

تأثير بعض العناصر السامة في إنبات بذور الجرجير *Eruca sativa*

هدى عبد الخالق ناصر      زهرة محمود الخفاجي

معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الحيوية للدراسات العليا، جامعة بغداد، العراق

## الخلاصة

درس تأثير بعض العناصر السامة مثل الرصاص والكاديوم والزنك والزرنيخ والقصدير وأستعملت الأملاح مصادرًا للايونات السامة بالتراكيز 1, 10, 10, 500, 1000 ملغم/لتر في الماء المقطر المعقم لتغطي مدى واسع من التراكيز التي تشمل التراكيز الطبيعية والأخرى الموجودة في البيئات الملوثة في إنبات بذور الجرجير *Eruca sativa*. أستمرت عملية الإنبات لمدة 5 أيام ثم حُسبت البذور النابتة. أسفرت النتائج عن تناقص كبير في عدد البذور النابتة عند زيادة التراكيز، إذ كُان مُعامل الإرتباط سالباً، بالنسبة للرصاص ( $r = -0.912$ ) وكاديوم ( $r = -0.945$ ) والزنك ( $r = -0.929$ ) والزرنيخ ( $r = -0.51$ ) والقصدير ( $r = -0.983$ ). وقد أثر الرقم الهيدروجيني pH للمحاليل المُستعملة في عملية الإنبات بشكل قليل ولم يكن التأثير مهم معنوياً ( $\leq 0.05$ ) (P) عدا في حالة أملاح الزرنيخ فكَان مُعامل الإرتباط مهم معنوياً ( $r = -0.8912$ ). وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها يُمكن تدرّج العناصر من حيث التأثير السلبي بالآتي : الرصاص > القصدير > الزنك > الكاديوم > الزرنيخ.

## EFFECT OF SOME TOXIC ELEMENTS ON GERMINATION OF *ERUCA SATIVA* SEEDS

Huda A. Nasser

Zahra M. Al-Khafaji

Genetic Engineering and Biotechnology Institute for Postgraduate Studies, University of Baghdad, Iraq.

### ABSTRACT

The effect of some Toxic elements which included Lead, Cadmium, Mercury, Arsenic and Tin on germination of rocket seeds (*Eruca sativa*) was studied at concentrations: 1, 10, 100, 500, 1000 mg/L in sterilized distilled water to cover a wide range of concentrations including those found at natural environments and those found in contaminated environments on germination of *Eruca sativa* seeds. Germination process extended for 5 days and then germinated seeds were counted. Results showed that there is an inverse relationship between element concentrations and the number of germinated seeds, so the correlation coefficient had negative value. For Lead ( $r = -0.912$ ), Cadmium ( $r = -0.945$ ), Mercury ( $r = -0.929$ ), Arsenic ( $r = -0.51$ ) and Tin ( $r = -0.983$ ). The pHs of solutions influenced the germination but at low extent and their correlation coefficients were non significant ( $p \leq 0.05$ ) except that of arsenic. According to the results obtained by this study the elements can be ranked for their negative affect as follows: Lead < Tin < Mercury < Cadmium < Arsenic.

