

تأثير بعض الأحماض الامينية والفيتامينات في إكثار نباتات الهيل

Elettaria cardamomum Maton. خارج الجسم الحي *In vitro*

- عمار زكي قصاب باشي⁽¹⁾ عبدالله نجم النعيمي⁽²⁾ وجدان عباس سليمان النائب⁽³⁾
(1) قسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل / العراق.
(2) قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة الموصل / العراق.
(3) وزارة العلوم والتكنولوجيا / قسم نينوى / العراق.

Email: Dr.ammar_albasha@yahoo.com

الخلاصة

اجريت تجربتان لإكثار نباتات الهيل خارج الجسم الحي، دُرس في الاولى تأثير اضافة انواع مختلفة من الاحماض الامينية (كلايسين، ميثونين، كلوتامين، اسبارجين وكازاين) بالتراكيز (100، 200، 300، 400 و500) ملغم/لتر بالإضافة الى معاملة المقارنة (2 ملغم/لتر كلايسين) بموجب تركيبة وسط MS (1962) أما في التجربة الثانية فُدرس تأثير اضافة بعض فيتامينات مجموعة B (الثايمين، حامض النيكوتين و البايرودوكسين) بالتراكيز (10، 20، 30 و 40) ملغم/لتر بالإضافة الى معاملة المقارنة (0.1، 0.5 و 0.5) ملغم/لتر لكل منهم على التوالي بموجب تركيبة وسط MS (1962). بينت النتائج بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة بان رفع تركيز الكلايسين المضاف الى الوسط الغذائي الى 100 ملغم/لتر أو اضافة 100 ملغم/لتر ميثونين أو 300 ملغم/لتر كازاين أو 400 ملغم/لتر اسبارجين الى الوسط الغذائي سببت زيادات معنوية في عدد الافرع (11.6، 12.33، 11.20، 9.44) فرع/نبات على التوالي مقارنة مع معاملة المقارنة (2 ملغم/لتر كلايسين) التي اعطت (6.73 فرع/نبات). كذلك سببت اضافة الاسبارجين بالتراكيز المدروسة زيادات معنوية في اطوال الافرع، عدد الاوراق، عدد الجذور واطوالها مقارنة مع معاملة المقارنة. اما فيما يخص تأثير الفيتامينات فبينت النتائج بان زيادة تركيز الثايمين الى 10 ملغم/لتر زاد معنويا من عدد الافرع (8.14 فرع/نبات) والى 20 ملغم/لتر زاد معنويا من عدد الاوراق (3.54 ورقة/نبات) مقارنة مع معاملة المقارنة (4.5 فرع/نبات و 2.74 ورقة/نبات) على التوالي. كذلك سببت اضافة 30 ملغم/لتر بايرودوكسين زيادات معنوية في عدد الافرع (9.60 فرع/نبات) وعدد الاوراق (3.33 ورقة/نبات) مقارنة مع معاملة المقارنة (8.67 و 2.90) على التوالي.

الكلمات الدالة: *Elettaria cardamomum*، زراعة الأنسجة النباتية، مجموعة فيتامين B، احماض امينية.

تاريخ تسلم البحث: 2013/1/15 ، وقبوله: 2014/3/18.

المقدمة

يُعد نبات الهيل *Elettaria cardamomum* واحد من النباتات العطرية والطبية المهمة (Syamkumar و اخرون، 2005) ، وهو نبات عشبي معمر (Islam، 2004) يعود الى العائله الزنجبيلية Zingiberaceae (Jamal و اخرون، 2006)، يُعرف بملك التوابل (Padmini و اخرون، 2000) ويحتل المرتبة الثانية عالميا في ترتيب التوابل بعد الزعفران لقيمته التجارية العالية (Prasath و Venugopal، 2007) فهو يُستخدم في الغذاء والعطارة و كعمود ضروري في تحضير الكثير من التوابل بالإضافة الى قيمته الطبية العالية (Schoenbart، 2006) كونه مثبط لنشاط البكتريا ومضاد للفطريات ما دفع الى استخدامه في كثير من الصناعات الدوائية منها معاجين الاسنان (Fraser و Davis، 1992) و غرغرة الاسنان واللثة (يحيى، 2003) هذا بالإضافة الى دخوله في صناعة الصابون والعطور ومستحضرات التجميل (ولي، 1990 و Marongiu و اخرون، 2004). يُكثر نبات الهيل عادة أما بالبذور او بتقسيم رايزومات النبات لكن تعاني كلا الطريقتين من مشاكل، فالطريقة الاولى تعاني من صعوبة انبات البذور و بطئ نموها بعد الانبات (Chopra و Petre، 2005) بالإضافة الى اختلاف النباتات الناتجة منها وراثيا عن النبات الام في حين تعاني الطريقة الثانية من قلة النباتات الناتجة (4-6) في السنة الواحدة مقابل امكانية انتاج 1000 نبات في السنة مطابقة وراثيا لنبات الام ومبكرة النضوج في حالة اكثار النبات بالزراعة النسيجية (Vasil، 1994 و Anonymous، 1995 و Anonymous، 2000)، أجريت عدة دراسات لإكثار نباتات الهيل بالزراعة النسيجية (النائب، 2008) لكن جميعها لم يتطرق الى دراسة تأثير الاحماض الامينية والفيتامينات على الرغم من اهميتها وعُظم تأثيرها في اعادة تكوين النباتات المكثرة خارج الجسم الحي (Benson، 2000) فالأحماض الامينية تمثل مصدر رئيسي للنيتروجين العضوي (الرفاعي و الشوبكي، 2002) هذا بالإضافة الى دورها في بناء البروتينات والانزيمات التي تلعب دور رئيسي في السيطرة على ميكانيكية تمايز الخلايا (محمد، 1985) وبالتالي اخلاف

