مواضع وأشكال بلورات إكسالات الكالسيوم في ساق وحامل ونصل ورقة نبات الحلص *Cissus rotundifolia* – الفصيلة العنبية Vitaceae

سعيد سالم محمد
قسم الأحياء، كلية التربية / صبر، جامعة عدن
DOI: https://doi.org/10.47372/uajnas.2017.n1.a03

الملخص

اخُتبرت في هذه الدراسة مواضع وأشكال بلورات اكسالات الكالسيوم في ساق وحامل ونصل ورقة نبات الحلص. أظهرت النتائج أنَّ لا وجود للبلورات في الطبقة الفوقية (الخارجية) من خلايا البشرة في جميع الأعضاء المدروسة (بشرة / تحت بشرة)، وكذا عدم مشاهدتها في النسيج المتوسط للورقة. من أنواع بلورات اكسالات الكالسيوم الخمسة المعتمدة في المراجع المتخصصة، أربعة أنواع شوهدت وهي: الرافيدية والنجمية والرمل البلوري والمنشورية. إضافة إلى مشاهدة بلورات وريدية تتواجد خارج خلايا قشرة الساق وداخلها ، وعصوية الشكل على جدر خلايا نسيج الساق أيضاً. شوهدت بلورات اكسالات الكالسيوم في طبقات تحت البشرة للورقة وفي الخلايا البرانشيمية لقشرة الساق نخاعه وحامل الورقة. اختلفت خلايا الرافيدات في أشكالها، فبعضها كان بيضوي الشكل وأخرى متطاولة أو مستطيلة وبها حليمات في نهاياتها، أو بجدر خلوية متموجة. خلايا الرمل البلوري دائرية الشكل. من حيث اختلاف شكل خلايا البلورات عما يجاورها من خلايا فقد اختلفت خلايا الرافيدات والرمل البلوري عن ما جاورها، في حين تماثلت خلايا البلورات النجمية والمنشورية مع ما جاورها. تم مشاهدة الرافيدات التي من النوع الثاني.

الكلمات المفتاحية: بلورات اكسالات الكالسيوم، نبات الحلص، الرافيدات.

المقدمة Introduction

بلورات إكسالات الكالسيوم شائعة الوجود في المملكة النباتية، فهي تتواجد في أكثر من 215 فصيلة نباتية، ولا يقتصر تواجدها على أنسجة نباتية معينة، بل تتواجد في جميع الأنسجة المختلفة: في الجذور (1، 13) والأوراق (12، 18) والساق (10) والبذور (15،24) والأعضاء الزهرية (21).

تترسب وتتجمع بلورات إكسالات الكالسيوم في الخلايا النباتية متخذة أشكالاً مختلفة هذا التشكل لا يعرف حتى الآن سببه وكيفية حدوثه، ومع ذلك فقد حددت خمسة أشكال مختلفة لبلورات اكسالات الكالسيوم في خلايا النباتات هذه الأشكال هي: 1- الحزم الإبرية/الرافيدات raphides: عبارة عن مجموعة من بلورات اكسالات الكالسيوم الشبيهة بالإبر، الإبر طويلة ونحيفة، حيث توجد في الخلية الواحدة حزمة واحدة فقط. 2- النجمية druse تجمعات لبلورات كروية أو منشورية عريضة نسبيا ولها رؤوس عدة مستدقة. 3- شبه قلم styloids بلورات مستقيمة أو مستطيلة بنهاية حادة او مسننة وتوجد في الخلية الواحدة من بلورة إلى بلورتين فقط. 4- المنشورية prism تأخذ شكل المنشور الزجاجي تقريباً وغالباً ما توجد بلورة واحدة في الخلية. 5- الرمل البلوري crystal sands وهي بلورات متناهية في الصغر، توجد بأعداد كبيرة جدا في الخلية النباتية. (14).

تصنف البلورات الإبرية raphides تبعاً لصفاتها المظهرية، وقد يوجد نوع أو أكثر من أنواع الرافيدات في النسيج النباتي الواحد،(20). (شكل 3) .

