التفعيل الكيمياوي لمستخلص رايزومات الزنجبيل بدلالة تكوين الجذور العرضية في عقل نبات الماش

عبد الله ابراهيم شهيد و وسن مضر ابو التمن
جامعة بابل/ كلية العلوم/ قسم علوم الحياة
ص.ب.(4) حلة ، العراق

(NJC)

(Received on 18/5/2008) **(Accepted for publication 10/11/2008)**

الخلاصة

التفعيل الكيميائي للمستخلصات المائية لرايزومات الزنجبيل، بدلالة تكوين الجذور العرضية في عقل الماش قد أنجز بإضافة مواد كيميائية ذات طبيعة مختلفة خلال تعمير العقل وذلك بحفظها لمدة ثلاث أيام في تلك المستخلصات . وكانت المواد الكيميائية التي اضيفت بهدف تفعيل المستخلص هي كالآتي :-

أ.) الكاربوهدرات (مثل :- السكروز والكلوكوز)

ب.) الفيتامينات (مثل :- حامض الأسكوربيك)

ج.) المركبات النايتروجينية (مثل :- كبريتات الأمونيوم)

وقد أستعملت عقل الماش الساقية " كنظام تجريبي " والتي أخذت من بادرات بعمر عشرة أيام. نمت البادرات تحت ظروف قياسية من ضوء مستمر ، شدة ضوئية (3000 – 3500 لوكس)، حرارة (25 ± 1)م ورطوبة نسبية (60 - 70) . وقد وضحت نتائج الدراسة الآتي :-

1.) التركيز الأمثل لمستخلص الزنجبيل هو 0.1% بدلالة تكوين الجذور العرضية. حيث كان معدل عدد الجذور في العقلة الواحدة في هذا التركيز هو (3.7) أضعاف مقارنة بعينة السيطرة (العقل الطرية غير المعاملة بالأوكسين).

2.) أن العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير والتي تؤدي ألى خفض أستجابة التجذير في العقل المعمرة قد تم التغلب عليها (أوقفت) بالكامل وذلك بحفظ العقل بالمستخلص المائي للزنجبيل عند التركيز 0.01% .

3.) الاثر المعنوي من الناحية الاحصائية للسكروز والكلوكوز والأسكوربيت عند التراكيز [(1.5)% ، (1 و1.5)% و 400 ppm] على التوالي ، في أيقاف العمليات التي تحصل خلال التعمير فأنها تجعل العقل تستجيب للتجذير كما لو كانت عقلا طرية .

4.) تفعيل مستخلص الزنجبيل بدلالة تكوين الجذور العرضية قد حصل بأضافة $(NH_4)_2SO_4$ بتركيز (0.025)% والكلوكوز (1.5 و 2)% الى المستخلص. أن هذا التفعيل (التضخيم) قد تمثل بزيادة أستجابة التجذير في العقل المعمرة في هذه المستخلصات . ومن المدهش والملفت للنظر أن هذه الزيادة قد تخطت عدد الجذور في العقل الطرية .

Abstract

Chemical potentiation of equeous extracts of Ginger (Zingiber Officinale Roscoe) rhizome in terms of adventitious root formation (ARF)of mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) cutting was carried out by adding chemical substances of different nature, during aging of cutting for 3 – days in aqueous extract . However , the chemicals that were added to potentiate the extract during aging period are :-

A) Carbohydrates (eg : sucrose and glucose)

B) Vitamins (eg : ascorbic acid)

C) Nitrogenous compounds (eg : $(NH_4)_2SO_4$)

However , stem cutting as "exprimantal system" were taken from10–days–old seedlings of mung bean.These seedlings were growing in growth cabinet under standard conditions of contineuos light,light irradiance (3000-3500 lux) temperatuere (25±1)and relative humidity(60-70%).The results revealed the followings:-

1-The optimum concentration of giniger extract was 0.1% in terms of ARF.The mean root no./cutting formed at this conc.is (3.7 folds)than control (Fresh untreated cutting with auxin).

2-The processes that occurs during aging which lead to diminishing rooting response in aged cuttings was overcomed or stopped completely by water extract of giniger at conc.of 0.01%.

3-Statistically,the significant role of sucrose,glucose and ascorbic acid at conc.[(1.5%)(1.0and1.5%)and 400ppm]respectively in stopping the processes that occurs during aging that render the cutting to respond for rooting as if they were fresh cuttings.

4-Potentiation of giniger extract in terms of ARF.in mung bean cuttings occurred by adding$(NH_4)_2SO_4$ (0.025%)and glucose (1.5 and 2)% to the extract.The potentiation was represented by significant increase in rooting response of cutting aged in such extracts.Surprisingly,such increament was markedly skipped(raised over) that of fresh cuttings.

المقدمة

ظاهرة التعمير بدلالة تكـوين الجـذور العرضية في العقل تعني انخفاض استجابة التجذير في العقل المعمرة مقارنة بتلـك الطريـة [1] . ان هذا الأنخفاض يحصل بشكل متقـدم مـع زيـادة الوقت عند تأخير المعاملة الأوكسينية المـستحثة (Inductive auxin treatment) وذلك بحفـظ العقل في ماء خالي من الأيونات وبشكل خـاص عقل المـاش ضـرب بيـركن (*Phaseolus aureus* Vr. Berkin) [2] .

أن كاربوهدرات العقل مهمة كمـصدر للطاقة والهياكل الكاربونية وان الأوكسين المجهز يحفز تحشيد (حركة) الكاربوهدرات في الأوراق والأجزاء العليا من الساق بأتجاه منطقـة نـشوء الجذور [3] .

بالأضافة الى ذلـك فـأن الفيتامينـات مثـــــل Nicotinamide و Pyridoxine و Thiamine وAscorbic acid و Carotene وVit.k وبعـض المركبـات مثـل Adenine لها تأثيرات ايجابيـة فـي أسـتجابة التجذير لعقل البـازلاء [4] أضـافة ألـى كـون Ascorbic acid قادر على التفاعل مع الجـذور الحرة (Free radicals) ويعتبر مضاد للأكسدة - كاسر للسلاسل [5,6].

