------مجلة علوم الرافدين، المجلد 22، العدد 1، ص 77-99،2011------

تشخيص بعض المركبات الفلويدية والأحماض الدهنية لنبات و كالس البقلة المباركة (*Portulaca oleracea* L .)

مرا أسامه الكاتب

قسم علوم الحياة

كلية التربية

جامعة الموصل

E-mail: mirausama@Yahoo.com

(تاريخ الاستلام 24/ 6 / 2010 ؛ تاريخ القبول 16 / 8 / 2010)

الملخص

أظهرت نتائج الدراسة أن أفضل الأوساط المشجعة لاستحداث الكالس من قطع السيقان والأوراق المعقمة للبقلة المباركة المحلية (الموصل / العراق) Purslane (*Portulaca oleracea* L.) هي أوساط MS (Murashige and Skoog medium) المدعمة بمنظمات النمـو BA (Benzyl adenine) و NAA (Naphthalene Acetic Acid) بتراكيز 10. ، 20. ، 40. ملغم/لتر من كل منهما وكذلك وسط MS الحاوي على BA : NAA بتركيز 2 : 1 ملغم / لتر على التوالي، حيث استحدث الكالس خلال 15 – 20 يوماً وأوضحت نتائج فصل الفلويدات من كالس السيقان والأوراق والأفرع الخضرية للنبات باستخدام تقنية Infrared Spectrophotometer(IR)، فصل فلويد Oleracein B و Oleracein D وتدرجت نقاوتها اذ كانت أكثر نقاوة في مستخلص كالس السيقان وعند إجراء Thin Layer Chromatography Technique (TLC) للفلويدات المستخلصة ظهرت قيم Rate of Flow (R_f) متقاربة جدا لهذه العينات (0.77 ، 0.82 ، 0.80) لكل من فلويدات كالس السيقان وكالس الأوراق والنبات على التوالي، ثم سجل زمن احتباس لها وتميز منها حزمة رئيسية في فلويد النبات عند 4.755 دقيقة و 4.646 دقيقة و 4.657 دقيقة في فلويد كالس السيقان وفلويد كالس الأوراق على التوالي باستخدام تقانة High-Performance Liquid Chromatography(HPLC) مما يؤكد وجود فلويدات Oleraceins (B و D) في عينات البقلة. شخصت الأحماض الدهنية الموجودة في البقلة (النبات) وكالس السيقان والأوراق باستخدام تقانة Capillary Gas Chromategraph (CGC) واظهر مستخلص النبات 12 حامضاً دهنياً بتراكيز اقل مما وجد في مستخلص كالس الأوراق ولأغلب الأحماض الدهنية خاصة حامض اوميغا – 3 (C18: 3) في حين سجل مستخلص كالس السيقان اقل نسبة لتواجد الأحماض الدهنية إذ كانت 3 أحماض فقط (C16 : 1 ، C16: 0 ، 18 : 1) .

Detection of some Alkaloids and Fatty Acids to Plant and Callus of Purslane (*Portulaca oleracea* L .)

Mira A. Al – Katib
Department of Biology
College of Education
Mosul University

ABSTRACT

The study results showed that the best supporter media for callus induction from local purslane (*Portulaca oleracea* L.) stems and leaves sterile explants , those MS media(Murashige and Skoog medium) supporting with hormone regulators BA(Benzyl adenine), NAA(Naphthalene Acetic Acid) in concentrations 1.0 , 2.0 , 4.0 , mg/L from each of them as well as MS medium containing BA : NAA in 2:1 mg/L respectively , and the callus was inculcation during 15-20 day . The result of separating alkaloids from callus of stems and leaves and shoots of plant showed in Infrared Spectrophotometer technique (IR) separating of Oleracein B and Oleracein D that degree in purity and the best of it appear in stems callus extract . when Thin Layer Chromatography Technique (TLC) was made for extracted alkaloids , Rate of Flow (R_f) values appeared very comparatively to these samples (0.77, 0.82, 0.80) to each of stems callus alkaloid, leaves callus alkaloid and plant alkaloid respectively , then retention time record for it , and main band recognized in plant alkaloid at 4.755 min , also 4.646 min and 4.657 min in stems callus alkaloid and leaves callus alkaloid respectively by using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) technique , that result prove of Oleraceins (B, D) occurrences in samples of purslane . The fatty acids which occur in purslane plant , calli of stems and leaves are detect by using Capillary Gas Chromategraph (CGC) technique , the plant extract showed 12 fatty acids in it , but in low concentration compared with that appear in leaves callus extract for most fatty acids especially omega – 3 fatty acid (C18: 3) , when the stems callus extract record the lower ratio of fatty acid occurrences that it was 3 fatty acids only (C16: 0 , C16: 1, C18: 1).

المقدمة

عُد نبات البقلة المباركة *Portulaca oleracea* L. ولفترة طويلة نباتاً طبياً (Chan *et al.*, 2000)، اذ أنه يحتوي على نسبة كبيرة من البيتاكاروتين (Simopoulos *et al.*, 1992)، وكذلك غني بعدة فيتامينات منها A و C فضلاً عن فيتامين E الموجود فيه أكثر 6 مرات عما في السبانخ وأكثر بـ 7 مرات مما في الجزر (Seabreezed , 2008)، هذا النبات أغنى بفيتامين C حتى اكثر من السبانخ (Simopoulos *et al.*, 1992)، ولنبات البقلة مستويات عالية من المغنيسيوم والبوتاسيوم (القحطاني، 2006)، كما يعد مفضلاً لدراسة صبغات Betalains (Noda and Adachi, 2000)، فضلاً عن احتوائه على خمسة أنواع من القلويدات(Xiang *et al.*, 2005) منها 3 أنواع أشار لها (find-health, 2010; Yang *et al.*, 2007)

والفلافونويدات Flavonoids (Xu *et al.*, 2006)، وهذه تعد دراسات حديثة لمركبات النبات لما يتمتع به من أهمية غذائية ومركبات خاصة هامة .

تعد البقلة المباركة من أغنى المصادر النباتية بالأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة والتي أهمها حامض اللينولينيك linolenic acid المسمى اوميغا-3 (Omega –3) (Yan *et al.*, 2009 ; Teixeria *et al.*, 2010) ، إذ تـــــــــعد هـــذه الأحماض لينو لينيك α-linolenic acid (LAN) ولنوليك Linoleic Acid (LA) الضرورية للنمو البشري الطبيعي وللصحة وللحماية ضد الأمراض (Palaniswamy *et al* ., 2001) .

فقد تم تعريف البقلة المباركة بأنها أغنى مصدر خضري للحامض الدهني Linolenic Acid المكون الرئيس للـ اوميغا -3 (Simopoulos and Salem, 1986) .

للبقلة المباركة العديد من المركبات الأخرى منها حامض الاوكساليك Oxalic acid والكومارينات Coumarins والسكريات المتعددة Polysaccharides والكلايكوسيدات القلبية Cardiac glycosides (Li *et al.*, 2009).

إن هذا النبات ليس أعلى فقط في القيمة الغذائية لكن الأكثر تأقلماً مع الظروف البيئية المختلفة (Simopoulos *et al.*, 1995) .

انطلاقا من أهمية هذا النبات لما يحتويه من مركبات وقدرته على التأقلم، هدفت الدراسة الحالية إلى اختبار زراعة نبات البقلة المباركة نسيجياً والموجودة محليا في المنطقة وملاحظة استجابة أجزاء النبات (الساق، الورقة) لاستحداث الكالس وإمكانية الحصول على بادرات معقمة منه بتعقيم البذور وزراعتها، فضلاً عن دراسة بعض المركبات الايضية في مستخلصات النبات الكامل (الأفرع الخضرية) ومقارنتها بمستخلصات الكالس الناتج من الزراعة النسيجية للساق والورقة من حيث محتوى المركبات الفلويدية والأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة، ذلك لأنها تختلف باختلاف السلالات ومناطق نموها جغرافياً وبحسب اختلاف البلدان.

المواد وطرائق العمل

مصدر البذور وتعقيمها وزراعتها

استخدمت بذور البقلة المباركة *Portulaca oleracea* L. التي تم الحصول عليها من النبات الطبيعي النامي محلياً (تم التأكد من تصنيفها بالاستعانة بالمختصين في قسم علوم الحياة / كلية التربية) .

اتبعت أكثر من طريقة لتعقيم البذور لبيان أفضلها في الحصول على بذور خالية من الملوثات وذات حيوية عالية، ففي المعاملة الأولى عقمت البذور بالمحلول المعقم المكون من هايبوكلورايت الصوديوم NaOCl تركيز 6% (القاصر التجاري) المخفف بالماء المقطر بنسبة (1 حجم : 2 حجم) على التوالي ولمدد

5، 7و 10 دقيقة ثم غسلت بالماء المقطر المعقم 3 مرات ولمدة 3 دقائق / مرة وأزيل الماء الفائض بوضعها على ورق ترشيح معقم .

أما المعاملة الثانية فكانت باستخدام الكحول الاثيلي 70% لمدة دقيقتين ثم نقل البذور إلى المحلول المعقم NaOCl المخفف بالماء بنسبة (1 حجم : 1 حجم) على التوالي ولمدد 5، 10و 15 دقيقة .

والمعاملة الثالثة للحصول على بادرات معقمة للنبات هي أخذ العلبة (ثمرة النبات) مع جزء من الساق وهي الحاوية على بذور النبات وتعقيمها بالمحلول المعقم من NaOCl مع الماء بنسبة (1 حجم : 2 حجم) على التوالي ولمدة 10 دقائق .