---

Key words : Heavy Metals, Seeds germination, *Eruca sativa*

## المقدمة

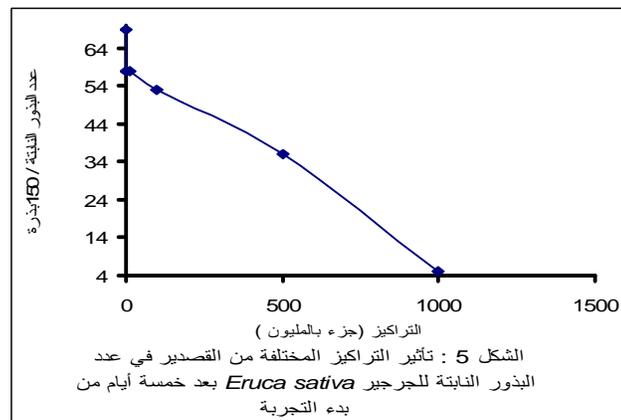
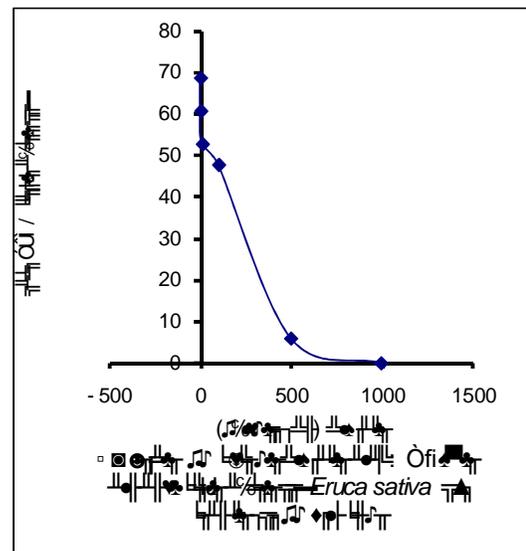
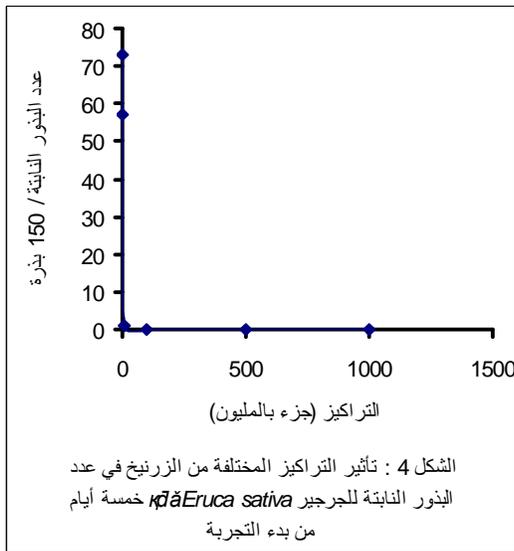
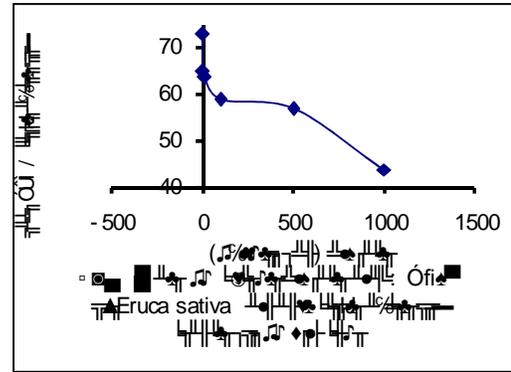
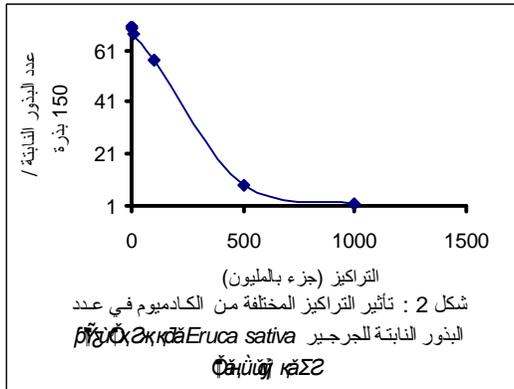
تكون العديد من العناصر الثقيلة سامة للإنظمة الحيوية، كما إن البعض منها وبالتراكم القليلة تؤدي إلى حث الأمراض في الإنسان مثل الرصاص الذي يتبقى 90 % منه في الجسم مؤدياً إلى حدوث تخلف عقلي في الأطفال ويسبب تشوهات جنينية فضلاً عن اضطراب الجهاز التناسلي وقلة الإخصاب في الرجال والإسقاط عند النساء الحوامل (1). ويمكن للعناصر السامة إن تزداد في البيئة من مصادر مختلفة، فقد تأتي إلى التربة ومن ثم تصل إلى النباتات في المخضبات والمكيفات المستعملة لتحسين التربة وغيرها من الفعاليات البشرية (2). ليس العناصر السامة (الرصاص، القصدير، الزئبق، الكاديوم، الزرنيخ) وظائف محددة أو مكتشفة لحد الإن في الإنظمة الحيوية لذلك تُعد من العناصر غير الضرورية (3). تختلف العناصر السامة في آليات تأثيرها اعتماداً على العنصر والنظام الحيوي الذي تدخله، ومن جهة ثانية تختلف الآليات التي تستعملها النباتات في مواجهة الزيادة في تراكيز العناصر السامة (4). والعناصر الثقيلة لا تتفكك مثل باقي الملوثات لذلك تحتاج إلى معالجات خاصة. تُعرف عملية الإنبات على إنها بزوغ الجذير من أغلفة البذرة (5) لذا تُستعمل عملية إنبات بذور النباتات وسيلة لدراسة تأثير المواد السامة في الإنظمة الحيوية النباتية (6)، وذلك لإن عملية الإنبات والكمون ظواهر معقدة يتم السيطرة عليها بعدد كبير من الجينات التي تتأثر بمراحل تطور النبات والظروف البيئية وقد أُستعملت بذور الجرجير *Eruca sativa* سريعة الإنبات (7) في هذه الدراسة. يختلف تأثير العوامل الداخلية والخارجية في عملية الإنبات والأنسجة الخضرية (8). هدفت الدراسة الحالية معرفة تأثير مدى واسع من العناصر السامة مثل الرصاص والكاديوم والزئبق والزرنيخ والقصدير في إنبات بذور نبات الجرجير *E. sativa*.