وحديثا فقـد تمـت الأشـارة الـى أن السكروز المجهز يمنع جزئيا على العمليات التـي تحدث خلال ظاهرة التعمير وذلك من خلال حفظ

مستويات الكاربوهدرات والبروتين والتي هي ضرورية لتكوين الجذور العرضية في العقل [7], ومع ذلك فأن العوامل الغذائية التي جهزت من قبل الفلق (cotyledons) كمصادر داخلية للكاربوهدرات (وذلك بأستخدام عقل من بادرات بعمر 5 أيام) أدت ألى أيقاف عمليات التعمير بالكامل في عقل الماش المعمرة [8] .

بالأضافة الى ذلك ، فإن ألأنخفاض المتقدم للمحتوى الكاربوهدراتي في المستخلصات المائية لفلق الماش المفصولة والمأخوذة من بادرات بأعمار مختلفة (4 و 5 و 6 و7 يوم) قد عكست الفقدان المتقدم في أستجابة التجذير لعقل الماش عندما تهيأ من بادرات في مرحلة الأتساع التام للأوراق الأولية Fully expanded primary leaves [9] .

المواد وطرق العمل:

أستخدمت بذور الماش صنف محلي *Phaseolus aureus* Roxb.var.local حيث تم أنبات البذور ونمو البادرات في غرفة نمو النبات وتحت الضروف القياسية التالية [أضاءة مستمرة وشدة ضوئية (3000 – 3500) لوكس ودرجة حرارة (25 ± 1) م ورطوبة نسبية (70 – 60)%] . بعدها تم أعداد العقل من البادرات المتماثلة بعمر عشرة أيام حسب طريقة [10] وتتصف هذه العقل بأحتوائها على زوج من الأوراق الأولية كاملة الأتساع وبرعم طرفي صغير وسويقة جنينية فوق الفلق وسويقة جنينية تحت الفلق يبلغ طولها 3 سم تحت موقع ندب الفلق وذلك بعد أزالة المجموع الجذري. يعامل الجزء القاعدي للعقل بمحاليل الأختبار وذلك بوضع العقل في فيالات زجاجية بأبعاد (7.5 × 2.2) سم حاوية على 15 مل من محاليل الأختبار كافية لتغطية الهايبوكوتيل بالكامل (3 سم) ،يحتوي كل فيال على أربع عقل أي بواقع أثنتا عشر عقلة للمعاملة الواحدة.تعامل العقل الطرية لمدة 24 ساعة في (N.A.A) 10^{-4} مولار وبعد ذلك تنقل الى حامض البوريك بتركيز 10 µg\ مل لمدة ستة أيام ومن ثم تحتسب عدد الجذور.اما العقل المعمرة فتتضمن حفظها في الماء المقطر ، المستخلصات المائية للأعشاب الطبية (الزنجبيل) أو المركبات الكيميائية [$(NH_4)_2SO_4$ و Sucrose و Glucose و Ascorbic acid] ولمدة ثلاثة أيام (مدة التعمير) ثم تنقل الى الأوكسين (N.A.A) لمدة 24 ساعة ثم تنقل ألى حامض البوريك 10 µg\ مل لمدة ستة أيام.تم تحضير محاليل الأختبار الفسيولوجية كالاتي:

أ- الأوكسين المصنع بتركيز 10^{-4} مولار (وهو الأمثل من خلال تجارب تمهيدية لم تعرض) وذلك من خلال أضافة كمية قليلة من الكحول المطلق بحيث يكون تركيز الكحول النهائي 2%. أن هذا التركيز غير مؤثر في عملية تكوين الجذور العرضية [11] .

ب- المركبات الكيميائية :

1- السكروز بالتراكيز 1% و 1.5% و 2% و 2.5% و 3%

2- Glucose بالتراكيز 1% و 1.5% و 2% و 2.5% و 3%

3- Ascorbic acid بالتراكيز ppm(25 و50 و100 و200 و400)

4- $(NH_4)_2SO_4$ بالتراكيز 0.025 % و 0.05 % و 0.1% و 0.2%

اما تفعيل المستخلص المائي للزنجبيل تم أضافة كل من المركبات الكيميائية بالتراكيز أعلاه الى التركيز الأمثل للزنجبيل (0.01)%. تعامل العقل بخليط المواد الكيمياوية والزنجبيل (0.01)% لمدة ثلاثة أيام ثم تنقل الى الأوكسين (N.A.A) وبعدها الى حامض البوريك.بعد أنتهاء مدة المعاملة بحامض البوريك (6 أيام) يتم حساب عدد الجذور لكل عقلة بعدها حللت

النتائج أحصائيا بأستخدام التصميم العشوائي الكامل (Completely Randomized (CRD Design وأستخراج قيمة L.S.D. للمقارنة بين المعاملات وعلى مستوى احتمالية (0.05 و 0.01) .

النتائج :-

بينت نتائج جدول (1) ان عقل الماش غير المعاملة بالأوكسين (عينة السيطرة) قد كشفت عددا من الجذور هو (6.5)، بينما في العقل المعاملة بالأوكسين (N.A.A) 10^{-4} M كان (58) جذرا في العقلة الواحدة . أما التراكيز الواطئة (0.01% و 0.1%) للمستخلص المائي للزنجبيل فقد كشفت زيادة معنوية على مستوى أحتمالية (0.01) لمعدل عدد الجذور مقارنة بعينة السيطرة .أما معدل عدد الجذور لهذين التركيزين فقد كان(17.3) جذرا (2.7 ضعف) و(28.8) جذرا (3.7 ضعف) على التوالي ، بينما لم تؤثر التراكيز العالية (1% و 10%) معنويا في أستجابة التجذير في العقل حيث كان معدل عدد الجذور لهذين التركيزين (11.2 و 8.8) جذرا على التوالي.

ومن اللافت للنظر ان بعض المستخلصات المائية المذكورة آنفا كانت مؤثرة حيث كان أقصاها في التركيز (0.1%) لمستخلص الزنجبيل . أذ كانت أستجابة التجذير تساوي أكثر من ثلاثة أضعاف ونصف عينة السيطرة ، وان هذه الأستجابة (متمثلة بـ 23.8 جذرا) لاتساوي أكثر من 41% من أستجابة العقل المعاملة بالأوكسين (58 جذرا) . لذا يمكن أعتبار هذه المستخلصات بدائل لمنظمات النمو اذا ما قورنت بالتراكيز الواطئة للأوكسين ولا سيما في حالات الحصار وعدم توفر الأوكسين.