بعد انتهاء معاملات التعقيم زرعت البذور المعقمة وكذلك علبة النبات على أوساط MS الصلبة (Murashige and Skoog, 1962) الخالية من منظمات النمو في كابينة الزرع المعقمة ثم نقلت الى غرفة التنمية وحضنت بطريقتين الأولى كانت تحت ظروف ظلام لمدة 3-5 أيام إلى حين ظهور ونمو الجذير بعدها نقلت إلى ظروف التعاقب الضوئي (16 ساعة ضوء / 8 ساعات ظلام) وعند حرارة 25 ± 2 م ، والثانية بنقل الزروعات إلى غرفة التنمية مباشرة تحت نظام التعاقب الضوئي وبدون فترة ظلام خلال الأيام الأولى (هذا ما يخص البذور المزروعة)، أما علبة النبات فحضت بحسب الطريقة الثانية فقط .

مصدر الأجزاء النباتية (السيقان، الأوراق) تعقيمها وزراعتها

تم الحصول على الأجزاء النباتية من النباتات الطبيعية النامية محلياً في الحدائق. عقمت السيقان(سلامية-1سم) والأوراق (قطع 1سم^2) المأخوذة من النبات بغمرها بمحلول معقم من هايبوكلورايت الصوديوم NaOCl والماء المقطر بنسبة (1حجم: 2حجم) على التوالي ولمدة 10 دقائق وبنفس الخطوات المتبعة المذكورة أعلاه في تعقيم البذور،كذلك الحال بزراعة قطع سيقان مع عقدة على وسط MS بدون منظمات نمو.

زرعت القطع النباتية المعقمة على أوساط MS الصلبة المدعمة بتراكيز مختلفة من منظمات النموBA (Benzyl Adenine) وNAA (Naphthalene Acetic Acid) وكالاتي :

1: 0.5 ، 2: 0.5 ، 3: 0.5 ، 1:2 ، 0.1: 0 ، 0: 0.5 ، 2: 2 و 4: 4 من (NAA: BA)، على التوالي .

تحضير المستخلصات النباتية

حضرت المستخلصات النباتية لكل من كالس السيقان وكالس الأوراق وكذلك النبات (الأفرع الخضرية) بحسب طريقة (Grand *et al.*, 1988) ، بتحضير مستخلص كحولي بسحق العينة وخلطها بنسبة (10 غم عينة / 100سم^3 كحول الميثانول) ثم يرج المزيج جيداً ويترك بالثلاجة لمدة 24 ساعة ويرشح بعدها المستخلص خلال عدة طبقات من الشاش .

فصل المركبات القلويدية من المستخلصات النباتية

اتبعت الطريقة الكيميائية لفصل القلويدات وذلك بمعاملة المستخلص النباتي الكحولي مع حامض الكبريتيك ومن ثم معادلة المزيج واستخلاص المركبات منه باستخدام الكلوروفورم (Pelleter and Aneja, 1968) .

استخدم الكالس بعمر 7 أشهر والناتج من السيقان والأوراق لتقدير المركبات فيه فضلا عن استخدام مستخلص النبات الطبيعي (الأفرع الخضرية) وتم تبخير الكحول من المستخلصات للحصول على مواد ذات طبيعة لزجة أجريت عليها عدة اختبارات لتشخيص تركيبها .

تشخيص المجاميع الوظيفية لبعض القلويدات باستخدام تقنية طيف الأشعة تحت الحمراء Infrared Spectrophotometer(IR)

شخصت المجاميع الوظيفية التي تعود لبعض القلويدات الموجودة في مستخلصات كالس السيقان والأوراق ومستخلص النبات (الأفرع الخضرية) باستخدام طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) وبجهاز من نوع (Tensor 27 , Bruker, Germany) .

تشخيص المركبات القلويدية باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة Thin Layer Chromatography Technique (TLC)

تم فصل المركبات القلويدية في مستخلصات كالس السيقان والأوراق وقورنت بالمركبات الموجودة في مستخلص الافرع الخضرية (النبات) .

استخدمت الألواح الزجاجية المغطاة بمادة هلام السليكا جيل بسمك 0.25ملم و بالأبعاد 20× 20سم وذلك بعد تنشيطها لمدة 30 دقيقة في الفرن عند حرارة 40م . تم إضافة العينات على اللوح ووضع اللوح بشكل عمودي في الحاوية الخاصة به واستخدم محلول الفصل المكون من (MeOH: NH_4OH) بنسبة 3 حجم : 200 حجم، على التوالي، (Harborne, 1973)، تم تغطية الحاوية للحصول على درجة تشبع وتركت في درجة حرارة الغرفة لحين اكتمال جريان محلول الفصل إلى الطرف الآخر وعند انتهاء عملية الفصل(حوالي ساعة ونصف) جففت الصحيفة وتم التأكد من فصل المواد القلويدية بتسليط الأشعة فوق البنفسجية (UV) لتحديد مواقع البقع المفصولة من العينات .

تم حساب مسافة الجريان Rate of Flow (R_f) للمركبات المفصولة وبحسب المعادلة الآتية :

$$\text{قيمة } (R_f) = \frac{\text{المسافة التي قطعتها العينة المفصولة}}{\text{المسافة التي قطعها المذيب}}$$

الفصل باستخدام جهاز الكروماتوكرافيا السائل ذو الأداء العالي High-Performance Liquid Chromatography(HPLC)

بعد أن كشف عن المركبات الموجودة في كالس ونبات البقلة باستخدام ألواح TLC ، هيئت العينات وذلك بقشطها من ألواح الـ TLC ونقلها الى قنينة صغيرة وأذيبت بقطرات من Methanol وأكمل حجمها الى 2سم^3 بالميثانول ثم رسبت العينة واخذ الراشح فقط وأهمل الراسب وأصبحت العينة جاهزة للحقن بجهاز HPLC .

فصلت المركبات الموجودة بصورة عامة في كالس السيقان وكالس الأوراق وكذلك عينة الأفرع الخضرية للنبات وشخصت بواسطة جهاز HPLC من نوع Shimadzu LC Solution Analysis باستخدام عمود فصل (C18, ODS25 µ M25 X0.46)، حقن حجم (20 مايكروليتر) من العينة وسجل زمن الاحتباس للمركبات في المستخلصات المختلفة. استخدم الطور المتحرك Mobile Phase المكون من الكحول المثيلي 60% بعد إن تم ترشيحه وطرد الغازات منه باستخدام جهاز الترددات فوق الصوتية (Sonicator) وتمت عملية الفصل باعتماد معدل الجريان Flow rate =0.5 سم^3 /دقيقة عند طول موجي254 نانوميتر .

تحليل وتشخيص الأحماض الدهنية

الخطوة الأولى في فصل الدهون الكلية من المزيج الحيوي هي الاستخلاص بالمذيبات العضوية مثل الكلوروفورم او الميثانول (Rocquelin *et al.*, 1988) ، يتبع ذلك استخدام طرائق كروماتوغرافيا التي تعتمد على الخاصية القطبية في فـ ـصل مزيج الدهون (Murray *et al.*, 1999) .

حضرت مستخلصات لكالس السيقان والأوراق والأفرع الخضرية (النبات) بأخذ وزن من العينة وسحقه مع الميثانول بنسبة 1: 4 (V/W) بشكل جيد ، أضيف لها فيما بعد 4 سم^3 من الكلوروفورم مع الرج ثم رشح المستخلص (Folsom *et al.*, 1996) أخذت الطبقة العليا من المستخلص الناتج وتمت الاسترة بواسطة ثلاثي فلوريد البورون (BF_3) المذاب في الميثانول بتركيز 16% . احكم سد الأنابيب ونقلت إلى حمام مائي مغلي لمدة (45) دقيقة ثم بردت الأنابيب وأضيف لها مزيج من 2سم^3 هكسان / 1 سم^3 عينة لغرض فصل الأحماض الدهنية المؤسترة. تم اجراء فصل بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 15 دقيقة ، وفصلت الطبقة العليا من المحلول والحاوية على استرات الأحماض الدهنية مذابة في الهكسان وحفظت الأنابيب محكمة السد إلى حين إجراء التحليل عليها بجهاز كروماتوكرافيا الغاز الشـ ـ ـ ـ ـ ـعري (Capillary Gas Chromategraph CGC) (Ma *et al.*, 1995)، علما أن هذه الطبقة في مستخلص الكالس فصلت إلى طبقتين .

تقدير نسبة الأحماض الدهنية في العينات وتشخيص نوعها

تم تقدير نسبة الأحماض الدهنية في العينات وتشخيص نوعها بحقن (10 مايكروليتر) من العينة المعدة للقياس في جهاز كروماتوكرافيا الغاز الشعري CGC، ولان الجهاز غير متوفر في العراق، تم القياس في مختبرات القطر السوري وكانت مواصفات الجهاز كآلاتي :

نوع الجهاز : SHIMADZU CORPORATION
2010, JAPAN

اسم العمود : TR-WAX / درجة الحرارة : 200 م / طول العمود : 30 ملم / قطر العمود : 0.25 ملم/ الغاز الحامل : N_2 / زمن القياس : 25 دقيقة .

