تأثير منظم النمو Brassinolide والمغذي Pro –Sol في بعض صفات النمو الخضري وانعكاسها في انتاج المواد الفعالة لنبات عين البزون *Catharanthus roseus (L.) G.Don*

هاوزين حسين الصالحي[1] واديب جاسم عباس الاحبابي
قسم البستنة وهندسة الحدائق/ كلية الزراعة /جامعة تكريت

الخلاصــة

نفذت التجربة في الظلة الخشـــبية التابعة لكلية الزراعة /جامعة كركوك للمدة من 2016/7/16لغاية 2016/11/1 لدراســـة تأثير الرش بمنظم النمو Brassinolide والمغذي الورقي Pro-Sol في بعض صـــفات النمو الخضـــري وانعكاســـها في انتاج المواد الفعالة لنبات عين البزون *Catharanthus roseus G.Don* . تضمنت التجربة اختبار اربعة تراكيز من منظم النمو Brassinolide وهي : (0.020 , 0.015 0.010 , 0.00) ملغم.لتر-¹واربعة تراكيز من المغذي Pr (0 , 1.5 , 2.5 , 3.5) غم. لتر-¹ , نفذت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة RCBD و باربعة مكررات,وقورنت المتوسطات حسب اختبار L.SD عند مستوى احتمال 5%،وبينت النتائج مایاتي : ان رش منظم النمو BL بتركيز 0.010 ملغم.لتر-¹ اثراً معنوياً في زيادة المساحة الورقية وبتركيز 0.015 ملغم.لتر-¹ في صفة وزن الجاف، ورش المغذي Pr بتركيز 1.5غم .لتر-¹ اثر معنوياً في صفة المساحة الورقية والوزن الجاف فيما اظهرت التدخل بينهما تفوق معنوي عند معاملة BL2Pr3 في صفة المساحة الورقية .وأن نسبة المواد الفعالة في اوراق النبات قد ازدات زيادة ايجابية عند الرش بمنظم النمو Bassinolide والمغذي المعدني Pro-Solعند المعاملة BL2Pr3 في زيادة القلويدين الفعالينVincristineو Vindoline اعطت قيم بلغت (264.60) ،(362.54)مايكروغرام.غم-¹ على التوالي مقارنة بأقل قيمة عند معاملة BL0Pr0 اذ اعطت (38.39)مايكروغرام.غم-¹ عند مركب Vindoline ، ومعاملة BL0Pr3 اعطت قيم (40.01) عند مركبVincristine في حين اعطت المعاملة BL3Pr3 لزيادة القلويدين الفعالين Cathranathine وVinblastine اعلى قيم قد بلغت (409.15)، (432.16)مايكروغرام.غم-¹ على التوالي مقارنة باقل قيم عند معاملة BL0Pr0 اذ اعطت قيم (52.87) و (41.57)مايكروغرام.غم-¹ على التوالي لجميع المعاملات مقارنة بمحتوى الجذور لنفس النبات على الرغم من زيادة نسب المواد الفعالة فيها .

الكلمات المفتاحية:
عين البزون، القلويدات.
Brassinolide ,PRo-Sol.
للمراسلة:
هاوزين حسين الصالحي
البريد الالكتروني:
hawzen1989@gmail.com
الاستلام: 10 / 4 / 2017
القبول: 13 / 6 / 2017

Effect of Growth Regulator Brassinolide and Pro-Sol in Some Vegetative Growth Properties and Their Reflection in the Production of Active Nutrients of *Catharanthus roseus* (L.) G.Don

Hawzen H.AL.Salhi and Adib Jassim AL- Ahababy
Hort. & Landscape Design Dept.- College of Agric.- Tikrit University

ABSTRACT

Keywords:
plant vinca, alkaloids, Brassinolide, Pro-Sol.

Corresponding Author:
Hawzen H.AL.Salhi
E-mail:
hawzen1989@gmail.com

Received: 10/4/2017
Accepted: 13/6/2017

The experiment was carried out in the Lath house of the Faculty of Agriculture / University of Kirkuk for the period during 16/7/2016 to 1/11/2016 to study the effect of spray on the growth regulator of Brassinolide and Pro-Sol in some vegetative growth and its effect on the production of active substances of the Periwinkle *Catharanthus roseus(L.) G .Don*. The trial included four concentrations of the growth regulator Brassinolide: (0.020, 0.015 0.010, 0.00) ml.l-¹ and four nutrient concentrations of Pr (3.5, 2.5, 1. 0) g .l-¹, the experiment carried out in accordance with the design of full random sectors RCBD and four replications, and the averages were compared by testing L.SD at 5% probability, and the results showed : the spray growth regulator BL concentration .010) ml.l-¹

[1] البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

effect a significant increase in leaf area and a concentration of 0.015 ml.l-¹ in the recipe dry weight, Leaf area nutrient concentration of Pr 1.5 g .l-¹ effect significantly in the dry recipe Leaf area and weight in interference between them showed highest superiority when treated BL2Pr3 in recipe paper space . on the proportion of active substances in the leaves of the plant has a Positive increase in basinolide spray and mineral spray with BL2Pr3 in increased alkaloids active Vincristine and Vindoline gave values of 264.60 and 362.54 µg. Compared with the lowest value of BL0Pr0 with 38.39 µg.¹ in Vindoline, and BL0Pr3 with 40.01 at Fincherstin while BL3Pr3 to increase the active alkaloids (Cathranathine and Vinblastine) had the highest values (409.15),(432.16) respectively compared with the lowest values in the treatment of BL0Pr0, with values of 52.87 and 41.57 µg respectively for all treatments compared to the root content of the same plant despite the increase in the percentage of active substances .

المقدمة:

يُعد نبات عين البزون *Catharanthus roseus(L) G.Don* من احد نباتات العائلة الدفلية Apocynacea والاسم الشائع لهذا النوع هو Medagascar Periwinkle نسبة الى موطنه الاصلي جزيرة مدغشقر الافريقية (Verpoort واخرون 2002) , نباتات هذه العائلة تمتاز باحتوائها على ازهار ذات الوان مختلفة جعلتها ذات قيمة جمالية اذ يستعمل كنباتات زينة في العراق , معظم انواعها سامة وذلك لاحتوائها على قلويدات ذات اهمية طبية عالية(, Veeresham ,2004)ونبات عين البزون عبارة عن عشبة طبية تزهر في جميع فصول السنة وفي الربيع والخريف بشكل رئيسي ولايتحمل درجات الحرارة اقل من 7م° تحتوي على اكثر من 130 مركب قلويدي له اهمية طبية واقتصادية كبيرة(Verpoort, 1997) .وفي الاون الاخيرة اصبح التوجه باستخدام قلويدVincristin مفضل على Vinblastine وذلك بسبب تفوقه العلاجي في التأثير على الاورام السرطانية اذا يعتبر اكثر اهمية من الناحية الطبية(Evans, 2009,) وبعض انواع قلويدات نبات عين البزون تستخدم لعلاج امراض السكري لقدرته على تقليل نسبة H2O2 المتراكمة داخل خلايا جسم الانسان (Tiong واخرون 2013) .