جدول (1) تأثيرات المستخلص المائي للزنجبيل في أستجابة عقل الماش الطرية

Treatment for 24h. in:	Mean root No./ cutting
dlH_2o	6.5
N.A.A.10^{-4} M	58
Ginger 0.01%	17.3 **
Ginger 0.1%	23.8 **
Ginger 1%	11.2
Ginger 10%	8.8

قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.05 = 5.03 قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.01 = 7.19

يشير الجدول (2) الى تأثير المستخلص المائي للزنجبيل في السيطرة على ظاهرة التعمير فقد كانت معاملة العقل الطرية بالأوكسين 10^{-4}M قد كشفت (68.1) جذرا في العقلة الواحدة وأن تأخير معاملة العقل بالأوكسين لمدة ثلاثة أيام وذلك بحفظ العقل بالماء المقطر خلال مدة التعمير أدى الى خفض أستجابة التجذير الى (39.4) جذرا(أي أنخفضت ألى 57%) أذا أعتبرنا أن العقل الطرية تمثل 100% . ان محاولة السيطرة على ظاهرة التعمير من خلال حفظ العقل في مستخلص الزنجبيل لمدة ثلاثة أيام بدلا من الماء المقطر قد بينت الآتي :-

ان أوطأ التراكيز المستخدمة (0.01%) كان محفزا لتكوين الجذور العرضية في عقل الماش المعمرة، أذ بلغ معدل عدد الجذور المتكشفة بهذا التركيز (61.3) وهي زيادة معنوية عند مقارنتها بالعقل المعمرة في الماء المقطر التي كشفت (39.4)جذرا. ان معدل عدد الجذور لهذا التركيز قارب من معدل عدد الجذور المتكونة في

العقل الطرية (68.1)، اذ لايوجد فـرق معنـوي بينهما . وقد بينت النتائج أيضا عدم وجود فـرق معنوي عند معاملة العقل بالمـستخلص المـائي للزنجبيل وبالتراكيز (0.1% و 1%) مقارنـة بالعقل المعمرة بالماء المقطـر(39.4) جـذرا، أذ كان معدل عـدد الجـذور المتكـشفة (49.3 و 49.3) على التوالي .

نستنتج مـن الجـدول (2) ان التركيـز الأمثل للمستخلص المائي للزنجبيل الذي يـسيطر على ظاهرة التعمير كليا هـو (0.01%) ، أذ ان العقل المعمرة التي حفظت في هذا التركيـز قـد أستجابت للتجذير كما لو كانت عقلا طرية ،لـذلك أعتمد لأجراء بقية التجارب.

جدول(2) تأثير المستخلص المائي للزنجبيل في السيطرة على ظاهرة التعمير عقل الماش

Aged cutting for 3 days in :-	Subsequent treatment for 24h.	Mean root No./ cutting
None	N.A.A.10^{-4} M	68.1
dlH_2o	N.A.A.10^{-4} M	39.4
Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	61.3 **
Ginger 0.1%	N.A.A.10^{-4} M	49.3
Ginger1%	N.A.A.10^{-4} M	49.3
Ginger10%	N.A.A.10^{-4} M	8.5

قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.05 = 14.68 قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.01 = 21.01

يشير جدول (3) الى تأثير السكروز في السيطرة على ظاهرة التعمير أذ ان معاملة العقـل الطرية بالاوكسينM 10^{-4} مولار قد كشفت عـددا من الجذور (72.3) جذرا وأن تأخير معاملة العقل بالأوكسين لمدة ثلاثة أيام وذلك بحفظ العقل بالماء المقطر قد كشفت (28.8)جذرا. ان هذا الأنخفاض في أستجابة التجـذير يقـدر بحـدود (61%). ويتضح من الجدول ان للسكروز تأثيرا محفزا في زيادة عدد الجذور المتكشفة . أذ كـان للتركيـز (1.5%) تأثير في زيادة عدد الجـذور المتكـشفة زيادة معنوية من الناحية الأحصائية وعلى مستوى أحتماليـة 1% مقارنـة مـع عينـة الـسيطرة (28.8)جذرا. أذ كان معدل عدد الجذور المتكشفة (65.9)جذرا.في حين لم يكن هناك زيادة معنوية بجميع التراكيز الأخرى في أستجابة التجذير للعقل المعمرة فيها بأستثناء التركيـز(2%)، أذ كـان تأثيره معنويا وعلى مستوى أحتمالية 5% ،ممـا أوقف العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعميـر جزئيا. وعند مقارنة هذه النتـائج بمعـدل عـدد الجذور للعقل الطرية (72.3) نجد أن التركيـز (1.5)% سيطر على ظاهرة التعمير كليا ،أذ كان معدل عدد الجذور المتكشفة (65.9) فـي العقـل المعمرة في السكروز. وهذا العدد لايختلف معنويا عن معدل عدد الجذور في العقل الطرية.

جدول (3) تأثير السكروزفي السيطرة على ظاهرة التعمير.

Aged cutting for 3 days in :	Subsequent treatment for 24h.	Mean root No./ cutting
None	N.A.A.10^{-4} M	72.3
dlH_2o	N.A.A.10^{-4} M	28.8
Sucrose 1%	N.A.A.10^{-4} M	41.6
Sucrose 1.5%	N.A.A.10^{-4} M	65.9**
Sucrose 2%	N.A.A.10^{-4} M	50.3*
Sucrose 2.5%	N.A.A.10^{-4} M	35.58
Sucrose 3%	N.A.A.10^{-4} M	38.75

قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.05 = 15.05 قيمةL.S.D على مستوى أحتمالية 0.01 = 21.5

يوضح جدول (4) تفعيل المستخاص المائي للزنجبيل وذلك بأضافة السكروز بتراكيز مختلفة بهدف تفعيل المستخاص. فقد وجد أن التركيز المثالي للزنجبيل الذي افسد عمليات التعمير كليا قد حفز تكوين عددا من الجذور (63.5) في العقلة الواحدة الذي لايختلف معنويا عن ذلك في العقل الطرية (72.3).أن أضافة السكروز بتراكيز مختلفة مع التركيز المثالي للزنجبيل كان له التأثير الأتي :