النتائج والمناقشة

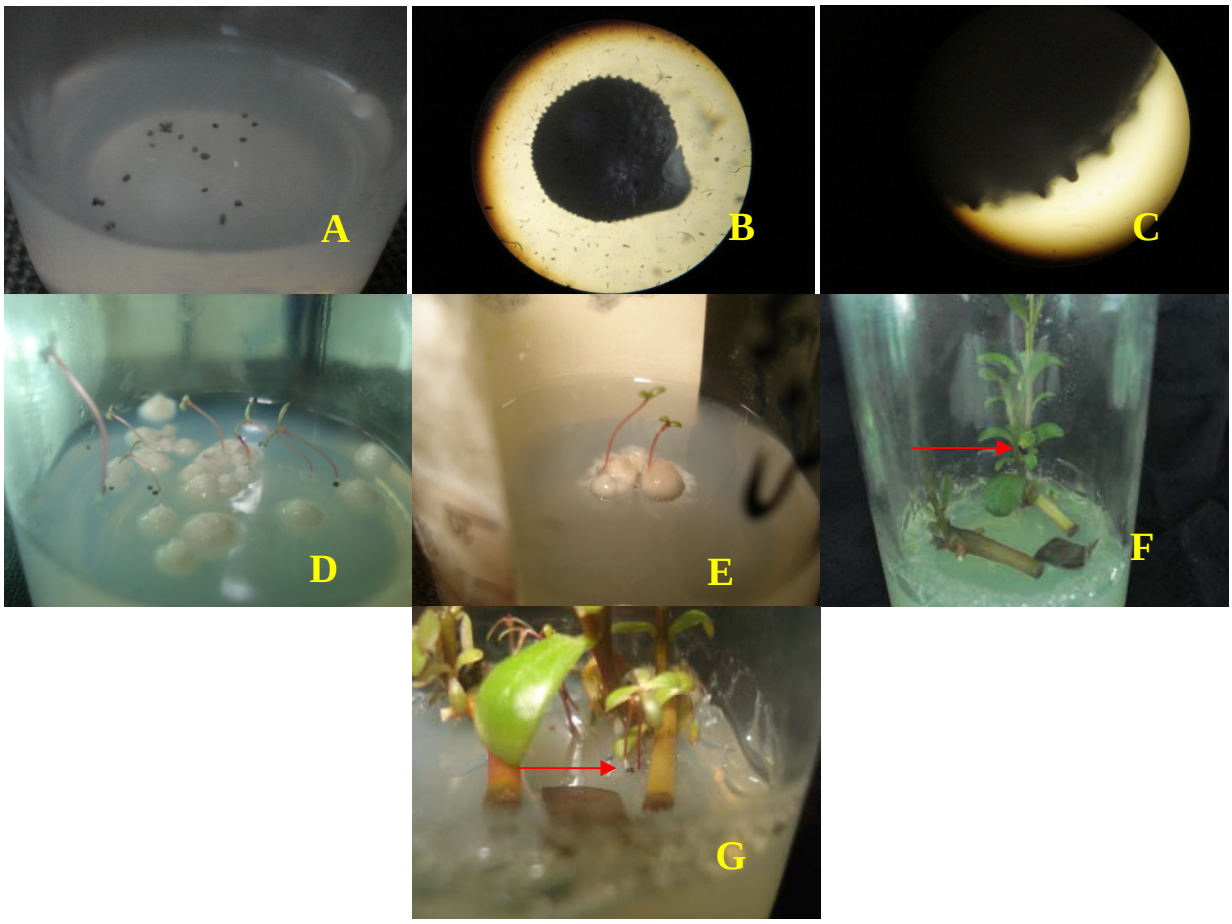
تعقيم البذور وزراعتها

بينت النتائج (الجدول1) ظهور نسبة عالية من التلوث عند استخدام طريقتي التعقيم باستخدام المحلول المعقم لوحده أو مسبوقاً بالكحول الاثيلي 70% وبنسبة 95-98% (الشكل 1)، ولوحظ اختلاف في لون البادرات وطول سيقانها باختلاف ظروف التحضين (ظلام لمدة 3-5 أيام ثم نظام تعاقب ضوئي)، (نظام تعاقب ضوئي مباشرة بدون فترة ظلام في بداية التحضين).

الجدول 1 : نسب التلوث وانبات البذور المعقمة ومظهر البادرات الناتجة خلال 15 يوماً من الزراعة على وسطMSالخالي من منظمات النمو.

المعاملة / التحضين		محلول القاصر المعقم			كحول + محلول معقم			البادرات	
		5*	7	10	5	10	15	طول الساق	لونها
تعاقب ضوئي	%تلوث	98	95	97	98	96	95	2-6سم	ارجوانية غامقة
ضوء / ظلام	%انبات	60			8				
ظلام	%تلوث	96	96	95	97	98	95	1-4 سم	ابيض-مخضر وردي فاتح
ثم ضوء /ظلام	%انبات		43			2			

*زمن التعقيم مقاس بـ دقيقة .



الشكل 1 : صور توضح سطح البذور وانبات البذور المعقمة وبذور العلبة المعقمة

A : بذور مزروعة

B : سطح بذرة بتكبير 40 مرة .

C : سطح بذرة بتكبير 100 مرة .

D : بذور معقمة بالمحلول المعقم للقاصر

E : بذور معقمة بالكحول والقاصر

F : بذرة من تفتح علبة معقمة بعد 7 أيام

G : بادرة من F بعد 20 يوماً .

إن نسبة التلوث العالية قد تعود لعدة أسباب أبرزها أن سطح البذرة مجعد بدرجة كبيرة وذات بروزات كثيرة (الشكل B-1, C) فضلا عن صعوبة السيطرة على البذور عند الزراعة وذلك لأنها صغيرة جدا ودقيقة ويصعب نقلها خلال عمليات التعقيم (drugs, 2007)

إن وسط MS الخالي من منظمات النمو كان ملائما بدرجة كبيرة لإنبات بذور البقلة والحصول على بادرات وهذا ما أشار إليه أيضا (Noda and Adachi, 2000) .

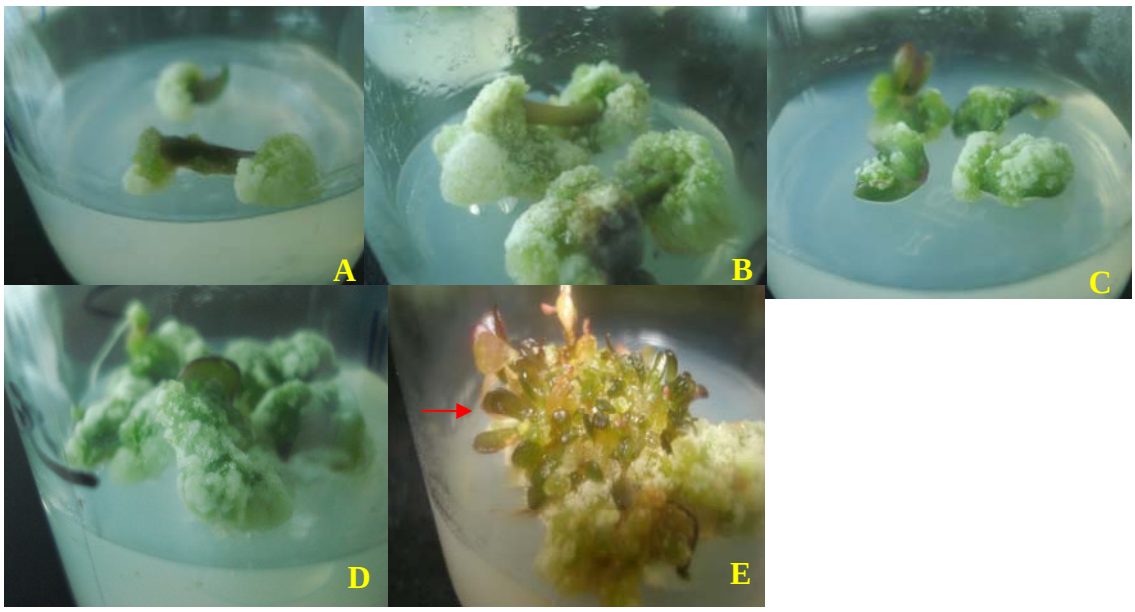
نسبة الإنبات الأكبر كانت 60% في البذور المعرضة مباشرة لنظام التعاقب الضوئي (16 ساعة ضوء / 8 ساعات ظلام)، بينما كانت 43% لنفس معاملة التعقيم لكن بالتحضين بظروف ظلام 3-5 أيام لحين ظهور الجذير مـ ـما يدعم مـ ـا ذكر من قبل (Reger *et al*., 1975) إذ أن بذور البقلة أظهرت سكوناً مسيطر عليه ضوئيا والضوء يشجع الإنبات وان ظهور الجذير يزداد بازدياد التعرض لساعات الضوء بصورة متتالية .

وأظهرت النتائج في (الشكل G,F-1) أن زراعة ثمرة البقلة (العلبة) المعقمة مع قطع الساق المعقمة التي تحملها، كان هناك تفتح للعلبة بعد مرور 4-7 أيام ونثر البذور التي تنمو بنسبة إنبات 100% ونسبة تلوث 0%، لذلك تعد الطريقة الأمثل للحصول على بادرات معقمة من البذور فهي سهلة دون الحاجة إلى تجربة معقمات اقوي فعالية أو البحث عن طرق أخرى للتعامل مع البذور. وقد نلجأ إلى طريقة زراعة قطع السيقان ذات العقد بنفس التعقيم للعلبة للحصول على كمية كبيرة من النباتات المعقمة وبفترة زمنية قصيرة نسبياً .

تعقيم الأجزاء النباتية (السيقان ، الأوراق) وزراعتها لاستحداث الكالس

أظهرت العينات المعقمة المزروعة نسبة تلوث 5% مما يدل على ملائمة طريقة التعقيم لهذه الأجزاء. لقد أظهرت قطع السيقان والأوراق استجابة متقاربة لاستحداث الكالس اذ أعطت جميع القطع المزروعة كالس (الشكل2) عدا القطع المزروعة على وسط MS الخالي من منظمات النمو و وسط MS الحاوي على BA لوحده بتركيز 2 ملغم /لتر (معاملة 1 و 10 في الجدول 2) ، اذ يعتمد استحداث الكالس ونموه بدرجة كبيرة على الظروف المستخدمة بالزراعة فضلاً عن نوع قطع النبات (محمد وعمر، 1990) ، وهذا يتفق مع (Safdari and Kazemitabar, 2009) اذ لم يتكون الكالس من قطع الأوراق لنبات البقلة من الزراعة على وسط MS الخالي من منظمات النمو وكذلك الحاوي BA أو IBA لوحده .