يعتبر Brassinolide احد الهورمونات المكتشفة من قبل العالم (Mitchell, 1979) من خلال فحص حبوب لقاح نبات الكرنب(*Brassica oleracea var. capitata*) حيث اكتشف مايقرب70 نوعاً تقريباً وقد اطلق عليها اسم Brassins ويمكن اعتبار Brassinolide اول هورمون لهذه المجموعةو التي اعتبرت الفئة السادسة من الهورمونات النباتية,وهو هورمون اساسي له دور في كثير من الوظائف الفسلجية للنباتات (Montoya واخرون,2005) ومع ذلك لايعرف الكثير حول مكان ووقت تصنيعه داخل النبات على الرغم من دوره الكبير في تحفيز وتوسع الخلايا وزيادة فعالية انزيم Polymerase وتصنيع البروتين حيث يستعمل بكميات قليلة جداً في النبات (Ahmad, Hayat ,2011) ويعتبر Brassinolide الشكل الفعال لمجاميع البراسينوستيرويدات والذي بدوره يؤدي دوراً في العمليات التطورية المتخصصة في النبات (الطبقجلي,2013) . للتغذية الورقية دور كبير في تحسين نمو وتطور النباتات وذلك لضمان وصول العناصر الغذائية للاوراق وبشكل قابل لامتصاص دون تعرضه للترسيب والغسل وبتالي تقل كفاءته (ابو ضاحي ويونس،)1988 ومن الاسمدة الورقية الشائعة حالياً البروسول لاحتوائه على عناصر غذائية كبرى N.P.K فضلاً عن العديد من العناصر الصغرى. وقد اشار ناصر وعباس (2012) عند اجراء دراسة على نبات الجيرانيوم *Pelargonium zonaie* L. ان زيادة التراكيز من المغذي بروسول له الاثر الايجابي على صفات النمو الخضري. ولاهمية المواد الفعالة الموجودة في نبات عين البزون طبياً لعلاج الاورام السرطانية او حد من انتشارها اجريت هذه الدراسة بهدف معرفة تأثير منظم النمو Brassinolide والمغذي Pro-Sol على بعض صفات النمو الخضري و محتوى الاوراق والجذور من المواد الفعالة.

مواد وطرائق العمل:

زرعت البذور في البيت البلاستيكي التابع لاحد المشاتل الاهلية في كركوك بتاريخ 2016/7/16 لضمان انبات البذور صنف المختلط Victory mix op انتاج دنماركي وتم زراعته في دايات بلاستيكية على مساطب بارتفاع متر عن التربة لتجنب اصابته بالفطريات والحشرات وكانت درجة حرارة البيت البلاستيكي 30م° وبعد ظهور اربعة اوراق حقيقة تم نقله الى اصص بلاستيكية سعتها 5 كغم بابعاد12x15 سم مملوء بخليط من البتموس والتربة(سميسم والربيعي،2014)(جدول 1) بنسبة 1:3 بتاريخ 2016/8/16 وتم عملية الاقلمة لمدة اسبوع بتعريضه لجو الخارجي وبتاريخ2016/9/1 تم نقل الاصص الى الظلة الخشبية التابعة لكلية الزراعة / جامعة كركوك موقع الدراسات والابحاث، نفذت التجربة بتصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) وبواقع عاملين واربع مكررات ووزعت المعاملات عشوائيا, تضمنت العامل الاول الرش باربعة تراكيز من المنظم النمو Brassinolide (0.00, 0.010 ,0.015, 0.020) ملغم .لتر$^{-1}$ ورمز لها (BL0 , BL1 ,BL2 , BL3) على التوالي وتضمن العامل الثاني الرش بالسماد المعدني Pro - Sol وهو سماد مركب 10-52 – 10 مع العناصر الصغرى بورون , 0.029 % نحاس , 0.05 % حديد ,0.10 % منغنيز , 0.05% زنك , 0.05% مولبيدنيوم 0.0005% وباربعة تراكيز (0.0, 1.5, 2.5 ،3.5)غم .لتر$^{-1}$ ورمزلها (Pr0,Pr1, Pr2, Pr3) على التوالي وبذلك يكون عدد المعاملات 16معاملة وباربعة مكررات وبذلك اصبح عدد الوحدة التجريبية 64 وشملت كل وحدة تجريبية 5 اصص واصبح العدد الكلي للنباتات 320 اص تم اجراء عملية الرش لعاملي التجربة في المساء وانخفاض درجات الحرارة ورشت حتى البلل الكامل .اجريت عملية الرش بموعدين :الرشة الاولى بتاريخ 2016/9/16 ورشة الثانية بتاريخ 2016/10/1 بعد استخدام المادة الناشرة .

جدول (1) بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لتربة موقع الدراسة

مكونات التربة	القيمة	وحدة قياس
الرمل	46	%
غرين	34	%
طين	6	%
نسجة التربة	رملية لومية	
N الكلي %	28.3	ملغم.لتر $^{-1}$
P الكلي %	6	ملغم .لتر$^{-1}$
K الكلي %	11.35	ملغم .لتر$^{-1}$
الكلس	4.2	غم.$^{-1}$كغم
الجبس	8.2	غم.$^{-1}$كغم
E.C	0.73	Ds.m^{-1}
النترات	25	Ppm
المادة العضوية	2.43	غم.$^{-1}$كغم
PH التربة	7.07	
PHالماء	7.4	

*اجريت تحليلات التربة التربة في مديرية زراعة كركوك/مختبرات قسم التربة

الصفات المدروسة:

اخذت عينات من نباتات متجانسة من كل وحدة تجريبية في مرحلة التزهير (Alam واخرون، 2012) وتحديدا بعد اسبوعين من اخر رشة في بداية شهر تشرين الاول والذي يعد الوقت الافضل لاخذ العينات (Yu واخرون، 2010 وIdrees واخرون، 2013 وGuo ,2014) . وتم قياس الصفات التالية:

أ- الصفات الخضرية:

1-المساحة الورقية (سم² / نبات) Leaf area/plant:- تم استخراج المساحة الورقية بضرب طول الورقة في عرضها ومن ثم ضربها في 0.7(المساحة الورقية =طول xعرض 0.7 X) (Johson,1973).