الخليط الوحيد الذي شمل التركيز الأمثل لكل من الزنجبيل (0.01%) والسكروز (1.5%) قد حفز تكشف عددا من الجذور (64.8) تساوي (2.3) ضعف عددها في العقل المعمرة في الماء المقطر (28.8) ويساوي من الناحية الأحصائية عدد الجذور المحفوظة في التركيز الأمثل للزنجبيل فقط (63.5) جذرا . وأن أضافة السكروز بتركيز (1% أو 2%) الى التركيز الأمثل للزنجبيل لم يؤثر معنويا في أستجابة التجذير اذ كشفت عددا من الجذور قدرها (39.3 و 29.6) جذرا على التوالي بينما زيادة تركيز السكروز المضاف لمستخاص الزنجبيل الأمثل وخصوصا (2.5% و 3%) ثبطت أستجابة تجذير العقل الى (13.1 و 10.2) جذرا على التوالي . والأستنتاج النهائي هو ان السكروز ألذي سيطر على ظاهرة التعمير كليا بتركيز (1.5%) وجزئيا بتركيز (2%) كما في الجدول (1) لم يكن قادرا على زيادة فعالية المستخاص المائي للزنجبيل وبتركيزه المثالي (0.01%) .

جدول (4) تفعيل المستخاص المائي للزنجبيل بأضافة السكروز بدلالة تكوين الجذور العرضية لعقل الماش المعمرة

Aged cutting for 3 days in :	Subsequent treatment for 24h	Mean root No./ cutting
None	N.A.A.10^{-4} M	72.25
dlH_2o	N.A.A.10^{-4} M	28.8
Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	63.5
Sucrose 1% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	39.3
Sucrose 1.5% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	64.8
Sucrose 2% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	29.6
Sucrose 2.5% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	13.1
Sucrose 3% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	10.2

قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.05 = 15.9 قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.01 = 22.7

يوضح جدول (5) تأثير الكلوكوز على ظاهرة التعمير والسيطرةعليها ، فقد وجد ان معاملة العقل بالأوكسين 10^{-4} M قد كشفت (78.4) جذرا وأن تأخير أضافة الأوكسين لثلاثة أيام وذلك بحفظ العقل بالتركيز (1% و 1.5%) أدى الى زيادة معنوية وعلى مستوى أحتمالية (5%) أذ كشفت عددا من الجذور (66.4 و 68.2) جذرا على التوالي مقارنة بالعقل المعمرة بالماءالمقطر (40.3) جذرا . وأن هذه المعاملة لاتختلف معنويا وعلى مستوى أحتمالية (5 %) عن معدل عدد الجذور في العقل الطرية (78.4) جذرا وبهذا يكون الكلوكوز قد أوقف عمليات التعمير كليا بالتراكيز المذكورة آنفا. أما عند معاملة العقل بالتراكيز (2% و 2.5%) فكان تأثيرها غير معنويا ، بينما التركيز العالي من الكلوكوز (3%) كان مثبطا لأستجابة التجذير بالكامل أدى الى ذبول العقل بكاملها وموتها.

جدول (5) تأثيرالكلوكوز في السيطرة على ظاهرة التعمير

Aged cutting for 3 days in :	Subsequent treatment for 24h.	Mean root No./ cutting
None	N.A.A.10^{-4} M	78.4
dlH_2o	N.A.A.10^{-4} M	40.3
Glucose 1%	N.A.A.10^{-4} M	66.4*
Glucose 1.5%	N.A.A.10^{-4} M	68.2*
Glucose 2%	N.A.A.10^{-4} M	44.5
Glucose 2.5%	N.A.A.10^{-4} M	54.8
Glucose 3%	N.A.A.10^{-4} M	0

قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.05 = 20.9 قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.01 = 29.9

أما تفعيل المستخلص المائي للزنجبيل بأضافة سكر الكلوكوز جدول (6) فقد وجد ان معاملة العقل بخليط من الكلوكوز بتركيز (1% أو 1.5% أو 2%) مع مستخلص الزنجبيل وبالتركيز المثالي (0.01%) أدى الى تكشف زيادة هائلة في معدل عدد الجذور للعقل المعمرة في هذه التراكيز . وأن هذه الزيادة كانت معنوية على مستوى أحتمالية (1%) سواء عند مقارنتها مع العقل المعمرة بالماء المقطر (40.3) جذرا أو عند مقارنها بالعقل المعمرة بالمستخلص المائي للزنجبيل الخالي من الأضافة (66) جذرا. وكان معدل عدد الجذور لهذه التراكيز (94.6و 111.5و 96.1) جذرا على التوالي . أي ان أضافة الكلوكوز بالتراكيز الأخيرة الى المستخلص أدى الى تفعيل المستخلص المائي للزنجبيل مما حصل أستجابة التجذير في عقل الماش المعمرة بهذه المحاليل تفوق تلك في العقل الطرية (تفوق استجابتها للأوكسين) فكانت أستجابتها تساوي (122% و 140% و 120%) تقريبا في تلك التراكيز على التوالي .

جدول (6) تفعيل المستخلص المائي للزنجبيل بأضافة الكلوكوز بدلالة تكوين الجذور العرضية لعقل الماش المعمرة

Aged cutting for 3 days in :	Subsequent treatment for 24h	Mean root No./ cutting
None	N.A.A.10^{-4} M	78.4
dlH_2o	N.A.A.10^{-4} M	40.3
Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	66
Glucose 1% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	99.6**
Glucos1.5% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	111.5**
Glucose 2% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	96.08**
Glucose2.5% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	63.5
Glucose 3% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	49.2

قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.05 = 19.7 قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.01 = 28.19