وهذه النتائج في الاستحداث تتفق مع ما تم الحصول عليه باستخدام وسط MS مع منظمات النمو BA و 2,4-D بتراكيز 0.5 : 0.5 و 0.5 : 1ملغم/لتر ،على التوالي، (Wang *et al*.,2006)، أما فترة الاستحداث خلال 15 يوماً فهي تتفق مع ما ذكر أن للبقلة دورة نمو كالس 21 يوماً وان الفترة 0-6 يوم هي طور تباطؤ اما 6-15 يوم هي طور النمو و 15-21 يوم يعد طوراً ثابتاً (fabiao, 2007)، كما أشار (Safdari and Kazemitabar, 2009) إلى بدء استحداث الكالس من الأوراق بعد أسبوع من الزراعة على وسط MS المدعم بمنظمات النمو BA و NAA واكتماله بعد 21 يوماً .



الشكل 2 : استحداث وتمايز كالس سيقان واوراق البقلة على وسط MS المدعم بمنظمات النمو BA (2 ملغم/لتر) و NAA (2 ملغم/لتر) خلال 15 و 30 يوماً .

A : استحداث كالس السيقان خلال 15 يوماً.
B: كالس السيقان بعمر 30 يوماً .
C: استحداث كالس الاوراق خلال 15 يوماً
D: كالس الاوراق بعمر 30 يوماً .
E: تكوين فروع خضرية على الكالس بعد 50 يوماً

من الملاحظ من نتائج (الجدول2) ان افضل استجابة لاستحداث الكالس في السيقان والأوراق عند تراكيز متساوية من منظمات النمو BA : NAA(2: 2) و (4: 4) على التوالي، وان احتواء الوسط على منظمBA لوحده (في المعاملة 2) او NAA لوحده (المعاملة 3 – الجدول 2) أعطى تحفيزاً ضعيفاً جداً لاستحداث الكالس وهذا يتفق مع ما أشار إليه (Safdari and Kazemitabar, 2009) إضافة إلى أن أفضل تحفيز أشار إليه هو عند احتواء وسط MS على تراكيز متساوية من BA و IBA (10مايكرومول) لكل منهما و (5مايكرومول) لكل منهما سوية عند استحداث الكالس من الورقة، وهذا ما أشير إليه بعدد من الدراسات على نبات البقلة منها (Liu *et al*., 2006) الذي استخدم وسط MS مع 1:1 ملغم /لتر من BA : 2,4 –D ،على التوالي، لاستحداث كالس الأوراق الفلـقية للبقلة، وكذلك استخدم MS مع 2,4-D وBA بتركيز (0.5) ملغم /لتر لكل منهما لإنتاج الكالس الهـش من الأوراق(Wang *et al*., 2006).

الجدول 2 : استحداث كالس السيقان والأوراق خلال فترة 15 يوماً من الزراعة.

رقم المعاملة	منظمات النمو (ملغم/لتر)		الاجزاء النباتية	
	BA	NAA	السيقان*	الاوراق
1	0.0	0.0	-	-
2	0.1	0.0	+	+
3	0.0	0.5	+	+
4	1.0	0.5	++	++
5	2.0	0.5	+	+
6	3.0	0.5	+	+++
7	2.0	2.0	++++	++++
8	4.0	4.0	++++	++++
9	2.0	1.0	+++	+++
10	2.0	0.0	-	-
11	1.0	1.0	+++	+++

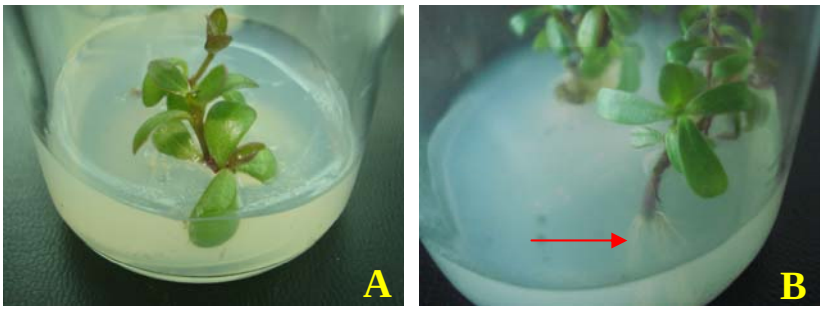
* 3 قطع / معاملة / 3 مكررات . - تعني عدم تكوين كالس .

+ ← ++++ مدى الاستجابة لاستحداث الكالس من الأقل← الأعلى

ومن الجدير بالذكر أن الكالس المستحدث من السيقان والأوراق وفي أفضل تراكيز الاستحداث ظهر فيه تكوين أفرع خضرية بعد مرور 3 أسابيع من الزراعة (الشكل E-2).

اما عند زراعة قطع السيقان ذات العقد على وسط MS الخالي من منظمات النمو فانها استمرت بالنمو وبصورة جيدة مع تكوينها للجذور ومن ثم الحصول على نباتات كاملة معقمة جديدة من البقلة وبهذا يمكن استخدام هذه النباتات مصدراً للأجزاء النباتية مستقبلا (الشكل -3) ، وهذا يتفق مع ما ذكره (Safdari and Kazemitabar, 2009) عند إدامة ونمو الأفرع الخضرية في حين انه استخدم للتجذير وسط MS المدعم بـ 2.5 مايكرومول من IBA او 2.5 مايكرومول من NAA مع ظهور اختلاف في مظهر الجذور المتكونة اذ كانت مع NAA أكثر قصراً ، بينما استخدم (Wang *et al.*, 2006) وسـط MS مع 4.0 ملغم /لتر BA و NAA 0.2 لتكوين الأفرع ولغرض تجذيرها استخدم MS ½ مدعم بـ 2.0 ملغم / لتر IBA ، كذلك

اسـتخدم (Liu *et al* ., 2006) وسط MS الحاوي 3 ملغم / لتر Kin و 0.5 ملغم / لتر NAA لتكوين الأفرع التي جذرت عند نقلها إلى وسط MS الخالي من المنظمات.



الشكل 3 : إنتاج بادرات كاملة للبقلة من زراعة قطع السيقان المعقمة ذات العقد على وسط MS الخالي من منظمات النمو.

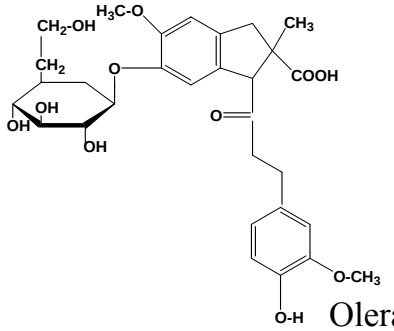
A : تكوين ونمو الأفرع الخضرية من قطع السيقان. B: تكوين ونمو الجذور للفروع المتكونة.

تشخيص المجاميع الوظيفية لبعض الفلويدات باستخدام تقنية IR

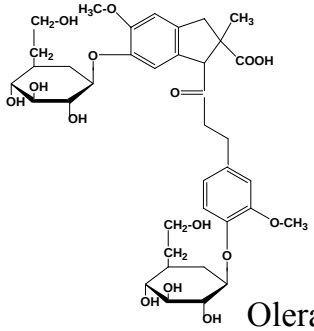
مررت العينات في جهاز IR ولوحظ من خلال القياسات وجود نوعين من الفلويدات المـشخصة في البقـلة وهي Oleracein B وOleracein D وأشار (find-health, 2010 ; Yang *et al.*, 2007) إلى ظهور 3 فلويدات منها E, B, A, Oleracein في المستخلص الكحولي للبقلة وقد تدرجت هذه الفلويدات بالنقاوة وسجل مستخلص كالس السيقان افضل نقاوة يليه مستخلص كالس الأوراق ثم مستخلص الأفرع الخضرية (النبات) (الشكل4)، والمجاميع المشخصة هي :

-O-H acidic	عند	3442-3424 / C-H اروماتي (مط)	عند	3000
C-H اليفاتي (مط)	عند	C = C / 2924-2923	عند	2850-2800
C = O	عند	1730 / O = C- O	عند	1630-1650
C-H اروماتي (ثني)	عند	1401 ، 1540 ، 1601 ، 1620		

حيـث ذكرت الدراسة(Xiang *et al.*, 2005) ان الفلويدات المشخصة في نبات البقلة المباركة *Portulaca oleracea* هي خمسة فلويدات تسمى A, B, C, D, E وجميعها تمثل Oleraceins مع اختلاف المجاميع الاحلالية لبعض منها عن الأخر كما موضح في الشكل التخطيطي التالي :

