انتاج وتقدير الهيوسيامين والهيوسين في نبات الداتورة *Datura stramonium* المنتج بتقنية زراعة الانسجة النباتية

مؤيد صبري شوكت* صالح محسن بدر** غازي منعم عزيز*

الملخص

درست نوعية وكمية قلويدات التروبين في الاعضاء المختلفة من نبات الداتورة ***Datura stramonium*** وفي الكالس المستحث من الاوراق. وعند التحري عن القلويدات الرئيسة السائدة في النبات والمتمثلة في مركبي الهيوسيامين والهيوسين في مستخلصات الاوراق والبذور والساق والجذر ظهر ان تراكيز هذين المركبين متوزعة في الاعضاء النباتية اعتمادا على طبيعة ووظيفة كل عضو، فيتركزان في البذور والاوراق ثم ينخفضان في الجذر والساق.

لقد امكن الحصول على الكالس من زراعة الاوراق في الوسط الغذائي **MS** تحت تأثير منظمات النمو المتمثلة في معاملتين الاولى: تألفت من **NAA**، **2,4.D** و**K** (**1** و**0.5** ملغرام/لتر) والثانية تألفت من **NAA** و**BA** (**1** و**0.5** ملغرام/لتر) اذ لوحظ ان استحثاث الكالس من الاوراق بلغ **85 %** للمعاملة الاولى و**75 %** للمعاملة الثانية، وبلغ وزن الكالس **5.8** و**4.95** غرام/ **10** مليلتر من الوسط الغذائي للمعاملتين على التوالي.

بلغ تركيز مركبي الهيوسيامين والهيوسين في مستخلصات الكالس **8.101** و**7.090** مليغرام/ غرام من الوزن الجاف للمعاملة الاولى فيما بلغ **7.407** و**6.727** مليغرام/غرام من الوزن الجاف للمعاملة الثانية مقارنة بتركيزيهما في اوراق النبات البالغة **0.198** و**0.140** مليغرام/غرام وزن جاف.

المقدمة

اشارت تقارير منظمة الصحة الدولية الى ان **80%** من سكان العالم يعتمدون على الادوية من مصادر نباتية في العلاج الطبي وان تجارة السوق العالمية للمنتجات النباتية تقدر سنويا بحوالي **40** مليار دولار وهناك تزايد سنوي بمقدار **15–20%** كما تعد **25%** من المنتجات الدوائية ذات مصدر نباتي ولها مساهمة مهمة في تحسين حياة الانسان فضلا عن الايرادات المادية الناتجة عن صناعتها (**8**).

تنتج النباتات مركبات عضوية معقدة سميت بالمنتجات الثانوية **Secondary product** وتشمل القلويدات والفينولات والفلافونويد والسيترويدات والتربينويد. ولها اهمية كبيرة في علاج الامراض الخطيرة والمزمنة مثل الهيوسيامين المضاد للكولين، **Digoxine** المنشط للقلب، **Vinblastine**، **Vincristine** و**Taxol** لعلاج السرطان، وتعد العائلة الباذنجانية المصدر الرئيس لقلويدات التروبين واهمها **Hyosyamine (Atropine)** والهيوسين **Scopolamine** لأهميتها الطبية في مجال طب العيون والتخدير وامراض القلب والجهاز الهضمي (**8**).

تزداد مركبات الايض الثانوي في اجزاء النبات نتيجة ظروف عدة مثل تعرض النبات الى حالات الاصابة الحشرية والمرضية او ظروف بيئية قاسية كالحرارة المرتفعة والمنخفضة او التعرض الى الاضرار الفسيولوجية. ويتأثر تركيز هذه المركبات حسب الظروف البيئية والزراعية حسب اماكن نمو النبات (**17**). ونتيجة ذلك اتجه الباحثون الى وسائل جديدة لزيادة الانتاج ومنها زراعة الانسجة النباتية ومزارع معلق الخلايا **Cell suspension** اذ وجدت انها مصدر جيد لزيادة تركيز المركبات الثانوية فقد ثبت امكانية رفع تركيز الهيوسيامين من **1.7–6.2** ملغرام/غرام والهيوسين من **0.8–3.3** ملغرام/غرام وزن جاف عن طريق زراعة الانسجة النباتية لنبات ***Datura stramonium*** (**12**)، واشار الملاح

جزء من أطروحة دكتوراه للباحث الأول.

* كلية العلوم – جامعة بغداد– بغداد، العراق.

