تاثير التشعيع والكولسترول والبروجسترون في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتالس *Digitalis lanata* خارج الجسم الحي.

سراب عبد الهادي المختار **محمد شهاب حمد**

كلية الزراعة / جامعة كربلاء **كلية الزراعة / جامعة بغداد**

Sarab.almoktar71@yahoo.com

المستخلص

نفذ البحث في مختبر زراعة الانسجة النباتية/ كلية الزراعة/ جامعة بغداد للفترة من 2012/11/1 ولغاية عام 2014/4/30. اطراف الافرع بطول 2 سم التي تم الحصول عليها من الشتلات المعقمة لنبات *Digitalis Lanata* والمشععة بذورها بالجرع (0، 30) كري من اشعة كاما زرعت على وسط MS مضافا اليه 2 ملغم/لتر BA لغرض تحفيز عملية التضاعف الخضري مع اضافة البادئين الكولسترول والبروجسترون بالتراكيز (0، 1، 2، 3) ملغم/لتر في تجارب مستقلة، اظهرت النتائج تفوق البروجسترون وبالتركيز 2ملغم/لتر اذ حقق اعلى معدل في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية Lanatoside، Digoxin، Digitoxin، Gitoxin بلغ (54.89، 67.62، 106.66، 88.14) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي مقارنة بالمعاملات الاخرى، كما ادت معاملة التشعيع 30 كري زيادة في انتاج المركبات الكلايكوسيدية نفسها بلغت (66.15، 72.87، 128.67، 94.31) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي مقارنة بمعاملة غير المشعع.

الكلمات المفتاحية:

الديجيتالس، خارج الجسم الحي، اشعة كاما، الكولسترول، البروجسترون، كلايكوسيدات قلبية، وزن جاف.

البحث مستل من اطروحة الباحث الاول.

Effect of Irradiation and Cholesterol and Progesterone on Cardiac Glycoside Production From Shoots of *Digitalis lanata* Plant *In Vitro*.

Sarab AB Al-Mokhtar
College of Agriculture
University of Kerbela

Mohammed SH Hamed
College of Agriculture
University of Baghdad

Abstract

Seeds of foxglove (*Digitalis Lanata*) were irradiation with (0,30) gray of gamma ray and sown in sold MS media ,after one month shoot tips 2 cm were taken and cultured on MS media provide with 2 mg/l BA and either cholesterol or progesterone at 0,1,2,3mg/l of each, progesterone at 2mg/l gave the highest values of Lanatoside, Digoxin, Digitoxin and Gitoxin were(54.89, 67.62, 106.66 and 88.14) µg/g of dry weight respectively and highest content of chlorophyll and carbohydrates were 1.92 and 2.67mg/g respectively. Irradiation with 30 gray improved the characters test, it gave(66.15, 72.87, 128.67, 94.31) µg/g of the cardiac glycosides respectively.

Key World
Digitalis, *in vitro*, gamma ray, cholesterol, progesterone, cardiac glycoside, dry weight.

المقدمة

نبات الديجيتالس *Digitalis lanata L.* هونبات عشبي مزهر حولي او ذو حولين ينمو طبيعيا في شرق او غرب اوربا وغرب ووسط اسيا وشمال غرب افريقيا، صنف الجنس Digitalis سابقا ضمن العائلة النباتية Scrophulariaceae لكن مؤخرا ومن استعراض بحوث النشوء والتطور فقد صنف في العائلة النباتية Plantaginaceae (7)، يزرع كنبات تزيين الحدائق لجمال اوراقه في الموسم الاول، ولجمال ازهاره في الموسم الثاني او كنبات طبي لاستخدامه في علاج يعض امراض القلب وخاصة عجز القلب الاحتقاني (12)، وتستخدم اوراقه لهذا الغرض كونها غنية بالمركبات الكلايكوسيدية القلبية مثل Digitoxin، digoxin، Gitoxin بعد تجفيفها اما بصورة عقار او تستخلص منها الكلايكوسيدات القلبية المطلوبة وتحضر على هيئة مادة دوائية (18) ولكون هذه المركبات مهمة جدا في مجال الطب والصيدلة اضافة عدم امكانية تحضيرها بطريقة كيميائية او مايكروبايولوجية وعلى نطاق تجاري، لذلك يبقى الانتاج الزراعي هو الطريقة الوحيدة للحصول عليها(10)، لقد زاد الاهتمام بالزراعة النسيجية لخلايا وانسجة النباتات لاعتمادها كبديل عن الزراعة التقليدية في اكثار النباتات وفي انتاج المواد الطبية من مصادرها النباتية بعيدا عن تحكم ظروف البيئة في وجود النباتات في موسم معين دون غيره، كل هذه العوامل شجعت في انتاج المركبات الثانوية تحت ظروف مسيطر عليها في مختبرات زراعة الانسجة النباتية وعلى مدار السنة بكميات نقية وكافية(13)، فقد تمكن العديد من الباحثين من زيادة كمية المركبات الثانوية التي تستخدم في المجال الطبي كالكلايكوسيدات القلبية في نبات زهرة الكشتبان (4) والقلويدات

