تأثير مركب السلفاسيتامايد في نمو واستحداث كالس سيقان نبات الحبة السوداء *(Nigella sativa L.)*

أ.م. ساجدة عزيز عبود نهال عزت
قسم علوم الحياة / كلية العلوم/ جامعة الموصل

تاريخ تسليم البحث: ٢٠١٠/٩/١٦ ؛ تاريخ قبول النشر: ٢٠١١/١/٣١

ملخص البحث:

تضمنت الدراسة تأثير مركب السلفاسيتامايد في نمو بادرات وكالس سيقان نبات الحبة السوداء (*Nigella sativa L.*). استخدم هذا المركب بتراكيز متعددة $10^{-2},10^{-3},10^{-4},10^{-5},10^{-6}$ مولار. تؤكد النتائج في هذا المضمار ان معدلات اطوال الجذور ونسبة انبات البذور المعاملة بتراكيز متعددة من السلفاسيتامايد قبل زراعتها قد تباينت باختلاف التراكيز المستخدمة من السلفاسيتامايد. وأدت التراكيز العالية من السلفاسيتامايد (10^{-2}) مولار إلى موت البذور وعدم انباتها. وأشارت النتائج إلى انخفاض في الوزن الطري للكالس مع انخفاض في المكونات الخلوية من البروتينات والاحماض النووية (DNA,RNA) والفوليت المستخلصة من الكالس النامي على وسط موراشيج وسكوك (MS) الحاوي على 10^{-6} مولارمن 2,4-D وتراكيز متعددة من السلفاسيتامايد ($10^{-3},10^{-4},10^{-5},10^{-6}$) مولار، هذا ومن ناحية أخرى أدى التركيز العالي من السلفاسيتامايد (10^{-2}مولار) إلى موت خلايا الكالس المستحدثة بعد فترة نمو ٣٠ يوما.

Effect of Sulfacetamide Compound in Growth and Initiation of Nigella sativa L. Stem's Callus

Assistant Professor Sajida Aziz Abood Nihal Izat
Department of Biology \ College of Science\ Mosul University

Abstract:

The study included the effect of sulfacetamide on the growth of seedlings and callus derived from *Nigella sativa L.* stems. This compound was added to the Murashige and Skoog (MS)medium at concentrations of ($10^{-2},10^{-3},10^{-4},10^{-5}, 10^{-6}$) Molar.

The average of roots length and the rate of germination in seeds, treated with sulfacetamide before planting, differed with the concentration of sulfacetamide used. The high concentration (10^{-2} M) led to death of the seeds.

The results revealed decrease in the fresh weight of callus with decrease in the cellular contents of proteins, nucleic acids(DNA,RNA)and folate extracted from callus which was grown on MS medium containing 10^{-6} M of 2,4-D and various concentrations of sulfacetamide ($10^{-3},10^{-4}, 10^{-5},10^{-6}$M). On the other hand, the high concentration of sulfacetaminde (10^{-2} M) led to death of the initiated cells of callus.

المقدمة

تشير العديد من البحوث إلى ان نبات الحبة السوداء يعد مثالا نموذجيا لاستخدامه في تقانة زراعة الانسجة النباتية وذلك للقابلية العالية لقطع بادراته لاستحداث الكالس ونموه (البكر، ٢٠٠٢؛ النعيمي، ٢٠٠٤؛

Al-Ani Nabeel, 2008 ؛ الدليمى وعبود، ٢٠٠٩). ويوفر كالس الحبة السوداء مادة جيدة لدراسة بعض المسارات الايضية المختلفة المعتمدة إلى حد ما على مركبات حامض الفولك (الدليمي، ٢٠٠٥، ٢٠٠٩ ؛ عبود، ٢٠٠٨).

تعمل مساعدات الانزيمات المشتقة من حامض الفولك على نقل وحدات تحتوي على ذرة كاربون واحدة مثل المثيلين والمثيل والفورمايل وتشترك في العديد من التفاعلات الحيوية في جسم الكائن الحي (Orsomando *etal*., 2006)، ان نقصان أو تثبيط تكوين هذه المساعدات الأنزيمية يؤدي إلى التأثير في هذه العمليات الحياتية وتثبيطها، وان مشابهات الفوليت من مجموعة مضادات المواد الايضية (الجلبي، ١٩٩١) التي تتداخل مع تكوين المساعدات الانزيمية لحامض الفولك وبالتالي تثبيط عملية بناء حامض الفولك (الدليمي، ٢٠٠٥) وتعد مركبات السلفا احد هذه المركبات التي تعمل على تثبيط بناء حامض الفولك في خلايا الكائن الحي وذلك بسبب التشابة لحد ما بين التركيب الكيميائي لمركبات السلفا مع حامض البارا أمينوبتروك مما يؤدي إلى ارتباط تلك المركبات بالبتريدين (Pteridine) بدلا من حامض البارا أمينوبنزوك (Fernley *etal*, 2007) وهذا الارتباط يؤدي إلى تثبيط فعالية أنزيم dihydropteroate synthase وعدم تكوين dihydropteroate وبالتالي عدم تكوين المساعدات الانزيمية لحامض الفولك التي تدخل في بناء الاحماض النووية بنوعيها DNA و RNA والبروتينات (Mouillon *etal*, 2002). وهناك العديد من مركبات السلفا (sulfanilamide و sulfamethoxazole و sulfacetamide وغيرها) استعملت على نطاق واسع في الطب (Nbdulawi and Danielson, 2004) وتوجد دراسات واسعة حول تأثير مركبات السلفا في نمو العديد من الكائنات الحية (Jesus Garcia, 2009; Mal *etal*, 2002; Kulkarni *etal*, 2000) في حين توجد دراسات محددة حول تأثير مركبات السلفا على نمو النبات، فقد درس تأثيرها على نمو جذور الشوفان (Forbes - Jones, 1944) والخلايا المعلقة لنبات الكرفس (Hewertson and Collin,1984) وخلايا كالس نبات الخس (Mohammad *etal*,1991) وفي خلايا *Arabidopsis* (Prabhu and King, 1997) والخلايا المعلقة لنبات الحبة السوداء (الدليمي وعبود، ٢٠٠٩) وتشير بعض الدراسات إلى استخدام السلفانيل امايد بتراكيز واطئة جدا أدى إلى زيادة في نمو وتكاثر بعض النباتات (محمد وآخرون، ٢٠٠٠؛ النعيمي، ٢٠٠٤).

