الإكثار الدقيق لنبات الزنجبيل *Zingiber officinal roscoe*

*خيرى الفيتوري خير أحمد يوسف شعبان المنذر عبد الحميد أبوغنية سالم العارف حمود محمد سالم أبوسنينة أريج محمد شاهين
كلية الآداب والعلوم، مركز بحوث التقنيات مركز بحوث التقنيات الحيوية مركز بحوث التقنيات مركز بحوث التقنيات مركز البحوث الزراعية
جامعة المرقب الحيوية الحيوية الحيوية فرع الغريبة

alfityorkh@yahoo.com

<https://doi.org/10.36602/jmuas.2019.v01.01.04>

الملخص

أجريت هذه الدراسة بمختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لمركز بحوث التقنيات الحيوية لغرض الإكثار الدقيق لنبات الزنجبيل باستخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية، بدأت الدراسة بتجميع الریزومات نبات الزنجبيل الطازجة من السوق المحلي وتم جلبها إلى المعمل ثم غسلها ووضعها في ظروف مظلمة ودرجة حرارة لغرض إنباتها، بعد الحصول على النموات تم تعقيمها باستخدام كلوركس بتركيز 2.5% داخل غرفة الزراعة وتم تجهيز أوساط الزراعة بتحضير الوسط الغذائي Murashige and Skoog (M S) ووسط غذائي MS مضاف إليه تركيزات من منظم النمو BA كناتلي (BA2mg/l)، (BA2mg/l+0.5NAA) و (BA4mg/l+0.5NAA) و (BA2mg/l+0.5NAA) وأوضحت النتائج استجابة نبات الزنجبيل للإكثار باستخدام زراعة الأنسجة النباتية في جميع الأوساط الغذائية التي استعملت في التجربة وكان هناك تفوق بالمعاملة (BA2mg/l) على باقي المعاملات في عدد الأفرع وطول النبات وعدد الأوراق وطول الجذور للنبات مقارنة بعينة الشاهد وأوضحت النتائج وجود فروق متباينة بين المعاملات المضاف إليها منظم النمو BA في نسبة تكوين الأفرع وتكوين المجموع الجذري وكانت نسبة التجذير 95%، وبعد وصول النباتات لأطوال مناسبة تمت أقلمة النباتات المتحصل عليها من خلال التجربة بزراعتها في أصص تحتوي على وسط إنماء البيتوموس.

الكلمات المفتاحية: نبات الزنجبيل، زراعة الأنسجة النباتية، BA، وسط غذائي MS.

المقدمة:

النباتات الطبية هي من أقدم النباتات التي عرفها واستخدمها الإنسان لغرض الغذاء والدواء على مر العصور وحتى عصرنا الحاضر الذي تجلت فيه مدى الأهمية الاقتصادية الكبيرة لهذه النباتات، ودائماً اعتبرت النباتات الطبية مصدراً أساسياً لصحة الإنسان، حيث أظهرت الدراسات أن نسبة كبيرة من سكان الدول النامية تعتمد وبشدة على هذه النباتات لتلبية احتياجاتها من الرعاية الطبية الأساسية، وعلى الرغم من توفر الطب الحديث فقد كان طب الأعشاب هو الأكثر انتشاراً -Abdullah AL- (Nanain et al 2014)، إن العديد من الثقافات التقليدية تؤكد أهمية الوصفات الطبية النباتية الوقائية والعلاجية ومنافعها

الأخرى فهي ذات كلفة منخفضة، ومن السهل الحصول عليها كما أنها أكثر أماناً ونجاحاً من الأدوية المصنعة (Sharma, *et.al*, 1995)، تحتوي النباتات الطبية على عدد كبير جداً من المواد الفعالة طبيياً، والتي تعكس الإمكانات العلاجية الكبيرة لهذه النباتات، حيث أنها تملك قدرة علاجية أكبر من تلك التي تملكها الأدوية المصنعة في معالجة الكثير من الأمراض، وهي تحتوي على مواد غذائية وفيتامينات فضلاً عن المواد الفعالة (Yesmin, 2015).