المورفينية في نبات الخشخاش (5). واشارت (1) ان اضافة البوادئ كالكولسترول والبروجسترون والتي يمكن تعريفها ببساطة على انها مركبات ممهدة لتصنيع مركبات ثانوية وزيادتها عن طريق توفير الوحدات البنائية الاولية او الوسطية في سلسلة تخليق المركب الفعال او عن طريق غير مباشر يتمثل في زيادة نشاط الايض الاولي ومن المعلوم ان مركبات الايض الثانوي تشتق من منتجات الايض الاولي وبذلك يمكن الاستنتاج ان زيادة نشاط الايض الاولي قد يعود على الايض الثانوي بالفائدة لانه يوفر الوحدات البنائية اللازمة للايض الثانوي (17). كذلك اشار عدد من الباحثين بان الجرع الواطئة من اشعة كاما تعمل على تحسين الصفات الفسلجية للنبات وانتاج كميات عالية من مركبات الايض الثانوي(8 و 19). تهدف هذه التجربة الى معرفة تاثير التشعيع والبادئ البنائي والتداخل بينهما في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي خارج الجسم الحي.

المواد وطرائق العمل

نفذت التجربة في مختبر زراعة الانسجة النباتية/ الدراسات العليا/ جامعة بغداد للفترة من 2012/11/1 ولغاية عام 2014/4/30 واجريت التحليلات المختبرية لتقدير المركبات الكلايكوسيدية القلبية في شركة الحقول البيضاء للاستثمارات البيئية والهندسية.

اطراف الافرع بطول 2 سم التي تم الحصول عليها من الشتلات المعقمة لنبات *Digitalis Lanata* والمشعة بذورها بالجرع (0، 30) كري من اشعة كاما زرعت على وسط MS مضافا اليه 2 ملغم/لتر BA لغرض تحفيز عملية التضاعف الخضري مع اضافة البادئين الكولسترول والبروجسترون بالتراكيز (0، 1، 2، 3) ملغم/لتر في تجارب مستقلة، حضنت الزروعات في غرفة النمو بدرجة حرارة 25 م^0 +_ 2 واضاءة 1000 لوكس مدة 16 ساعة/ يوم. اخذت مؤشرات الدراسة التي تضمنت قياس معدل تركيز المركبات الكلايكوسيدية القلبية وفق ماذكره (15)، اذ تم تجفيف المجموع الخضري بدرجة حرارة المختبر، بعدها اخذ اغم مادة جافة من كل عينة وسحقت بالهاون الخزفي ثم اضيف اليها 40 مل من الميثانول MeoH تركيز 70%، ثم وضعت في جهاز الترددات فوق الصوتية Ultrasonic في حمام مائي عند تردد 100 هرتز وبدرجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة، بعد ذلك تم ترشيح العينات بورق ترشيح 0.13 ملم واعيدت العملية مرة اخرى ثم اصبحت العينات جاهزة للقراءة، قدرت الكلايكوسيدات القلبية باستخدام جهاز الـ Mass HPLC وحسب طريقة(11). وتم حساب تركيز كل عينة حسب المعادلة التالية.

$$\text{تركيز المجهول}(g/\mu g) = \frac{\text{مساحة حزمة النموذج}}{\text{مساحة حزمة القياس}} \times \text{تركيز القياس} \times \text{عدد مرات التخفيف}$$

التصميم الاحصائي

نفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل CRD وبتجارب عاملية وبعشرة تكررات وقورنت المتوسطات حسب LSD وعلى مستوى احتمال 0.005 (2).