** الهيئة العامة للبحوث الزراعية– وزارة الزراعة – بغداد، العراق.

واواب (1) الى انتاج الهيوسيامين والهيوسين من الكالس المستحث من اوراق نبات الداتورة ***D. innoxia*** في وسط **Murashige and Skoog** المدعم **NAA** و**BA**. ونظرا الى أهمية القلويدات عموما وقلويدات التروبين خاصة في العلاج الطبي نفذت هذه الدراسة للاهداف الاتية:

1- استخلاص قلويدات التروبين (الهيوسيامين والهيوسين) من الاجزاء المختلفة من نبات الداتورة ***D. stramonium***.

2- الكشف عن بعض المركبات الكيميائية في المستخلص الخام للنبات باستخدام تقنية كروموتوغرافيا السائل ذي الاداء الفائق **HPLC**.

3- تحديد افضل المعاملات الهرمونية لاستحثاث الكالس باستخدام تقنية زراعة الانسجة النباتية.

4- دراسة تأثير المعاملات الهرمونية في زيادة انتاج قلويدات التروبين في الكالس ومقارنته مع النبات.

المواد وطرائق البحث

تهيئة النبات

زرعت بذور نبات الداتورة في البيت الزجاجي ثم نقلت بعد الانبات الى الحقل وتركت لتنمو او قسمت المجموعات النباتية الى مجموعتين الاولى لاستخدامها في عملية الاستخلاص المباشر والثانية هيئت لاستخدامها في زراعة الانسجة النباتية.

استخلاص القلويدات

جمعت الاجزاء النباتية (الاوراق والبذور والسيقان والجذور) كل على انفراد وجففت في الظل ثم طحنت وحولت الى مسحوق حبيبي جاهز للاستخلاص. وزن **10** غرامات من العينة الجافة للاجزاء المختلفة من النبات ومزجت مع **100** سم^3 من الميثانول **80%** واتبعت الطريقة المعتمدة من قبل **Dhar** و **Bhat** (**9**) في استخلاص قلويدات التروبين.

زراعة الانسجة النباتية

قطفت الاوراق الغنية القمية من الاولى وحتى السادسة مع استثناء الاوراق الفلقية وغسلت بالماء الجاري ثم غمرت في الكحول الاثيلي **95 %** لمدة دقيقة واحدة بعدها عوملت بمحلول مخفف من هايبوكلورات الصوديوم بالماء بنسبة **1:1** واضيف اليها قطرة من المادة الناشرة **Tween 20** لمدة عشر دقائق. ثم غمرت الاوراق في الكحول الاثيلي **95%** لمدة نصف دقيقة بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم مرات عدة للتخلص من آثار محاليل التعقيم. زرعت الاجزاء الورقية المعقمة في وسط **MS** (**14**) في انابيب زجاجية مدعمة بمنظمات النمو وبمعاملتين:

- **NAA** (**1** ملغرام/لتر) و**2,4-D** (**1** ملغرام/لتر) و **Kinetine** (**0.5** ملغرام/ لتر).
- **NAA** (**1** ملغرام/لتر) و**BA** (**0.5** ملغرام/لتر).

حضنت المعاملات في درجة حرارة **26** واضاءة لمدة **16** ساعة تعقبها **8** ساعات ظلام. استخلصت القلويدات من الكالس النامي بالطريقة المتبعة من الاجزاء النباتية.

الكشف عن بعض المركبات الكيميائية في مستخلص اجزاء النبات:

- الكشف عن القلويدات باستخدام كاشف دارجندورف (**16**).
- الكشف عن الكومارينات اذ اعتمدت طريقة **Geismann** (**10**).
- الكشف عن الكلايكوسايدات باستخدام كاشف كيد (**15**).
- الكشف عن التانينات اعتمادا على طريقة **Shihata** (**15**).

التقدير الكمي والنوعي لقلويدات التروبين

استعمل جهاز HPLC (Spectrophysics/UV-Visible detector) نوع العمود ODS 25 سم ×4 ملم وباستخدام الطور المتحرك KH_2Po_4 (50 ملي مول) 83% وAcetonitrile 17%، برقم هيدروجيني 3 وبسرعة جريان 1 سم^3/دقيقة. قيست القراءات على طول موجي 216 نانوميتر. قدر التركيز حسب المعادلة الاتية:

$$\text{التركيز (ملغرام)} : \frac{\text{ارتفاع حزمة العينة x تركيز المحلول القياس}}{\text{ارتفاع حزمة المحلول القياس}} \quad (11)$$

حللت النتائج احصائياً باستخدام اختبار F على مستوى 0.05 (2).