2-وزن الجاف للنبات(غم):- تم حساب الوزن الجاف للمجموع الخضري والمتمثلة بالساق والاوراق بواسطة الميزان الحساس بعد قلعه مباشراً وتنظيفه جيدا من الشوائب والاتربة العالقة بعد ذلك تم تقطيع المجموع الخضري ووضعه في اكياس ورقية مثقبة ووضعت في فرن كهربائي على درجة حرارة 60م° لمدة 72 ساعة لحين ثبات الوزن ثم وزن بالميزان الحساس(الصحاف ،1989).

ب-الصفات الكيمائية:

1 -استخلاص المواد الفعالة في الاوراق والجذور .

طبقت عملية الاستخلاص للقلويداتVincristine وVinblastine وCathranthine وVindoline بعد اخذ عينات من الاوراق والجذور وتنظيفها وفق الطريقة التي ذكرها كل من Tugulو Ozer (1985) مع بعض التغيرات ،حيث تم اخذ 100 ملغم من الاوراق و100 ملغم من الجذور المجففة ومزجت كل من الاوراق والجذور المجففة على حدا مع 10 مل من الايثانول لمدة 10 دقائق مع الرج المتقطع بين مدة واخرى ،رشحت لفصل مستخلص الايثانول الحاوي على مركبات المراد استخلاصها ثم ركز مستخلص الايثانول،بعد ذلك تم وضع مستخلص الايثانول في قمع فصل سعة 250 مللتر واضيفت اليه مقاسمة: حامض الهيدروكلوريك بتركيز 0.1% والكلورفورم بتركيز 60% ومن ثم هز العينة وتحريكها في حمام مائي بعد ذلك عرضت لموجات فوق الصوتية ،وتم فصل طبقة الحامض المائي والتي تحتوي على القلويدات عن طبقة الثانية ،وضعت طبقة الحامض المائي في جهاز المبخر الدوار لتركيزها الى أن تحول لون المستخلص من اللون الفاتح الى اللون الغامق ،بعد ذلك تم اضافة الفحم الحيواني المنشط ،ثم نفذت عملية الرشح بهدف التصفية وازالة اللون واصبحت العينات بعد هذه الخطوة جاهزة لعملية التشخيص وتقدير مكوناتها من القلويدات .طبقت اختبار أولي لبعض العينات بهدف الكشف عن القلويدات باستخدام كاشف دراجندورف حديث التحضير والمكون من نترات البزموت Bi(NO3).2H2O ويوديد البوتاسيوم Kl المذابة في حامض الخليك المخفف والذي يعصي راسباً برتقالياً مع القلويدات (Kinghornو Gloria، 1998) اذ اعطى نتائج ايجابية في العينات المختارة جميعها بشكل عشوائي ،وبعد ذلك تم وضع العينات الجاهزة من القلويدات والمعدة للتشخيص وتقدير كميتها ونسبتها في المجمدة حتى اكمال عملية تجهيز بقية العينات.

2- الجهاز المستخدم:

استخدم جهاز كروماتوغرافي السائل عالي الاداء (HPLC) (Chromatography Hgih Performance Liquid نوع (LC-10A Shimadzu)ياباني الصنع والموصول بكاشف للاشعة فوق البنفسجية –مرئية (UV/VIS detecter)نوع (Shimadzu SPD.6AV) ومكون من عدة أجزاء منها مضخة نوع (LC-6A) قادرة على دفع الطور المتحرك خلال عمود الفصل بمعدل جريان يتراوح بين (10-0.1)مل/دقيقة وفرن نوع (CTO-A6)بمدى درجة الحرارة (0-100)م° يوضع فيه عمود الفصل المستخدم لغرض تثبيت درجة الحرارة ومنظم نوع (SCL-6A) للسيطرة على ظرف العمل وحاسبة نوع (CR-4A) قادرة على رسم الكروماتوغرافي وحساب مساحة الحزم والارتفاع والتركيز في آن واحد و اعطاءالنتائج على ورقة التسجيل نفسها .حققت المحاليل القياسية والنماذج بأستخدام محقنة نوع (Rheoyden 7125 valve injector)بحجم 20 مايكروليتر ،اما العمود المستخدم في جهاز (HPLC)عمود مصنوع من معدن الاستيل غي قابل للصدأ نوع (Stainless Steel)وبأبعاد (mm I.D50 X4.6)ومعبأ بحشوة الطور المعكوس وبقطر (3)mmلدقائق الحشوة ،وقد طبقت عملية الفصل والتشخيص في ظروف المحددة التي بينتها عملية تشخيص النماذج القياسية للمركبات المفصولة من قلويدات Vincristine sulphateو Vinblastine sulphate و

Cathranthine sulphate و sulphate Vindoline. من اوراق وجذور نبات عين البزون وفق الظروف التي ذكرها Zhao وأخرون (2003)،اما ظروف الفصل الكروماتوغرافي فهي كما في جدول (2).

3-طريقة التشخيص والتقدير باستخدام جهاز (HPLC)

تم تشخيص قلويدات Vincristine و Vinblastine و Cathranthine و Vindolineلعينات الدراسة (الاوراق والجذور)اعتماداًعلى نماذج القياسية ،اذ تم حقنها في جهاز (HPLC)عن طريق اذابة النماذج القياسية في المذيبات الخاصة بها والمعدة تبعاً لخواصها ودرجة ذوبانها ،بعد ذلك تم حقنها ،واستخدمت طريقة الفصل الكروماتوغرافي (HPLC).حضرت محاليل العينات المراد تشخيصها للمهاملات جميعها وحقنت في الجهاز تحت الظروف المستخدمة نفسها في جدول (4) بعد أن حقنت نماذجها القياسية ،وتم حساب تركيز المركبات عن طريق مقارنة نتائج التقدير الكمي للمركبات الموجودة في نماذج العينات تحت دراسة لكل من زمن الاحتجاز ومساحة الحزم المجهولة للنماذج مع زمن الاحتجاز ومساحة المنحنيات للنماذج القياسية المعروفة ،حسبت تراكيز المركبات في النموذج باستخدام المعادلة الاتية:-

تركيز نموذج بالعينة =(تركيز النموذج القياسي Xمساحة حزمة النموذج /مساحة حزمة النموذج)X عدد مرات التخفيف

جدول (2) زمن احتجاز الهورمون (المنظم النمو) Brassinolide تحت ظروف الفصل الكروماتوغرافي (HPLC) .