رافيدات النوع الأول :Type I raphides أكثر الاشكال شيوعاً، وتتضمن البلورة الإبرية المفردة منها على اربعة جوانب ونهاياتها مستدقة ومتماثلة.

رافيدات النوع الثاني Type II raphides: ايضا باربعة جوانب للبلورة الإبرية المفردة إلا أنَّ لها نهاية مستدقة واحدة والأخرى ثنائية التسنن او التشعب.

رافيدات النوع الثالث Type III raphides: البلورة الابرية المفردة لها ستة إلى ثمانية جوانب ونهاياتها مستدقة متماثلة

رافيدات النوع الرابع Type IV raphides: البلورة الابرية المفردة تاخذ شكل الحرف h في مقطعها العرضي ونهايتها غير متماثلة احد النهايات مستدقة والاخرى وتدية الشكل.

تعد الفصيلة العنبية (Vitaceae) من الفصائل النباتية النموذجية من حيث احتواء أعضائها الخضرية والتكاثرية (خصوصاً الثمار) على بلورات مختلفة الأشكال من إكسالات الكالسيوم، ويعد جود البلورات الرافيدية من صفات هذه الفصيلة. (25). الجنس *Cissus* أحد أجناس هذه العائلة، حيث يضم حوالي 350 نوع. (6) بينما يوجد خمسة أنواع تنتمي للجنس Cissus في اليمن. (1).

يهدف البحث الكشف عن بلورات اكسالات الكالسيوم في الاعضاء الخضرية (الساق والورقة) لنبات الحلص .*Cissus rotundifolia* (Forssk.) Vahl وتعيين اشكالها المختلفة وتوزيعها في انسجة النبات.

مواد وطرق العمل Material and Methods

جمعت العينات النباتية من حديقة كلية التربية / صبر ووضعت مباشرة في أكياس من البولي اثيلين بها قطرات قليلة من الماء ثم ربطت فوهاتها بإحكام ونقلت إلى المختبر لتحضير العينات المجهرية منها. حيث اخُذت قطاعات عرضية من الساق وحامل الورقة ونصلها فضلاً عن قطاعات طولية للساق. وايضا عينات مجهرية لسلخات من بشرة الورقة، جميعها تمت بالطرق اليدوية. استعملت صبغة السفرانين في صبغ العينات. وأخُذت الصور بوساطة كاميرا ديجتل نوع سوني وبمساعدة المجهر المركب نوع Optic ivymen system.

النتائج: Result

أثناء فحص القطاعات المستعرضة للساق شوهدت بلورات إكسالات الكالسيوم في معظم أنسجة الساق، إذ تواجدت البلورات الرافيداية والنجمية والرمل البلوري والمنشورية في بعض من خلايا قشرة الساق. و شُوهدت أشكال جديدة من البلورات خارج وداخل الخلايا ذات شكل وريدي (rosette) وأخرى صغيرة شبيهة بالابر بأعداد مختلفة داخل خلايا مضلعة الشكل واحتوت الخلايا الواقعة على جانب الحزم الوعائية (خلايا البشرة الداخلية (endodermis) الواقعة في مسار الاشعة النخاعية) على بلورات نجمية صغيرة الحجم. و شوهدت البلورات الرافيدية والرمل البلوري والقليل من الخلايا التي تحتوي على بلورات صغيرة جداً كتلك التي شوهدت في بعض خلايا القشرة، حيث توزعت الخلايا البلوريه عشوائيا في النسيج البرانشيمي للنخاع إلا أنهًا كانت اكثر تواجدا بالقرب من رؤوس الحزم الوعائية، (ناحية الخشب الاول للحزم الوعائية). (شكل 1)

في القطاعات العرضية للساق لم يشاهد اي تواجد للبلورات باختلاف أنواعها في الطبقة الخارجية للبشرة، و لم تشاهد البلورات النجمية الشكل في خلايا نسيج النخاع، في حين أظهرت القطاعات الطولية للساق أنَّ بعض خلايا اللحاء البرانشيمية تحتوي على بلورات الرمل البلوري.