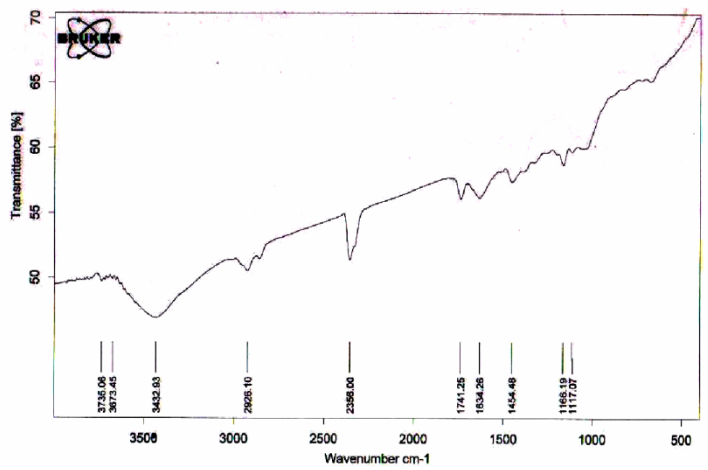


Oleracein B

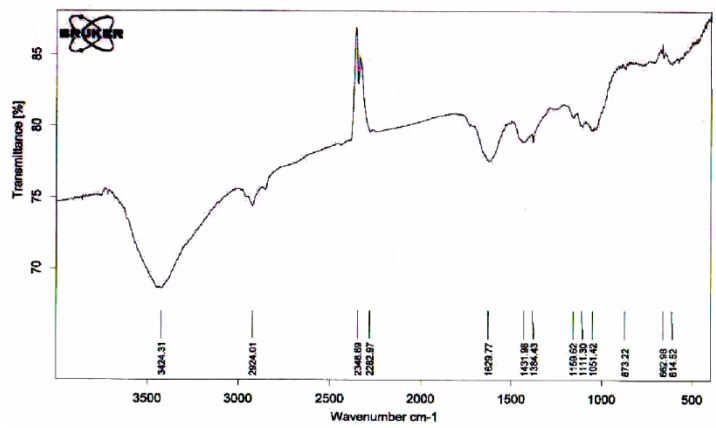


Oleracein D

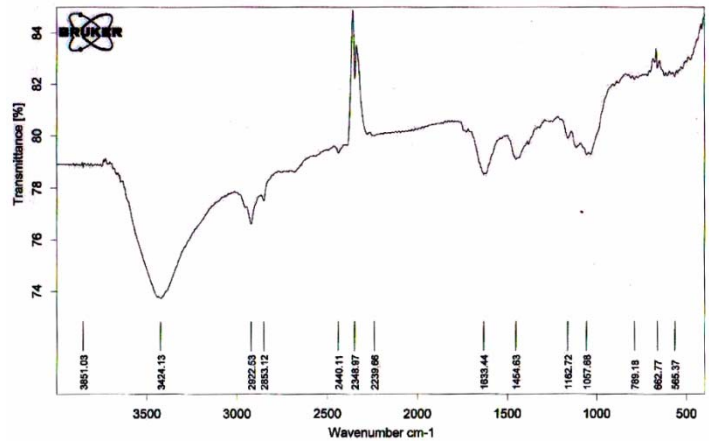
الشكل التخطيطي يوضح التركيب الكيميائي لفلويدات Oleraceins



A : مستخلص كالس السيقان



B : مستخلص كالس الأوراق



C : مستخلص الأفرع الخضرية (النبات)

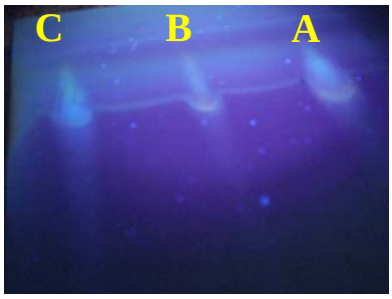
الشكل 4 : امتصاص المجموعـات الفعالـة للفلويدات في العينات النباتية للبقلة بتقنية IR

إن طيف IR من ابسط وأسرع طرائق تعيين المركب حيث أن المجاميع الوظيفية لأي مركب له ترددات اهتزازية مميزة لها وعن طريق قراءتها وهي التي تتطابق مع المنطقة تحت الحمراء Infrared للـموجات الكهرومغناطيـ ـ ـ ـسية والتي يمكن قياسها (Williams and Fleming , 1966) .

فصل وتشخيص المركبات الفلويدية بقياس قيم R_f باستخدام تقنية TLC

استخدمت تقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة Thin Layer Chromatography كخطوة أولية لفصل وتشخيص حزم القلويدات في عينات كالس السيقان والأوراق والأفرع الخضرية (الكالس نامي على وسط MS + 0.2 ملغم /لتر BA + 1.0 ملغم/لترNAA وبعمر 60 يوماً) .

أظهرت نتائج فحص ألواح الطبقة الرقيقة بالأشعة فوق البنفسجية باستخدام جهاز UV، فصل بقع مع عينات القلويدات المفصولة من المستخلصات (الشكل 5) وكانت قيم R_f **(Rate of flow)** للعينات متقاربة جداً (الجدول 3) .



A : مستخلص كالس السيقان

B : مستخلص كالس الاوراق

C : مستخلص الافرع الخضرية

الشكل 5 : العينات المفصولة باستخدام تقنية TLC على ألواح Silica gel .

الجدول 3 : قيم R_f (Rate of flow) للمستخلصات المفصولة بتقنية TLC.

عينة المستخلص	عدد البقع	قيمة R_f
قلويد كالس السيقان	1	0.77
قلويد كالس الاوراق	1	0.82
قلويد النبات	1	0.80

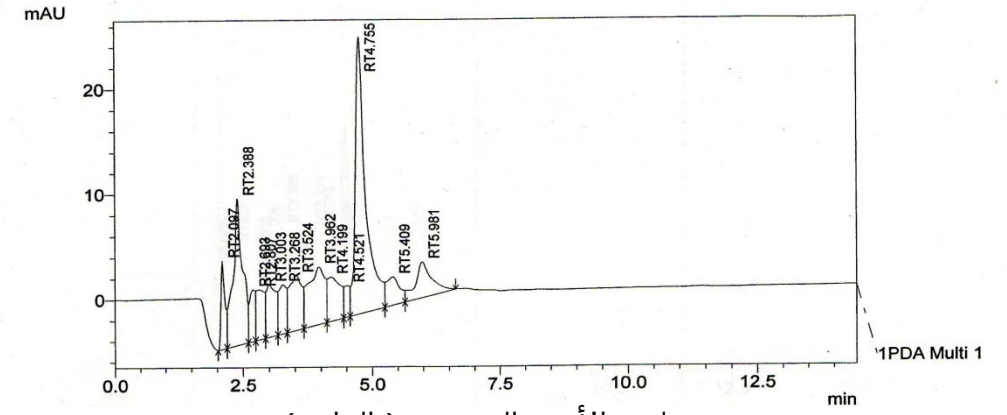
إن تقارب قيم R_f للنبات تشير إلى وجود نفس المركب في المستخلصات النباتية فضلاً عن ظهور بقعة مفصولة واحدة لكل منها . لقد أشار (Sarin, 2005) إلى أن النواتج الايضية الثانوية تتراكم في المزارع النسيجية بمستوى أعلى من النباتات الطبيعية .

فصل وتشخيص المركبات الفلويدية في مستخلصات كالس ونبات البقلة باستخدام تقانة كروماتوكرافيا السائل ذي الأداء العالي HPLC

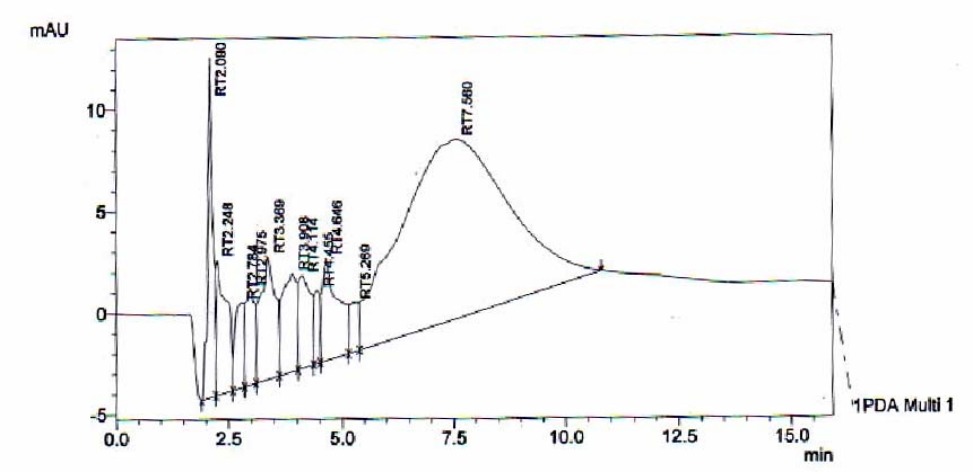
أظهرت نتائج الفصل والتشخيص باستخدام HPLC إن مستخلص الأفرع الخضرية (النبات) (الشكل A-6) أعطى عدداً من القمم الامتصاصية تباينت من حيث زمن الاحتباس والمساحة تحت المنحني وتميز فيها قمة رئيسية بزمن احتباس 4.755 دقيقة وبمساحة تحت المنحني بلغت 368019 ، أما باقي قمم الامتصاصية فتراوحت أزمان الاحتباس لها ما بين 2.097 – 5.981 دقيقة وبمساحات تحت المنحني متباينة ايضا لكنها اقل من المساحة تحت المنحني للقمة الرئيسية التي تمثل القلويد المعزول من المستخلص بتقانة TLC .

أما مستخلص كالس الأوراق فقد فصل أيضا بعدد من القمم الامتصاصية تباينت في زمن الاحتباس وكانت مقاربة جداً لما ظهر من قمم في مستخلص النبات مع ظهور القمة الرئيسية عند زمن احتباس 4.646 دقيقة وبمساحة 123138 مما يدل على وجود نفس القلويد المشخص في النبات (الشكل B-6) ، علماً انه ظهر في هذا المستخلص قمة عريضة بزمن احتباس 7.560 دقيقة تحتاج إلى إعادة فصل لبيان القيم الدقيقة المكونة لها مركبات متعددة متداخلة مع بعضها البعض، أما كالس السيقان (الشكل C-6) فقد فصلت قمة رئيسية عند زمن احتباس 4.657 دقيقة وهي مشابهة للقمة الرئيسية لكل من مستخلص النبات وكالس الأوراق وبمساحة تحت المنحني بلغت 118696 وتشابهت بقية القمم مع ما ظهر في مستخلص الأوراق .