العمود column	**C-18 DB(50x2.1 mm I.D)**
الطور المتحرك Mobile Phase	**نوع المذيب :methanol: 40% (20:20, v/v)solvent (A) 0.1%triethanol amine TEA acetonitrile60% Solvent (B) (PH 8.2) :**
سرعة جريان طور المتحرك	**1 ml /min**
نوع الكشف	**الاشعة فوق البنفسجية (UV)عند طول موجي 280 نانوميتر**
درجة حرارة الفصل	**30c°**
تركيز المركب القياسي	**25 mg/ml**

النتائج والمناقشة:

1-المساحة الورقية سم²/نبات:

يتضح من الجدول (2) تأثير الرش بمنظم النمو Brassinolide والسماد المعدني Pro – Sol والتداخل بينهما في صفة مساحة الورقية تفوق المستوى الثاني BL1 ذات تركيز (0.010 ملغم .لتر-¹)معنوياً اذ اعطى معدل بلغت (29.08) سم² مقارنة مع اقل معدل عند معاملة عدم الرشBL0 ذات تركيز(0.00مل .لتر-¹) (28.12) سم² . ويشير الجدول نفسه الى أن زيادة المساحة الورقية كانت معنوية فيها عند المستوى الثاني من مستويات السماد المعدني Pro–Sol عند المعاملة Pr1 ذات تركيز (1.5 غم .لتر-¹) اذ بلغت معدل(29.31)سم مقارنة مع اقل معدل عند معاملة عدم الرش BL0 ذات تركيز (0.00ملغم .لتر-¹) (27.72)سم² . فيما كان للتداخل بين المعاملة الرش بمنظم النمو Brassinolide ومستويات السماد المعدني Pro- Sol تأثير معنوي في هذه الصفة، اذ تفوقت المعاملة BL2Pr3ذات تركيز(3.5 غم. لتر- ¹+0.015 ملغم . لتر-¹) على جميع المستويات اذ وصل صفة مساحة الورقية فيها الى (30.14)سم² بينما سجلت المعاملة BL2Pr0 ذات تركيز(0.00 غم. لتر- ¹+0.015 ملغم . لتر-¹) اقل فرق معنوي اذ وصلت قيمتها الى (27.11) سم².

جدول (2) تأثير الرش بمنظم النمو Brassinolide والمغذي الورقي Pro-Sol والتداخل بينهما في صفة المساحة الورقية(سم²).

معدل Brassinolide	تراكيز السماد المعدني Pro –Sol غم .لتر-¹				تراكيز Brassinolide ملغم.لتر-¹	
	Pr3 3.5	Pr2 2.5	Pr1 1.5	Pr0 0.0		
28.12	27.13	27.41	29.74	28.19	0.00	BL0
29.08	29.72	29.72	29.18	27.72	0.010	BL1
28.87	30.14	28.40	29.82	27.11	0.015	BL2
28.66	29.30	29.01	28.48	27.86	0.020	BL3
	29.07	28.64	29.31	27.72	معدلPRO-SOL	
	BLXPr		Pr	BL	LSD 0.05	
	1.36		0.68	0.68		

2- وزن الجاف (غم):

يتضح من الجدول (3) تأثير الرش بمنظم النمو Brassinolide والسماد المعدني Pro - Sol والتداخل بينهما في صفة وزن الجاف قد تفوق المستوى الثالث BL2 ذات التركيز (0.015ملغم . لتر-¹) معنوياً اذ بلغت معدل(7.519) غم مقارنة مع اقل معدل عند مستوى الرابعBL3 ذات تركيز (0.020ملغم . لتر-¹) (7.306) غم .

ويشير الجدول نفسه الى أن الزيادة في الوزن الجاف كانت معنوية فيها عند مستوى الثاني من مستويات السماد المعدني Pro–Sol عند معاملة Pr1 ذات تركيز (1.5 غم .لتر-¹)اذ بلغت معدل (7.556) غم مقارنة مع اقل معدل عند مستوى الرابعPr3 ذات تركيز (3.5 غم .لتر-¹)اذ بلغت معدل(7.269) غم.

فيما كان للتداخل بين مستويات الرش بمنظم النمو Brassinolide والسماد المعدني Pro -Sol تأثير معنوي في هذه الصفة ، اذ تفوقت المعاملة BL1Pr0 ذات تركيز (0.0غم . لتر-¹ +0.010 ملغم .لتر-¹)على جميع المستويات اذ بلغت قيمة(7.800) غم وايضاً تفوقت المعاملة BL2Pr0 ذات تركيز (0.0 غم .لتر-¹0.015+ ملغم. لتر-¹) بينما سجلت المعاملة BL3Pr3 ذات تركيز (3.5 غم .لتر-¹ +0.020ملغم. لتر-¹) اقل فرق معنوي اذ بلغت قيمة (6.700) غم مقارنة مع اعلى قيمة لجميع المعاملات عند التداخل بين المعاملتين .

جدول (3) **تأثير الرش بمنظم النمو Brassinolide والمغذي الورقي Pro-Sol والتداخل بينهما في صفة وزن الجاف(غم).**

معدل Brassinolide	تراكيز السماد المعدني Pro –Sol غم .لتر-¹				تراكيز Brassinolide ملغم.لتر-¹	
	Pr3 3.5	Pr2 2.5	Pr1 1.5	Pr0 0.0		
7.344	7.350	7.225	7.800	7.000	0.00	BL0
7.406	7.700	7.300	7.225	7.400	0.010	BL1
7.519	7.325	7.350	7.600	7.800	0.015	BL2
7.306	6.700	7.375	7.600	7.550	0.020	BL3
	7.269	7.313	7.556	7.438	معدلPRO-SOL	
	BLXPr		Pr	BL	LSD 0.05	
	0.483		0.241	0.241		