في القطاعات المستعرضة لحامل الورقة شوهدت البلورات الرافيدية والنجمية والرمل البلوري في قشرة ونخاع حامل الورقة وتركزت معظم البلورات في القشرة. (شكل2).

أمَّا نصل الورقة فقد أظهرت نتائج المشاهدات المجهرية للقطاع العرضي تواجد البلورات في نسيج البشرة وعدم تواجدها في خلايا النسيج المتوسط للورقة. و أظهرت تلك النتائج امتلاك الورقة لبشرة متضاعفة مكونه من ثلاث طبقات خلوية فوق بعضها وانَّ الطبقة الأولى الخارجية من بشرة الورقة خالية تماما من تواجد البلورات في حين كان تواجدها بشكل رئيس في الطبقة الثانية من طبقات البشرة الثلاث.

ولمشاهدة أشكال البلورات بوضوح تم فحص سلخات من البشرة العليا والسفلى، وأظهرت النتائج وجود عدة أشكال مختلفة من البلورات في البشرة العليا والسفلى للورقة، إلا أن تواجد البلورات في البشرة السفلى كان أكثر من تواجدها في خلايا البشرة العليا. فقد شوهدت البلورات الرافيدية والرمل البلوري، فضلاً عن وجود خلية الى ثلاث خلايا متجاورة تحتوي على العديد من البلورات الإبرية الصغيرة المفردة والمتناثرة في تلك الخلايا من غير انتظام.

من خلال الكشف عن تواجد بلورات إكسالات الكالسيوم في الأعضاء الخضرية الثلاثة فقد احتوت خلايا نسيج البشرة للورقة على العدد الأكبر من بلورات إكسالات الكالسيوم مقارنة بتواجدها في أنسجة الساق وحامل الورقة.

المناقشة Discussion

بلورات اكسالات الكالسيوم شائعة الوجود في معظم نباتات معراة ومغطاة البذور وتتواجد في جميع الأنسجة النباتية، وبأشكال متغايرة، ويمكن أن تتشكل في أي عضو أو نسيج نباتي (20). ويزداد تكوين بلورات اكسالات الكالسيوم بزيادة مستويات الكالسيوم في وسط النمو ويقل بقلة مستوياته (5).

المقاطع العرضية للساق أظهرت التواجد الكبير للبلورات الإبرية (rephides) في خلايا القشرة والنخاع، وأنَّ الخلايا التي تحوي هذا النوع من البلورات وتدعى idioblasts تكون أكبر من الخلايا المجاورة لها مما سهل رؤيتها، و اختلفت الرافيدات والخلايا الحاوية لها (idioblasts) من حيث أشكالها الظاهرية، فقد ضمت بعض الخلايا رافيدات مكونة من عدد قليل من الإبر البلورية إلا أنَّها طويلة ورفيعة وتتجه قطرياً في الخلية، والخلية مستطيلة وطرفيها قد يكونان بهما حليمات (papillae)، او لا توجد به حليمات، (الشكل 4b). وأخرى كانت الخلايا الحاوية لها بجدر جانبية متموجة والبلورة تتجه مع المحور الطولي للخلية (الشكل 4a). و شوهد انطلاق وتحرر إبر الرافيدة عن طريق أحد حليمات الجدر المستعرضة للخلية. لقد وجد (20)، في أوراق نبات *Colocasia* خلايا رافيدية بها حليمات، وأشار إلى أنَّ بلورات إكسالات الكالسيوم قد يكون خروجها من الحليمات الموجودة في نهايتي الخلية.