## المواد وطرائق العمل

أُجريت الدراسة عام 2005 وأُستعملت بذور الجرجير *Eruca sativa* من نباتات العائلة الصليبية مُشتراة من أسواق بغداد وهي من إنتاج موسم العام السابق للدراسة. أُستعملت أملاح الرصاص  $PbCl_2$  وكلوريد الكاديوم  $CdCl_2$  وكلوريد الزئبق  $HgCl_2$  وأوكسيد الزرنيخ  $As_2O_3$  وكلوريد القصدير  $SnCl_2$  مصدراً لأيونات العناصر السامة. وأُستعملت التراكيز 1, 10, 100, 500, 1000 ملغم/لتر في ماء مُقطر مُعقم لإستبعاد تأثير الملوثات الأخرى في عملية الإنبات وقيس الرقم الهيدروجيني pH للمحاليل. تمت طريقة التثبيت وفق الطرائق المُتبعة في مثل هذه الدراسات (5)، إذ أُستعملت أطباق بتري الزجاجية بقطر 90 ملليمتر بعد وضع طبقة من ورق الترشيح وتعقيمها. أُضيف 5 مليلتر من المحاليل أو الماء المُقطر لمُعاملة السيطرة. وُضعت 30 بذرة مُتجانسة الحجم وسليمة المظهر لكل طبق وُحضنت الأطباق في درجة حرارة (23 - 25 م). تُركت الأطباق بشكل أفقي لمدة 5 أيام ثم حُسب عدد البذور النابتة التي بزغت فيها الجُذيرات Radicles. أُجريت التجربة لمرتين وبواقع خمسة مكررات لكل تركيز (أي استعمال 150 بذرة). تم حساب قيم مُعامل الارتباط (r) Correlation coefficient وكذلك  $R^2$  بين المؤشرات المُقاسة على مستوى إحتمال  $P \leq 0.05$  (9).