النتائج والمناقشة

الكشف عن المركبات الكيميائية في اجزاء النبات

يبين الجدول (1) ان المستخلص الخام للاوراق والبذور احتوى على مركبات القلويدات والكومارينات والتانينات والكلايكوسيدات، فيما انعدم وجود الكلايكوسيدات في مستخلص الجذر اما مستخلص الساق فقد احتوى فقط على القلويدات دون بقية المركبات. وقد ذكر الدستور الهندي للاعشاب ان قلويدات التروبين الموجودة في نبات الداتورة ***D. stramonium*** تتمثل بالهيوسيامين بنسبة 66% والهيوسين بنسبة 33% وتتوزع نسبة 1% بين مركبات اوكسيدات الهيوسيامين والهيوسين والكومارينات والكلايكوسيدات والتانينات (12).

جدول 1: الكشف عن بعض المركبات الكيميائية الموجودة في المستخلص الكحولي الخام لأجزاء نبات الداتورة

المركب	الكاشف	مستخلص الأوراق	مستخلص البذور	مستخلص الساق	مستخلص الجذر
Tropane alkaloids	دراجندورف ماركوس	+ +	+ +	+ +	+ +
Cumarines	الاشعة فوق البنفسجية	+	+	−	+
Glycosides	كيد	+	+	−	−
Tanines	خلات الرصاص 1% كلوريد الحديديك 1%	+	+	−	+

+ الكشف موجب
− الكشف سالب

اما الجدول (2) فيوضح احتواء اجزاء النبات (الاوراق والبذور والجذور والساق) على قلويدات التروبين فقط وذلك عند تعريض المستخلص الكحولي الخام الى خطوات الاستخلاص بالكلوروفورم والتي اعتمدت من قبل **Dhar** و **Bhat** (9)، استخدام كاشفي دراجندورف وماركوس.

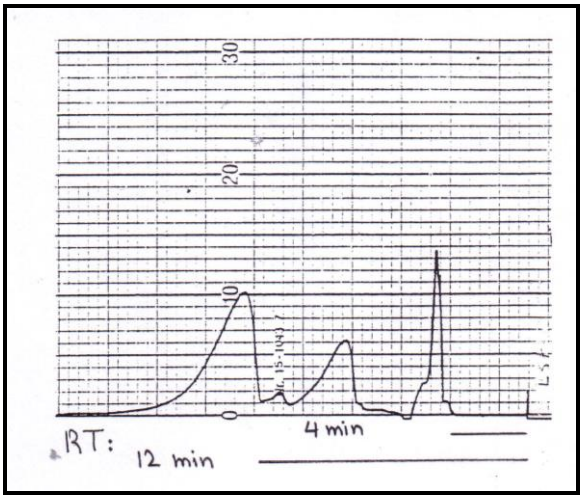
جدول 2: الكشف عن بعض المركبات الكيميائية بعد خطوات الاستخلاص بالمذيبات في أجزاء نبات الداتورة ***Datura stramonium***

المركب	الكاشف	مستخلص الأوراق	مستخلص البذور	مستخلص الساق	مستخلص الجذر
Tropane alkaloids	دراجندورف ماركوس	+ +	+ +	+ +	+ +
Cumarines	الاشعة فوق البنفسجية	−	−	−	−
Glycosides	كيد	−	−	−	−
Tanines	خلات الرصاص 1% كلوريد الحديديك 1%	−	−	−	−