يوضح جدول (7) تـأثير Ascorbic Acid في السيطرة على ظاهرة التعميـر ، أذ أن معاملة العقل الطرية بالأوكـسين 10^{-4} M قـد كشفت عددا من الجذور (72.3) جذر وأن تأخير معاملة العقل بالأوكسين لثلاثة أيام وذلـك بحفـظ العقل بالتركيز (400) ملغم \ لتر مـن حـامض الأسكوربيك يشير الى زيادة معنويـة أحـصائية وعلى مستوى احتمالية (1%) ، أذ كشفت العقـل جذورا عددها (68.9)جذرا أي بما يعـادل (2.4) ضعف مقارنة بالعقل المعمـرة بالمـاء المقطـر (28.8) جذرا. وبمقارنة عدد الجذور في العقـل المعمرة بالتركيز الأخير من حامض الأسكوربيك (400) ملغم \ لتر ظهرت أنها لاتختلف معنويـا وعلى مستوى أحتمالية (1%) عن معـدل عـدد الجذور المكتشفة في العقل الطرية (72.3) وبهذا يكون حامض الأسكوربيك قد أوقف العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير كليا وجعلها تحـتفظ بحساسيتها للأوكسين وتستجيب كما لو كانت عقلا طرية . أما التركيز (200) ملغم \ لتر فقد تغلب على عمليات التعمير جزئيا من خـلال تكـشف (47.3) جذرا للعقلـة الواحـدة مقارنـة بالعقـل الطرية .

جدول (7) تأثيرAscorbic Acid في السيطرة على ظاهرة التعمير.

Aged cutting for 3 days in :	Subsequent treatment for 24h	Mean root No./ cutting
None	N.A.A.10^{-4} M	72.3
dlH_2o	N.A.A.10^{-4} M	28.8
Ascorbic Acid,25 mg/L	N.A.A.10^{-4} M	28.8
Ascorbic Acid,50 mg/L	N.A.A.10^{-4} M	30
Ascorbic Acid,100 mg/L	N.A.A.10^{-4} M	42.5
Ascorbic Acid,200 mg/L	N.A.A.10^{-4} M	47.3*
Ascorbic Acid,400 mg/L	N.A.A.10^{-4} M	68.9**

قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.05 = 13.08 قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.01 =18.7

أما تفعيل المستخلص المائي للزنجبيل بأضافة Ascorbic Acid (جدول 8) فقد وجد أن أضافة حامض الأسكوربيك بتركيز (100) ملغم \ لتر فما دون ألى المستخلص المائي للزنجبيل بالتركيز المثالي (0.01%) كان غير مؤثرا عند مقارنته بمعدل عدد الجذور في العقل المعمرة بالماء المقطر (28.8). وأن معاملة العقل بخليط من حامض الأسكوربيك (200 أو 400) ملغم \ لتر مع الزنجبيل بالتركيز الأمثل أدى الى زيادة عدد الجذور المتكشفة زيادة معنوية بدلالة L.S.D وعلى مستوى أحتمالية (0.01). أذ كان معدل عدد الجذور (54.1 و 54.3) على التوالي مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر (28.8) جذرا . ويبدو أن أضافة (200 – 400) ملغم \ لتر من حامض الأسكوربيك الى التركيز الأمثل (0.01%) من الزنجبيل قد حافظ على فعالية مستخلص الزنجبيل بدلالة تكوين الجذور العرضية في العقل ، وأن الأستجابة تقل مع قلة تركيز حامض الأسكوربيك المضاف للمستخلص المائي للزنجبيل (54.3) وهي لاتختلف معنويا عن تأثير مستخلص الزنجبيل بالتركيز الأمثل لوحده (63.5) وكذلك تساوي الضعف تقريبا (1.9) مقارنة بعدد الجذور المتكشفة في العقل المعمرة بالماء المقطر (28.8). ومن جانب آخر فأنها لاتختلف معنويا أذا ماقورنت بأستجابة التجذير العقل الطرية (72.3)جذرا.تشير نتائج الجدول الى أحتمالية تفعيل المستخلص المائي للزنجبيل بأضافة كمية اكبر من حامض الأسكوربيك.

جدول (8) تفعيل المستخلص المائي للزنجبيل بأضافة Ascorbic Acid بدلالة تكوين الجذور العرضية لعقل الماش المعمرة

Aged cutting for 3 days in :	Subsequent treatment for 24h	Mean root No./ cutting
None	N.A.A.10^{-4} M	72.3
dlH_2o	N.A.A.10^{-4} M	28.8
Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	63.5
A.A 25 ppm + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	29.75
A.A 50 ppm + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	20.16
A.A 100 ppm + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	37.25
A.A 200 ppm + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	54.1
A.A 400 ppm + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	54.3

قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.05 = 13.5 قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.01 = 19.4

أن تأثير كبريتات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$ في السيطرة على ظاهرة التعمير يوضحه جدول (9) حيث بين أن أوطأ التراكيز (0.025%) كان فعالا في زيادة تكشف الجذور العرضية في عقل نبات الماش المعمرة وكانت هذه الزيادة (77.4) جذرا معنوية على مستوى أحتمالية (0.01) مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر (54.4)جذرا. ومن الجدير بالذكر أن هذه التركيز كانت ذا تأثير فعال ومحفز معنويا وعلى مستوى أحتمالية (0.05) حيث كشف (23) جذرا زيادة من عينة السيطرة (54.4) جذرا ، وأن العدد نفسه يشكل (81.8%)مقارنة بأستجابة العقل الطرية. أي أن $(NH_4)_2SO_4$ في التركيز (0.025%) قد تغلب جزئيا على العمليات التي حدثت خلال ظاهرة التعمير.أما

التركيز(0.05%) فقد زاد معدل تكوين الجذور العرضية في العقل المعمرة بشكل غير معنوي أذ كان عدد الجذور (68.5) جذرا مقارنة بالعقل المعمرة في الماء المقطر (54.4) جذرا أما تعمير العقل بالتركيز (0.1%) فقد أدى الى أنخفاض معدل عدد الجذور المتكشفة وأن أعلى التراكيز المستخدمة (0.2%) كان مثبطا للتجذير بشكل كامل ، فقد أدى ألى ذبول العقل وموتها خلال مدة المعاملة .

