأقلمة.
ب . تغطية الأوعية وما تحويه من نبيتات بغطاء بلاستيكى. ت. بعض النباتات الحية بعد نجاح عملية الأقلمة.

شكر وتقدير

نتقدم بوافر الشكر والتقدير الى أ .المنذر عبد الحميد أبوغنية على دعمه لنا في إنجاز هذه الدراسة.

المراجع

أبوغنية،م .2015. حـفـظ وإكـثـار نـبـات *Bupleuriumfruticosum* بتقنية زراعة الأنسجة النباتية، رسالة ماجستير ، قسم علم النبات ، مدرسة علوم الحياة ، أكاديمية الدراسات العليا . طرابلس – ليبيا.

حسن، س .2007. دراسة تصنيفية وبيئية لنباتات محمية الشعافيين بمسلاتة– رسالة ماجستير. كلية الأداب والعلوم . جامعة المرقب . الخمس . ليبيا.

حسن، س .، ف . الرطيب ، ي . جلاب .2009.دراسة تصنيفية وبيئية لنباتات محمية الشعافيين بمسلاتة . المؤتمر الوطنى الثالث للعلوم الأساسية - جامعة الجبل الغربي - غريان - ليبيا.

زايد، ه .2009. مراجعة تصنيفية للفصيلة الخيمية فى ليبيا - رسالة ماجستير . قسم علم النبات . كلية العلوم . جامعة طرابلس. ليبيا.

Ana, M., Vernandis, C. and Simmaro, C. 2006. Seasonal variation of leaf, stem and umbel ray essential oils of *Bupleurumgibraltarium* Lam. Sanghai Science Technology Press. Vol.18, Issue 4, 395-401.

Barrero, A. F., Herrador, M. M. Akssira, M. Arteaga P. and Romera, J. L. 1999. Lignans and polyacetylenes from Bupleurumacutifolium, J. Nat. Prod., 62, 946–948.

Bertoli, A., Pistelli, L., Marelli, I., Fraternale, D., Giomperi L. and Rice, D. 2014. Volatile constiuents of Micropropagated plant of *Bupleurumfrutisosum* L. Plant Science 167,807- 810.

Bohlmann, F., Zdero, C. and Grenz, M. 1975. Notiz über einen weiteren terpenaldehydester. Umbelliferen , Chem. Ber., 108 , 2822–2823.

Cabe, J., Cabo, M. M., Jiménez, J. and Ocete, M. A. 1986. Essence de *Bupleurum gibraltaricum* Lam. (Ombellifères). I. Étudespréliminaires , Plantes Med. Phytother., 20, 168–173.

Fraternale, D., Giamperi1, L., Ricci1, D. and Rocchi, M.B.L. 2002. Micropropagation of *Bupleurum fruticosum* : The effect of triacontanol. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 69: 135–140.

Hsu, J. Y., Liu, S. Y. and Tsay, H. S.1993. Studies on tissue culture of Bupleurumfalcatum L. cv. Taic hung No.1. J. Agric. Res. China 42(3): 245-252.

Karuppusamy, S. and Pullaiah, T. 2007. In vitro shoot multiplication of *Bupleurum distichophyllum* Wight - A native medicinal plant of Southern India. Plant tissue culture and biotechnology. Vol. 17, No. 2.

Lloyd, G. and McCown, B.1981. Proceedings of the international Society for Plant Propagation, 30, 421-427.

Makunga, N. P., Jager, A. K. and Staden, J. V. 2006. Improved *in vitro* rooting and hyperhydricity in regenerating tissue of *Thapsiagarganica* L. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 86: 77-86.

Mansour, A. I. 1998. Etude phytochimique du *Bupleurumspinosum* L. et du *Bupleurumgibraltaricum* L. Sc. D. thesis,Faculté des Sciences, Tétouan, Morocco.

Uei-Chern, C., Yeh , C., Agrawal D., and Tsay H. 2006. *In vitro* micro-propagation and exvitro acclimation of *Bupleurum kaoi-an* endangered medicinal plant native to Taiwan. In vitro cellular and developmental biology plant. Volume 42, Issue 2, pp. 128-133.ISBN 978-3-8001-5406-7(GER).

Walter, E., Götz, E. and Bödeker N. 2008. SiegmundSeybold: Der grobe Zander. Eugen Ulmer KG, Stuttgart, ISBN 978-3-8001-5406-7(GER).

Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Plant physiol. 25:135-166.

Nose, M., Amagaya, S. and Ogihara, Y. 1989. Corticosterone secretion-inducing activity of saikosaponin metabolites formed in the alimentary tract, Chem. Pharm. Bull., 37, 2736–2740.

Ocete, M. A., Risco, S., Zarzuelo, A. and Jiménez, J. 1989. Pharmacological activity of the essential oil of *Bupleurum gibraltaricum*: anti-inflammatory activity and effects on isolated rat uteri, J. Ethnopharmacol., 25 : 305–313.

THE LIBYAN JOURNAL OF AGRICULTURE
Volume (23), No. (1-2), 2018: 30-41

Propagation of (*Bupleurum gibraltaricum* lam.) by tissue culture technique.

Abdulkarim G. Taeb[1], Salim Ediaf[2] and Fathi B. Artab[2]

1- Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tripoli, Libya.

2- Department of Plant Science, Faculty of Science, University of Tripoli, Libya.

ABSTRACT

This study was carried out at theplant tissue culture laboratories in the Biotechnology Research Centre of Tripoli Libya in collaboration with the Faculty of Agriculture University of Tripoli in order to find out the best protocol for propagation of(*Bupleurum gibraltaricum* lam.) through tissue culture technique . The results indicated that the best concentration of sodium hypochlorite solution for surface sterilization was 2.5% for 15 minutes and the best period for collection shoots source of explants node cutting was in March. The results also revealed that the most suitable media for shoots explants production was (MS) medium supplemented with 1mg/l benzyl adenine (BA) which gave the heights length of the shoots and number of leaves per shoots. Moreover, the height rooting rate, root length and root number were obtained in(MS) medium supplemented with 6mg/l of indole butyric acid. Furthermore, the results from this study showed that percentage of plants survival after acclimatization was up to 70%.

Key Words: *Bupleurum gibraltaricum*, tissue culture, benzyl adenine, indole butyric acid and Kinetin.

***Corresponding Author: Abdulkarim G. Taeb. Horticulture Dep., Fac. of Agric., Univ. of Tripoli.**

Phone. +**218927586046**. **e**-mail: .....

Received: 13/2/2018 **Accepted: 11/11/2018**