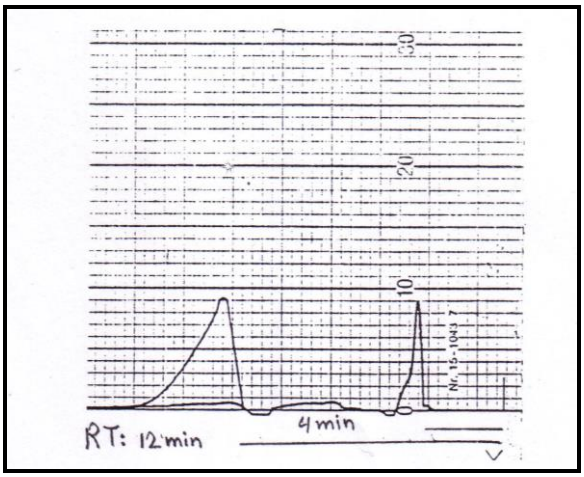
+ الكشف موجب
− الكشف سالب

التقدير الكمي والنوعي لقلويدات التروبين باستعمال تقنية HPLC

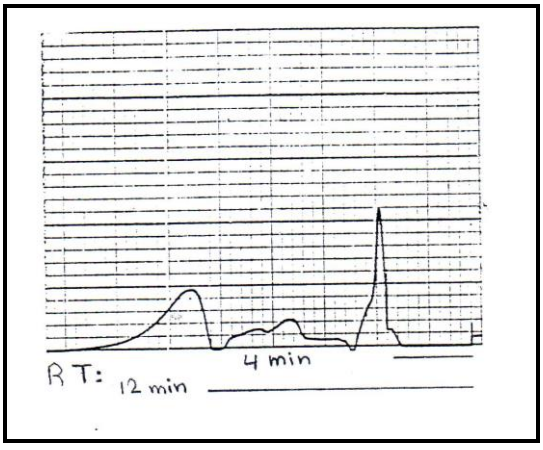
اظهرت النتائج المبينة في الاشكال (**1**، **2**، **3** و**4**) منحنيات قلويدات التروبين في مستخلصات العينات الجافة للاوراق والساق والجذور والبذور تطابقاً في زمن الاحتجاز لاثنين من المنحنيات مع زمن الاحتجاز لمنحنى المحلول القياسي للهيوسيامين (الانتروبين) والبالغ **12** دقيقة والهيوسين البالغ **4** دقائق (شكلي **5** و**6**).



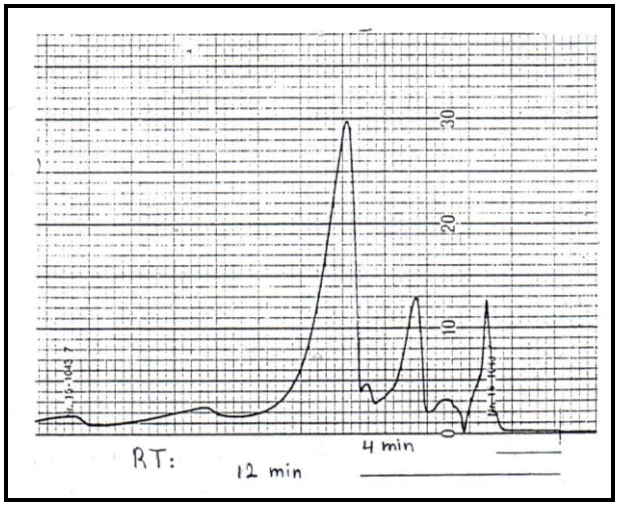
شكل **1**: منحنى قلويدات التروبين في مستخلص أوراق نبات ***Datura stramonium*** باستعمال تقنية **HPLC**



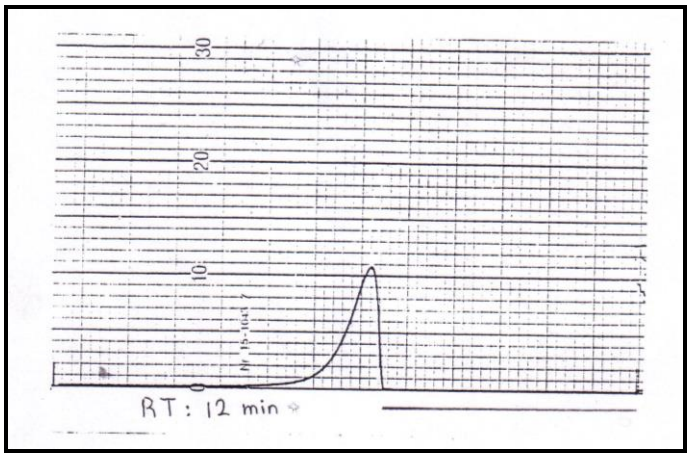
شكل **2**: منحنى قلويدات التروبين في مستخلص ساق نبات ***Datura stramonium*** باستعمال تقنية **HPLC**



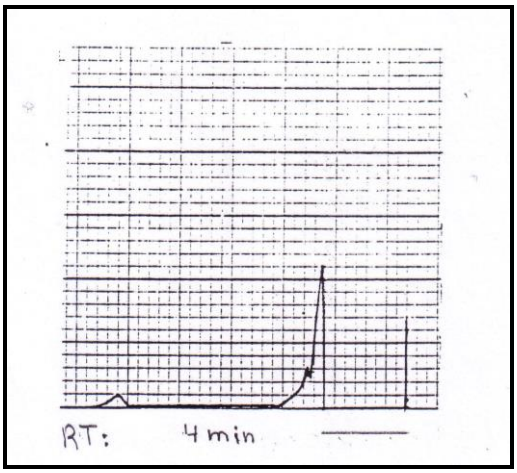
شكل **3**: منحنى قلويدات التروبين في مستخلص جذر نبات ***Datura stramonium*** باستعمال تقنية **HPLC**



شكل 4: منحنى قلويدات التروبين في مستخلص بذور نبات *Datura stramonium* باستعمال تقنية HPLC