جدول (9) تأثير كبريتات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$ في السيطرة على ظاهرة التعمير

Aged cutting for 3 days in :	Subsequent treatment for 24h	Mean root No./ cutting
None	N.A.A.10^{-4} M	94.6
dlH_2o	N.A.A.10^{-4} M	54.4
$(NH_4)_2SO_4$ 0.025%	N.A.A.10^{-4} M	77.4*
$(NH_4)_2SO_4$ 0.05%	N.A.A.10^{-4} M	68.5
$(NH_4)_2SO_4$ 0.1%	N.A.A.10^{-4} M	18.1
$(NH_4)_2SO_4$ 0.2	N.A.A.10^{-4} M	0

قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.05 = 14.8 قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.01 = 21.2

أما تفعيل المستخاص المائي للزنجبيل بأضـافة كبريتات الأمونيوم (جدول 10) فقد أشارت النتائج الى تعمير العقل بمستخاص الزنجبيـل (التركيـز الأمثل 0.01%) لمدة ثلاثـة أيـام قبـل معاملتهـا بالأوكسين 10^{-4} مولار قد كشفت (70.2) جذرا في العقلة الواحدة . أن أضـافة $(NH_4)_2SO_4$ بهـدف تفعيل المستخاص قد كشفت عددا من الجذور يساوي (122)جذرا عند التركيـز (0.025%) أي بزيـادة معنوية وعلى مستوى أحتمالية (0.01) تقدر بـأكثر من ضعف عند مقارنتها بمعدل عدد الجذور للعقـل المعمرة بالماء المقطر (54.4) جذرا. ومن خـلال معدل عدد الجذور المتكشفة لهذه المعاملة نـستنتج بأن أضافة هذا التركيز من كبريتات الأمونيوم الـى المستخاص أدى الى تفعيـل المـستخاص المـائي للزنجبيل تفوق كثيرا معدل الجذور للعقل المعاملـة بالمستخاص المائي دون أضافة .أن أضافة كبريتات الأمونيوم بالتركيز (0.05%) قد تسبب بزيادة غير معنوية في عدد الجـذور المتكـشفة (78) مقارنـة بالعقل المعمرة بالماء المقطر (54.4) جذرا، وقـد أظهرت هذه المعاملة فرقا غير معنوي عند مقارنتها مع العقل المعاملة بالمستخاص المائي لوحده (70.2) جذرا وكذلك مع العقل الطرية (94.6) جـذرا وأن أضافة كبريتات الأمونيوم بـالتركيز(0.1%) أدى ألى أنخفاض عدد الجذور الى (20)بينمـا أضـافة كبريتات الأمونيوم بالتركيز (0.2%) ادى الى تثبيط فعالية المستخاص بالكامل .

جدول (10) تفعيل المستخلص المائي للزنجبيل بأضافة $(NH_4)_2SO_4$ بدلالة تكوين الجذور العرضية لعقل الماش المعمرة

Aged cutting for 3 days in :	Subsequent treatment for 24h	Mean root No./ cutting
None	N.A.A.10^{-4} M	94.6
dlH_2o	N.A.A.10^{-4} M	54.4
Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	70.2
$(NH_4)_2SO_4$ 0.025% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	122**
$(NH_4)_2SO_4$ 0.05%+ Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	78
$(NH_4)_2SO_4$ 0.1% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	20
$(NH_4)_2SO_4$ 0.2% + Ginger 0.01%	N.A.A.10^{-4} M	0

قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.05 = 17.59 قيمة L.S.D على مستوى أحتمالية 0.01 = 25.16

المناقشة

ان اضافة المركبات الكيمياوية الى المستخلص المائي للزنجبيل بهدف زيادة فعاليته اعطت نتائج مختلفة باختلاف نوع المركب الكيمياوي. وعلى الرغم من بعض هذه المركبات كانت مؤثرة معنويا في السيطرة على ظاهرة التعمير الا ان اضافتها الى المستخلص المائي لايعني بالضرورة زيادة فعاليته ولكن قد يؤدي الى تثبيط هذه الفعالية. وقد تعود اهمية السكروز في المحافظة على استجابة العقل المعمرة كما لو كانت عقلا طرية الى رفع مستوى الكاربوهدرات الذائبة [7] . حيث تمت الاشارة الى ان نمو الجذور العرضية في العقل يتطلب مستويات عالية من الكاربوهدرات الذائبة [12]. وكذلك اشار [13] الى ان عقل (cut – roses) التي يتم تعميرها بالسكروز لمدة 3 ايام حافظت على نظارتها طيلة فترة التعمير وكأنها عقلا طرية بسبب دور السكروز في تقليل امتصاص الماء وهذا يعود بوضوح الى الجهد الازموزي العالي للسكروز وان العقل المعاملة بالسكروز تحافظ على الوزن الطري لها [7]. كما اشار الاخير ان السكروز يعمل على تقليل النسبة المؤية للبوتاسيوم عند معاملة عقل الماش [8].وهذا الا نخفاض قد يعمل على غلق الثغور أي انه يحافظ على العقل من الجفاف (Antidesiccant) .لقد اصبح واضحا انه من خلال التوازن الدقيق بين الاوكسين والمغذيات يمكن المحافظة على نشوء الجذور بدقة وان دور السكروز يكمن في تحوير فعالية الانزيمات وخصوصا تلك المتعلقة بأيض الاوكسين [1]، زيادة على ان السكروز يعمل كمصدر كاربوني في عملية نشوء الجذور فانه يعمل على خفض فعالية انزيم (IAA – oxidase) بشكل معنوي في حالة وجود الاوكسين او انعدامه [14] . ولاهمية هذا المركب الكاربوهدراتي في تحفيز تكوين الجذور العرضية وتغلبه على العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير كليا وجزئيا ، تمت اضافته الى المستخلص المائي للزنجبيل (جدول 4) لتفعيل المستخلص ، فوجد ان هذا المركب لايزيد من فعالية المستخلص حتى في تراكيزه المثالية ووجد