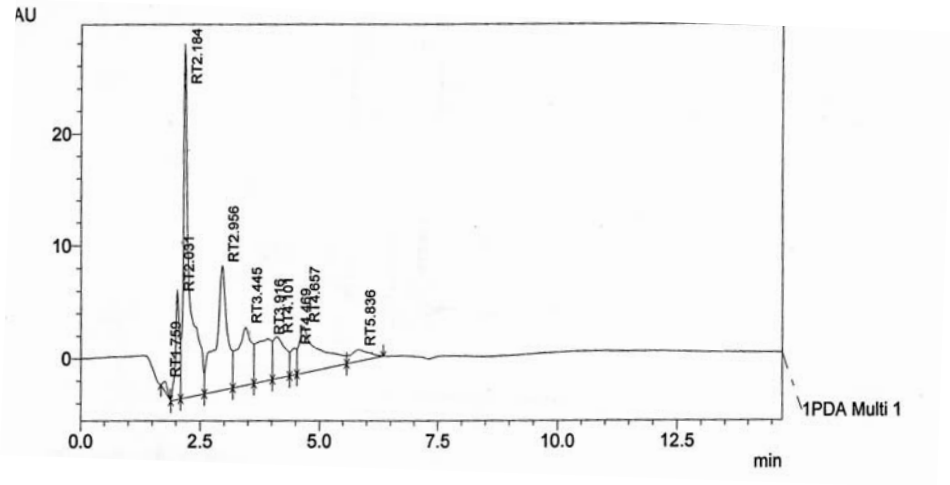
إن ظهور القمة الرئيسية في هذه المستخلصات يشير الى وجود المركب القلويدي Oleracein في نبات البقلة والكالس الناتج منه وهذا يتفق مـ ـ ـ ـع ما ذكر من قبل (Xiang *et al*., 2005; Yang *et al*., 2007) وذلك يتفق أيضا مع نتائج تشخيص المجاميع الوظيفية الفعالة لهذه الدراسة بطريقة IR، فضلاً إلى ما أشير إليه من درجة النقاوة للمركبات .



A : مستخلص الأفرع الخضرية (النبات)



B : مستخلص كالس الاوراق



C : مستخلص كالس السيقان

الشكل 6 : زمن الاحتباس (دقيقة) للمركبات في مستخلصات كالس ونبات البقلة باستخدام تقانة HPLC.

وقد أصبح الاهتمام متزايداً بإنتاج مواد ايضية ثانوية باستخدام تقانة الزراعة النسيجية للحصول على إنتاج عالي من هذه المواد مقارنة بالنبات الأصلي، وان هذا الإنتاج يمكن أن ينظم بواسطة استخدام منظمات النمو النباتية (Umamaheswari and Lalitha , 2007) .

تشخيص الأحماض الدهنية في المستخلصات النباتية بتقانة CGC

تم قياس نسبة الأحماض الدهنية وتشخيصها عن طريق معرفة زمن الاحتباس Retention time وهو الزمن المستغرق من قبل المادة لتظهر في نهاية عمود الفصل وتم حساب النسبة المئوية للمادة اعتماداً على نسبة المساحة تحت المنحي لكل مكون ثم حساب كل جزء من الكل (حبوش، 1983 ;Gunstone *et al.*, 1994).

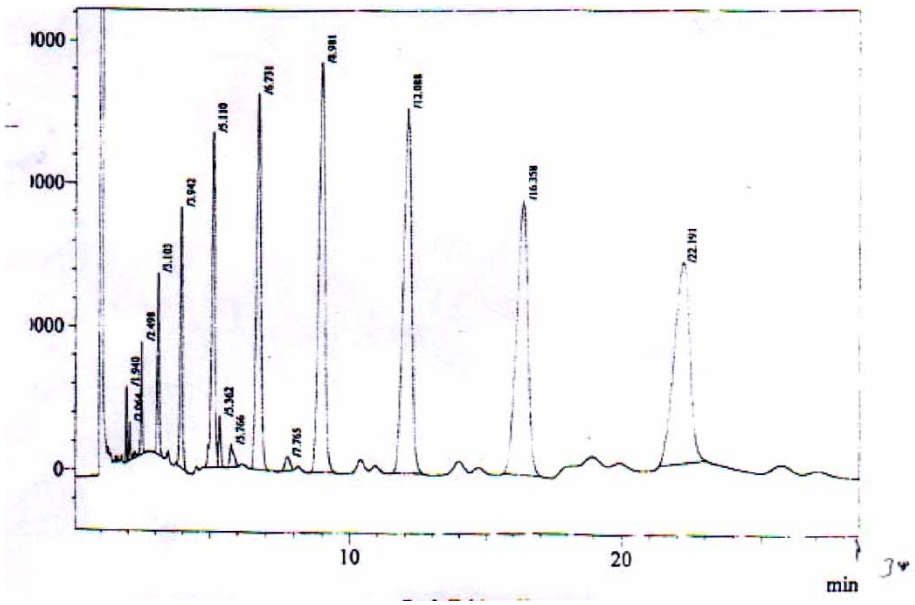
تم قياس الأحماض الدهنية الرئيسية القياسية بجهاز كروماتوكرافيا الغاز الشعري CGC وكانت أزمنة الاحتباس لها كما في الجدول 4 ، (الشكل 7) .

الجدول 4 : أزمنة الاحتباس Retention Time للاحماض الدهنية القياسية.

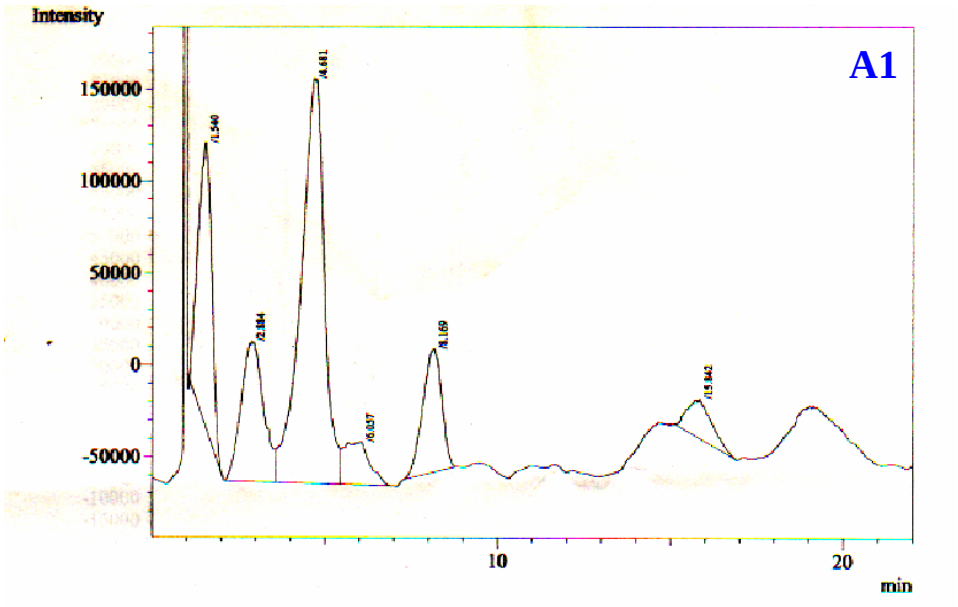
الاحماض الدهنية القياسية (Methyl ester)	المختصر C* : **	زمن الاحتباس (دقيقة) Retention Time
كابريك	C 10 :0	1.94
ليوريك	C 12 : 0	2.06
ميريستيك	C 14 : 0	2.49
بالمتيك	C 16 : 0	3.10
بالمتوليك	C 16 : 1	3.94
ستيرك	C18 : 0	5.11
اوليك	C18 : 1	5.36
لينوليك	C18: 2	5.77
لينولينيك	C18 : 3	6.73
اراكودنويك	C20 : 4	8.98
ايكوزابنيتانويك	C20 : 5	12.08
ديكوزاهكسانويك	C22: 6	16.35

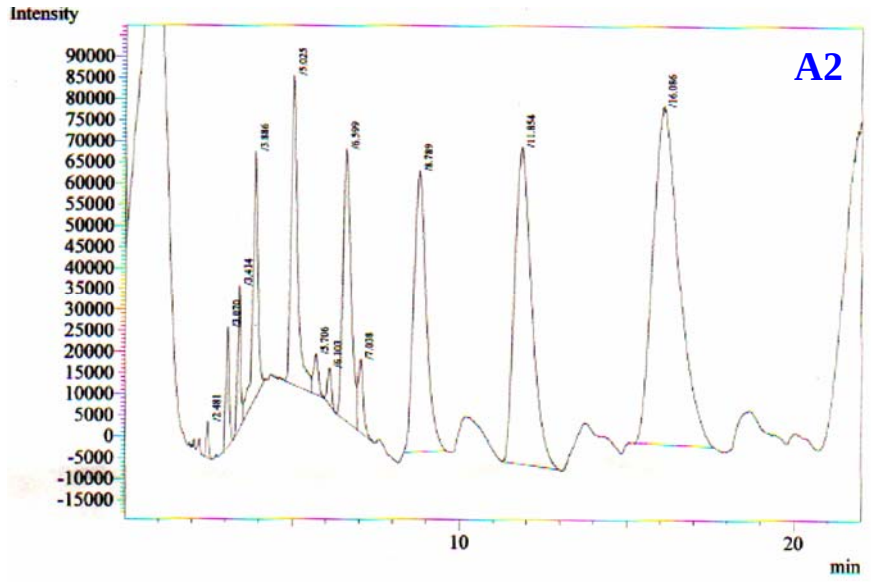
* عدد ذرات الكاربون في الحامض الدهني .