تبين من الجدول (2) و(3) حصول زيادة معنوية في المساحة الورقية/نبات (سم²) عند رش النباتات بمنظم النمو Brassinolideبتركيز (0.010 ملغم.لتر-¹) اذ بلغت المساحة الورقية معدل(29.08)سم²، وزيادة معنوية في صفة وزن الجاف (غم)عند تركيز(0.015 ملغم.لتر-¹) النموBrassinolide اذ بلغت معدل (7.519)غم،. ويرجع زيادة المساحة الورقية الى تأثيره المشجع في انتقال السكريات الى القمم النامية فيزيد من انقسام الخلايا واستطالتها (Verma واخرون ، 2009) وبتالي زيادة وزن الجاف للنبات. وان استطالة الخلية وانقسامها يتم السيطرة عليها بواسطة عمليات مختلفة مثل التغير في الخصائص الميكانيكية لجدار الخلية والعمليات البايوكيميائيه وايضاً التعبير الجيني ،وقد يعتقد ان البراسينو ستيرويدات تشارك في ارتخاء جدار الخلية لان الجدار الابتدائي في اغلب النباتات ذوات الفلقتين والفلقة الواحدة يتكون من الياف سليلوزية دقيقة، لذلك فان الزيادة في النمو الخضري الناتجة من إضافة الـ BL ربما يعود إلى استطالة الخلية و انقسامها (Shahbaz و Ashraf، 2007).

اما بالنسبة لمغذي المعدنيPro-Sol فقد ادى تركيز(1.5 غم.لتر-¹)الى زيادة معنوية في صفة المساحة الورقية اذ بلغت معدل(29.31)سم² ،وزيادة الوزن الجاف بمعدل(7.556)غم فيما كان تراكيز العالية للمغذي ذو تأثير عكسي لصفة وزن الجاف وكان للتداخل بين المنظم النمو BL والمغذي Pr دور فعال في زيادة المساحة الورقية اذ بلغت اعلى قيمة المساحة الورقية عند معاملة BL2Pr3(30.14)سم²،وقد يعزى سبب الزيادة في مساحة الورقة الى دور المغذي بروسول لاحتوائه على عنصر النتروجين والذي بدوره يعمل على زيادة كفاءة عملية البناء الضوئي (Senesi (1992،. وقد يعود زيادة في صفة المساحة الورقية والوزن الجاف الى دور العناصر الغذائية التي يحتويها المغذي المعدنيPro - Sol مثل النتروجين والبوتاسيوم والبورون حيث ان النتروجين يساعد او يدخل في تركيب منظمات النمو وجزيئات الكلوروفيل وهذا يشجع عملية النمو والانقسام ، اما تاثير البوتاسيوم فانه له دور في تكوين المادة الخضراء وتشجيعه في انقسام الخلايا وكذلك نمو الانسجة الانشائية ،وان احتواء المغذي المعدنيPro –Sol على عنصر البورون يشترك في عملية البناء الكاربوني وكذلك تنظيم نشاط الانزيمات وانقسام الخلايا وان رش النباتات بهذه العناصر بتأثيرها في العمليات الحيوية داخل النبات وانعكاس ذلك على النمو(رمضان وجميل 2010).

3–قياس المواد الفعالة:

1–قياس المواد **الفعالة في الاوراق:**

بين الجدول (4) تأثير رش بمنظم النمو Brassino lide والسماد المعدني Pro –Sol في اوراق نبات عين البزون لانتاج المواد الفعالة عند مستوى الاول قد ازدادت عند معاملة BL0Pr3 ذات التركيز(3.5 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (112.03 مايكروغم .غرام-¹)بالنسبة لمركبVindoline مقارنة بأقل قيمة عند معاملة BL0Pr0 ذات التركيز (0.0 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (38.39 مايكروغم .غرام-¹)، بينما كان انسب تركيز لزيادة مركب Vincristine عند معاملة BL0Pr1 ذات التركيز(1.5 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (150.80 مايكروغم .غرام-¹)، مقارنة بأقل قيمة عند معاملة BL0Pr1 ذات التركيز (1.5 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم .لتر -¹) ،في حين كان انسب معاملة لزيادة المركبين القلويدين Vinblastine وCatharanthine هو BL0Pr2 ذات التركيز(2.5 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيم (138.45 مايكروغم .غرام-¹)و(199.98 مايكروغم .غرام-¹)على التوالي مقارنة بأقل قيمة عند معاملة BL0Pr0 ذات التركيز(0.0 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيم (41.57مايكروغم .غرام-¹)و(52.87مايكروغم .غرام-¹).

في حين اعطت مستوى الثاني زيادة في انتاج مركب القلويديVindoline وCatharanthineعند معاملة BL1Pr2 ذات تركيز(2.5 غم .لتر-¹ + 0.010 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيم (166.09مايكروغم .غرام-¹) و(275.88مايكروغم .غرام-¹) على التوالي مقارنة بأقل قيمة عند معاملة BL1Pr0 ذات التركيز(0.0 غم .لتر-¹ + 0.010 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (103.66مايكروغم .غرام-¹) و معاملة BL1Pr3 ذات التركيز(3.5 غم .لتر-¹ + 0.010 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة

(81.87مايكروغم .غرام-1)،بينما اعطت معاملة BL1Pr3 ذات التركيز(3.5 غم .لتر-1 + 0.010 ملغم .لتر -1) زيادة في انتاج مركب القلويدي Vincristine و Vinblastine اذ اعطت قيم (217.02مايكروغم .غرام-1)و (213.40مايكروغم .غرام-1) على التوالي مقارنة مع اقل قيمة عند معاملةBL1Pr0 ذات تركيز(0.0 غم .لتر-1 + 0.010 ملغم .لتر -1) اذ اعطت قيم (96.38مايكروغم .غرام-1)و(82.27مايكروغم .غرام-1).