في الوقت الحاضر أصبح العديد من السكان في الدول المتطورة يلتفت إلى الطب البديل والذي يتضمن طب الأعشاب، وقد أدرجت منظمة الصحة العالمية حوالي 21 ألف نبات يستخدم في الأغراض الطبية حول العالم (Abdolahad *et.al*, 2010)، تلعب النباتات الطبية دوراً مهماً وكبيراً في حياتنا فهي تدخل كمكونات في الغذاء وكذلك في الطب، حيث أصبح طب الأعشاب هو الأكثر شعبية في أغلب الأحيان، ومن أهم هذه النباتات نبات الزنجبيل الذي يستخدم في علاج العديد من الالتهابات والسرطانات وغيرها من الأمراض.

اعتمدت زراعة خلايا وأنسجة وأعضاء النباتات على فكرة اقترحت أساساً من قبل شولدن وشوان سنة 1839 واسمها Totipotency، واقترح كل خلية حية مفصولة من كائن حي متعدد الخلايا لها قابلية الانقسام والتطور بمعزل عن الكائن الحي المفصولة منه إذا توفرت لها الظروف المثالية للانقسام والتطور والنمو، عام 1902 افترض العالم Heberland بأن الخلايا النباتية لها القدرة على الانقسام وتكوين نبات كامل، فحاول زراعة خلايا ميزوفيل مفصولة من أوراق نبات مختلفة على وسط حاو على مغذيات وتحت ظروف حضانة مخبرية، فلذا يعتبر المؤسس الأول لعلم زراعة خلايا الأنسجة وأعضاء النبات، نجاح العالم النباتي الأمريكي Philip White سنة 1934 في زراعة أطراف جذور نبات الطماطم على وسط غذائي عززه بمستخلصات الأعفان وفيتامينات معقد B. استطاع العالمان Gauthert و Nobecourt تنشئة مزارع نسيجية نباتية ناجحة بعد أن أضافا ندول حمض الخليك (IAA) ومجموعة فيتامينات B إلى الأوساط الغذائية، هناك العديد من الأشخاص حول العالم يستخدمون الخصائص الصحية التي لا تصدق للزنجبيل، فبالإضافة إلى كونه واحداً من التوابل الشائعة التي تضاف إلى الأغذية، فهو يعتبر أيضاً علاجاً طبيعياً للعديد من الأمراض المختلفة.

ينتمي الزنجبيل *Zingiber officinal* إلى العائلة Zingiberaceae وهو من النباتات البستانية الحارة والتي تقدر قيمتها في جميع أنحاء البلدان باعتبارها توابل مهمة لها، والتي تزرع أساساً في العديد من البلدان بما في ذلك الصين والهند واليابان وأستراليا ونيجيريا واندونيسيا (Masoud Haghighi, et al 2015)، ويستخدم منذ فترة طويلة في الطب التقليدي وأغراض الطهي وهو نبات استوائي مشهور منذ القدم، ينتمي إلى العائلة الزنجبارية Zingiberaceae، له أوراق تويجية مخضرة وأزهار صفراء مخططة باللون الأرجواني، ويزرع في الأماكن التي تكون الأمطار فيها وفيرة (Sathyagowri, 2011)، ويوجد منه

عدة أنواع منها الزنجبيل البلدي، الزنجبيل الشامى، الزنجبيل العجمي، الزنجبيل الفارسي، زنجبيل الكلاب والزنجبيل الهندي ويسمى بالكفوف وهو النوع الأكثر استعمالاً وشيوعاً.