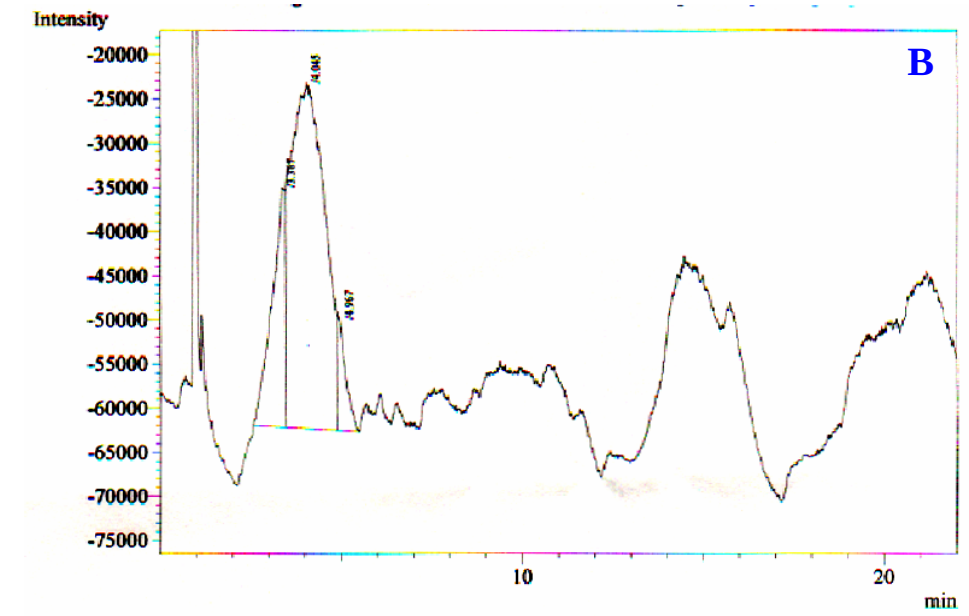
** عدد الاواصر غير المشبعة (C=C) .

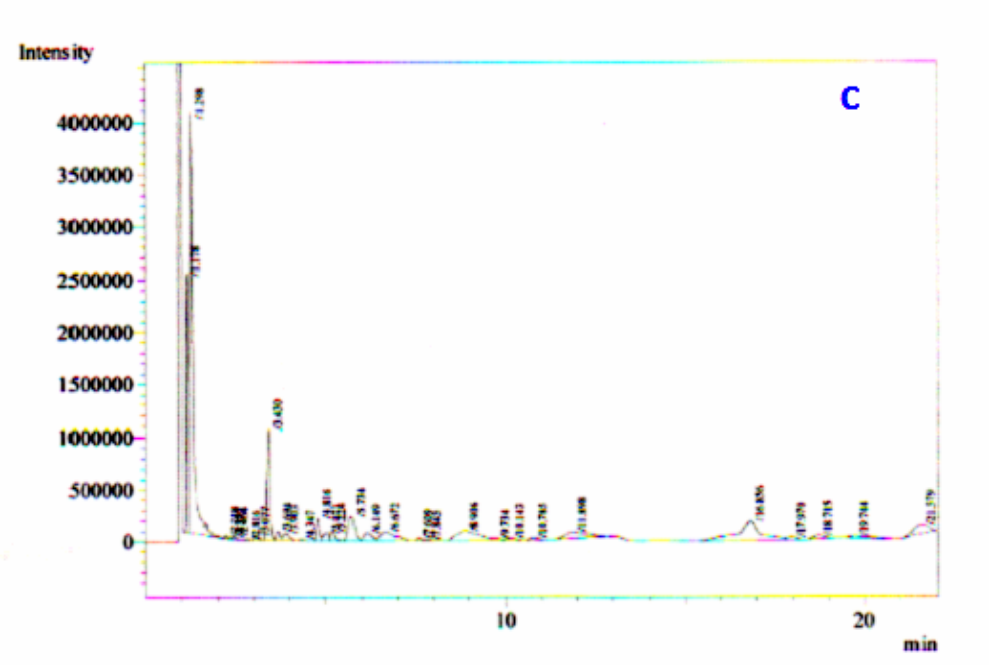


الشكل 7 : المنحني يوضح أزمنة الاحتباس المقاسة للأحماض الدهنية القياسية بتقنية CGC.









الشكل 8 : أزمنة الاحتباس للأحماض الدهنية في عينات النبات والكالس بتقنية CGC.

A1 : مستخلص كالس الأوراق (طبقة عليا) A2 : مستخلص كالس الأوراق (طبقة سفلى)

B : مستخلص كالس السيقان (طبقة سفلى) C : مستخلص النبات (الأفرع الخضرية)

يتبين من الشكل (A2, A1- 8) المنحني الخاص لعينة كالس الأوراق (طبقة عليا وطبقة سفلى)، على التوالي، حيث سجل الحامض الدهني غير المشبع (C16:1) بالموتوليك أعلى نسبة بلغت 50.24% (45.2 و 5.04) للطبقتين العليا والسفلى من المستخلص على التوالي وعند زمني احتباس (4.68 و 3.88 دقيقة) يليه حامض (C22:6) ديكوزاهكسانويك بنسبة 39.88% 4.49 و 35.39 للطبقتين العليا والسفلى، على التوالي، عند زمني 15.84 و 16.08 دقيقة، يلي ذلك حامض (C20:4) الاراكيدونيك بنسبة 25.1 % والحامض الدهني المشبع (C10:0) كابريك بنسبة 18.6 % وحامض الميريستيك (C14:0) بنسبة 15.46 % اما حامض اللينولينك (C18:3) المعروف باسم اوميغا – 3 والذي تعد البقلة من أهم مصادره فقد سجل نسبة 8.81% في الطبقة السفلى فقط لكالس الأوراق عند زمن احتباس 6.599 دقيقة وحامض لينوليك (C18: 2) المعروف بأسم اوميغا – 6 سجل نسبة 6.1% (5.34 و 0.76%) للطبقتين العليا والسفلى على التوالي وعند زمني احتباس 5.34 و 5.706 دقيقة .

ومن الجدير بالذكر ان مستخلص كالس الأوراق اظهر 10 أحماض دهنية (مشبعة وغير مشبعة) مشخصة في الأحماض الدهنية القياسية وعدم ظهور حامضي (C12: 0) ليوريك و (C18: 1) الاوليك فقط .

ويتبين من الشكل (B-8) لقياسات عينة كالس السيقان ظهور 3 أنواع فقط من الأحماض الدهنية وفي الطبقة السفلى للمستخلص فقط أما الطبقة العليا فلم يظهر أي قياس للأحماض الدهنية، وكانت الأحماض بحسب نسبتها الاعلى (C16: 1) بالموتوليك بنسبة 74.32% وعند زمن احتباس 4.04 دقيقة يليه حامض بالمتيك (C16: 0) 19.71% عند زمن 3.36 دقيقة وأخيراً الاوليك (C18:1) 5.95% عند زمن 4.967 دقيقة .

لقد أشار (Yan *et al.*, 2009) إلى أن تركيز البالمتيك (C16: 0) أعلى في الأوراق من السيقان وظهر العكس هنا بهذه الدراسة في حالة استخدام كالس كل منهما حيث كان في كالس الأوراق بنسبة 1.57 % وفي كالس السيقان 19.71 % لكنه يتفق من حيث أن نسبة هذا الحامض المشبع تكون قليلة مقارنة ببقية الأحماض الدهنية في البقلة في كل من الأوراق والسيقان، كذلك أشار هذا الباحث إلى أن حامض اوميغا – 3 يكون في الورقة اعلى مما في السيقان وكذلك حامض اوميغا – 6 مما يتفق مع ما ظهر بالدراسة الحالية فقد ظهر الحامضان في عينة كالس الورقة ولم يظهرا في كالس السيقان، وأشار أيضا إلى أن حامض الاوليك موجود في السيقان بصورة اكبر من الأوراق مما يتفق مع الدراسة الحالية بظهوره في كالس الساق ولم يظهر في كالس الورقة وأخيرا أشار الباحث نفسه إلى أن تباين نسبة حامض اوميغا – 3 في البقلة يرجع إلى اختلاف مواقع نموها وجمعها فقد اخذ عينات منها من مواقع مختلفة انكلترا، المانيا، مصر، اليونان، مما يشير إلى أن الموقع الجغرافي للنبات (عينة الدراسة) له الأثر في تباين النتائج للعينات المدروسة للنبات من حيث مكوناتها من المركبات ونسبها، فالدراسة الحالية اختصت بالنبات النامي طبيعياً في مدينة الموصل / العراق.