وقد ادى معاملة BL2Pr3 ذات التركيز (3.5 غم .لتر-1 + 0.015 ملغم .لتر -1) في المستوى الثالث زيادة في انتاج المركبين القلويدين الفعالين Vindoline وVincristine وCatharanthineاذ اعطت قيم (264.60) و (362.54) و(3.15) مايكروغم .غرام-1على توالي مقارنة بأقل قيمة عند معاملة BL2Pr1 ذات التركيز (1.5غم .لتر-1 + 0.015 ملغم .لتر -1) اذ اعطت قيمة(133.36)مايكروغرام.غرام-1 بالنسبة لمركب القلويدي Vindoline وعند معـــاملة BL2Pr0. ذات التركيز(0.0 غم .لتر-1 + 0.015 ملغم .لتر -1) اذ اعطت قيم (154.92مايكروغم .غرام-1)و (264.35مايكروغم .غرام-1) وعلى التوالي بالنسبة للقلويدين Vincristine و Catharanthineاما بالنسبة لمركب القلويدي Vinblastine فقد ازدادت عند معاملة BL2Pr2 ذات التركيز (2.5 غم .لتر-1+ 0.015 ملغم .لتر-1) اذ اعطت قيم (318.00مايكروغم .غرام-1) مقارنة بأقل قيمة عند معاملة BL2Pr1 اذ اعطت قيمة(146.14مايكروغم .غرام-1).بينما في المستوى الرابع نلاحظ زيادة انتاج المواد الفعالة لمركب القلويدي Vindoline عند معاملة BL3Pr1. ذات التركيز(1.5 غم .لتر-1 + 0.020 ملغم .لتر -1) اذ اعطت قيم (172.21مايكروغم .غرام-1) مقارنة بأقل قيمة عند معاملة (68.64 مايكروغم .غرام-1)،في حين كان انسب معاملة لمركبين القلويدين Catharanthine و Vinblastine هو BL3Pr3 ذات التركيز(3.5 غم .لتر-1 + 0.020 ملغم .لتر -1) اذ اعطت قيم (328.10مايكروغم .غرام-1)و(432.16مايكروغم .غرام-1)على التوالي مقارنة بأقل قيم عند معاملة(183.19مايكروغم .غرام-1)و(126.45مايكروغم .غرام-1)على توالي،.اما بالنسبة لمركب القلويديCatharanthine فقد ازدادت عند معاملة BL3Pr2. ذات التركيز(2.5 غم .لتر-1 + 0.020 ملغم .لتر -1) اذ اعطت قيم (172.21مايكروغم .غرام-1)مقارنة بأقل قيمة عند معاملةBL3Pr0 . ذات التركيز (0.00 غم .لتر-1 + 0.020 ملغم .لتر -1) اذ اعطت قيم (236.71مايكروغم .غرام-1) .

جدول (4) تأثير منظم النمو Brassinolide والمغذي الورقي Pro-Sol في محتوى الاوراق من القلويدات المشخصة بجهاز كروماتوغرافيا السائل ذو الاداء العالي (HPLC).

Vinblastine مايكروغرام.غرام-1	Catharanthine مايكروغرام.غرام-1	Vincristine مايكروغرام.غرام-1	Vindoline مايكروغرام.غرام-1	Treatment
41.57	52.87	69.74	38.39	**BL0Pr0**
79.00	93.73	150.8	79.65	**BL0Pr1**
138.45	199.98	40.01	54.5	**BL0Pr2**
84.70	163.30	112.17	112.03	**BL0Pr3**
82.27	195.61	96.38	103.66	**BL1Pr0**
108.45	229.29	144.08	128.39	**BL1Pr1**
169.22	275.88	171.92	166.09	**BL1Pr2**
213.40	81.87	217.02	141.26	**BL1Pr3**
204.79	264.35	154.92	146.05	**BL2Pr0**
146.138	316.68	159.71	133.36	**BL2Pr1**
318	311.31	216.04	197.06	**BL2Pr2**
290.42	315.46	362.54	264.60	**BL2Pr3**
126.45	236.71	183.19	68.64	**BL3Pr0**
233.85	272.52	234.82	172.21	**BL3Pr1**
350.330	414.96	301.53	166.44	**BL3Pr2**
432.164	409.15	328.10	166.61	**BL3Pr3**

2-قياس المواد الفعالة في الجذور

بين الجدول (5) تأثير رش بمنظم النمو Brassino lide والسماد المعدني Pro –Sol في جذور نبات عين البزون لانتاج المواد الفعالة عند مستوى الاول قد ازدات بالنسبة لمركبين القلويدين Vindolineو Vinblastineعند معاملة BL0Pr3 ذات التركيز(3.5 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم .لتر -¹)اذ اعطت قيم (23.50مايكروغم .غرام-¹) و(52.37مايكروغم .غرام-¹) مقارنة بأقل قيم عند معاملة BL0Pr0 ذات تركيز(0.0 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (4.32 مايكروغم .غرام-¹) و(18.69 مايكروغم .غرام-¹) على التوالي، بينما كان انسب تركيز لزيادة مركب Vincristine عند معاملة BL0Pr2 ذات التركيز(2.5 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (31.63 مايكروغم .غرام-¹)، مقارنة بأقل قيمة عند معاملة BL0Pr0 ذات التركيز (0.0 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (6.48 مايكروغم .غرام-¹)، ،في حين كان انسب معاملة لزيادة المركب القلويدي Catharanthine هو BL0Pr1 ذات التركيز(1.5 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيم (34.05 مايكروغم .غرام-¹) مقارنة بأقل قيمة عند معاملة BL0Pr0 ذات التركيز(0.0 غم .لتر-¹ + 0.00 ملغم . لتر -¹) اذ اعطت قيمة (17.28مايكروغم .غرام-¹).

اما بالنسبة للمستوى ثاني فقد ازدادت قيم جميع المركبيات القلويديةVindoline و Vincristineو Catharanthine و Vinblastine عندمعاملة BL1Pr3 ذات التركيز(3.5 غم .لتر-¹ + 0.010 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيم (25.28مايكروغم .مل-¹) و(69.38مايكروغم .غرام-¹) و(71.36مايكروغم .غرام-¹)و(57.17مايكروغم .غرام-¹) على توالي مقارنة بأقل قيم لمركبين القلويدين Vindoline و Vincristineعند معاملةBL1Pr1 ذات التركيز(1.5 غم .لتر-¹ + 0.010 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيم (17.66مايكروغم .غرام-¹)و(25.16مايكروغم .غرام-¹)على التوالي ، واقل قيمة بالنسبة لمركب القلويدي Catharanthine عند معاملة BL1Pr1 ذات التركيز(1.5غم .لتر-¹ + 0.010 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيم (23.56مايكروغم .مل-¹)ومعاملةBL1Pr2 ذات التركيز(2.5 غم .لتر-¹ + 0.010 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيم (37.49مايكروغم .غرام-¹) بالنسبة لمركب القلويدي Vinblastine .