النتائج والمناقشة

1-: تأثير التشعيع والكولسترول والتداخل بينهما في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي.

يلاحظ من نتائج الجداول (1) والاشكال (1-6) ان هناك فروقاً معنوية في تركيز المركبات الكلايكوسيدية القلبية المدروسة عند اضافة تراكيز مختلفة من البادئ الكولسترول الى الوسط الغذائي MS، اذ تفوق التركيز 2 ملغم/ لتر واعطى

اعلى كمية من المركبات الكلايكوسيدية القلبية Lanatoside، Digoxin، Digitoxin، Gitoxin التي بلغت (48.27، 59.86، 95.71، 80.60) مايكروغرام/ غرام وزن جاف على التوالي، وقد اختلفت معنويا عن بقية التراكيز الاخرى بينما حقق التركيز 0.0 كولسترول اقل معدل من المركبات نفسها والتي بلغت (25.83، 21.36، 51.25، 35.45) مايكروغرام/ غم وزن جاف على التوالي.

كما حققت معاملة التشعيع تفوقاً معنوياً في معدل تراكيز المركبات الكلايكوسيدية القلبية بلغ (59.98، 62.59، 110.55، 90.38) مايكروغرام/ غم وزن جاف على التوالي مقارنة بمعاملة غير المشعع التي حققت اقل معدل بلغ (16.98، 23.13، 35.36، 29.23) مايكروغرام/ غم وزن جاف على التوالي.

اما عن تأثير التداخل بين التشعيع وتراكيز الكولسترول في معدل تراكيز المركبات الكلايكوسيدية القلبية Lanatoside، Digoxin، Digitoxin، Gitoxin فقد حققت معاملة التشعيع وعند التركيز 2 ملغم/لتر كولسترول تفوقاً معنوياً في معدل تراكيز الكلايكوسيدات القلبية بلغ(70.38، 81.12، 135.71، 115.03) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي، بينما حققت معاملة غير المشعع وعند التركيز 0.0 كولسترول اقل معدل للمركبات الكلايكوسيدية نفسها بلغت (6.28، 3.55، 15.25، 9.77) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي.

جدول (1) تاثير التشعيع و الكولسترول والتداخل بينهما في تركيز المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد اربعة اسابيع من الزراعة على وسط MS.

تركيز الكولسترول	المركبات الكلايكوسيدية القلبية (مايكروغرام/غم) وزن جاف			
ملغم/لتر	Lanatoside	Digoxin	Digitoxin	Gitoxin
0	25.83	21.36	51.25	35.45
1	37.12	40.47	62.73	51.02
2	48.27	59.86	95.71	80.60
3	42.71	49.74	82.14	72.16
ا.ف.م (0.05)	1.22	1.22	1.23	1.22
التشعيع				
مشعع	59.98	62.59	110.55	90.38
غير مشعع	16.98	23.13	35.36	29.23
ا.ف.م (0.05)	0.87	0.89	0.89	0.88
التداخل				
0- مشعع	45.38	39.17	87.25	61.12
1- مشعع	58.93	60.02	97.33	80.15
2- مشعع	70.38	81.12	135.71	115.03
3- مشعع	65.23	70.03	121.92	105.22
0- غير مشعع	6.28	3.55	15.25	9.77
1-غير مشعع	15.31	20.92	28.13	21.88
2-غير مشعع	26.15	38.60	55.70	46.16
3-غير مشعع	20.18	29.45	42.36	39.09
ا.ف.م (0.05)	1.73	1.73	1.75	1.74

2- تأثير التشعيع والبروجسترون والتداخل بينهما في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي.