## النتائج والمناقشة

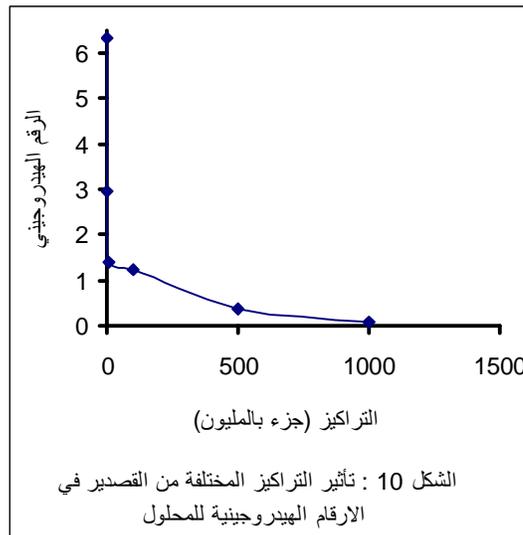
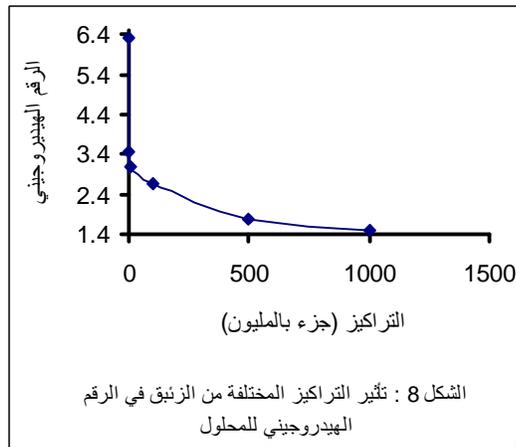
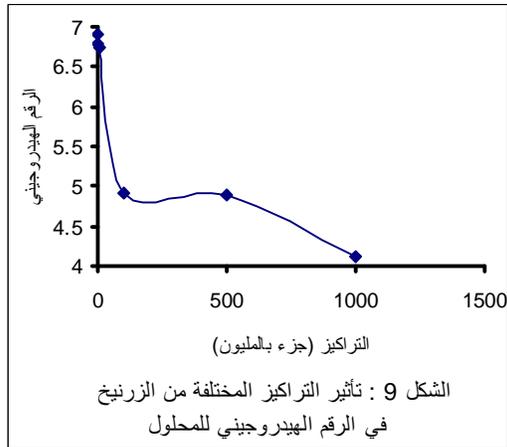
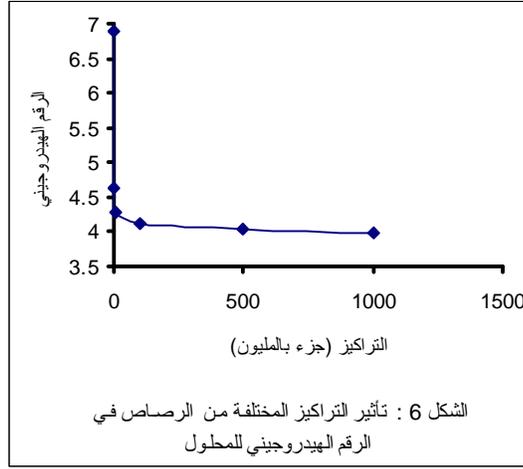
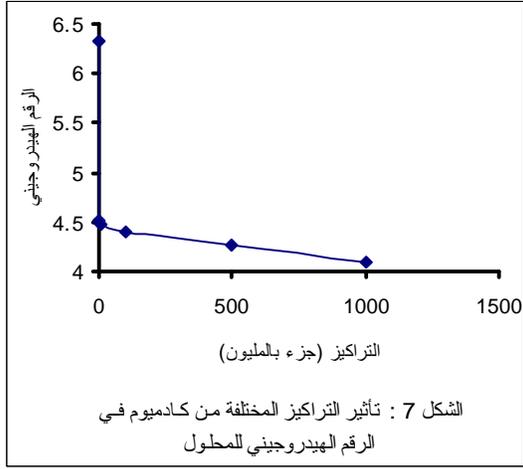
تُوضح الأشكال (1,2,3,4,5) تأثير التراكيز المختلفة التي أُستعملت بمدى يغطي التراكيز العادية والأخرى التي توجد في المناطق الملوثة من المعادن السامة (الرصاص، الكاديوم، الزئبق، الزرنيخ، القصدير) في إنبات البذور. لوحظ إن نسبة الإنبات في مُعاملة السيطرة كانت منخفضة إذ تراوحت بين 150/53 إلى حوالي 150/74 (46-48%) ولذا أُستعملت مُعاملة سيطرة مع كل تجربة أو عنصر، وإنخفاض الإنبات يمكن إن يرجع إلى عدة أسباب منها غير الحيوية خاصة في أثناء عمليات الخزن من جفاف وحرارة وغيرها، وكذلك هناك الأسباب الحيوية مثل عدم إكمال نضج البذور كما يظهر في نباتات الأهوار المالحة (5). والمُلاحظة العامة حول تأثير التراكيز المتدرجة للعناصر الثقيلة هو التأثير السلبي، والتراكيز الواطئة قد تكون مُشجعة أو بدون تأثير كما لوحظ في نباتات (*Avicennia marina* (Frosk.) (10)). أما التراكيز العالية فإنها تؤدي إلى إضطراب الأيض ومنع الإنبات خاصة عندما تتعدى الحد الحرج أوحد العتبة Specific threshold الخاص بتحمل كل نبات (10). وإنخفاض المُلاحظ في الأشكال المذكورة أدى إلى جعل مُعاملات الإرتباط سالبة القيم وكانت معنوية إحصائياً. مثلما ذكر أعلاه إن عملية الإنبات وتوازنها مع الكمون هي عمليات مُعقدة تقع تحت تأثير العديد من الإنزيمات والعوامل الحيوية والتي تتأثر بدورها بالظروف المُحيطة. فعملية الإنبات تبدأ بإمتصاص الماء (التشرب) الذي يمر بثلاث أطوار تختلف في سرعتها (11) وتؤدي عملية التشرب إلى تحفيز مسارات نقل الإشارات Signal transduction pathways الهورمونية إذ تؤثر في تخليق حامض الجبريليك وكذلك تخفيف تأثير المواد العاملة في فرض حالة الكمون مثل حامض Abscisic acid أوالصبغات الفينولية الموجودة في غلاف البذرة التي تحتاج البذور التغلب عليها لغرض الإنبات (11) والتي تتمثل بعد مرحلة التشرب بإستطالة خلايا الجنين أي نمو الإستطالة وليس النمو العادي إذ لاحتاج إلى عمليات تخليق DNA أوإنقسام خلوي وإنما تقوم الخلايا بترجمة فعالية الجزيئات mRNA المخزونة (12) لإنتاج الإنزيمات التي تقوم بالمساعدة في تحليل الأغلفة المحيطة بالبذرة، فضلاعن عدد من البروتينات التي تقوم بتحويل الجدران الخلوية، ومن أهم الإنزيمات  $\beta$ -1/3-Gluconases وخاصة النظرير الأول (Isoform I) والإنزيمات المُحللة للكابتين والتي تؤدي إلى تحرير مستويات واطئة من الجذور الحرة ROS (Reactive Oxygen Species) التي تُساعد في إضعاف الجدران الخلوية وتشجيع الإنبات وهي الحالة العامة لمعظم النباتات (12) ولكن زيادة وتراكم الجذور الحرة وعمليات أكسدة الدهون Lipid peroxidation للأغشية الحيوية والتي تنتج عن وجود العناصر الثقيلة تؤدي إلى تدمير الأغشية وجعل الخلايا تحت إجهاد الأكسدة. تقسم العناصر اعتماداً على علاقتها بالإنظمة الحيوية إلى مجموعتين رئيسيتين الأولى (A) تهاجم الريبائط أوالمجاميع المحتوية على الأوكسجين وتضم الرصاص وبعض الأحيان الكاديوم والتي ترتبط بقوة إلى الفوسفات ومجاميع Carboxylates بارتباطات كهربائية مُستقرة ويمكن لهذين العنصرين إن يحاملا مثلأبهما. فالكاديوم يرتبط إلى البروتينات من خلال ثملات حامض الاسبارتيك والكلوتاميك وكذلك السستين والهستدين،