النبات أما الفيتامينات فهي مركبات نيتروجينية تلعب دور مهم في انجاز النظم الانزيمية داخل النبات اذ ان معظمها يقوم بدور مرافقات انزيمية وخاصة مجموعة فيتامين B فهي تساهم بشكل فعال في انجاز العديد من العمليات الحيوية كالأكسدة والاختزال ونقل الطاقة ونزع مجموعة الكربوكسيل ونقل مجموعة الكربونيل (طوشان واخرون، 2000). لقد اشار AL-Khayri (2001) الى ضرورة اضافة الاحماض الامينية الى الاوساط الغذائية لإتمام عمليات النمو على الرغم من مقدرة خلايا الاجزاء النباتية على تكوينها كون الكميات المصنعة منها اقل من الحاجة المثالية لها، من جهة اخرى اكد الكنانى (1987) على ضرورة اضافة الفيتامينات الى الاوساط الغذائية كأسلوب وقائي لعدم وضوح متطلبات كل جزء نباتي منها وتجنب تأثير غيابها او نقصها في طبيعة نمو تلك الاجزاء، كما اشار سلمان (1988) الى ان اضافة فيتامينات B₁ (Thiamine) و Nicotinic B₃ (acid) و Pyridoxine B₆ الى الاوساط الغذائية يحفز نمو الجزء النباتي. تأسيساً على ما تقدم ولقلة الدراسات عن تأثير الأنواع المختلفة من الاحماض الامينية والفيتامينات وتركيزها المثلى في اثمار النبات، يهدف البحث الى دراسة تأثير اضافة انواع مختلفة من الفيتامينات والاحماض الامينية وبتراكيز مختلفة في نمو وتضاعف نباتات الهيل خارج الجسم الحي.

مواد البحث وطرقه

اجريت الدراسة في مختبر زراعة الانسجة والخلايا النباتية/كلية الزراعة والغابات/جامعة الموصل. أخذت قطع سيقان رايزومية من نباتات هيل نامية في الحقل، غُسلت بالماء والصابون بشكل جيد ثم وضعت تحت ماء جاري لمدة 30 دقيقة، نقلت بعدها الى كابينة انسياب الهواء الطبقي Laminar-air flow cabinet لإجراء عمليات التعقيم السطحي وذلك بغمرها في الكحول الايثيلي 96% لمدة 2 دقيقة متبوعاً بغمرها بمحلول كلوريد الزئبق تركيز 1.0% لمدة 14 دقيقة مع التحريك المستمر، ثم غسلت من ثلاث الى اربع مرات في ماء مقطر ومعقم لإزالة تأثير المادة المعقمة. بعد الانتهاء من عملية التعقيم السطحي لقطع السيقان الرايزومية نُقلت الى اطباق بتري تحوي اوراق ترشيح لتنشيفها بعدها عُزلت منها البراعم وقُطعت الى شرائح بسمك 0.1-0.2 سم لاستخدامها لإنشاء المزارع النسيجية للحصول على نباتات الهيل، وذلك من خلال زراعتها في اوساط غذائية تكونت من املاح الوسط MS (Murashige و Skoog، 1962) مضافاً لها 0.1 ملغم/لتر Thiamine، 0.5 ملغم / لتر Pyridoxine، 0.5 ملغم / لتر Nicotinic acid، 100 ملغم / لتر Myo-Inositol، 2 ملغم/لتر Glycine، 30 غم/لتر Sucrose، 4 ملغم/لتر Benzyladenine (BA)، 1 ملغم/لتر NAA (Naphthaleneacetic acid و 6 غم/لتر اكار نوع Agar-Agar (النائب، 2008). بعد تحضير الوسط الغذائي عُملت الدالة الهيدروجينية الى 5.7 وقُسم على قناني زجاجية حجم 100 مل بواقع 20 مل لكل قنينة ثم عُقم في المعقم (الموصدة) لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة 121 °م و 104 ضغط جو. بعد الزراعة حُفظت الزروع في غرفة النمو عند 23-25 °م وشدة اضاءة 2000 لوكس جُهزت من انابيب الفلورسنت البيضاء وبواقع 16 ساعة ضوء و 8 ظلام لكل يوم. أُعيدت زراعة الاجزاء النباتية بعد مرور 4 اسابيع من بدء الزراعة ومن دون تقطيع على وسط غذائي طازج جديد تكون من نفس المكونات اعلاه وبعد مرور 8 اسابيع من الزراعة الاولى تم الحصول على العدد الكافي من نباتات الهيل لتنفيذ التجارب التالية على التوالي:

1- دراسة تأثير بعض الاحماض الامينية في نمو وتضاعف نباتات الهيل: تم فيها زراعة نباتات صغيرة بطول 1 سم نمو خضري و 0.5 سم نمو جذري تقريباً ناتجة من مرحلة النشوء ومماثلة النمو على وسط MS مشابه في تركيبه للوسط المستخدم خلال مرحلة النشوء باستثناء خلوه من منظمات النمو واحتواءه على احد الاحماض الامينية (كلايسين، ميثونين، كلوتامين، اسبارجين وكازابين) كل على انفراد وبالتركيز (100، 200، 300، 400 و 500) ملغم/لتر بالإضافة الى معاملة المقارنة التي احتوت على (2 ملغم/لتر كلايسين) حسب تركيبة وسط MS (1962).