أما عند قياس الأحماض الدهنية في الأفرع الخضرية (الشكل C-8)، فقد ظهرت جميع الأحماض الدهنية القياسية (12 حامض) وسجل حامض (C10: 0) الكابريك اكبر نسبة بلغت 36% يليه الأحماض 6 C18: 3 < C18: 2 < C20: 4 < C20: 5 < C22: وبنسب 10.45 > 5.20 > 5.18 > 3.36 > 3.14 %، على التوالي. أي أن نسبة حامضي اوميغا – 3 واوميغا – 6 كانتا متقاربتين، وقد أشار (Liu *et al*., 2000) إلى أن نسبة الأحماض الدهنية الكلية في البقلة الاسترالية Australian purslane تتراوح بين 1.5 – 2.5 ملغم / غم من الوزن الطري للأوراق و 0.6 – 0.9 ملغم /غم من الوزن الطري للساق أي أنها أعلى في الأوراق وان الحامض غير المشبع اوميغا – 3 يمثل 60% منها في الأوراق، وهذا يتفق أيضا مع الدراسة الحالية بظهور الأحماض الدهنية بنسب كبيرة في كالس الورقة مقارنة ببقية العينات من كالس السيقان والنبات ويتطابق مع ما ذكره (Omara-Alwala *et al*., 1991) بان نسبة الأحماض الدهنية الكلية تكون أعلى في الأوراق ثم النبات الكامل وأخيرا السيقان وعلى مدى 3 مراحل نمو وأنها تزداد بزيادة عمر النبات مما يتفق مع ما ذكره (Palaniswamy *et al*., 2001) بان البقلة أغنى مصدر لهذه الأحماض الضرورية للنمو الطبيعي البشري ودعم الصحة والوقاية من الأمراض.

إن نسبة الأحماض اوميغا – 3 نسبة إلى بقية الأحماض الدهنية المشبعة تعد مؤشراً مهماً في قيمة النبات الغذائية، وكانت نسبته في الدراسة الحالية اكبر ما يكون في كالس الأوراق إذ بلغت 8.81% وكانت اقل جدا في مستخلص النبات 3.14% في حين لم يظهر له قياس في كالس السيقان، مما يتفق مع ما ذكره (Omara-Alwala *et al*., 1991; Yan *et al*., 2009) بان أوراق البقلة هي أغنى مصدر لحامض اوميغا – 3 يليها النبات الكامل ومن ثم السيقان وان نسبة بقية الأحماض الدهنية المشبعة إلى حامض اوميغا – 3 تكون قليلة في السيقان يليه النبات والأقل في الأوراق مما يعطيها القيمة الغذائية الكبرى، حيث أن الأحماض الدهنية المشبعة هي سبب للعديد من الأمراض مثل أمراض القلب، لذلك يعد نبات البقلة غذاء الطاقة Power food في المستقبل (Simopoulos *et al*., 1995) .

المصادر العربية

القحطاني ، جابر سالم (2006). الرجلة تشفي من المشكلات البولية والهضمية. عيادة الريـاض، جريـدة الرياض ، 8 مايو ، 2006 ، العدد 13832 .

حبوش، البرتين (1983). طرق الفصل والتحليل الكيمياوي ، جامعة بغداد.

محمد ، عبد المطلب سيد و مبشر، صالح عمر (1990). المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والأنـسجة والأعضاء للنبات ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل .

المصادر الأجنبية

Chan, K. ; Islam , M. W.; Kamil , M.; Radhakrrishnan, R.; Zakaria , M. N. ; Habibullah , M.; Attas, A. (2000). The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subsp. *Sativa* (Haw.) Celac. *J. Enthopharm.*, **3**, 445-451 .

Folsom , A. R.; Ma, J. ; Mc Govern , P. G. ; Eckteldt , J.H. (1996) . Relation between plasma phospholipids saturated fatty acids and hyperinsulinemia . *Metabolism* **45**, 223-228 .

Grand , A. ; Wondergem , P. A. ; Verpoorte , R.; Pousset , J. L. (1988) . Anti-infections phytotherapies of the tree – Savannah of Senegal (West-Africa) II. Antimicrobial Activity of 33 species. *J. Ethnopharm*., **22**(1), 25-31.

Gunstone , F.D.; Harwood , J. L.; Padely , F.B. (1994) . "The Lipid Hand Book". 2nd Chap man and Hall , London , UK .

Harborne , J. B. (1973) . "Phytochemical Methods". John Willey and Sons , Inc . New Yourk .

http://www.drugs.com/npp/purslane.html (2007).

http://fabaio.net /view thread php%3 fitid%3 (2007) purslane regerneration system and the establishment of the preliminary study on genetic transformation . Neo .

http://www.find-health.Articles.com/msh-poetulaca-chemistry.htm (2010).

http://www.seabreezed.com/index.php (2008).

Li, F. ; Li,. Q; Gao, D.; Peng, Y. ; Feng, C. (2009) . Prepartion and antidiabetic activity of polysaccharide from *Protulaca Oleracea* L. *African J. Biotechnol.* **8** (4) , 569-573.

Liu , L. ; Howe , P. ; Zhou , Y. F. ; Xu , Z. Q.; Hocart , C. ; Zhang , R. (2000) . Fatty acids and B-Carotene in Australin purslane (*Portulaca oleracea*) varieties. *J. Chromatogr* . **893**(1) , 207-213 .

Liu , Hong – Mei ; Jaiang , Ji-zhi ; Gong, Wei-Bo; Li , Li ; Liao, Xiang – Ru . (2006) . Improvement of tissue culture of *Portulaca oleracea* L. *Chinese Electronic Periodical Servixes* . **21**, 63–66.

Ma, J. ; Folsom , A. R. ; Shahar , E. ; Eckfldt , J. H. (1995) . Plasma Fatty acid composition as an indicator of habitual dietary fat in take in middle – age adults . *American J. Clin . Nutr* . , **62** , 564-571 .

Murashige , T. ; Skoog , F. (1962) . Averised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture . *Physiol . Plant*. , **15** , 473 – 497 .

Murray , R. K. ; Granner , D. K.; Mayes , P. A. ; Rodweel , V.W.(1999) . " Harper Biochemistry ", McVraw-Hill Pub.com ., London , U.K.

Noda, N.; Adachi , T. (2000) . Introducation of betacyanin synthesis and pigment accumnlation in cell suspension cultures of *Portulaca plant. biotechnology* , **17** (1), 7 – 34 .

Omara – Alwala , T.R. ; Mebragtu T. ; Prior , D. E. ; Ezekwe, M.O. (1991) . Omega- three fatty acids in purslane (*Portulaca oleracea*) tissues . *J. American Oil Chem.. Soc.* (*JAOCS*) , **68** (3), 198-199.

Palaniswamy, U.R.; McAvoy, R.J. ; Bible , B. B. (2001) . Stage of harvest and polyunsaturated essential fatty acid concentrations in purslane (*Portulaca oleracea)* Leaves . *J. Agricul. Food Chem..* , **49** , 3490- 3493 .

Pelletier, S.W.; Aneja, R. (1968). The alkaloids from *Aconitum leucostomum*. *J. Nat. Prod*, **59**, 277-279 .

Reger, B. J. ; Egley, G.H.; Swanson, C. R. (1975) . Polysmome formation in light-sensitive common purslane seeds. *Plant Physiol*. , **55** (5), 928-939.

Rocquelin , G.; Tapsoba, S.; Dop, M. (1988). Lipid content and essential fatty acid (EFA) composition of mature conglese breast milk . *Eur . J. Clin . Nutr*., **52**, 164-171.

Safdari , Y. ; Kazemitabar , S. K. (2009). Plant tissue culture study on two different races of purslane (*Portulaca oleracea* L.) *African J. Biotechnol.* **8** (1) , 5906-5912.

Sarin, R. (2005). Useful metabolites from plant tissue culture. *Biotechnology* , **4**(2), 79-93.

Simopoulos , A. P. ; Salem , H. Jr. (1986). Purslane : Aterrestial source of omega-3 fatty acids. *North England J. Med.* , **315** , 833 .

Simopoulos , A. P. ; Norman , H.A.; Gillaspy , J. E. ; Duke , J. A. (1992). Common purslane: Asource of omega-3 fatty acids and antioxidants . *J. American coll. of Nutr.*, **11**, 374 – 382 .

Simopoulos , A. P. ; Norman , H. A. ; Gillaspy , J.E. (1995) . Purslane in human nutrition and its potential for world agriculture . *World Rev. Nutr. and Diet.* , **77** , 47 – 74 .

Teixeira, M. C. ; Carvalho , I . S. ; Brodelius , M. (2010). w-3 Fathy acid desaturase genes isolated from purslane (*Portulaca oleracea* L.) Expression in different tussues and response to cold and wound stress (Abstract). *J. Agric . Food chem*. From (http:// pub. acs. org / doi/ abs/ 10.102/ jf 902684v).

Umamaheswari, A.; Lalitha , V. (2007). In Vitro effect of Various growth hormones in *Capsicum annum* L. on the callus induction and production of capsaicin. *J. plant Scie.*, **2** (5) , 545-551.

Wang, Hong-yan; Huang, Qun-ce ; Qin , Guang – yong ; Huo , Yu-ping. (2006) . Tissue culture and plantlet regeneration from *Portulaca oleracea* L. *J. Henan Agricult. Scie.*, **5** , 84 – 87 .

Williams ,D ; Fleming , U. . (1966) . "Spectroscopic Methods in Organic Chemistry " . McGraw-Hill pub, London .

Xiang , L. ; Xing , D. ; Wang , R. ; Ding , Y. ; Du, L. (2005) . Alkaloids from *Portulaca oleracea* L. *Phytochem.* , **66** (21), 2595 – 2601.

Xu, X.; Yu, L. ; Chen , G. (2006). Determination of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by capillary electrophoresis with electrochemical detection . *J. pharm . Biomed Anal* , **41** (2), 493-499.

Yan, G. ; Aryamanesh , N. ; Wang , S. (2009). Purslane : A potential vegetable crop . Australian Government Rural Industries Research and Development Corporation . RIRDC pub .

Yang , Z. ; Zheng , Y. ; Xiang , L. (2007).Study on chemical constituents of *Portulaca oleracea*. *Chin. J. Physio*, **50** (4), 157–163.