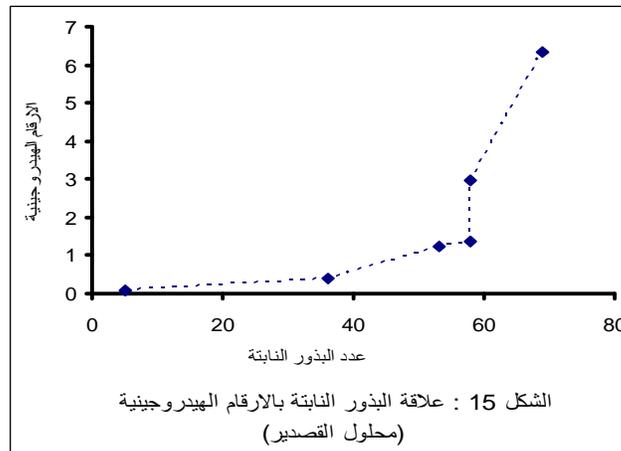
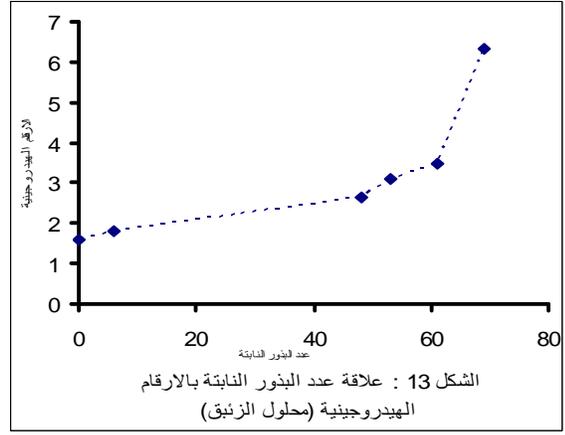
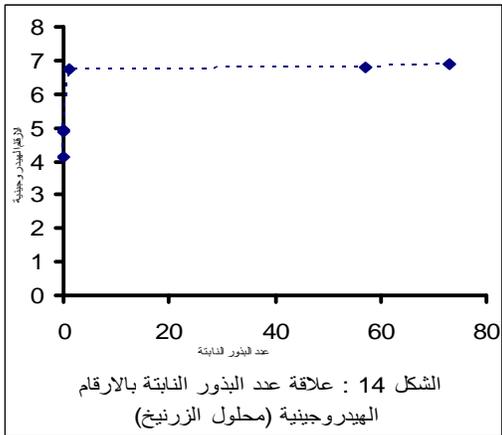
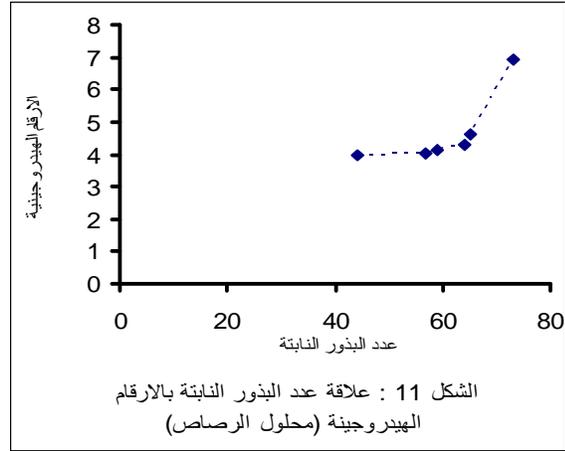
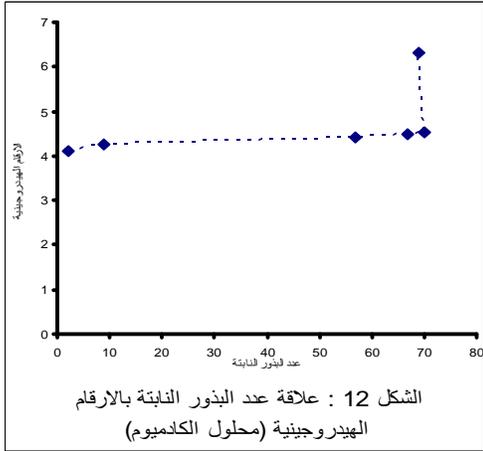