2- دراسة تأثير بعض فيتامينات مجموعة B في نمو وتضاعف نباتات الهيل: تم فيها زراعة نباتات صغيرة بطول 1 سم نمو خضري و 0.5 سم نمو جذري تقريباً ناتجة من مرحلة النشوء ومماثلة النمو على وسط MS مشابه في تركيبه للوسط المستخدم خلال مرحلة النشوء باستثناء خلوه من منظمات النمو واحتواءه على احد فيتامينات مجموعة B وبتراكيز مختلفة وكما يلي:

أ- الثيامين (B₁) Thiamine بالتركيز (10، 20، 30 و 40) ملغم/لتر بالإضافة الى معاملة المقارنة التي احتوت على 0.1 ملغم/لتر ثيامين بموجب تركيبة وسط MS (1962).

ب- حامض النيكوتين Nicotinic acid (B₃) بالتركيز (10، 20، 30 و40) ملغم/لتر بالإضافة الى معاملة المقارنة التي احتوت 0.5 ملغم/لتر نيكوتين بموجب تركيبة وسط MS (1962).

ج- البايروودوكسين Pyridoxine (B₆) بالتركيز (10، 20، 30 و40) ملغم/لتر بالإضافة الى معاملة المقارنة التي احتوت 0.5 ملغم/لتر بايروودوكسين بموجب تركيبة وسط MS (1962).

أستخدم التصميم العشوائي الكامل C.R.D في تنفيذ التجارب (الراوي وخلف الله، 1980) وبواقع 20 مكرر لكل معاملة وتمت مقارنة المتوسطات وفق اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال 5% وأستعمل البرنامج الجاهز (SAS، 1996) لتحليل البيانات.

النتائج والمناقشة

1- تأثير بعض الاحماض الامينية في نمو وتضاعف نباتات الهيل: يتضح من الجدول (1) بان زيادة تركيز الكلايسين المضاف الى وسط MS المستخدم لتنمية نباتات الهيل عما موصى به في تركيبة نفس الوسط 1962 (2 ملغم/لتر) ادى الى زيادة عدد الافرع المتكونة من النبات الام وبلغت هذه الزيادة درجات المعنوية خاصة في المعاملات التي احتوت (100، 200، 300، 400) ملغم/لتر كلايسين اذ تم الحصول على اكثر عدد من الافرع لكل نبات (11.6) في الوسط المجهز بـ 100 ملغم/لتر في حين تكون اقل عدد من الافرع في معاملة المقارنة (2 ملغم/لتر كلايسين) وبلغت 6.73 فرع/نبات (الشكل 1). اما في ما يخص تأثير زيادة تركيز الكلايسين على صفات عدد الاوراق، اطوال الافرع، عدد الجذور واطوالها فيلاحظ من نفس الجدول بان افضل النتائج التي تم الحصول عليها كانت في معاملة المقارنة (2 ملغم/لتر كلايسين) اذ سببت زيادة التركيز انخفاض قيم الصفات المدروسة اعلاه مقارنة مع معاملة المقارنة وبلغت هذه الانخفاضات درجات معنوية في بعض المعاملات.

يتضح من الجدول (2) بان اضافة الميثونين الى وسط MS ادت الى زيادة عدد الافرع المتكونة من نبات الام مقارنة مع معاملة المقارنة (2 ملغم/لتر كلايسين) وبلغت هذه الزيادات درجة المعنوية في المعاملات التي احتوت (100، 200، 300) ملغم/لتر ميثونين اذ تم الحصول على اعلى معدل لعدد الافرع لكل نبات في الوسط المجهز بـ 100 ملغم/لتر وبلغ 12.33 فرع/نبات في حين تكون اقل عدد افرع في وسط معاملة المقارنة (2 ملغم/لتر كلايسين) وبلغ 6.73 فرع/نبات (شكل 1). أما في ما يخص تأثير اضافة التراكيز المختلفة من الميثونين الى وسط MS في صفات عدد الاوراق، اطوال الافرع، عدد الجذور واطوالها فيلاحظ من نفس الجدول بان اضافة الميثونين بالتراكيز المدروسة قد سببت خفض قيم هذه الصفات مقارنة مع معاملة المقارنة (2 ملغم/لتر كلايسين) وأدت الاضافة عند بعض التراكيز الى خفض معنوي في قيم الصفات اعلاه.

الجدول (1): تأثير تراكيز مختلفة من الكلايسين (ملغم/لتر) في تضاعف وتجذير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Table (1): Effect of Glycine (mg/L) concentration on proliferation and rooting of cardamom plants *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

أطوال الجذور (سم) roots length (cm)	عدد الجذور No. of roots	عدد الأوراق No. of leaves	أطوال الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الأفرع No. of shoots	تراكيز الكلايسين (ملغم.لتر ⁻¹) Concentration of Glycine (mg/L)
1.03 a	2.39 a	2.35 a	1.48 a	6.73 c	(2)Control
0.29 c	1.34 b	1.77 c	0.95 b	11.60 a	100
0.40 bc	1.45 b	2.05 a-c	0.98 b	10.07 ab	200
0.52 bc	1.71 b	1.94 bc	1.07 b	9.80 ab	300
0.65 a-c	1.79 b	2.20 ab	1.15 b	9.67 ab	400
0.84 ab	1.66 b	2.32 ab	1.43 a	7.40 bc	500

القيم التي تحمل أحرف متشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويًا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Figures in the columns marked with the same letters don't differ statistically at $p=0.05$.