يوضح الجدول (2) والاشكال (7-12) ان لتراكيز البروجسترون تأثيرا كبيرا في تحفيز تكوين المركبات الكلايكوسيدية القلبية من النموات الخضرية المزروعة على وسط MS، اذ تفوق الوسط الغذائي المجهز بالتركيز

2ملغم/ لتر معنويا في معدل تكوين المركبات الكلايكوسيدية القلبية المدروسة Lanatoside، Digoxin، Digitoxin، Gitoxin والتي بلغت (54.89، 67.62، 106.66، 88.14) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي مقارنة بمعاملة المحايد التي حققت اقل معدل من المركبات الكلايكوسيدية القلبية نفسها بلغت (25.83، 21.36، 51.25، 35.45) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي.

وقد اشارت بيانات الجدول ذاته تفوق معاملة التشعيع معنويا في معدل تركيز المركبات الكلايكوسيدية القلبية اذ بلغت (66.15، 72.87، 128.67، 94.31) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي مقارنة بمعاملة غير المشعع التي حققت اقل معدل لتركيز المركبات الكلايكوسيدية القلبية بلغت (21.37، 26.23، 39.67، 31.77) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي.

اما عن تأثير التداخل فقد بينت البيانات تفوق معاملة التشعيع وعند التركيز 2ملغم/ لتر معنويا في معدل تركيز المركبات الكلايكوسيدية القلبية Lanatoside، Digoxin، Digitoxin، Gitoxin بلغت (79.04، 93.11، 155.14، 128.18) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي، في حين سجل اقل معدل لتركيز الكلايكوسيدات القلبية عند معاملة غير المشعع والتركيز 0.0 بروجسترون بلغ (6.28، 3.55، 15.25، 9.77) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي.

جدول (2) تأثير التشعيع والبروجسترون والتداخل بينهما في معدل تركيز المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد اربعة اسابيع من الزراعة.

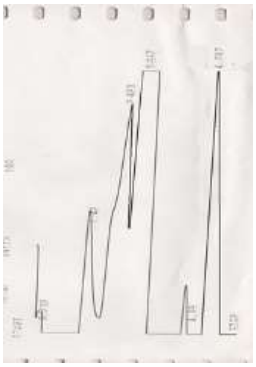
ت البروجسترون (ملغم/لتر)	المركبات الكلايكوسيدية القلبية (مايكروغرام/غم) وزن جاف			
	Lanatoside	Digoxin	Digitoxin	Gitoxin
0	25.83	21.36	51.25	35.45
1	46.20	51.15	84.06	63.16
2	54.89	67.62	106.66	88.14
3	48.12	58.07	94.71	80.42
ا.ف.م (0.05)	1.22	1.23	1.24	1.23
التشعيع (كري)				
مشعع	66.15	72.87	128.67	94.31
غير مشعع	21.37	26.23	39.67	31.77
ا.ف.م (0.05)	0.87	0.88	0.89	0.87
التداخل				
0- مشعع	45.38	39.17	87.50	61.12
1- مشعع	68.85	75.13	132.07	97.20
2- مشعع	79.04	93.11	155.14	128.18
3- مشعع	71.32	84.05	140.22	120.74
0- غير مشعع	6.28	3.55	15.25	9.77
1-غير مشعع	23.55	27.17	36.04	29.11
2- غير مشعع	30.73	42.12	58.18	48.09
3- غير مشعع	24.91	32.08	49.20	40.10
ا.ف.م (0.05)	1.73	1.73	1.74	1.73

Seq	Compound	Retention time	Area
1	Lanatoside	1.363	125409.91
2	Digoxin	2.482	134539.83
3	Digitoxin	3.325	255909.76
4	Gitoxin	4.165	187949.07

شكل (1) تاثير التشعيع والكولسترول بالتركيز 1ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS

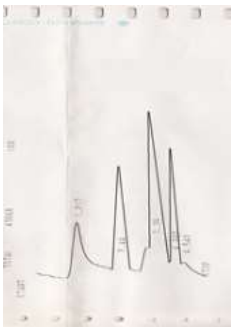
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Lanatoside	1.350	149776.85
2	Digoxin	2.427	181837.24
3	Digitoxin	3.428	356822.30
4	Gitoxin	4.125	269741.51