ويمكن إن يحل محل الزنك الذي يرتبط إلى الهستدين، ويؤدي إلى اضطراب مجاميع السلفاهيدريل (-SH)، كما إن الكادميوم يؤدي إلى زيادة فعالية بعض الإنزيمات ولكنه يؤدي إلى خفض أخرى (3). أما المجموعة الثانية (B) وهي التي ترتبط إلى المجاميع أو الرابطة المحتوية على الكبريت والنتروجين والهاليدات، ويمكن لعناصر المجموعة الأولى إن تتصرف بشكل مشابه للمجموعة الثانية ومنها الرصاص الذي

يمكن إن يرتبط إلى النتروجين في Imidazole، وكذلك الحال بالنسبة للكادميوم (12). ينتمي الزئبق إلى المجموعة الثانية ويرتبط إلى البروتينات عند ثمالات السستين والهستدين بإرتباط قوي وتساهمي الطبيعية، كما إنه يمكن إن يحل محل بعض العناصر الحيوية مثل الزنك والنحاس وغيرها، وقد وجد إنه يؤثر في الطور الثاني من عمليات التشرب أي بعد مرور 12-24 ساعة في نبات العريثة Arabidopsis Thaliana (أوما يسمى برشاد الصخرأورشاد إذن الفأر) الذي يعود إلى العائلة الصليبية التي ينتمي إليها الجرجير والأول يُستعمل نموذجاً دراسياً في العديد من المجالات (12). عنصر الزرنيخ من العناصر السامة جداً ويتداخل مع مجاميع السلفاهيدريل وخاصة أملاح الزرنيخات (Arsenate) والتي تشابه الفوسفات من حيث التركيب وتنقل إلى الخلايا بأنظمة نقل الفوسفات (13)، من جهة ثانية فإن عملية الإنبات تتأثر بالرقم الهيدروجيني للبيئة المحيطة، فأغلب عمليات الإنبات تتم في أرقام هيدروجينية من 5.2 - 8 اعتماداً على نوع النبات والمركبات المساهمة في تغيير الرقم الهيدروجيني، وتوضح الأشكال (6, 7, 8, 9, 10) الأرقام هيدروجينية الناتجة من وجود تراكيز مختلفة من العناصر (الرصاص، الكادميوم، الزئبق، الزرنيخ، القصدير على التوالي).

والملاحظة العامة إن الأرقام الهيدروجينية تنخفض بزيادة تركيز العنصر ولكن بدرجات متفاوتة وكان أكثرها تأثيراً هو وجود أيونات القصدير الذي خفض الرقم الهيدروجيني إلى 0.1 عند أعلى التراكيز المُستعملة 1000 ملغم/لتر، ثم الزئبق الذي خفض الرقم الهيدروجيني إلى 1.59 عند أعلى التراكيز، وأقل العناصر تأثيراً في خفض الرقم الهيدروجيني كانت في حالة الزرنيخ والكادميوم. المعروف إن إرتباط العناصر وخاصة مشتقاتها إلى البروتينات تحدث عندما يكون هناك فرقاً في الشحنة بين البروتينات والعناصر فالمشتقات الكاتونية Cationic يكون إرتباطها إلى البروتينات أفضل عند إرتفاع الأرقام الهيدروجينية أي عندما تكون أكثر سالبية وهذه تعتمد على المركب المُستعمل للعنصر الثقيل. وتوضح الأشكال (11,12,13,14,15) علاقة عدد البذور النابتة بالأرقام الهيدروجينية لمحاليل الرصاص والكادميوم والزئبق والزرنيخ والقصدير على التوالي.