في حين كان انسب تركيز لزيادة المواد الفعالة في المستوى ثالث لمركبات القلويدية Vindoline و Catharanthine و Vinblastine عندمعاملة BL2Pr3 ذات تركيز(3.5 غم .لتر-¹ + 0.015 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيم (33.33مايكروغم .غرام-¹)و(79.75مايكروغم .غرام-¹) و(118.87مايكروغم .غرام-¹) على التوالي مقارنة بأقل قيمة عند معاملةBL2Pr0 ذات تركيز(0.0 غم .لتر-¹ + 0.015 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيم (13.22مايكروغم .غرام-¹)و(42.22مايكروغم .غرام-¹) و(32.53مايكروغم .غرام-¹)على التوالي ،بينما كان انسب تركيز لزيادة المركب القلويدي Vincristine عندمعاملةBL2Pr2 ذات التركيز(2.5 غم .لتر-¹ + 0.015 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (60.86مايكروغم .مل-¹)مقارنة بأقل قيمة عندمعاملةBL2Pr1 ذات التركيز(1.5 غم .لتر-¹ + 0.015 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (16.54مايكروغم .غرام-¹).

اما بالنسبة الرابع فقد ازدادت انتاج المواد الفعالة بالنسبة لمركبين القلويدين Vindoline و Vincristine عندمعاملة BL3Pr0 ذات التركيز(0.0 غم .لتر-¹ + 0.020 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيم (85.24مايكروغم .غرام-¹)و(156.64مايكروغم .غرام-¹)على التوالي مقارنة باقل قيمة لمركب القلويدي Vindoline عندمعاملة BL3Pr1 ذات التركيز(1.5 غم .لتر-¹ + 0.020 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (18.94مايكروغم .غرام-¹) وأقل قيمة لمركب القلويدي Vincristine عندمعاملة BL3Pr2 ذات التركيز(2.5 غم .لتر-¹ + 0.020 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (64.86مايكروغم .غرام-¹)، في حين كان انسب تركيز لزيادة لمركبين القلويدين Catharanthine و Vinblastineهو معاملة BL3Pr3 ذات التركيز(3.5 غم .لتر-¹ + 0.020 ملغم . لتر -¹) اذ اعطت قيم (187.13مايكروغم .غرام-¹) و (151.09مايكروغم .غرام-¹)على التوالي مقارنة بأقل قيمة لمركب القلويدي Catharanthine عندمعاملة BL3Pr2 ذات تركيز(2.5 غم .لتر-¹ + 0.020 ملغم .لتر -¹) اذ اعطت قيمة (108.25مايكروغم

.غرام-1) واقل قيمة لمركب القلويدي Vinblastineعند معاملة BL3Pr1 ذات التركيز(1.5 غم .لتر-1 + 0.020 ملغم .لتر -1) اذ اعطت قيمة (94.30مايكروغم .غرام-1).

جدول (5) تأثير منظم النمو Brassinolide والمغذي الورقي وPRO-SOL في محتوى الجذور من القلويدات لنبات عين البزون المشخصة بجهاز كروماتوغرافيا السائل ذو الاداء العالي (HPLC).

Vinblastine مايكروغرام.غرام-1	Catharanthine مايكروغرام.غرام-1	Vincristine مايكروغرام.غرام-1	Vindoline مايكروغرام.غرام-1	Treatment
18.69	17.28	6.48	4.32	**BL0Pr0**
40.63	34.05	27.52	15.45	**BL0Pr1**
41.29	29.72	31.63	12.73	**BL0Pr2**
52.37	32.83	27.27	23.50	**BL0Pr3**
48.35	23.56	39.56	18.58	**BL1Pr0**
40..16	45.40	25.16	17.66	**BL1Pr1**
37.49	32.65	25.81	18.61	**BL1Pr2**
57.17	71.36	69.38	25.28	**BL1Pr3**
32.53	42.22	35.26	13.22	**BL2Pr0**
75.28	49.11	16.54	19.49	**BL2Pr1**
53.63	62.23	60.86	24.86	**BL2Pr2**
118.87	79.75	49.102	33.33	**BL2Pr3**
99.52	175.42	156.64	85.24	**BL3Pr0**
94.30	107.127	144.79	18.94	**BL3Pr1**
77.61	108.25	64.86	54.03	**BL3Pr2**
151.09	187.13	118.07	60.51	**BL3Pr3**

تبين من الجدول(4) و (5)ان زيادة المادة الفعالة في نبات عين البزون قد زادت زيادة ايجابية عند رش النبات بمنظم النمو Brassino lide وقت تفوق المستوى الرابع ذات التركيز (0.015) ملغم. لتر-1من تركيز المنظم BL على جميع المعاملات لكلا المركبين الفعالين Vindoline& Vincristine ويعتبر هذا التركيز من المنظم النمو BL انسب تركيز لزيادة هذين المركبين الفعالين ويعزى السبب الى دور المنظم النمو BL الفسلجي في تحفيز استطالة وانقسام الخلايا وبتالي زيادة المساحة الورقية (Shahbazو Ashraf، 2007).

بينما تفوق المستوى الرابع في زيادة المادة الفعالة في نبات عين البزون زيادة معنوية عند رش النباتات بمنظم النمو Brassino lideذات التركيز(0.020)ملغم. لتر -1من تركيز المنظم BL على جميع المعاملات لكلا المركبين الفعالين Vinblastine & Catharan thine , وهذ دليل على ان كل ما زاد تركيز المنظم النمو زاد تركيز هذين المركبين الفعالين نتيجة دور الفسلجي للبراسينولايد . واشارة الى جدول (2) فأن المساحة الورقية عند زيادتها ستؤدي الى زيادة في محتوى المواد الفعالة وبذلك تزداد تكون لقلويدات المزدوجة وتقل تكون القلويدات المفردة بزيادة عمر الورقة وقد يعود ذلك الى اندماج هذه القلويدات فيزداد احدهما على حساب الاخرPan (Pan واخرون ,2014), ان القلويدات الكلية تتركز بنسبة عالية في الانسجة المحيطة للجذر Root Bark, المزدوجة (Singh وJagdev، 1996)وبين الباحث (Pan, 2014)ان القلويدات يزداد تركيزها في الاوراق الحديثة والقلويدات المزدوجة توجد بشكل اكبر في الاوراق نبات عين البزون .وعلى الرغم من زيادة المواد الفعالة في جذور نبات عين البزون و تفوقت المستوى الرابع من تركيز المنظم النمو BL مقارنة بمعاملة المقارنة و لجميع المركبات مثل Vincristine, Vindoline, Catharanthine ,Vinblastineاذ اعطت التركيز (0.020) ملغم. لتر -1افصل تركيز من المنظم النمو BL لزيادة المواد الفعالة في نبات ولكن كانت نسبتها اقل من نسبة المواد الفعالة في الاوراق.