شكل 5: منحنى الاتروبين القياسي باستعمال تقنية HPLC



شكل 6: منحنى الهيوسين القياسي باستعمال تقنية HPLC

ويبين الجدول (3) تراكيز القلويدات في الاجزاء النباتية المدروسة محسوبة على اساس الوزن الجاف والتي توضح ان تركيز قلويدي الهيوسيامين والهيوسين كانتا اعلى في البذور ثم الاوراق، وتعد البذور اجزاء خازنة للمركبات ونسبة الرطوبة فيها منخفضة مما يؤدي الى هذه النتيجة. اما الاوراق فقد ذكر Meldonado-Mendoza (13)، Al-

Hashimi (3). ان مركز تصنيع القلويدات في النبات هو الجذر ثم تنتقل الى الاوراق عن طريق النسغ الصاعد خلال الساق مما يؤدي الى انخفاضه في الجذر والساق وارتفاعه في الاوراق وخاصة الفتية منها.

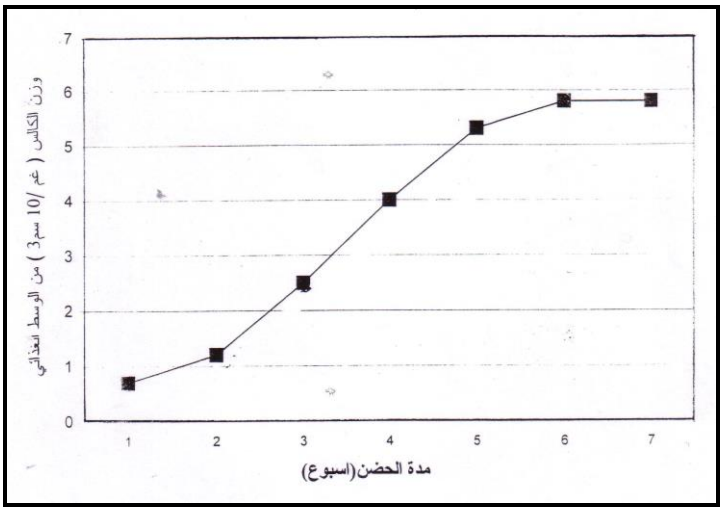
جدول 3: تركيز قلويدات الاتروبين (الهيوسيامين) والهيوسين في اجزاء نبات *Datura stramonium* (ملغم/غم وزن جاف) باستعمال تقنية HPLC

المكبات القلويدية / الجزء النباتي	أوراق	بذور	ساق	جذر	تركيز القلويدات في النبات
Atropine (Hyoscyamine)	0.198	0.548	0.022	0.089	0.857
Hyoscine	0.140	0.183	0.116	0.160	0.599
تركيز القلويدات في كل جزء	0.338	0.731	0.138	0.249	1.456

انتاج قلويدات التروبين بوساطة تقنية زراعة الانسجة وتأثير منظمات النمو في استحثاث الكالس

تأثير المعاملة NAA، 2,4-D وK

ادت المعاملة بمنظمات النمو المذكورة والمضافة الى وسط MS الى تكون الكالس بعد 7 – 10 ايام وتميز بلون ابيض مائل الى الاصفرار، وبلغ وزن الكالس في نهاية الاسبوع الثاني 1–2 غرام حتى بلغ في نهاية الاسبوع الخامس 5.3 غرام واستقر عند 5.8 غرام في نهاية الاسبوعين السادس والسابع (الشكل 7).

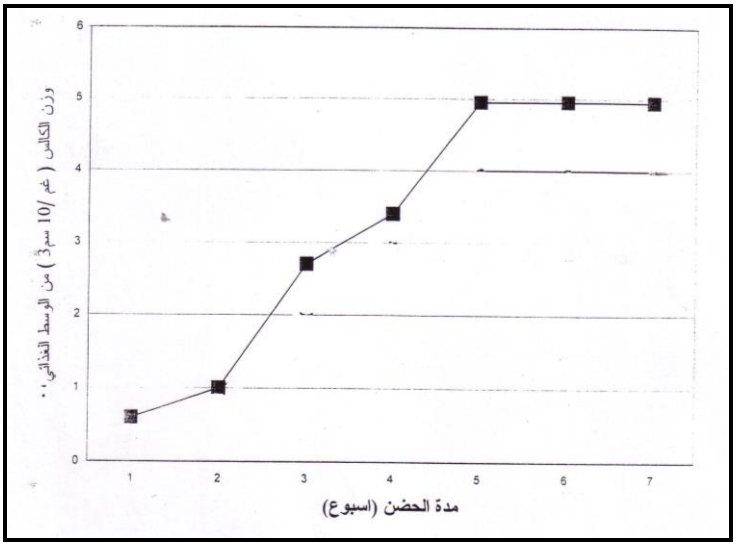


شكل 7: تأثير المعاملة بمنظمات النمو النباتية NAA، 2,4-D وK في نمو خلايا الكالس لنبات *Datura stramonium*