انه يسبب انخفاضا في استجابة التجذير بالنسبة للتراكيز العالية 3% و2.5% و 2% اذا ما قورنت باستجابة التجذير عند معاملة العقل بنفس التراكيز المذكورة آنفا للسكروز لوحده (جدول 3) او عند مقارنته مع العقل المعاملة بالزنجبيل لوحده . قد يعزى ذلك الى ان السكروز ربما يقيد المواد الفعالة في الزنجبيل او يعمل كمضاد (Antagonistic) لفعالية السكريات النافعة الموجودة أصلا في المستخاص [3] .ان نتائج (جدول 5) تشير الى ان تأثير الكلوكوز في السيطرة على ظاهرة التعمير وخاصة التراكيز 1% و 1.5% ، وقد سيطرت هذه التراكيز على العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير كليا عند مقارنتها بالعقل الطرية ،وهذا يتفق مع [15] . اذ ذكر ان الكلوكوز يزيد من استجابة التجذير بوجود او غياب الاوكسين المجهز . كما ان الكلوكوز يحفز تكون الجذور العرضية في نبات الحور Populus وان فعالية الاوكسين تتحور بوجود الكلوكوز [16].ان دور الكلوكوز في سيطرته على ظاهرة التعمير ربما يعزى الى محافظته على مستوى الكاربوهدرات الضرورية لتكوين الجذور العرضية خلال فترة التعمير لان العقل المعمرة في الماء المقطر تنخفض فيها استجابة التجذير نتيجة لانخفاض مستوى الكاربوهدرات [7] . ووجد ان للكلوكوز (جدول 6) اثر بارز في تفعيل المستخاص المائي للزنجبيل حيث وجد ان اضافة الكلوكوز بتركيز 1% و 1.5% و 2% الى المستخاص ادى الى تكشف زيادة هائلة في معدل عدد الجذور للعقل المعمرة في هذه التراكيز سواء عند مقارنتها مع العقل المعمرة في الماء المقطر أو المستخاص الخالي من الأضافة . وقد يعزى ذلك الى ان الكلوكوز يرتبط مع مجموعة الهايدروكسيل (-OH) الموجودة في مجموعة الفينيل (Phenyl Group) التابعة لـ (6–Gingerediol) لتكوين مركب كلوكوسايدي ، حيث وجد ان لهذا المركب فعالية مضادة للأكسدة (Antioxidant) تكافئ تلك الموجودة في Gingerdiol وGingerol وأن هذه الكلايكوسيدات تعمل كمركبات وسطية Intermediates لـ 6–Gingerediol مما يؤدي الى زيادة نوعيته وبالتالي تحسين الخصائص الوظيفية للزنجبيل [17] .ان معاملة العقل بحامض الأسكوربيك (جدول 7) بهدف السيطرة على ظاهرة التعمير ، ادى الى زيادة استجابة التجذير معنويا للعقل المعمرة به وبالتركيز (200 و 400) mg/l تغلب على العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير كليا . أذ ان معدل عدد الجذور المتكشفة (68.9) لاتختلف معنويا عن معدل عدد الجذور للعقل الطرية (72.3) أي ان العقل المعمرة بهذا التركيز حافظت على حساسيتها للمعاملة الاوكسينية كما لو كانت عقلا طرية . وقد يعود السبب في ذلك الى ان لحامض الاسكوربيك فعالية مضادة للاكسدة (18,19) او ربما يعمل كمثبط لانزيم IAA–oxidase من خلال تنافسه على الاوكسين ، او ربما يؤثر على فعالية الاوكسين التي تزداد بزيادة حامضية الوسط عند اضافة حامض الاسكوربيك . اذ ان التراكيز العالية من هذا الفيتامين تعمل تعاضديا مع الاوكسين [15] وانه يعمل على تثبيط عملية Lipid peroxidation التي تحصل للنباتات اثناء التعمير . وهذا المقترح يتفق مع [20] . فقد بين ان كلا من فيتامين E , C يسيطران على ظاهرة التعمير في اوراق Beech من خلال سيطرتها على عملية أكسدة الدهون . ان اضافة حامض الأسكوربيك بتركيز (200 او 400) mg/l (جدول 8) الى المستخاص المائي للزنجبيل لم يبد تاثيرا تعاضديا مع مركبات المستخاص . وان استجابة التجذير تقل مع قلة تركيز حامض الأسكوربيك المضاف للمستخاص المائي للزنجبيل . أذ ان اعلى التراكيز المضافة

(200 و 400) mg/l لاتختلف معنويا من تاثير المستخلص الخام بالتركيز الأمثل (0.01%) وان التراكيز الواطئة (100 – 25) mg/l كانت مثبطة لفعالية المستخلص . ويعزى ذلك الى احتمال ارتباط حامض الاسكوربيك مع المركبات الثانوية الموجودة في المستخلص ولاسيما Tannin (فحوصات تمهيدية لم تعرض) الذي له فعالية مضادة للاكسدة مما يعيق حركتها او يتفاعل معها وخاصة بتراكيزه الواطئة . أن هذا المقترح يتفق مع (19) اذ بين ان حامض الاسكوربيك الموجود في مستخلص *Emblica officinalis* يرتبط مع المركبات الثانوية للفواكه مثل Tannins و Gallic acid و Ellagic acid . وهذا يعني ان بعض المواد المحفزة للتجذير في المستخلص والمتمثلة بالمركبات الفينولية والتانينات ارتبطت مع هذا الفيتامين ولكن الفيتامين يبدي تأثيره للسيطرة على ظاهرة التعمير وتحفيز تكون الجذور العرضية وفي تراكيزه (200 و 400) mg/l بعد ان ارتبط جزءا منه مع المواد المحفزة للزنجبيل اما الجزء الأخر فانه يكون فعالا في تكوين الجذور العرضية . وعلى هذا الأساس يكون الأقتراح مقبولا عند زيادة تركيز حامض الأسكوربيك بهدف تفعيل المستخلص . يوضح جدول (9) تأثير كبريتات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$ في السيطرة على ظاهرة التعمير اذ ان التراكيز العالية من هذا المركب (0.2%) ادت الى تثبيط تكون الجذور العرضية وهذا يتفق مع (21) . اذ وجد ان اضافة كبريتات الامونيا الى عقل نبات الفاصوليا *Phaseolus volgaris* بتراكيز عالية ادى الى تثبيط تجذير العقل وربما يعزى ذلك الى دور كبريتات الامونيوم في تعجيل التعمير وزيادة تسرب Leakage المكونات الخلوية مما يؤدي الى حدوث اختلال في نفاذية الغشاء الخلوي وهذا المفتح يتفق مع [22] . كما يوضح هذا الجدول تحفيز التراكيز الواطئة من هذا المركب (0.05% و 0.025%) لتكوين الجذور العرضية وهذا يتفق مع [23] ولا سيما التراكيز الأخيرة التي سيطرت على ظاهرة التعمير جزئيا . وقد يعود السبب في ذلك الى دور كبريتات الأمونيوم كمصدر نايتروجيني ضروري في عمليات تخليق الاحماض النووية والبروتينات للخلايا [24] اذ وجد ان زيادة تجهيز النايتروجين يرافقه زيادة في محتوى النايتروجين الداخلي للنبات ثم في المحتوى الكلوروفيلي وزيادة في معدل تثبيت CO_2 والنايتروجين الكلي والبروتينات الذائبة وزيادة نشاط أنزيم Ribulose1,5 diphosphate carboxylase المحددة لعمليات البناء الضوئي [25] ، الذي يقل خلال التعمير [26,27] .ان هذا قد يفسر امكانية كبريتات الأمونيوم في السيطرة على ظاهرة التعمير جزئيا من خلال زيادة فعالية أنزيم Ribulose1,5 diphosphate carboxylase وزيادة معدل البناء الضوئي وبالتالي تجهيز الكاربوهدرات الضرورية لتكوين الجذور العرضية . أذ اكدت البحوث الحديثة ان تحسين الحالة الغذائية باضافة مصادر غذائية من الخارج او الحفاظ على الحالة الغذائية من خلال مصادرها الداخلية (كالفلقتين) يوقف التعمير جزئيا في الحالة الأولى أو منعها في الحالة الثانية [7,8] وان التركيز المثالي لهذا المركب زاد من تفعيل المستخلص المائي للزنجبيل بعد أضافته أليه وبشكل واضح (جدول 10) اذ ان معدل عدد الجذور (122) اكبر بكثير من معدل عدد الجذور المتكشفة للعقل المعاملة بالمستخلص الخام (70.2) أو تلك المعاملة بالمركب لوحدة (77.4) (جدول 9) وهذا راجع الى نسبة الكاربون \ النايتروجين المتكونة في المستخلص بعد أضافة كبريتات الأمونيوم هي المثالية لتكوين أفضل توازن دقيق للتجذير . اذ ان افضل تجذير يحدث عندما تكون نسبة الكاربون \ النايتروجين عالية [3] وبما ان