الإكثار الدقيق يعتبر من الطرق المهمة لمضاعفة عدد النبات في وقت قياسي، ومصدراً للحصول على نباتات خالية من الأمراض، من خلال الإكثار الدقيق يتم الحفاظ على الاختلاف الوراثي وحماية النباتات المهمة اقتصادياً من خطر الانقراض، تم إكثار الزنجبيل باستخدام زراعة الأنسجة النباتية من قبل (Kambaska, 2009)، حيث تم أخذ الريزومات للنبات وزرعت في المشتل للحصول على براعم، ومن تم اختيار البراعم الجديدة الطازجة واستخدمت لإكثار النبات باستخدام زراعة الأنسجة وتم تحضير وسط غذائي (MS) مضاف إليه تركيز من NAA IBM، في كل معاملة زرعت Kambaska, K.B and (MS) (aSantilat, S. 2009)، الإكثار بالطرق التقليدية للزنجبيل يعرض النبات للإصابة ببعض الآفات والأمراض، فاستخدام زراعة الأنسجة في إكثار الزنجبيل تساعد في الحصول على نباتات خالية من الأمراض، هناك دراسات عديدة أثبتت نجاح إكثار الزنجبيل باستخدام الأنسجة النباتية وقد قام أحد العلماء باستخدام (MS) (David et al, 20016) مضاف إلى هرمون NAA , BAP بتركيزات معينة لإكثار النبات باستخدام الأنسجة النباتية، أغلب الأوساط الغذائية للأنسجة النباتية مازالت مستندة على تركيب ووصف (1962) (Murashing and Skoog (M S)) تميزت تلك الأوساط بمستويات عالية من النتائج الناجحة في زراعة الأنسجة النباتية الخالية من الأمراض والآفات بوجود عناصر كبرى وعناصر صغرى ومنظمات نمو (Hugo, 1989) (Mantell and)، العديد من زراعة الأنسجة النباتية استعمل إكثار الأنسجة النباتية للزنجبيل على الوسط الغذائي (MS) مع منظمات النمو BA, NAA وأكدت نتائج ناجحة، (Villanor, c.c, 2010)، من المعروف أن نبات الزنجبيل من النباتات الطبية المستهدفة في طب الأعشاب ولها الكثير من الفوائد الطبية والصحية، لذلك وجب علينا معرفة الأهمية الطبية لذلك النبات والتعرف على فوائده والمواد الفعالة التي يحتويها وأيضاً التأثير الوقائي لهذا النبات وكذلك مدى استجابته للنمو وتأقلمه بزراعة الأنسجة، وإضافة منظمات النمو إليه ومحاولة الإكثار الدقيق لكي يتسنى إنباته في التربة والظروف المناخية اليبسية، وعليه تهدف هذه الدراسة إلى إكثار نبات الزنجبيل *Zingiber officinal* بواسطة تقنية زراعة الأنسجة النباتية، وتقييم تأثير منظمات النمو (BA, NAA) على مراحل نمو نبات الزنجبيل.

المواد وطرائق البحث:

حيث تم إجراء التجربة المعملية زراعة الأنسجة النباتية بمركز بحوث التقنيات الحيوية تاجوراء.

مصدر النبات

تم الحصول على زيزومات الزنجبيل من الأسواق المحلية لمدينة طرابلس حيث اختيرت الريزومات جيدة النمو.

التعقيم السطحي

نقلت المستأصلات النباتية (الريزومات) إلى معمل زراعة الأنسجة وإجراء عملية التعقيم السطحي حيث تم وضع المستأصلات النباتية تحت الماء الجاري لمدة 20 دقيقة وذلك لإزالة الأتربة وتنظيف النبات، يلي ذلك وضع المستأصلات النباتية في الكحول الإيثيلي لمدة دقيقتين بتركيز 70%، وتم غمرها في محلول الكلوروكس تركيز المادة الفعالة 2.5% من مركب هيبوكلورات الصوديوم، وأخيراً غسلها بالماء المقطر المعقم لإزالة التأثير السام لمحلول هيبو كلوردات الصوديوم.