الجدول (2): تأثير تراكيز مختلفة من الميثيونين (ملغم/لتر) في تضاعف وتجذير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Table (2): Effect of Methionine concentration (mg/L) on proliferation and rooting of cardamom plants *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

أطوال الجذور (سم) roots length (cm)	عدد الجذور No. of roots	عدد الأوراق No. of leaves	أطوال الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الأفرع No. of shoots	تراكيز الميثيونين (ملغم.لتر ⁻¹) Concentration of Methionine (mg/L)
1.03 a	2.39 a	2.35 a	1.48 a	6.73 c	Control
0.86 a	1.44 b	2.07 ab	1.36 a	12.33 a	100
0.43 b	0.91 c	1.50 c	1.07 b	11.87 a	200
0.46 b	1.07 bc	1.68 c	1.03 b	9.67 b	300
0.12 c	0.89 c	1.63 c	1.05 b	8.13 bc	400
0.18 c	0.84 c	1.88 bc	1.13 b	9.87 b	500

القيم التي تحمل أحرف متشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويًا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Figures in the columns marked with the same letters don't differ statistically at p=0.05.

يتضح من الجدول رقم (3) بان اضافة الحامض الاميني الكازايبين والذي يمثل مزيج من 28 حامض اميني (سلمان، 1988) ادى الى زيادة عدد الافرع لنباتات الام مقارنة مع معاملة المقارنة (2 ملغم/لتر كلايسين) وبلغت هذه الزيادات درجة المعنوية في المعاملات التي احتوت (200، 300) ملغم/لتر كازايبين اذ تم الحصول على اكبر عدد افرع وبلغ (11.13 و 11.20) فرع/نبات على التوالي في حين تم الحصول على اقل عدد افرع في معاملة المقارنة وبلغت 6.73 فرع/نبات (الشكل 1). من جهة اخرى لم تسبب اضافة الكازايبين باي من التراكيز المدروسة زيادة معنوية في عدد الاوراق، اطوال الافرع، عدد الجذور واطوالها علما بان افضل القيم لهذه الصفات سجلت في المعاملة التي احتوت 500 ملغم/لتر كازايبين.

الجدول (3): تأثير تراكيز مختلفة من الكازايبين (ملغم/لتر) في تضاعف وتجذير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Table (3): Effect of Gasaine concentration (mg/L) on proliferation and rooting of cardamom plants *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

أطوال الجذور (سم) roots length (cm)	عدد الجذور No. of roots	عدد الأوراق No. of leaves	أطوال الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الأفرع No. of shoots	تراكيز الكازايبين (ملغم.لتر-1) Concentration of Gasaine (mg/L)
1.03 a	2.39 a	2.35 a	1.48 ab	6.73 b	Control
1.29 a	2.35 a	2.40 a	1.58 a	7.47 b	100
1.26 a	2.07 a	2.15 a	1.46 ab	11.13 a	200
0.28 b	0.98 b	2.14 a	1.38 b	11.20 a	300
1.19 a	2.27 a	2.48 a	1.47 ab	8.33 b	400
1.42 a	2.61 a	2.45 a	1.60 a	8.60 b	500

القيم التي تحمل أحرف متشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويًا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Figures in the columns marked with the same letters don't differ statistically at p=0.05.

يلحظ من الجدول (4) بان اضافة الكلوتامين بالتراكيز المدروسة سببت زيادة عدد الافرع لكل نبات مقارنة مع معاملة المقارنة (2 ملغم/لتر كلايسين) لكن هذه الزيادات لم ترتقي الى مستوى المعنوية وكذلك الحال لبقية الصفات المدروسة مع بعض تراكيز الكلوتامين المضافة (الشكل 1).

الجدول (4): تأثير تراكيز مختلفة من الكلوتامين (ملغم/لتر) في تضاعف وتجذير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Table (4): Effect of Glutamine concentration (mg/L) on proliferation and rooting of cardamom plants *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

أطوال الجذور (سم) roots length (cm)	عدد الجذور No. of roots	عدد الأوراق No. of leaves	أطوال الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الأفرع No. of shoots	تراكيز الكلوتامين (ملغم.لتر ⁻¹) Concentration of Glutamine (mg/L)
1.03 a	2.39 a	2.35 a	1.48 a	6.73 a	Control
0.81 a	1.87 a	2.40 a	1.54 a	8.40 a	100
1.10 a	2.15 a	2.15 a	1.55 a	8.53 a	200
0.98 a	2.52 a	2.14 a	1.37 a	8.87 a	300
0.96 a	2.57 a	2.48 a	1.43 a	7.80 a	400
0.93 a	2.35 a	2.45 a	1.32 a	7.40 a	500

القيم التي تحمل أحرف متشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Figures in the columns marked with the same letters don't differ statistically at p=0.05.