نسبة الكاربون \ النايتروجين في الزنجبيل كنسبة 68.2\ 8.3 والمتمثلة الكاربوهدرات \ البـروتين فأن اضافة كبريتات الأمونيوم الى المستخلص قد يرفع من نسبة النايتروجين ويجعل النسبة ضـمن توازن دقيق هي افضل مما كانت عليه في السابق مع الاحتفاظ بالنسبة المذكورة أنفا أو ان اضـافة كبريتات الأمونيوم تزيد من قاعدية المـستخلص المائي للزنجبيل [24] الى القيمة المثلى للانزيمات الموجودة في المستخلص وخاصة أنز (Alcohol dehydrogenase ADH) الذي يعمـل علـى أكسدة Geraniol الى Giranial الـذي بـدوره يكون مسؤولا عن تحسين الوضـائف الفـسلجية للزنجبيل [17] .

المصادر

1. Jarvis,B.C.1986..In Jackson,M.B.(ed).Martinus Nighoff pub.Netherland.
2. Shaheed,A.I.1987. Ph.D.Thesis.University of Sheffield,U.K.
3. Haissige,1986..In Jakson,M.B.(ed). Martinus Nighoff pub.Nether land.
4. Abeles, F. B. and Holm, R. E., ***Plant Physiol***., 1966, **41**, 1337.
5. Bishov,S.J. , Masuoka,Y & Kapsalis, J.g., ***J.food proc. And preservation.***, 1977, **1**, 153.
6. Shaheed , A.I., Yasir,O.M.and Alwan, A.O., (2008).Intn.J.Chem. (sub.for pub.).
7. Shaheed,A.I.&Salim,S.A., ***J.Educ.Call.ForWomenUniv.Bagh d.***,2002a, **13(3)**, 566
8. Shaheed , A.I. & Salim,S.A., ***Iraqi. J.Sci***., 2002b, **43B(1)**, 1.
9. Shaheed&.Abdul-Hassan,N.A.2006..M.SC.Thesis,Ba bylonUniv.(in Arabic)
10. Hess,C.E., ***XV1 th international Horticulture Congress.***, 1961, **4**, 375.
11. Middleton ,W, Jarvis,B.C. and Booth , A., ***New Phytol*** ., 1978a , **81**, 279.
12. Foong,.W.&Barnes,M.F., ***Biochemic.Physiol.pflanzen***., 1981, **176**, 507.
13. Marousky , F.J., ***Soc. Hort.Sci***., 1969, **94**, 223.
14. Chibbar ,R.N ; Gurumuri, K.K.& Nada,N.N., ***Experintia***, 1979, **35**, 202.
15. Fernqvist , I., ***Lautbrukshogskolans annaler***., 1966, **32**, 104.
16. Nanda, K.K.,Jaim,M.K.,and Malhotra, S., ***Physiol.Plant***., 1971, **24**, 3.
17. Sekiwa,W.,Kubota,K.and Kobayashi,A., ***J.Agri.Food.Chem.,*** 2000, **48**, 373
18. Fox , P.F. & Mc Sweeney,P.L.1998.Dairy chemistry and biochemistry.
19. Sharma, N.,Trikha,P.,Athar, M.and Raisuddin, S.2000.. Human and Experimental Toxicology.,19:377.
20. Kunert , K.J. & Ederer , M., ***Physiol. Plant***., 1985, **65**, 85.
21. Thimann , K.V.,and Poutase,E.F., ***Plant Physiol***. , 1941, **16**, 585.
22. Poovaiah , B.W.,and Leopold,A.C., ***Plant Physiol*** ., 1976, **58**, 182 .
23. Welander,T., ***Physiol. Plant.***, 1987, **43**, 36.
24. Hartmann,H.T.,Kester,D.E.&Davie s,F.T.1990..5th ed prentice–Hall.Inc.
25. Yamashita ,T., ***Ann .Bot .***, 1986, **85**, 277.
26. Hall,N.P.Keys,A.J.&Merrett,M.S., ***J. Exp.Bot***., 1987, **29(108)**, 31.
27. Peterson,L.E. and Huffaker,R.C.**,** ***Plant Physiol***., 1975, **55**,1009.