ومن ناحية أخري فانَّ بعض البلورات الرافيدية احتوت على العديد من الإبر المكونة لها، كانت أقصر طولاً وأكبر عرضا من تلك الموجودة في الخلايا المستطيلة وذات الجدر الجانبية المتعرجة، هذا النوع من الرافيدات أحوتها خلايا بيضية إلى متطاولة الشكل. (الشكل: 4c;d). هذا الشكل من الرافيدات وخلاياها شاهدها العديد من الباحثتين فقد أشار(20) إلى وجودها في أوراق نبات *Clocasia* وعزلها (23) من أوراق نبات *vitis labrusca* . وفي الساق أيضا تواجدت البلورات النجمية في الطبقة الثانية من طبقات البشرة المتضاعفة وتميزت بكبر حجمها وتناسبها مع خليتها، و تواجدت في البشرة الداخلية على جانبي رؤوس الحزم الوعائية وظهرت هنا بأحجام صغيرة تتناسب مع الخلايا التي تحويها ايضا. وعلى العموم فانَّ الخلايا التي تحتوي البلورات النجمية لا تختلف كثيرا عما يجاورها من الخلايا. ونعتقد أن اختلاف حجم البلورة النجمية يتحدد بحجم الخلية التي تحتويها، فخلايا الصف الثاني من خلايا البشرة الخارجية كبيرة مقارنة بخلايا البشرة الداخلية (endodermis)، (الشكل 5). وهذا ما أكده (5). و تواجدت خلايا كبيرة دائرية الشكل محتوية على العديد من الرمل البلوري (الشكل 6).

في القطاع الطولي للساق فقد تبين احتواء بعض من خلايا برنشيما اللحاء على بلورات رملية، هذه الخلايا لم تختلف كثيراً عما جاورها من خلايا برنشيما اللحاء، (شكل 7).

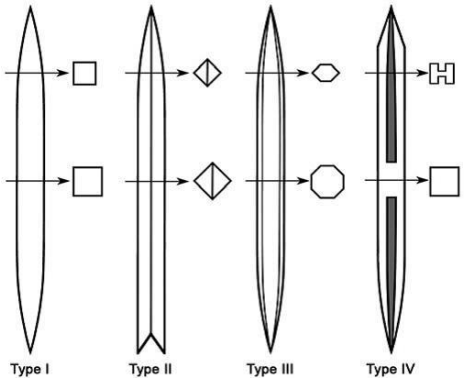
حامل الورقة لم يختلف في نوع خلايا البلورات وشكلها وكذا البلورات نفسها عما هو موجود في الساق إلا أن أعدادها كان قليلاً وقد يرجع ذلك إلى عدم تماثل أقطار كل من الساق وحامل الورقة ومن ثَّم الاختلاف في عدد الخلايا في قطاعاتها العرضية. وكانت خلايا الرافيديات ذات الجدر المتموجة ذات الحليمات هي الأكثر تواجدا في قطاعات حامل الورقة.

أمَّا نصل الورقة ،فعلى الرغم من الإشارة إلى وجود بلورات إكسالات الكالسيوم في العديد من اوراق النباتات، إلا أننا لم نشاهدها في النسيج المتوسط للورقة، وتركز وجودها في خلايا البشرة المتضاعفة في الصف الثاني من خلايا البشرة، حيث تضمنت العديد من خلايا البلورات، منها الرافيدات ذات الخلية البيضوية والقليل من الرافيدات المستطيلة ذات الجدر المستقيمة وغياب الخلايا متموجة الجدر وذات الحليمات، إلا أنَّ عدد لا بأس به من الخلايا الحاوية على بلورات الرمل البلوري كانت متواجدة فضلا عن وجود الخلايا المضلعة المحتوية على بلورات إبرية قصيرة وعديدة موزعة مندون انتظام في الخلية.

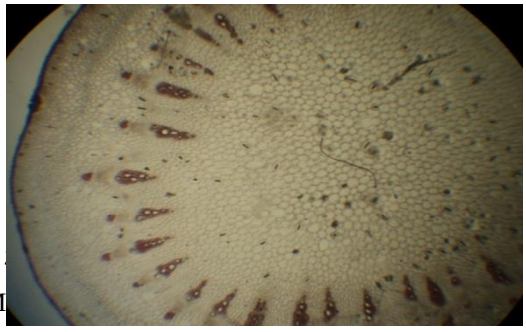
بشكل عام ، كان التواجد للأشكال المختلفة من البلورات التي شوهدت في هذه الدراسة يتركز بشكل أكبر في الصف الثاني من صفوف خلايا البشرة المتضاعفة والخلايا البرانشيمية لجميع أعضاء النبات المدروسة، إلا أنَّ تواجدها في الورقة كان أعظم مما هو موجود في خلايا أنسجة الساق وحامل الورقة.