تأثير المعاملة NAA و BA

يبين الشكل (8) ان وزن الكالس النامي تحت تأثير هذه المعاملة بلغ 1 غرام نهاية الاسبوع الثاني واستمر في الزيادة حتى بلغ 4.95 غرام نهاية الاسبوع السابع ويتبين من النتائج هذه ان المعاملة الاولى كانت اكثر تأثيراً في زيادة الكتلة الحية من المعاملة الثانية وتحدث الزيادة في الكتلة الحية نتيجة انقسام واستطالة الخلايا المتكونة من الاجزاء الورقية المزروعة بسبب تأثير السايتوكاينين والاوكسين والذي يحث على تكون الكالس بشكل خلايا غير متخصصة فضلاً عن تأثيرها على الصفيحة الوسطى للخلايا مما يساعد على اتساع الجدار الخلوي (7).

بلغت النسبة المئوية للكالس المستحث من المعاملة الاولى 85 % فيما بلغت المعاملة الثانية 75% وذلك بسبب اختلاف تأثير المعاملة بمنظمات النمو اذ كان تأثير NAA، 2,4-D وK اكثر من NAA وBA في تحفيزها انقسام الخلايا وتكون كتلة الكالس.



شكل 8: تأثير المعاملة بمنظمي النمو **NAA** و**BA** في نمو خلايا الكالس لنبات ***Datura stramonium***

الكشف عن بعض المركبات الكيميائية في المستخلص الكحولي الخام والنهائي للكالس

يتبين من نتائج الجدول (**4**) ان المستخلص الكحولي الخام للكالس احتوى على القلويدات فقط مع اثار بسيطة من الكومارين عند استخدام محاليل الكشف الخاصة بذلك، اما المستخلص النهائي والمعامل بالكلوروفورم فقد تميز باحتوائه على القلويدات فقط وتتفق هذه النتائج مع ماذكره **Bajaj** (**5**) بأن انسجة الكالس تتصف بغياب بعض المركبات والصبغات من خلاياها.

جدول **4**: الكشف عن بعض المركبات الكيميائية في المستخلص الخام والنهائي بعد خطوات الاستخلاص بالمذيبات لاخلايا الكالس لنوعي نبات الداتورة ***Datura stramonium***

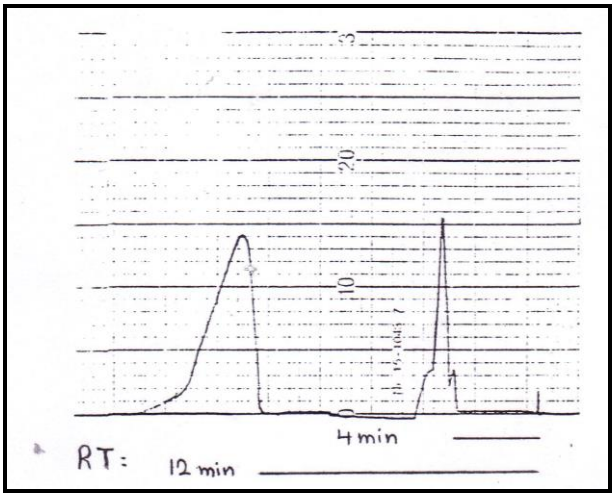
المركب	الكاشف	مستخلص الأوراق	مستخلص البذور
Tropane alkaloids	كاشف دراجندورف	+	+
	كاشف ماركوس	+	+
Cumarines	الاشعة فوق البنفسجية	±	–
Glycosides	كيد	–	–
Tanines	خلات الرصاص **1%**	–	–
	كلوريد الحديديك **1%**		

\+ الكشف موجب
– الكشف سالب

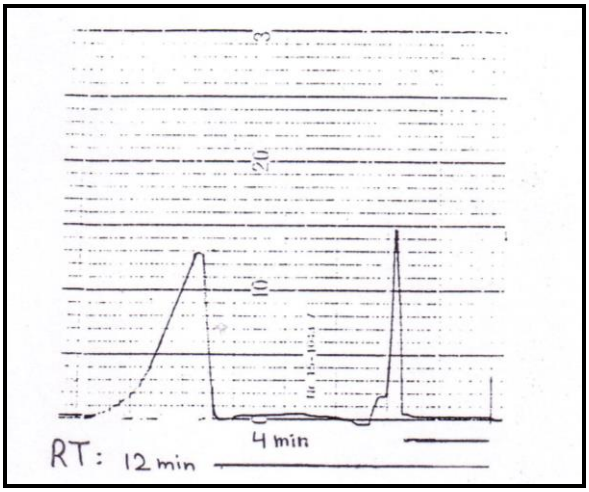
التقدير الكمي والنوعي للهيوسيامين والهيوسين في مستخلص الكالس باستعمال تقنية HPLC

يظهر من الشكلين (**9** و**10**) قمتان تمثل الاولى مركب الهيوسيامين والثانية مركب الهيوسين واللتان طابقتا القمتين القياسيتين بزمن احتجاز **12** و**4** دقائق على التوالي.