يتضح من جدول (5) بان إضافة الاسبارجين بالتراكيز (200، 300، 400، 500) ملغم/لتر ادت الى زيادة عدد الافرع المتكونة من النبات الام مقارنة مع معاملة المقارنة (2ملغم/لتر كلايسين) اذ تم الحصول على اعلى عدد من الافرع لكل نبات من الزراعة في الوسط المجهز بـ 400 ملغم/لتر اسبارجين وبلغت 9.44 فرع/نبات (شكل 1) والتي تفوقت معنويا على معاملة المقارنة والمعاملات التي احتوت 100 و200 ملغم/لتر اسبارجين. من جهة اخرى سببت اضافة الاسبارجين بتركيز (100، 200، 300) ملغم/لتر زيادات معنوية في عدد الاوراق مقارنة مع معاملة المقارنة اذ تم الحصول على اكبر عدد من الاوراق من النباتات المزروعة على الوسط المجهز بـ 300 ملغم/لتر وبلغت 3.66 ورقة/نبات مقابل 2.35 ورقة/نبات في معاملة المقارنة. اما في ما يخص صفات اطوال الافرع، عدد الجذور واطوالها فيلحظ من نفس الجدول بان بعض تراكيز الاسبارجين المدروسة قد حققت زيادات معنوية في قيم هذه الصفات مقارنة مع معاملة المقارنة اذ تم الحصول على افضل القيم من النباتات المزروعة على الوسط المجهز بـ 100 ملغم/لتر اذ كونت فروع بلغت اطوالها 2.04 سم و جذور بلغت اعدادها 3.45 جذر/نبات وبمعدل طول 3.62 سم متفوقاً معنويا على معاملة المقارنة التي كونت فروع بلغت اطوالها 1.48 سم و جذور بلغت اعدادها 2.39 جذر/نبات وبمعدل طول 1.03 سم.

من المعروف ان الاحماض الامينية تضاف الى الاوساط الغذائية كمصدر للنيتروجين العضوي وذلك لاستخدامها من قبل الجزء النباتي بشكل اسرع من النيتروجين غير العضوي الموجود في الوسط الغذائي وبالتالي تكون اكثر جاهزية، هذا ما جعلها واحدة من اهم العوامل التي تساعد في نمو الخلايا واعادة تكوين النبات (جندي، 2003) كون النيتروجين يلعب دور رئيسي في بناء صبغة الكلوروفيل لاشتراكه في تركيب وحدات الـ Porphyrins الداخلة في تركيب هذه الصبغة (Havline وآخرون، 2005) وبناء الكربوهيدرات والبروتينات ومن ثم الانسجة الجديدة هذا بالإضافة الى دوره في صنع هورمون النمو الطبيعي (اندول حامض الخليك) الذي يلعب دورا كبيرا في انقسام الخلايا واستطالتها وتحفيز النشاط المرستيمي للنبات (Singh، 2003) وبالتالي تحسين النمو الخضري.

الجدول (5): تأثير تراكيز مختلفة من الإسبارجين (ملغم/لتر) في تضاعف وتجزير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Table (5): Effect of Asparagine concentration (mg/L) on proliferation and rooting of cardamom plants *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

أطوال الجذور (سم) roots length (cm)	عدد الجذور No. of roots	عدد الأوراق No. of leaves	أطوال الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الأفرع No. of shoots	تراكيز الإسبارجين (ملغم/لتر ⁻¹) Concentration of Asparagine (mg/L)
1.03 c	2.39 bc	2.35 b	1.48 b	6.73 bc	Control
3.62 a	3.45 a	3.43 a	2.04 a	6.20 c	100
1.72 bc	2.01 c	3.51 a	1.51 b	6.82 bc	200
2.58 ab	3.61 a	3.66 a	2.05 a	8.67 ab	300
2.42 a-c	3.33 a	3.17 ab	2.02 a	9.44 a	400
1.68 bc	3.03 ab	2.93 ab	1.64 ab	7.91 a-c	500

القيم التي تحمل أحرف متشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويًا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Figures in the columns marked with the same letters don't differ statistically at p=0.05.



الشكل (1): تأثير تراكيز مختلفة من الأحماض الأمينية في تضاعف وتجزير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Figure(1):Effect of different concentration of amino acids on proliferation and rooting of cardamom plant *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

2- تأثير بعض فيتامينات مجموعة B في نمو وتضاعف نباتات الهيل: الثيامين (B₁): يتضح من الجدول (6) بان زيادة تركيز الثيامين المضاف الى الوسط الغذائي MS ادت الى زيادات معنوية في صفتي عدد الافرع وعدد الاوراق في بعض المعاملات مقارنة مع معاملة المقارنة (0.1 ملغم/لتر) في حين لم تحقق أي زيادات معنوية في صفات اطوال الافرع، عدد الجذور الكلي وعدد الجذور الاطول من 1 سم اذ تم الحصول على اكبر عدد من الافرع في المعاملة التي زرعت فيها النباتات على الوسط المجهز ب 10 ملغم/لتر اذ اعطت 8.14 فرع/نبات وتفوقت معنويًا على معاملة المقارنة التي اعطت اقل عدد من الافرع 4.5 فرع/نبات (الشكل 2) أما في ما يخص عدد الاوراق لكل نبات فكانت افضل النتائج في معاملة 20 ملغم/لتر والتي اعطت 3.54 ورقة/نبات متفوقتا معنويًا على معاملة المقارنة التي اعطت اقل عدد من الاوراق/نبات (2.74).