من النتائج المدهشة في هذه الدراسة، أنَّها أظهرت خلايا كبيرة الحجم بها عدد كبير من بلورات صغيرة الحجم، نحيفة ومتناثرة بغير انتظام داخل الخلية إضافة إلى كون هذه الخلايا إما أن تكون مفردة او في مجموعه خلايا متجاورة لا تتعدى الثلاث الخلايا (الشكل 8). وأخرى ذات شكل وريدي اقتصر وجودها في بعض خلايا قشرة الساق، (الشكل 9). وأوضحت (4) أنَّ بلورات إكسالات الكالسيوم قد تكون أكثر مشاهدة في الفجوات العصارية وأنَّ بعض الباحثين قد سجلوا تواجدها في السيتوبلازم وأخرى حرة خارجة الخلايا وبلورات عصوية تترسب على جدر الخلايا من الخارج، وانَّه يمكن مشاهدة بلورات اإكسالات الكالسيوم في بعض النباتات بأشكال تختلف عن الأنواع الخمسة المتعارف عليها.

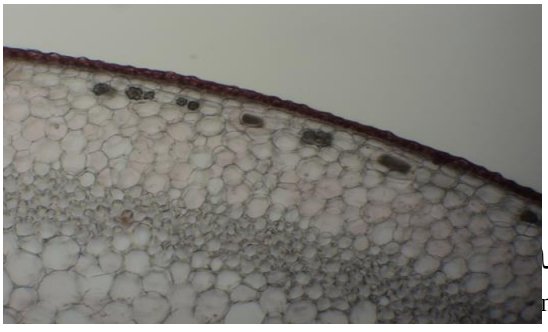
في هذه الدراسة تمكنا من تحديد نوع البلورات الاإبرية للرافيدات، حيث أظهرت المشاهدات المجهرية أنَّ البلورات الابرية في الرافيدة هي من النوع الثاني (Type II- Raphides) (الشكل 10)، والسابق شرحه في مقدمة البحث، وقد أوضح (3، 22) أنَّ هذا النوع من الرفيدات سجل في فصائل نباتية قليلة كالفصيلة العنبية) (Vitaceae، ويرى العديد من الدارسين والباحثين في تكوين بعض النباتات لبلورات إكسالات الكالسيوم أنَّما يرجع للوظائف المختلفة التي تقوم بها هذه البلورات والمتضمنة خزن الكالسيوم وحماية وتجهيز البناء الضوئي (11،8) وتنظيم مستويات الكالسيوم في خلايا النبات (7،15 ، 21،) وإزالة سمية المعادن الثقيلة (9)، وتقوية



الأنسجة، وتجميع الضوء وانعكاسه (16).