ويبين الجدول (**5**) تركيز القلويدات تحت الدراسة وبتأثير المعاملات الهرمونية اذ بلغت **8.101** و**7.090** ملغرام/غرام وزن جاف الهيوسيامين والهيوسين على التوالي وذلك للمعاملة الاولى في حين بلغت **7.407** و**6.727** ملغرام/غرام وزن جاف على التوالي وللمعاملة الثانية ولم تكن هناك فروق معنوية عند مستوى **0.05**. ويظهر من النتائج ارتفاع انسجة القلويدات المنتجة من الكالس للمعاملة الاولى على المعاملة الثانية اذ ذكر **Al-Hattab** وجماعته (**17**) ان استخدام الكايتين و**2,4-D** في وسط **MS** ادى الى زيادة الكتلة الحية للكالس وزيادة القلويدات الكلية المنتجة منها.



شكل 9: منحنى الهيوسين والهيوسيامين في مستخلص كالس أوراق نبات ***Datura stramonium*** للمعاملة بمنظمات النمو النباتية **NAA**، **2,4-D** و**K** باستعمال تقنية **HPLC**



شكل 9: منحنى الهيوسين والهيوسيامين في مستخلص كالس أوراق نبات ***Datura stramonium*** للمعاملة بمنظمي النمو النباتية **NAA** و**BA** باستعمال تقنية **HPLC**

جدول 5: تأثير المعاملة بمنظمات النمو في تركيز الاتروبين (الهيوسيامين) والهيوسين في كالس نبات ***Datura stramonium*** (ملغم/غم وزن جاف) باستعمال تقنية **HPLC**

تركيز المركبات القلويدية	المعاملة	
	NAA ، 2,4-D و K	**NAA وBA**
Atropine (hyoscyamine)	**8.101**	**7.407**
Hyoscine	**7.950**	**6.727**
التركيز الكلي	**15.191**	**14.134**

المقارنة بين كمية قلويدات التروبين في مستخلص النبات والكالس

يلاحظ من نتائج الجدول (**6**) بان هناك زيادة في كمية الهيوسيامين والهيوسين المستخلص من الكالس مقارنة بكميتها في اوراق النبات اذ تضاعفت الكمية للمعاملة الهرمونية الاولى بمقدار **40** و**50** مرة على التوالي، في حين تضاعفت بمقدار **36** و**47** مرة للمعاملة الثانية للمركبين على التوالي وكانت الفروقات معنوية عند استعمال اختبار **F** على مستوى **0.05**.

ويتبين من هذه النتائج ان استخدام الزراعة النسيجية حققت زيادة كبيرة في كمية المركبات القلويدية المهمة مقارنة بكميتها في النبات الام. فقد ذكرت **Al-Hattab** (17) ان محتوى الكالس من قلويدات التروبين لنبات الداتورة يرتفع بالمعاملة بمنظمي النمو **K** و**2,4-D**. وذكر **Collin** و**Edwards** (1) ان مسار انتاج المركبات الفعالة في الانسجة النامية في الاوساط الغذائية غالبا مايكون مختلفاً عن مسارها في خلايا وانسجة النبات الام.

جدول **6**:الزيادة التي حدثت في المركبات القلويدية لمستخلص الكالس مقارنة مع كميتها في مستخلص الاوراق للنوع ***Datura stramonium*** (ملغم/ غم وزن جاف)

تركيز المركبات القلويدية	المعاملة	
	NAA ، 2,4-D و K	**NAA وBA**
Atropine (hyoscyamine)	**7.903**	**7.209**
Hyoscine	**6.950**	**6.587**
التركيز الكلي	**14.853**	**13.796**

المصادر

1- الملاح، مزاحم قاسم ووعد الله يونس اواب (**2001**). عزل وتشخيص الهيوسين والهيوسامين في الكالي والنباتات الناتجة منه لنبات الداتورة ***Datura innoxia***. مجلة التربية والعلم، (**35**).

2- قاسم، السيد سعد؛ سعد زكي الحفني؛ عبد المجيد ابو المجد وجمال الدين محمد حسن (**1975**). مقدمة في الاحصاء التطبيقي في العلوم الزراعية. دار المعارف. جمهورية مصر العربية.