الجدول (6): تأثير تراكيز مختلفة من الثيامين (B₁) Thiamin (ملغم/لتر) في تضاعف وتجزير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Table (6): Effect of Thiamin (B₁) concentration (mg/L) on proliferation and rooting of cardamom plants *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

عدد الجذور الأطول من (1) سم No. of longer than 1 (cm)	عدد الجذور الكلي No. of total roots	عدد الأوراق No. of leaves	أطوال الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الأفرع No. of shoots	تركيز الثيامين ملغم/لتر Concentration of Thiamin (B ₁) (mg/L)
0.84 a	2.37 a	2.74 b	1.98 a	4.50 c	Control(0.1)
1.14 a	2.31 a	2.89 ab	1.66 a	8.14 a	10
0.80 a	2.12 a	3.54 a	1.63 a	7.70 a	20
1.02 a	2.60 a	3.46 a	2.09 a	5.62 bc	30
0.81 a	2.31 a	3.31 ab	2.16 a	6.93 ab	40

القيم التي تحمل أحرف متشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويًا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Figures in the columns marked with the same letters don't differ statistically at p=0.05.



شكل (2): تأثير الثيامين (B₁) Thiamin في تضاعف وتجزير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Figure (2): Effect of Thiamin (B₁) on proliferation and rooting of cardamom plant *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

ب- حامض النيكوتين Nicotinic acid (B₃): يتضح من الجدول (7) بان زيادة تراكيز حامض النيكوتين المضافة الى الوسط الغذائي MS من (10 - 40) ملغم/لتر لم تؤدي الى زيادات معنوية في الصفات المدروسة مقارنةً مع معاملة المقارنة.

ج- البايروكسين Pyridoxine (B₆): يتضح من الجدول (8) بان اضافة 30 ملغم/لتر بايروكسين الى الوسط الغذائي MS ادت الى زيادة معنوية في صفات عدد الافرع وعدد الاوراق/نبات اذ اعطت النباتات المزروعة في هذا الوسط 9.60 فرع/نبات و 3.33 ورقة/نبات مقابل 8.67 فرع/نبات و 2.90 ورقة/نبات على التوالي في معاملة المقارنة (الشكل 3).

ان الزيادات المعنوية التي حققتها اضافة الثيامين بتركيز 10 او 20 ملغم/لتر في عدد الافرع و بتركيز 20 او 30 ملغم/لتر في عدد الاوراق مقارنةً مع معاملة المقارنة 0.1 ملغم/لتر (جدول 6) والبايروكسين بتركيز 30 ملغم/لتر في زيادة عدد الافرع وعدد الاوراق مقارنةً مع معاملة المقارنة 0.5 ملغم/لتر (جدول 8) ربما يعود الى ان زيادة تراكيز الفيتامينات الى القيم اعلاه ساعد في الوصول الى الحالة المثلى لعمل هذه الفيتامينات وانجاز ادوارها في النظم الانزيمية اذ ان الثيامين يعمل كمرافق انزيمي لعدد من الانزيمات النازعة لمجموعة الكربوكسيل والناقلة لمجموعة الكربونيل ويؤثر في أيض الكربوهيدرات في حين يساهم البايروكسين في نقل مجاميع الامين وايض الاحماض الامينية ويحفز تصنيع حامض النيكوتين (فيتامين B₃) بشكل غير مباشر (Kintzios وآخرون، 2001).

الجدول (7): تأثير تراكيز مختلفة من حامض النيكوتين (B₃) (ملغم/لتر) في تضاعف وتجزير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Table (7): Effect of Nicotinic acid (B₃) concentration (mg/L) on proliferation and rooting of cardamom plants *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

عدد الجذور الأطول من (1) سم No. of longer than 1 (cm)	عدد الجذور الكلي No. of total roots	عدد الأوراق No. of leaves	أطوال الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الأفرع No. of shoots	تركيز حامض النيكوتين ملغم/لتر Concentration of Nicotinic acid (B ₃) (mg/L)
2.18 a	2.83 a	2.80 ab	1.75 ab	10.00 a	Control(0.5)
1.92 ab	2.63 a	3.07 a	1.83 a	9.07 a	10
1.51 b	2.48 a	2.81 ab	1.48 c	10.27 a	20
1.62 b	2.48 a	2.50 b	1.50 bc	10.27 a	30
1.67 ab	2.41 a	2.50 b	1.55 bc	8.87 a	40

القيم التي تحمل أحرف متشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويًا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Figures in the columns marked with the same letters don't differ statistically at p=0.05.

الجدول (8): تأثير تراكيز مختلفة من البايروودوكسين (B₆) (ملغم/لتر) في تضاعف وتجزير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Table (8): Effect of Pyridoxine (B₆) concentration (mg/L) on proliferation and rooting of cardamom plants *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

عدد الجذور الأطول من (1) سم No. of longer than 1 (cm)	عدد الجذور الكلي No. of total roots	عدد الأوراق No. of leaves	أطوال الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الأفرع No. of shoots	تركيز البايروودوكسين ملغم/لتر Concentration of Pyridoxine (B ₆) (mg/L)
2.15 a	2.88 a	2.90 b	1.71 a	8.67 b	Control(0.5)
1.71 a	2.29 a	2.78 b	1.72 a	7.73 b	10
2.11 a	2.57 a	2.91 b	1.77 a	8.00 b	20
1.94 a	2.74 a	3.33 a	1.64 a	9.60 a	30
1.82 a	2.35 a	2.67 b	1.63 a	8.93 b	40

القيم التي تحمل أحرف متشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويًا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Figures in the columns marked with the same letters don't differ statistically at p=0.05.