شكل (2) تاثير التشعيع والكولسترول بالتركيز 2ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS



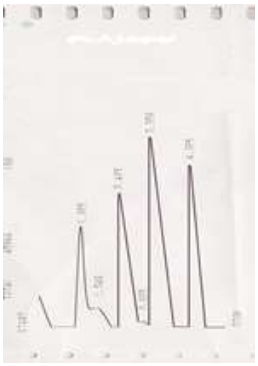
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Lanatoside	1.345	138817.05
2	Digoxin	2.552	156978.08
3	Digitoxin	3.357	320564.25
4	Gitoxin	4.183	246737.39

شكل (3) تاثير التشعيع والكولسترول بالتركيز 3ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS



Seq	Compound	Retention time	Area
1	Lanatoside	1.225	14726.39
2	Digoxin	2.458	7957.62
3	Digitoxin	3.330	32453.77
4	Gitoxin	4.115	25688.26

شكل (4) تاثير الكولسترول بالتركيز 1ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS



Seq	Compound	Retention time	Area
1	Lanatoside	1.225	55650.25
2	Digoxin	2.425	86525.11
3	Digitoxin	3.358	146452.00
4	Gitoxin	4.225	108243.66

شكل (5) تاثير الكولسترول بالتركيز 2ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS

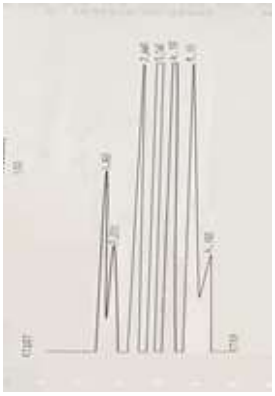
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Lanatoside	1.340	42945.39
2	Digoxin	2.452	66014.62
3	Digitoxin	3.367	111377.14
4	Gitoxin	4.180	91664.74

شكل (6) تاثير الكولسترول بالتركيز 3ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS

Seq	Compound	Retention time	Area
1	Lanatoside	1.165	146520.83
2	Digoxin	2.465	168410.15
3	Digitoxin	3.320	347251.65
4	Gitoxin	4.105	227930.76

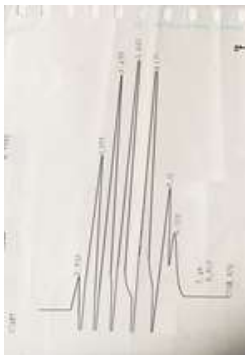
شكل (7) تاثير التشعيع والبروجسترون بالتركيز 1ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS

Seq	Compound	Retention time	Area
1	Lanatoside	1.160	168206.34
2	Digoxin	2.440	208713.82
3	Digitoxin	3.341	407909.60
4	Gitoxin	4.110	300577.82



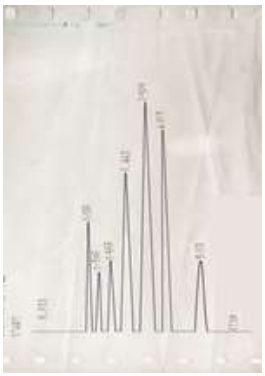
شكل (8) تاثير التشعيع والبروجسترون بالتركيز 2ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS

Seq	Compound	Retention time	Area
1	Lanatoside	1.155	151777.28
2	Digoxin	2.450	188405.07
3	Digitoxin	3.460	368680.44
4	Gitoxin	4.171	283131.27

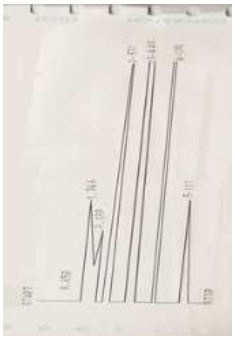


شكل (9) تاثير التشعيع والبروجسترون بالتركيز 3ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS

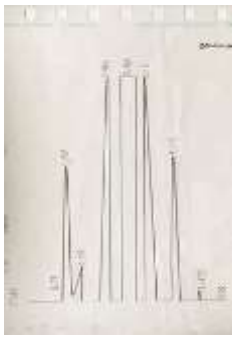
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Lanatoside	1.360	50117.14
2	Digoxin	2.463	60903.81
3	Digitoxin	3.525	94759.97
4	Gitoxin	4.215	68261.97



شكل (10) تاثير البروجسترون بالتركيز 1ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS



شكل (11) تاثير البروجسترون بالتركيز 2ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS



Seq	Compound	Retention time	Area
1	Lanatoside	1.205	53011.38
2	Digoxin	2.558	71909.99
3	Digitoxin	3.380	129361.56
4	Gitoxin	4.161	94033.16

شكل (12) تاثير البروجسترون بالتركيز 3ملغم/لتر في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي بعد شهر من الزراعة على وسط MS

الذي تم ملاحظته من نتائج الجداول (1 و 2) والاشكال (1–12) ان اضافة البادئين الكولسترول والبروجسترون الى الوسط الغذائي MS والمجهز بـ 2ملغم/لتر BA كان لهما تأثير معنوي في احداث زيادة معنوية في كمية المركبات الكلايكوسيدية القلبية في الافرع الخضرية لنبات الديجيتال الصوفي مقارنة مع

معاملات المقارنة، لان هذه المواد وكما هو واضح هي بوادئ لتكوين المركبات الكلايكوسيدية القلبية، اي انها ضمن المواد الداخلة في خطوات تكوين هذه الكلايكوسيدات، والبادئ هو جزيئات تدخل مباشرة في البناء الحيوي للمركبات الثانوية (16) ويحفز البادئ انتاج مركبات الايض الثانوي غالبا اما بواسطة زيادة الكميات المحددة للبادئ البنائي او تحفيز انزيمات البناء الحيوي او كليهما (9)، لذلك فعند اضافتهما وبالتركيز المناسب الى الوسط الغذائي ادى ذلك الى احداث زيادة في المستوى الداخلي لهذه البوادئ داخل انسجة الاجزاء النباتية المزروعة وهذا انعكس بدوره على كمية المركبات الكلايكوسيدية القلبية المتكونة، لكن عند زيادة تركيز البادئ المضاف للوسط الغذائي الى 3ملغم/لتر ادى الى قلة الاستجابة في انتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية وقد يعود السبب في ذلك الى زيادة الجهد المسلط والذي اثر سلبا في تلك الخلايا مما سبب تلفها ومن ثم انخفاض فعالية الانزيمات المسؤولة عن تخليق الايض الثانوي (3)، او قد يعود السبب الى ان زيادة الاجهاد قد سبب انخفاض قابلية الخلايا على امتصاص العناصر الغذائية التي تحتاجها بكفاءة لانتاج مركبات الايض الاولي ومن ثم قلة في انتاج الايض الثانوي الذي يعد ناتجا نهائيا للايض الاولي (6). والذي تمت ملاحظته من الجداول ذاتها وبشكل عام بأن البروجسترون وبجميع تراكيزه كان اكثر تأثيرا من الكولسترول في احداث زيادة في كمية المركبات الكلايكوسيدية القلبية المدروسة وقد يعزى السبب الى ان البروجسترون هو اقرب للتحول الى المركبات الكلايكوسيدية القلبية مقارنة بالكولسترول وبذلك فان وجود البروجسترون في الوسط الغذائي وامتصاصه من قبل الاجزاء النباتية المزروعة سيؤدي الى سرعة في تحوله الى المركبات الكلايكوسيدية القلبية وبصورة اكثر مقارنة بالكولسترول وبهذا تتفق نتيجة هذه التجربة مع نتائج هؤلاء الباحثين ومنهم (14) الذي وجد بان البروجسترون وبالتركيز 2ملغم/لتر حقق افضل النتائج من حيث معدل تراكيز المركبات الكلايكوسيدية Digitoxin و Gitoxin بلغ (93.25، 40.47) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي في الافرع الخضرية لنبات *Digitalis purpurea*. ومع ماتوصلت اليه (4) ان البروجسترون وبالتركيز 1ملغم/لتر المضاف الى وسط مزارع الافرع الخضرية لنبات *Digitalis purpurea*، حقق افضل معدل في محتوى الـ Digitoxin و Gitoxin بلغ (71.31، 37.47) مايكروغرام/غم وزن جاف على التوالي.