3- **Al- Hashimi, N. A. (1999). Extraction and purification of the alkaloid atropine from *Datura stramonium* and study its biological octivity. M. Sc. Thesis, College of Science, Al–Mustansiriyah University. (In English).**

4- **Al- Hattab, Z. N.; E. Al – Kateeb; W. K. Al-Quadhy and G. Mahdi (2000). Effect of growth hormones on tropane alkaloids production in *Datura metel* callus culture. IBN Al-Haitham J. for pure and Appl. Sci., 13 (1):69–75.**

5- **Bajaj, Y. P. S. (1988). Biotechnology in agriculture and forestry- 4- medicinal and aromatic plants. springer– Verlag, Berlin Heidelberg.**

6- **Bruneton, J. (1995). Pharmacognosy, phytochemistry, Medicinal plants, Lavoisier publishing, paris, 653.**

7- **Cellarova, E.; Repeakova and R. Hokariv, (1984). Vegetative propagation of some medicinal plants through tissue culture. In: ovak, F. J.; Havel, L. and Dolezel, J. (eds) plant tissue and cell culture application to crop improvement czech acad. Sci. Praque, p: 515 – 516**

8- **Collin, H.A. and S. Edwards (1998). Plant cell culture. The introduction to biotechniques. BIOS Scientific publisher limited, Guildford, U.K.**

9- **Dhar, H. K. and B. K. Bhat (1982). Ontogenic variability in alkaloid synthesis and other morphological characters in five genotypes of belladona. J. of Natural Products, 45:525–531.**

10- **Geismann, T. A. (1962). Chemistry of flavonoid compounds. Macmillan Co. New York.**

11- **Illiona, I.; L. Witte, and A. W. Alfermann, (1989). Production of alkaloids by transformed root cultures of *Datura innoxia*. Planta Medica, 55:229-230.**

12- **Meldonado- Mendoza, I.E.; T. Ayora–Talavero and R.M. Loyola- Vargas (1992). Tropane alkaloid production in root cultures of *Datura stramonium*. In vitro cell and Devel. Boil., 280:67–72.**

13- **Meldonado-Mendozo, I. E.; T. Ayora-Talavera and R. M. Loyola-Vargas (1993). Establishment of hairy root culture of *Datura innoxia*. Plants cell, tissue and organ cultures, 33:321–329.**

14- **Murashige, T. and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures phys. Plants, 15: 473-497.**

15- Shihata, I. M. (1951). A pharmacological study of *Anagallis arvensis*. M. D. Ret. Thesis. Cairo University.
16- Stahl, E. (1969). Thin layer chromatography. 2nd ed. Springer- Verlag. Berlin, Heidelberg. New York, p: 873–874.
17- Verpoorte, R. and A. W. Al fermann (2000). Metabolic engineering of plant Secondary metabolism. Kluwer academic publishers. Dordrecht. Boston. London.

PRODUCTION AND ESTIMATION OF HYOSCYAMINE AND HYOSCINE IN *Datura stramonium* USING PLANT TISSUE CULTURE TECHNIQUE

M. S. Shawkat* S.M. Bader G. M. Aziz***

ABSTRACT

The quality and quantity of tropane alkaloids were studied in different parts of Datura plant *(Datura stramonium*) and in callus induced from leaves.

When an investigation about the main dominant tropane alkaloids represented in two compounds (Hyoscyamine and hyoscine) in the extracts of leaves, seeds, stem and root, it was appeared that the concentrations of these compounds distributed in the different organs of the plant according to their nature and function. They concentrated in leaves and seeds while their concentration decreased in root and stem.

It was possible to induce callus from the leaves cultured in MS medium supplemented with growth regulators represented in two treatment; the first one consisted of K; 2,4-D and NAA (1.1 and 0.5 mg/ liter) and the second consisted of BA and NAA (0.5 and 1 mg/liter), it was observed that the response of *D. stramonium* in callus inducing reached 85% for the first treatment and 75% for the second one. Also it was observed that the first treatment was superior to the second one in the fresh weight of the growing callus as it reached 5.8 and 4.95 g/ 10 cm^3 of the medium respectively.

The extracts of the callus induced from leaves of Datura plant were superior in high concentration of hyoscyamine and hyoscine which were 8.101 and 7.090 mg/g dry weight for the first treatment while they were 7.407 and 6.727 mg/g dry weight for the second treatment respectively when compared with their concentration in the leaves of the plant, 0.198 and 0.140 mg/ gm dry weight.

Part of PhD. thesis of the first author.

*** College of Science-Baghdad Univ.- Baghdad, Iraq.**
**** State Board of Agric. Res.- Ministry of Agric. – Baghdad, Iraq.**