وقد بين الجدولين السابقين دور السماد المعدني Pro – Sol في زيادة المواد الفعالة في نبات عين البزون حيث كانت افصل تركيز من السماد المعدني بروسول هي مستوى الرابع(3.5) غم. لتر $^{-1}$في الجذور والاوراق ولجميع المركبات الفعالة وقد يعزى ذلك الى احتواء السماد المعدني على عناصر غذائية كبرى وصغرى وبتالي استهلاكه من قبل النبات لزيادة المجموع الخضري والذي بدوره يؤدي الى زيادة نسبة المواد المستخلصة من النبات.

جدول (6) يبين زمن احتجاز بعض مركبات القلويدات القياسية تحت ظروف الفصل الكروماتوغرافي (HPLC).

ت	المركبات القلويدية القياسية	زمن الاحتجاز .دقيقة$^{-1}$	المساحة	التركيز مايكروغم.غرام $^{-1}$
1	**Vindoline**	1.37	290924	25
2	**Vincristine**	2.54	136249	25
3	**Catharanthine**	3.37	175342	25
4	**Vinblastine**	5.04	167180	25

المصادر:

ابو ضاحي، يوسف محمود واليونس مؤيد احمد .(1988).دليل تغذية النبات .جامعة بغداد ,وزارة التعليم العالي والبحث العلمي , جمهورية العراق.

سميسم، أيناس عبد الرؤوف عمار ,مسلم عبد علي الربيعي (2013) .تأثير الباكلوبترازول والمستحضر الحيوي لبكتيريا *Bacillus subtilis*في نمو نبات عين البزون.مجلة علوم الحياة.(1)5 .

رمضان،احمد فرحان وصباح محمد جميل (2010).تأثير الرش ببعض المغذيات في النمو وحاصل نبات الكجرات Hibiscus sabdariffa L. ،مجلة الانبار للعلوم الزراعية .المجلد 8(4).

الطبقجلي، عبد الكريم عبد الجبار محمد سعيد(2013). تأثير منظم النمو BL و CPPU وشدة المجال المغناطيسي في نمو وازهار صنفين من نبات حلق السبع، اطروحة دكتوراه .كلية الزراعة جامعة بغداد. العراق .

ناصر، زهراء صاحب وجمال احمد عباس . (2012) تأثير الرش بالمحلول المغذي PRO.SOL ومستخلص عرق السوس في صفات النمو لنبات الجيرانيوم , *Pelargonium zonale* L. كلية الزراعة / جامعة الكوفة .مجلة الفرات للعلوم الزراعية.

Alam , M. M., M. Naeem, M. Idrees , M. Masroor A. Khan, Moinuddin. (2012). Augmentation of Photosynthesis, Crop Productivity, Enzyme Activities and Application of Diverse Plant Growth Regulators. J. Crop Sci. Biotech.15 (2); 117-129.

Guo X., B. Chang, Y. Zu, Z.Tang (2014). The impacts of increased nitrate supply on Catharanthus roseus growth and alkaloid accumulations under ultraviolet B stress. Journal of plant Interactions. 9(1); 640-646.

Gloria,L.L.Lee and A.Kinghorn(1998). Special proplems with extraction of plant. Method in Biotechnolog.Natural produts Isolation edited by Cannel R.J.P,(4):343-363

Hayat, S and A ,Ahmad (2011). Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone**.** Springer Science**.**

Idrees M., Naeem M., Aftab T., Khan M. (2013). Salicylic acid restrains nickel toxicity**,** improves antioxidant defense system and enhances the production of anticancer alkaloids in *Catharanthus roseus (L.)*G.Don. J. Haz Mat. 252;367–374.

Johson , G.R. (1973) . Diallel analysis leaf area heterosis and relationships to yield in maize . Grop Sci . , 13 (1) :172-180

Mitchell, J.W . N,Mandava ,J.F.Worley , J.R Plimmer and M.V, Smith.(1970). Brassins - anew family of plant hormones from rape pollen. Nature(London). 225: 1065-1066.

Montoya , T, T. Nomura , T. Yokota , K.Farrar ,K . Harrison , J.Jones ,T.Kaneta ,Y. Kamiya , M.Szekeres and G.Bishop(2005) . Patterns of dwarf expression and brassino

steroids accumulation in tomato reveal the importance of brassino steroids synthesis during fruit development .the Plant journal , 42(2): 262-269 .

Pan, Q. , M.Z.Saiman , N.R.Mustafa , Y.H.Choi , R.Verpoorte (2014) Metabolomic charac teristics of *Catharanthus roseus* plants in time and space. Institute of Biology (IBL), Faculty of science, Leiden University. 3: 55-74.

Singh, **V**. **P**. **and R**. **S**. **D**. **Jagdev** (**1996**) .Ajmalicine(raubacine):a medicinally important alkaloid from *Catharanthus roseus* (Vinca rosea), in supplement to cultivation and utilization of medicinal plants, S S Handa and M K Kaul (Eds.)R R L, Jammu. pp.199-206.

Tiong , S.H., C.Y. Looi, H. Hazni , A. Arya, M. Paydar , W.F.Wong , S. Cheah , M.R. Mustafa ,K. Awang .(2013) . Antidiabetic and Antioxidant Properties of

. Alkaloids from *Catharanthus roseus (L.) G. Don*. Molecules.18; 9770-9784

Tugrul,L.and A .Ozer(1985).Possibilities for the *Ttigonella f oenum-graecum* seed as crude drug in Turkey.Acta pharmac.Turc .27:14-16 .

Verpoorte , R. , Contin, A. and Memelink , J. (2002). Biotechnlogy for the production of plant secondary metabolites. *Phytochem. Rev.*, 1(1): 13-25 .

Verpoorte , R . , Van Der Heijden and, P.R.H, Moreno . (1997). Biosynthesis of Terpenoid Indole Alkaloids in *Cataranthus roseus* Cells. In :The Alkaloids .Cordell, G.A. (Ed), Academic, San Diego, 49 : 221-229.

Veeresham , C. (2004). Medicinal plant biotechnology .Satish Kumar Jain for CBS Publishers & Distributors, New Delhi . India Binding House.

Yu, J.Q., Huang , L.F., Hu, W.H., Zhou , Y.H., Mao, W.H., Ye, S.F., and Nogues, S. , (2004). A role for brassinosteroids in the regulation of photosynthesis in *Cucumis sativus*. J. Exp. Bot., 55(399): 1135–1143.

Zhao ,H.Y.Qu.X.Wang.X.Lu.H.Zhang,F.Li and M.Hattori(2003).Determination of trigonelline by HPLC and study on its pharmacokinetics.Yao Xue Bao,38(4):279-282.