الوسط الغذائي

تم تحضير الوسط الغذائي MS (Murashige and Skoog , 1962) خالي من منظمات النمو وتحضير الوسط الغذائي MS مضافاً إليه منظمات النمو على النحو التالي فكانت المعاملة (MS + 2mg BA + 0.5 NAA) والمعاملة الثانية (MS + 2 mg char cool + 2mg BA + 0.5 NAA) والمعاملة الثالثة (MS + 2 mg BA) بالإضافة إلى معاملة الشاهد.

عملية الزراعة

المرحلة الأولى حيث تم زراعة المستأصلات النباتية (وهي عبارة عن البراعم النامية من الريزومات الموضوعة في الحجرة المظلمة من فترة شهرين) بعد تعقيمها كما تم ذكره من أجل الحصول على عدد كافٍ من مستأصلات نباتية خالية من مسببات المرضية على وسط MS.

أما المرحلة الثانية وهي زراعة العقد المفردة الناتجة من المرحلة الأولى ووضعها في معاملات مختلفة كما تم ذكره في المرحلة الثانية من فترة الوسط الغذائي.

تصميم التجربة

حيث تم استخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) في هذه الدراسة وحللت النتائج عند وجود الفروق المعنوية، عند مستوى 5% عزلت المتوسطات باستخدام اختبار دنكن Duncan متعدد الحدود، تم تسجيل البيانات التالية عدد الأوراق وطول النبات وعدد الجذور وطول الجذور وعدد الفروع حيث احتوت هذه التجربة على أربع معاملات وكل معاملة تحتوي على 10 مكررات ويعتبر البرطمان أو الوعاء مكرر واحد.

النتائج

نبات الزنجبيل من النباتات الطبية المهمة التي تتميز ببطء في النمو، لهذا يعد إكثار الزنجبيل باستخدام زراعة الأنسجة النباتية أمراً مهماً جداً، وفي هذه الدراسة تم استخدام منظمات النمو من الوسط الغذائي (MS) للحصول على أفضل وسط ممكن استعماله لإكثار نبات الزنجبيل، ومن خلال نتائج هذه الدراسة لوحظ بطء نمو نبات الزنجبيل في الأوساط الغذائية المستعملة، حيث بدأت الاستجابة للأجزاء النباتية في النمو بعد أكثر من 21 يوماً من الزراعة، وأخذت النتائج بعد حوالي شهرين من الزراعة لمعرفة مدى استجابة أجزاء نبات الزنجبيل النامية في الأوساط الغذائية المستخدمة في الدراسة وكانت النتائج كالتالي:

جدول (1) تأثير منظمات النمو في الوسط الغذائي (MS) على مراحل نمو نبات الزنجبيل.

عدد الأوراق	طول النبات	عدد الجذور	طول الجذور	عدد الفروع
4.4 a	4.4 b	6.8 b	5.2 b	1.2 b
4.2 a	6.8 a	12 a	9.2 a	1.4 b
5.4 a	6 a	7.6 b	5 b	3.6 a
4.6 a	4.8 b	7.6 b	5.8 b	4.2 a

شكل (1) تأثير NAA, BA على طول النبات

بينت النتائج تفوق المعاملة 2mg BA + 0.5 NAA + Charcool والمعاملة 2mg BA + 0.5 NAA معنوياً على باقي المعاملات خاصة معاملة الشاهد (MS)، الأمر الذي بين التأثير الإيجابي لمنظمات النمو على نمو نبات الزنجبيل، ويبرهن على مدى نجاح إكثار نبات الزنجبيل باستخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية والحصول على أطوال مناسبة للنباتات المزروعة في وقت مميز تمهيداً لنقلها لمرحلة إعادة الزراعة ومرحلة الأقامة.