جدول (1): العلاقات بين عدد البذور النابتة مع التراكيز المُستعملة والأرقام الهيدروجينية

العنا صر	R <sup>2</sup>	معامل الإرتباط (r)	الأهمية الإحصائية والملاحظات
التركيز x الإنبات			
رصاص	0.8321	- 0.912	** اثر الرصاص بشكل كبير (أكثر من 80 %)
كادميوم	0.8935	- 0.945	** اثر الكادميوم بشكل كبير (حوالي 89 %)
زنيق	0.8638	- 0.929	** اثر الزنيق بشكل كبير (حوالي 86 %)
زرنينخ	0.2604	- 0.51	***
قصدير	0.9654	- 0.983	** اثر القصدير بشكل كبير جدا (أكثر من 96 %)
التركيز x الرقم الهيدروجيني			
رصاص	0.2084	- 0.457	*
كادميوم	0.2421	- 0.492	*
زنيق	0.4428	- 0.669	*
زرنينخ	0.7096	- 0.842	**
قصدير	0.3734	- 0.615	*
الإنبات x الرقم الهيدروجيني			
رصاص	0.5526	+ 0.743	اثر الرقم الهيدروجيني بنسبة حوالي 55 % ولكنها دون الأهمية الإحصائية
كادميوم	0.2729	+ 0.522	* تأثير الرقم الهيدروجيني قليل في الإنبات وهو حوالي الربع من التأثير الكلي
زنيق	0.6528	+ 0.808	* اثر الرقم الهيدروجيني بدرجة لأبأس بها (أكثر من 65 %)
زرنينخ	0.5062	+ 0.711	
قصدير	0.5213	+ 0.722	* ساهم الرقم الهيدروجيني في الإنبات بحوالي 52 %

قيم  
ة معامل  
الإرتباط

(r) الجدولية لأربع درجات حرية = 0.811 (P≤0.05)

\* غير مهمة معنويا"

\*\* مهمة معنويا"

\*\*\* حالة خاصة بالنسبة للزرنينخ إذ إن البذور لم تنبت حتى في التراكيز الواطئة نتيجة لشدة سمية العنصر.

وتُظهر العلاقات حالة إيجابية بين عدد البذور النابتة وارتفاع الأرقام الهيدروجينية، إذ كانت قيم مُعامل الارتباط موجبة ودرجات متفاوتة ولكنها كلها تقع دون الأهمية الإحصائية ( $P \leq 0.05$ ) كما موضح في الجدول (1).

يتضح من محتوى الجدول أعلاه ومدى ترابط العلاقات بين الإنبات وتركيز العناصر وكذلك الإنبات مع الرقم الهيدروجيني والتي لا يمكن التحكم بها كما هو الحال في التحكم بالظروف الأخرى مثل الحرارة وغيرها يستنتج إن التأثير الأكبر كان للعناصر ويمكن تدرج تأثير العناصر السامة وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها: الرصاص أقل تأثيراً يليه القصدير ثم الزئبق ثم الكاديوم الذي يُعد الأكثر سُمية في هذه الدراسة. هناك تأثير للأرقام الهيدروجينية ولكنها دون الأهمية الإحصائية، فالتغير في الأرقام الهيدروجينية يؤثر في جهود الأغشية الخلوية ومن ثم يؤثر في عمليات إنتاج الطاقة عبر الأغشية، وكذلك يؤثر في إضافة البروتونات إلى بعض الحوامض الأمينية الموجودة في المواقع الفعالة للإنزيمات. كما إن جاهزية أيونات العناصر تتأثر بالأرقام الهيدروجينية وكون الأيون حُرماً لا، فالدراسات مثلاً تُشير إلى إن الرصاص يعمل في الأرقام الهيدروجينية الحامضية التي تصل إلى 4، في حين إن الزئبق لا يؤثر في الأرقام الهيدروجينية الواطئة، ويُتوقع إن فعالية الإنزيمات تثبط نتيجة التعقيد الحاصل من تغير الأرقام الهيدروجينية والعناصر الثقيلة، لذا يجب الأخذ بنظر الإعتبار العاملين سوية عند دراسة الظروف البيئية المحيطة (14). فضلاً عن ما ذكر أعلاه فهناك جوانب أخرى تؤثر في منع عملية الإنبات، فقطب (Uptake) الماء من قبل البذور الجافة يساعد في تخفيف ونضوح المواد المُثبِّطة للإنبات، ووجود المواد الكيماوية في الماء تمنع خروج هذه المثبطات وتبقى في البذرة مؤدية إلى إستدامة حالة الكمون (15). كما إن بعض الهرمونات النباتية (غيرالتي ذُكرت أعلاه) مثل بعض الستيرويدات مثل Brassinosteroids التي لها تأثيرات مُختلفة ولها دوراً مهماً في تقليل سُمية العناصر الثقيلة والتغلب على ظروف الإجهاد المختلفة (16, 17, 18)، فهذه المكونات تُقلل من سُمية العناصر الثقيلة وتزيد من نسبة الإنبات وذلك من خلال تأثيرها في الصفات الألكترونية للأغشية ومن ثم الوصول إلى الجهود الغشائية المُلائمة للقيام بوظائفها فضلاً عن تأثيرها في فعالية وثباتية الإنزيمات المرتبطة بالأغشية (16)، كما إنها تساعد في تنظيم عمليات فعالية قنوات نقل الأيونات (Aquaporins) وتؤثر في قبط الماء (11) وهذه الستيرويدات تنتشر في العديد من النباتات ومنها أفراد العائلة الصليبية. مما تقدم أعلاه يُمكن إن تُعاد التجارب مرات عديدة لتوفير قاعدة إحصائية واسعة تصلح لوضع نموذج حدسي (تنبؤي) أو مُعامل الحدس (مُعامل التنبؤ) Predictive Index لتحديد مدى تلوث منطقة ما وباستعمال بذور الجرجير سريعة الإنبات.