المصادر

1- الخطيب، منال حسن. (2006). دراسة تاثير البوادئ الكولسترول والبروجستروتحت ظروف الظلام في انتاج الكلايكوسيدات القلبية من نبات زهرة الكشتبان *Digitalis purpurea* في الزراعة النسيجية، مجلة العلوم الزراعية العراقية.37(1): 83-88.

2- الساهوكي، مدحت ووهيب، كريمة احمد.(1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي- العراق.

3- عبد القادر، فيصل وعبد اللطيف،فهمية وشوقي، احمد وابوطبيخ، عباس والخطيب، غسان .(1982). علم فسيولوجيا النبات. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.

4- العبودي، زينب جليل عواد.(2002). انتاج الكلايكوسيدات القلبية من نبات زهرة الكشتبان *Digitalis purpurea* باستخدام تقنية زراعة الانسجة. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة/قسم البستنة /جامعة بغداد.

5- المختار، سراب عبد الهادي.(2008). دراسة انتاج بعض القلويدات المورفينية من نبات الخشخاش *Papaver somniferum* خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة/ قسم البستنة/ جامعة بغداد.

6- ياسين، بسام طه.(1992). فسلجة الشد المائي في النبات. جامعة الموصل- وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.

7- APG. (2003). An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and of flowering plants: APG II. Botany. Jornal. Linnean. Society.141:399-436.

8- Biotechnology, Basic and Appliccation, Springer. P: 181 – 225.

9- Cosmo, F. and A. Misawa. (1985). Eliciting secondary metabolism in plant cell cultures. *Trends* Biotech.*3*, 318-322.

10- Demain,A.L.(1998). Induction of Secondary Metabolism. International Microbiol 1:259- 264.

11- Eisenbeib,M.;W.Kreis and E.Reinhard.(1999). Cardinolide biosynthesis in light and dark grown *Digitalis Lanata* shoot cultures. Plant Physiol. Biochem(37):13-23.

12- Kelly, K.L.; B.A.Kimball and J.J.Johnston.(1995). Quantitation of digitoxin, digoxin and their metabolites by high- performance liquid chromatography using pulsed amperometric detection. Jornal of Chromatography A.711.289-295.

13- Kuate,S.P.(2008).Malonylcoenzyme A:21-hydroxypregnane-21-malonytansferases from *Digitalis* sp.Docotoral Thesis. Faculty of Natural Sciences the Friedrich-Alexander University Erlangen Nuremberg. Kamerun.

14- Neumann,K.H: A. Kumar and J.Imani.(2009).Plant Cell and Tissue Culture. A tool in

15- Ohlsson, A.B. (1990). Effects of precursors on cardenolide accumulation and growth in *Digitalis purpurea* tissue cultures. *Journal of Plant Physiology* 120: 315-318.

16- Pellati, F.; R.Brunib; M.G.Bellardi and S.Benvenutia.(2009). Optimization and validation of a high- performance liquid chromatography method for

the analysis of cardiac glycoside in *Digitalis lanata.* Jornal of chromatography A.1216-3269.

17- Ramawat, K.G. and J.M.Merillon.(2008). Bioactive molecules and medicinal plants. Springer- verlag. Berlin.

18- Saurabh, C.; A.K.Srivastava and S.S.Bhojwani.(2002). Production of podophyllotoxin by plant cell cultures of *Podophyllum hexandrum* in bioreactor. Jornal of Bioscience and Bioengineering, Vol. 93, Issue. 2, PP:215- 220.

19- Seigler,D.S.(1998). Plant secondary metabolism. The plant tissue culture book store. Kluwer Academic, Boston.USA.

20- Strid, A.; W. Chow and J. Anderson.(1990). Effects of supplementary gamma irradiation on photosynthesis in *pisum sativum, Biochemistry*, *1020*, 260-268.