شكل (2) نتائج تأثير منظمات النمو على طول النبات

شكل (3) تأثير BA, NAA على عدد الأوراق

من الملاحظ أنَّ بالنسبة لعدد الأوراق كانت النتائج متشابهة ومتقاربة جداً بين الشاهد وبقية الأوساط، وهذا يعزى إلى عدم توافق الأوساط بين النبات، ولكن بالنسبة للون الأوراق كان هناك اخضرار واضح نتيجة لنسبة الكلوروفيل العالية، وهذا يدل على أنَّ النبات له استجابة عالية للضوء، فهو قادر على النمو والزيادة بعد أقلمة النبات في الظروف الطبيعية من خلال النتائج وهذا يتماشى مع العالم (David et al, 20016).

شكل (4) تأثير BA, NAA على عدد الأوراق

شكل (5) تأثير BA, NAA على عدد الأفرع

من خلال الدراسة بينت النتائج تفوق المعاملة 2mg BA+ 0.5 NAA والمعاملة 2mg BA+0.5 NAA + Charcool على باقي المعاملات، حيث أعطت الأجزاء النباتية المزروعة عدداً من البراعم وكذلك من 5-6 أفرع في البرطمان الواحد وبذلك يمكن الحصول على عدد أكثر من النباتات من جزء نباتي واحد في وقت قصير الأمر الذي يؤكد نجاح زراعة نبات الزنجبيل باستخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية وهذا يتفق مع العالم (Villanor, c.c, 2010).

طول الجذور (سم) نتائج تأثير استخدام الأوساط الغذائية على طول الجذور:

شكل (6) تأثير BA, NAA على طول الجذور

شكل (7) استجابة نبات الزنجبيل للإكثار باستخدام زراعة الأنسجة

من خلال نتائج هذه الدراسة نلاحظ وجود استجابة واضحة لنبات الزنجبيل للإكثار باستخدام زراعة الأنسجة، وكان النبات ينمو بشكل جيد في الأوساط الغذائية المستعملة بما في ذلك المجموع الجذري، كل النباتات المتحصل عليها من التجربة كونت مجموعاً جذرياً جيداً في كل الأوساط الغذائية المستعملة، ولم تكن هناك فروق معنوية بين المعاملات المستعملة في طول الجذور المتكونة باستثناء المعاملة $2\text{mg/l BA} + 0.5\text{mg/l NAA}$ التي تفوقت معنوياً على باقي المعاملات في طول الجذور المتكونة ولكن بشكل عام كانت نسبة تكوين الجذور جيدة في كل الأوساط المستعملة (Rout et al, 2010).

عدد الجذور

نتائج تأثير استخدام الأوساط الغذائية على عدد الجذور:

شكل (8) تأثير BA, NAA على عدد الجذور

بالنسبة لعدد الجذور كانت النتائج مشابهة لما كانت عليه في صفة طول الجذور، وهذا راجع إلى نمو النبات بشكل طبيعي في الأوساط الغذائية المستعملة، وكانت استجابة النباتات المزروعة واضحة لتكوين الجذور، الأمر الذي يسهل الانتقال لمرحلة الأقلمة في نهاية التجربة.

المناقشة

Chrcool 0.5BAA 2m/g NAA , 2mg AB هذه المعاملات تفوقت معنويا علي باقي المعاملات في عدد الأفرع هذا التفوق يعطى هذه المعاملات الأفضلية لاستعمالها في إكثار الزنجبيل باستخدام زراعة الأنسجة لأن باستخدام هذه المعاملات تم الحصول على عدد أكبر من الأفرع وهذا مهم جدا في الإكثار. يلي المعاملة 0.5mg BAT 2mg NAA التي أعطت عددا أقل من الأخرى ولكن كانت متفوقة في طول النبات وهذا يتفق مع ما توصل إليه العالمان (Villanor,c.c., 2010) و (Kambaska, K.B and aSantilat,S.2009) وآخرون.