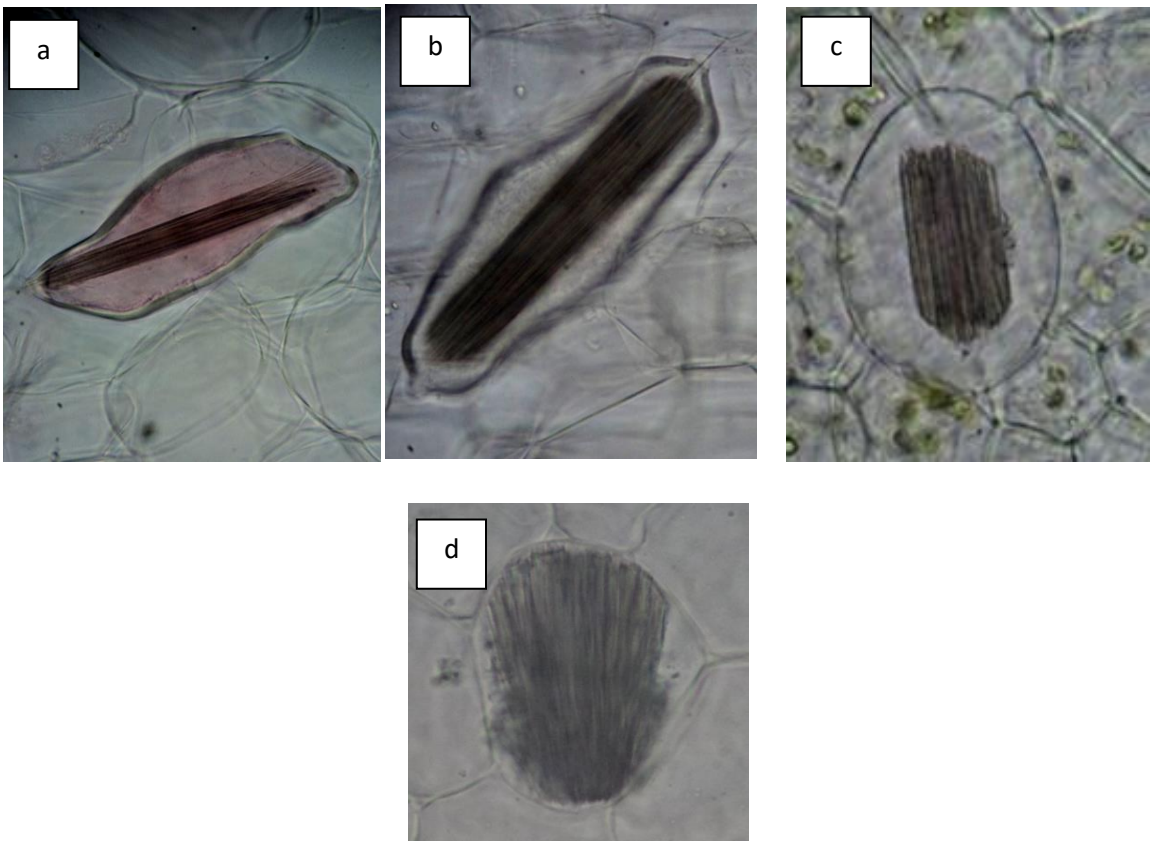


شكل (2): قطاع مستعرض في الساق يظهر توزيع بلورات إكسالات الكالسيوم

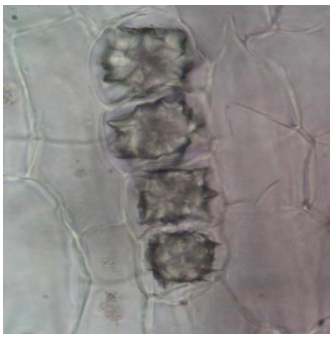


الأسا
nd M

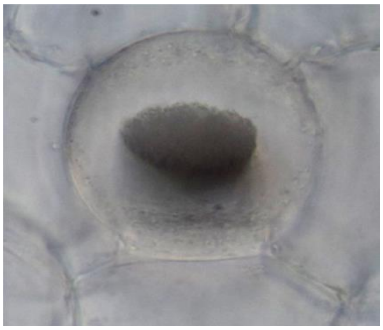
شكل (3): قطاع مستعرض في حامل الورقة يظهر توزيع بلورات إكسالات الكالسيوم



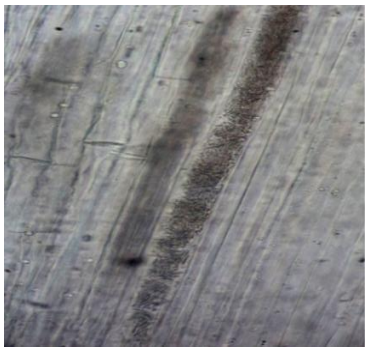
شكل (4): a- رافيدة من نسيج النخاع الساق جدر خليتها متموجة وبها حليمات في نهاياتها القمية b: رافيدة حامل الورقة جدر خليتها متموجة وبها حليمات في نهاياتها الزاوية. c: رافيدة من سلخ بشرة الورقة. خليتها بيضاوية. d- رافيدة مروحية الشكل من قشرة الساق.