الشكل (3): تأثير البايروودوكسين (B₆) (ملغم/لتر) في تضاعف وتجزير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Figure (3): Effect of Pyridoxine (B₆) on proliferation and rooting of cardamom plant *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

يتضح من الجدول رقم (9) بان حامض النيكوتين تفوق معنويا على البايروودوكسين والاخير تفوق معنويا على الثيامين في عدد الافرع المتكونة، اذ اعطت النباتات المزروعة في الاوساط المجهزة بهم 9.70، 8.50، 6.64 فرع/نبات على التوالي في حين تفوق الثيامين على كل من البايروودوكسين وحامض النيكوتين في تأثيره على صفة عدد الاوراق اذ تكونت 3.18، 2.88، 2.73 ورقة/نبات على التوالي من جهة اخرى تفوق كل من البايروودوكسين وحامض النيكوتين على الثيامين في عدد الجذور الاطول من 1 سم/نبات اذ كونت 1.95، 1.78، 0.93 جذر/نبات على التوالي.

الجدول (9): تأثير نوع الفيتامين في تضاعف وتجذير نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

Table (9): Effect of type of vitamin on proliferation and rooting of cardamom plants *Elettaria cardamomum* after 8 weeks of culturing on MS media.

عدد الجذور الأطول من (1) سم No. of longer than 1 (cm)	عدد الجذور الكلي No. of total roots	عدد الأوراق No. of leaves	أطوال الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الأفرع No. of shoots	نوع الفيتامين Type of vitamin
1.95 a	2.57 a	2.88 b	1.69 ab	8.50 b	البايروودوكسين
1.78 a	2.56 a	2.73 b	1.62 b	9.70 a	النيكوتين
0.93 b	2.34 a	3.18 a	1.90 a	6.64 c	الثيامين

القيم التي تحمل أحرف متشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Figures in the columns marked with the same letters don't differ statistically at p=0.05.

أقلمة النباتات ونقلها الى التربة: الفروع المجذرة تم نقلها الى التربة واقلمتها للنمو تحت ظروف البيت الزجاجي وبنسبة بقاء 100%.

اتضح من نتائج هذه الدراسة بان الأحماض الامينية والفيتامينات تلعب ادوار مهمة جدا في نمو وتطور النباتات المكثرة خارج الجسم الحي وان كمياتها المضافة الى الأوساط الغذائية وخاصةً وسط MS الأوسع انتشارا واستخداما في العالم بمقدار (2 ملغم/لتر كلايسين، 0.1 ملغم/لتر ثايمين، 0.5 ملغم/لتر حامض نيكوتين، 0.5 ملغم/لتر بايروودوكسين) لا تفي باحتياجات نبات الهيل للإكثار خارج الجسم الحي ضمن الدراسة الحالية وكذلك الحال مع نباتات أخرى كنخيل التمر (AL-Khayri، 2001) والفلفل (Kintzios وآخرون، 2001) والجزر (Harada و Kamada، 1979 و 1984) كون حاجة الأجزاء النباتية تختلف باختلاف نوع النبات، مصدر الجزء النباتي، موعد أخذه من نبات الام، محتواه الغذائي والهورموني ودرجة نضج أنسجته لذا نوصي بإجراء دراسات أوسع على تأثير الأحماض الامينية والفيتامينات ولكل نوع نباتي بشكل مستقل وهذا يتفق مع ما اوصى به (AL-Khayri، 2001).

EFFECT OF SOME AMINO ACIDS AND VITAMINS ON CARDAMOM PROPAGATION *ELETTARIA CARDAMOMUM* MATON. *IN VITRO*

Wijdan A. S. Alnieb⁽³⁾ Abdullah N. Alniemi⁽²⁾ Ammar Zeki Kassab Bashi⁽¹⁾

⁽¹⁾ Dept. of Horticulture and landscape, College of Agriculture and forestry, University of Mosul – IRAQ.

⁽²⁾ Dept. of Biology, College of Education, University of Mosul – IRAQ.

⁽³⁾ Ministry of Science and Technology – IRAQ.

Email: Dr.ammar_albasha@yahoo.com

ABSTRACT

Two experiments were carried out to propagate cardamom plants *Elettaria cardamomum* Maton. *In vitro*, The first involved the effect of using amino acids (Glycine, Methionine, Glutamine, Asparagine and Gasaine) at concentrations (100, 200, 300, 400, 500)mg/L, in addition the control treatment (2mg/L Glysin according to MS 1962 formula). The second experiment studied the effect of adding some vitamins group B (Thiamin, Nicotinic acid and Pyridoxine) at concentrations (10, 20, 30, 40) mg/L, as well as the control treatments (0.1, 0.5, 0.5) mg/L respectively each of them (according to MS 1962 formula). The results, after 8 weeks of culturing, indicated that adding Glycine 100 mg/L, Methionine 100mg/L, Gasain 100mg/L, Asparagine 400 mg/L to the media had a significant increase in number of shoots (9.44, 11.20, 12.33, 11.6 shoot/explant) respectively in comparison with control (2mg/L Glycine) giving 6.73 shoot/explant. Whereas, adding of Asparagine in studied concentration caused a significant increase in shoot length, number of leaves, number of roots and root length as compared with control treatment. As for the effect of Vitamins, the results showed that increasing of Thiamin concentration up to 10 mg/L caused a significant increase in number of shoots (8.14 shoot/explant) and up to 20 mg/L a significant increase in number of leaves (3.54 leaf/explant) in comparison with 4.5 shoot/explant and 2.74 leaf/explant in control treatment respectively. While adding 30 mg/L of Pyridoxine caused a significant increase in number of shoots (9.60 shoot/explant) and number of leaves (3.33 leaf/explant) in comparison with control treatment (8.67 , 2.90) respectively.

Keywords: *Elettaria cardamomum*, Tissue culture, Vitamin B Group, Amino acids.