مرحلة الأقلمة:

بعد الوصول لأطوال مناسبة ومجموع جذري مناسب للنباتات المتحصل عليها تم نقل النباتات لمرحلة الأقلمة التي بدأت بزراعة النباتات في أصص تحتوي على سماد البيت موس، وأظهرت نتائج الأقلمة نجاح النبات في هذه المرحلة، حيث استمرت النباتات في النمو بشكل طبيعي. شكل (9)

شكل (9) صورة توضح عملية أقلمة نبات الزنجبيل

المراجع:

- Abdullah AL-Nanain ,Rownak Janatn and Mohammed Rahmatullah (2014). Zingiber officinale Apotetial Plant against Rheumatoid Arthritis, Dio 10.1155/2014/159089.
- Devina Davied , Teoh Yan and Julanng Azlan (2016). In vitro propagation of Zingiber officiale Rose Tanmbunan Transactions on Science and Technology. 3(1-2),162-167.
- Kambaska, K.B. and Santilata (2009) S.Effect of plant growth regulator on micropropagation of ginger (Zingiber officinaleRosc.) cv- Suprava and Suruchi. Journal of Agricultural Technology Vol.5(2): 271-28.
- Masoud Haghighi, Ali Khalrat, Tayebah Toliat and Shohreh Jallaei Med (2005). Comparing the Effects of Ginger (Zingiber Officinale with Osteoarthritis, Arch Iranin 8(4)267-271.
- Rout, G.R., S.K. Palai, S. Samantaray and P. Das, (2001). Effect of growth regulator and culture conditions on shoot multiplication and rhizome formation in ginger (Zingiber officinaleRosc.) in vitro.In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant, 37: 814-819.
- Sathyagowri, S. and T.H. Seran, (2011).In vitro plant regeneration of ginger (Zingiber officinaleRosc.) with emphasis on initial culture establishment. Int. J. Med. Aromat. Plants, 1: 195-202.
- Sharma, T.R. and B.M. Singh, (1995). In vitro microrhizome production in Zingiber officinaleRosc. Plant Cell Rep., 15: 274-277.
- Villamor, C.C., (2010). Influence of media strength and sources of nitrogen on micropropagation of ginger, Zingiber officinaleRosc. E-Int. Sci. Res. J., 2: 150-155.
- Yesmin, A.Hashem, M.Khatun, S. Narine,T. Tanny and M.S. Islam (2015). Invtro clonal propagation of Bart Ada-1(Zingiber officinal Rosc.) Natioual Institute of B.otechnology .Ganakbari, Savar , Dhaka – 1349 ,Bangaladesh.

Micropropagation of *Zingiber officinal roscoe*

*Kheiry Keer
Biotechnology
Research Center

Elmundr Abughnia
Biotechnology
Research Center

Salem Hammud
Biotechnology
Research Center

Ahmed shaaban
Biotechnology
Research Center

Mohamed Abusanina
Biotechnology
Research Center

Arij shaheen
Biotechnology
Research Center

alfytorykh@yahoo.com

<https://doi.org/10.36602/jmuas.2019.v01.01.04>

Abstract

This study was conducted in plant tissue culture In Biotechnology which belong to biotechnology research center (Tripoli – for Micropropagation of in order to study the response of Zingiber plant to In vitro micro propagation through plant tissue culture technology , while the study was beginning by Samples were collected , the samples from the local market and directly were put in dark For sprouting in order to obtain plant tissue which will be used for plant micro propagation. Sprouted buds growth were obtained the plant tissue were sterilized by use 2.5% Clorox and 70% ethanol in hood cabinet with sterilized conditions , then sterilized plant tissue were cultured in small gars contain Murashige and Skoog MS medim as control treatment and MS media supplemented with different concentrations of BA and NAA plant growth regulators while the treatments were (2 , 4mg/l BA) and (2 mg/l BA + 0.5mg/l NAA) . Results of this study showed present a good response of Zingiber plant to micro propagation by tissue culture technology in all the treatments event control treatment moreover the results showed that the treatment of 2 mg/l BA gave the highest average of obtained number of brunches and root system growth , finally the obtained plants from the experiments were moved to adaptation stage by placed the plants in small puts contain peat moss fertilizer .

key words: plant tissue culture technology, Zingiber plant , plant growth regulators , MS medium