## المصادر

- 1 - البصام، خلدون وعبد الكريم ارسيني(1980). التلوث بالرصاص في مدينة بغداد. دراسة إستطلاعية. مجلة البيئة والتنمية. السنة الأولى، العدد الأول.
- 2- Veeken, A. and Hamelers, B.(2002). Sources of Cd, Cu, Pb and Zn in Biowaste. *Sci. Total Environ.*2:87-98.
- 3- Weiqiang, L.; Mohammad, K.; Shinjiro, Y. and Yuji, K.(2005). Effect of heavy Metals on Seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Reg.*, 46:45-50.
- 4- Sandalio, L.; Dalurzo, H.; Gomez, M.; Romero-Puertas, M. and del Rio, L.(2001). Cadmium-induced Changes in the growth and Oxidative Metabolism of Pea Plants. *J. Exp. Bot.*, 52:2115-2126.
- 5- Noe, G. and Zedler, J.(2000). Differential Effects of Four Abiotic Factors on the germination of Salt marsh annuals. *Am. J. Bot.*,87:1679-1692.
- 6- An, Y.(2004). Soil Ecotoxicity Assessment using Cadmium sensitive Plants. *Environ. Poll.*, 127:21-26.
- 7 - مطلوب، عدنان ناصر، وعز الدين سلطان محمد وكريم صالح عبدول(1989). إنتاج الخضر، الجزء الأول، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل، العراق.
- 8- Koornneef, M.; Bentsink, L. and Hilhorst, H.(2002). Seed dormancy and germination. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 5:33-36.
- 9 - المحمد، نعيم ثابتي وخاشع محمود الراوي ومؤيد أحمد بونس ووليد خضير المراني(1986). مبادئ الإحصاء. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد، العراق.
- 10- MacFar, Lan, G. and Burchett, M.(2002). Toxicity growth and accumulation relationships of Copper, Lead and Zinc in the grey mangrove *Avicennia marina* (Forsk.). *Mar. Environ. Res.*, 54:65-84.
- 11- Mauz, B.; Muller, K.; Kucera, B.; Volke, F. and Leubner-Metzger, G.(2005). Water Uptake and Distribution in Germinating Tobacco Seeds investigated *in vivo* by nuclear magnetic resonance imaging. *Plant Physiol.*, 138:1538-1551.
- 12- Rajjou, L.; Gallardo, K.; Debeaujon, I.; Vandekerckhove, J. and Job, D.(2004). The Effect of  $\alpha$  – Amanitin on the Arabidopsis Seed proteome highlights the distinct Roles of stored and neo synthesized mRNAs during germination. *Plant Physiol.*,134:1598-1613.
- 13- Debeaujon, I.; Leon-Kloosterziel, K. and Koornneef, M.(2004). Influence of the Testa on Seed Dormancy germination and longevity in Arabidopsis. *Plant. Physiol.*,122:403-414.
- 14- Geiger, G.; Furrer, G.; Funk, F.; Brandl, H. and Schulin, R.(1999). Heavy Metal Effects on Beta – Glucosidase Activity Influenced by pH and Buffer Systems. *J. Enzyme Inhib.*, 14:365-379.
- 15- Edwards, M.(1968). Dormancy in Seeds of Charlock: III. Occurrence and Mode of Action of An Inhibitor Associated with Dormancy. *J.Expt. Bot.*,19:601-610.

- 16- Bajguz, A.(2000). Blockage of heavy Metal accumulation in *Chlorella vulgaris* cells by 24- epibrassinolide. *Plant. Physiol. Biochem.*, 38:797-801.
- 17- Abd El- Wahed, M. and Gamal El- Din, K.(2004). Stimulation of growth flowering, biochemical Constituents and Essential oil of chamomile Plant (*Chamomilla recutita* L., Rausch) with spermidine and stigmasterol application. *Bulg. J. Plant. Physiol.*,30:89-102.
- 18- Sharma, P. and Bhardwaj, R.(2007). Effect of 24-Epibrassinolide on Seed germination, seedling. growth and heavy Metal uptake in *Brassica juncea* L. *Gen. Appl. Plant. Physiol.*,33:59-73.