شكل (5): بلورات نجمية من الاشعة النخاعية للساق

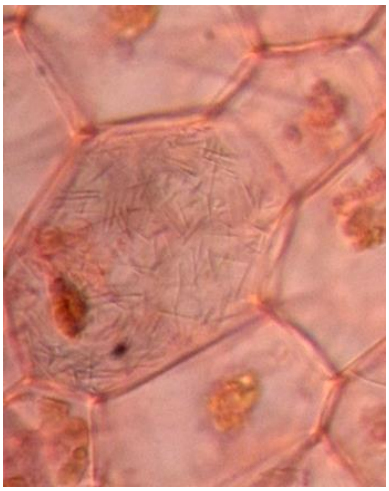


شكل (6): الرمل البلوري من قشرة الساق



شكل (7): ق. ط. في الساق يظهر بلورات صغيرة الحجم كثيرة العدد في خلية برانشيما اللحاء

شكل (8): الشكل الوريدي للبلورة. من قشرة الساق



شكل (9): بلورات صغيرة الحجم متناثرة في خلية مضلعة من بشرة الورقة

شكل (10): النوع الثاني من الرافيدات، احد النهايات مستدقة والاخرى متشعبة الى شعبتين

References

1- الخليدي، عبد الولي احمد. 2013. الحياة النباتية في اليمن. مركز عبادي للداسات والنشر، صنعاء- الجمهورية اليمنية. الصفحات 248-249.

2- Arnott, H.J. 1976. Calcification in higher plants. In Watabe. N.; Wilbur,K. M.(ed). The mechanisms of mineralization in the invertebrates and plants. The Belle, W. Baruch Library, Carolina, 55-78.

3- Cody, A.M. and Horner, T.Jr. 1983. Twin raphides in the Vitaceae and Araceae and model for their growth. Botanical Gazette, 144:318-330.

4- Esau, Katherine. 1985. Plant anatomy. John Wiley & Sons, Inc .pp 29-30.

5- Faheed, F.; Mazen,A. and Abo Elmohsen, S. 2013. Physiological and ultra structural studies on calcium oxalate crystal formation in some plants. Turk. J.Bot., 37:139-152.

6- Fernandes, G. and Banu, J. 2012. Medicinal properties of plants from the genus Cissus: A review. J. Medicinal plant research, 6(16): 3080-3086.

7- Franceschi, V.R. 1989. Calcium oxalate formation rapid and reversible precess in *Lemna minor* L. Protoplasma, 148: 130- 137

8- Franceschi, V.R. and Horner, H.T.Jr. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. The botanical review 46: 361-427

9- Franceschi,V.R. and Nakata, P.A. 2005. Calcium oxalate in plants: Formation and function. Annual Review of plant bio. 5:641-671

10- Grimson, M.J. and Arnott, H.J. 1983. An ultrastructural studies of druse crystals in the abscission zone of *Phyllanthus niruri* L. Scanning electron microscope, 4: 1771-1778.

11- Horner, H.T. Jr. and Wagner, B. L. 1995. Calcium oxalate formation in higher plants. In S.R. Khan (ed), Calcium oxalate in biological systems, pp 53-72

12- Horner, H.T.Jr. and Zindler. F.1982. Calcium oxalate crystals and crystal cell in the leaves of *Rhynchosia caribea* (Leguminosae: Papilionoideae). Protoplasma, 111:10-18.