Received: 15/1/2013, Accepted: 18/3/2014.

المصادر

- جنديّة، حسن (2003). فسيولوجيا أشجار الفاكهة (أحدث الطرائق في علاج مشاكل الزراعة والتربية والإنتاج لأشجار الفاكهة في الأراضي المختلفة). الدار العربية للنشر والتوزيع، القاهرة، مصر.
- الراوي، خاشع و عبد العزيز محمد خلف الله (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.
- الرفاعي، محمد عبد الرحيم توفيق والشوبكي، عبد الرزاق سمير (2002). تقنيات القرن 21 لتحسين النبات باستخدام زراعة الأنسجة، دار الفكر العربي. مدينة النصر. القاهرة.
- سلمان، محمد عباس (1988). أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية، مطبعة جامعة الموصل. العراق.
- طوشان، حياة فرج الله، محمود حموي، محمود بغدادي وحسام الدين خلاصي، (2000). مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية، جامعة حلب، سوريا.
- الكناني، فيصل رشيد (1987). زراعة الانسجة والخلايا النباتية. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر/جامعة الموصل - العراق.
- محمد، عبد العظيم كاظم (1985). علم فسلجة النبات، مديرية دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.
- النائب، وجدان عباس سليمان (2008). استجابة أجزاء مختلفة من نباتات الهيل *Elettaria cardamomum* Maton للإكثار خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.
- ولي، صدر الدين بهاء الدين (1990). الإنبات وسبات البذور، مطبعة جامعة صلاح الدين. العراق.
- يحيى، الحاج توفيق (2003). النبات والطب البديل، مطبعة المتوسط. بيروت. لبنان.

- Al-Khayri, J. M. (2001). Optimization of biotin and thiamine requirements for somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Plant*, 37 (4): 453-456.
- Anonymous, (1995). Agricultural Biotechnology in The Developing World. (Food and Agricultural Organization of the United Nations) Rome., pp. 1-3.
- Anonymous, (2000). National Research Strategy for Spices, Medicinal and Other Essential Oil Bearing Plants, (Ethiopian Agricultural Research Organization), Addis Ababa, Ethiopia.
- Anonymous, (2001). SAS/STAT , Users Guide For Personal Computer, Release 6, SAS. Institute. Inc. Cary. nc. USA.
- Benson, E. E.,(2000). *In vitro* plant recalcitrance, an introduction. *In vitro cell. Development Biology Plant*. 36:141- 148
- Chopra, V.L. and Peter, K.V. (2005). Handbook Of Industrial Crops. Published by Haworth Press, 62.
- Davis, L. and Fraser, L. (1992). Fight carities with cardamom. *Health*. 6 (2):8.
- Havlin, J. L. ;J. D. Beaton ; S. L. Tisdale and W. L. Nelson (2005). Soil Fertility and Fertilizers.7th edt. Upper Saddle River ,New Jersey.
- Islam, A. (2004). Genetic Diversity Of The Genus Curcuma In Bangladesh And Further Biotechnological Approaches For *In Vitro* Regeneration And Long-Term Conservation Of *C. Longa* Germplasm. Ph. D., Biol. Univ. Hannover, Dhaka, Bangladesh.
- Jamal, A.; Javed, K.; Aslam, M. and M.A. Jafri (2006). Gastroprotective effect of cardamom, (*Elettaria cardamomum* Maton). fruits in rats. *Journal Of Ethnopharmacology*. 103 (2): 149-153.
- Kamada, H. and Hamada, H. (1979). Stuies on: the organogenesis in carrot tissue cultures. II. effects of aminoacids and inorganic nitrogenous compounds on somatic embryogenesis. *Z. Pflanzenphysiol*. 91: 453.
- Kamada, H. and Hamada, H.(1984). Stuies on: nitrogen metabolism during somatic embryogenesis in carrot. I. utilization of alanine as a nitrogen source. *Plant Science Letters*.33: 7
- Kintzios, S. ; Drossopoulos, J. B. and Lymperopoulos, Ch. (2001). Effect of vitamins and organic micronutrients on callus growth and somatic embryogenesis from leaves of *Chilli pepper*, *Plant Cell, Tissue And Organ Culture*. 76:55- 62.
- Marongiu, B.; Piras, A. and Porcedda, S. (2004). Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of (*Elettaria cardamomum* L. Maton). *Journal Agricultural And Food Chemistry*. 52: 6278-6282.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*. 15: 473 - 497.
- Padmini, K.; Venugopal, M.N. and Sasikumar, B. (2000). Performance of hybrids, open pollinated progenies and inbreds of cardamom (*Elettaria cardamomum*) under nursery conditions. *Ind. Journal Of Agricultural Science*. 70(8):550-551.
- Prasath, D. and Venugopal, M.N. (2007). Genetic diversity and conservation of cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton) in India. *Publicado*. (138): 55 - 60.

- Schoenbart, B. (2006). Pocket Guide to Chinese Patent Medicines. Published By The Crossing press, 40-41.
- Singh , A. (2003). Fruit Physiology and Production. 5th ed. Kalyani Publishers. New Delhi – 110002.
- Syamkumar, S.; Joes, M. and B. Sasikumar, (2005). Isolation and PCR Amplification of genomic DNA from dried capsules of cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton). *Int. Society of Plant Molecular Biology Reporter, Canada*. 23 (4): 417.
- Vasil, I. K. (1994). Plant Cell and Tissue Culture. Published by Springel. 524.