13- Horner, H.T.Jr.; Kausch, A.P. and Wagner, B.L. 2000. Ascorbic acid: a precursor of oxalate in crystal idioblasts of *Yucca torreyi* in liquid root culture. Int. J. of plant science, 161:861-868.
14- Ifrim, C.; Jitareanu, C.D.; Slabu, C. and Marta, A.E.2012. Aspects regarding the calcium oxalate crystals at the grapevines cultivated in IAŞI. And Cotnari Viney Ards. Lucrări Ştiintifice. 55(2): 73-77.
15- Ilarslan, H.; Palmer, R.G. and Horner, H.T. 2001. Calcium oxalate crystals in developing seed of Soybean. Ann. Bot. 88: 243-257.
16- Kostman, T.A. and Franceschi, V.R. 2000. Cell and calcium oxalate crystal growth is coordinated to achieve high-capacity calcium regulation in plants. Protoplasma, 214: 166-179
17- Kuo-Huang, L.; Maurice, S. and Franceschi, V.R. 2007. Correlation between calcium oxalate crystals and photosynthetic activities in plasade cells of shade adapted *Peperomia glabella* . Botany, 48:155-164
18- Lesten, N.R. and Horner, H.T. 2000. Type of calcium oxalate crystals and macro patterns in leaves of Prunus (Rosaceae: Prunoideae), Plant systematic and evolution, 224: 83-96.
19- Molano-Flores, B. 2001. Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of Sida (Malvaceae). Ann. Bot. 88: 387-391
20- Saadi, S.K.Md.A. and Mondal, A.K.2011. Studies on the calcium oxalate crystals of some selected Aroids (Araceae) in Eastern India. Adv. Bioresearch. 2(1): 134-143.
21- Tilton, V.R. and Horner, H.T.Jr. 1980. Calcium oxalate raphide crystals and crystalliferous idioblasts in the carpels of *Ornithogolum coudatum*. Ann. Botany, 46: 533-539.
22- Volk, G. M.; Lynch-Holm,V.; Kostman,T. A. and Franceschi,V.R. 2002. The role of druse and raphide calcium oxalate crystals in tissue calcium regulation in *Pistia stratiottes* leaves. Plant biology, 4: 34-45.
23- Webb, M.A. 1999. Cell-mediated crystallization of calcium oxalate in plants. Plant cell, 11: 751-761.
24- Webb. M.A. and Arnott, H.J. 1983. Inside plant crystals: a study of the noncrystalline core in druses of Vits vinifera endosperm. Scannin electron microscope, 4: 1759- 1770.
25- Zanoschi,V. and Toma, C. 1985. Morfologia Şi anatomia plantelor. Editura Ceres. Bucursti.

Location and shape of calcium oxalate crystals in stem, petiole and limb for *Cissus rotundifolia* (Forssk.) Vahl. Vitaceae.

Saeed Salem Mohamed
Dep. of Biology, Faculty of Education, Saber, University of Aden
DOI: https://doi.org/10.47372/uajnas.2017.n1.a03

Abstract

The present study has examined the morphology and location of calcium oxalate crystals in the stem, petiole and leaf of *Cissus rotundifolia* (Forssk.) Vahl. The results showed that: no crystals were observed in epidermis cells for all organs that were studied (epidermis / hypodermis), and no crystals in mesophyll tissue, as well.

Out of the five types of calcium oxalate crystals, mentioned in the specialized sources, four of them were noticed: raphides, druses, crystal sands and prisms. In addition, crystalline were observed rosette-like inner and outer of cortex cells and spherical shape on cell wall pith tissues of stem.

Calcium oxalate crystals were observed in hypodermis layers of leaf, and cortex and pith parenchyma cells of petiole and stem. The raphides idioblasts (cells that containing raphides) were different in their shapes, some of them are ovate, others are oblong or rectangular with papillae at ends, or with elliptical shaped cell wall; crystal sands idiobast of rounded cells Raphides and crystal sands idioblstes were differed from surrounded cells, whereas in druse and prism idioblasts they were similar to those cells around them. . Raphides of the second type were observed in this study.

Key words: calcium oxalate crystals, *Cissu rotundifolia*, raphides .