يهدف البحث في علاقة الانقسام والنمو السريع لخلايا الكالس بكمية الفوليت الكلية وذلك عن طريق دراسة علاقة محتوى خلايا كالس سيقان نبات حبة السوداء من الفوليت بالمحتويات الخلوية من الاحماض النووية والبروتينات والوزن الطري للكالس باستخدام احد مشابهات حامض الفولك (السلفاسيتامايد).

مواد العمل وطرائقه

تعقيم وزراعة البذور

عقمت بذور الحبة السوداء، بعد التأكد من حيويتها ،تعقيما سطحيا بمعاملتها بمحلول الكحول الاثيلي بتركيز ٩٦% لمدة دقيقتين، ثم نقلت إلى محلول هايبوكلورات الصوديوم (القاصر) المخفف مع الماء المقطر من المحلول الرئيسي المركز ٦% وبنسبة ١:٢ (قاصر:ماء) لفترة (٤-٥) دقائق (البكر،٢٠٠٢). وبعده انتهاء فترة التعقيم غسلت البذور مرات عدة بالماء المقطر المعقم، ثم نقلت البذور الى دوارق زجاجية حاوية على وسط Arnon و Hoagland المعقم (Arnon and Hoagland, 1944)، وحضنت البذور بعد الزرع في الظلام في حاضنة النمو وبدرجة حرارة (٢٠±٢°م) لحين بزوغ الجذير، ثم نقلت البذور النامية الى حاضنة

النمو المجهزة بالضوء بشدة إضاءة ١٥٠٠ لوكس وبتعاقب يومي لمدة ١٦ ساعة إضاءة و٨ ساعات ظلام للحصول على البادرات التي استخدمت مصدراً لقطع السيقان.

استحداث الكالس وتنميته

استخدمت قطع من سيقان بادرات الحبة السوداء المعقمة وبعمر ٢٥-٣٠ يوما وبطول ١ سم تقريبا. زرعت هذه القطع على وسط موراشيج وسكوك MS (Murashige and Skoog, 1962) الحاوي على ٢,٤D بتركيز 10^{-6} مولار والسكروز بتركيز٣٥%، وحضن الوسط الغذائي الحاوي على القطع النباتية في حاضنة نمو بدرجة حرارة (٢٠±٢°م) والمجهزة بإضاءة ١٥٠٠ لوكس وبتعاقب يومي لمدة ١٦ ساعة و٨ ساعات ظلام. (البكر، ٢٠٠٢).

تأثير مركب السلفا سيتامايد في نمو بادرات الحبة السوداء

بعد التأكد من حيوية البذور عقمت بمعاملتها بمحلول الكحول الاثيلي ٩٦% لمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المقطر المعقم لمرات عدة، ونقلت البذور إلى اوراق حاوية على تراكيز متعددة من السلفاسيتامايد (10^{-2},10^{-3},10^{-4},10^{-5},10^{-6} مولار) برقم هيدروجيني ٦.٩. واستعمل الماء المقطر بدلا من السلفاسيتامايد كمعاملة مقارنة وبعد التحضين والنمو في الظلام بدرجة ٢٥مْ غسلت البذور عدة مرات، ثم وضعت في أطباق بتري حاوية على أوراق ترشيح رطبت بالماء المقطر. نقلت الاطباق إلى حاضنة النمو في الظلام بدرجة حرارة (20 م2)مْ مع مراعاة ترطيب الاطباق الحاوية على البذور يوميا كي لا تجف بعد ستة ايام من الزراعة حسبت نسبة الانبات ومعدل طول الجذور للبادرات النامية.

تأثير مركب السلفاسيتامايد في نمو كالس سيقان نبات الحبة السوداء

نقلت قطع من كالس نبات الحبة السوداء بعمر ٣٥ يوما وبوزن ٠.٣ غم تقريبا إلى دوارق زجاجية حاوية على وسط MS المدعم بـ 10^{-6} مولار من 2,4-D و السلفاسيتامايد بتراكيز متعددة (10^{-2},10^{-3},10^{-4},10^{-5},10^{-6}مولار) واستخدام الوسط القياسي الحاوي على 2,4-D بتركيز 10^{-6} مولار والخالي من السلفاسيتامايد.

قياس نمو الكالس

حدد الوزن الطري للكالس بعد مضي ١٥ و ٣٠ يوما من النمو، وحدد المحتوى الكلي لبروتينات خلايا الكالس حسب الطريقة المتبعة من قبل Lowry وآخرون (Lowry *etal.*, 1951) وقدرت كمية الأحماض النووية بنوعيها DNA و RNA حسب ما ذكر من قبل Cherry (Cherry, 1962). واستخدمت الطريق المايكروبابولوجية التي اتبعتها Association 0f Official Agricultural Chemists (AOAC, 1950) لتقدير كمية الفوليت الكلية المستخلصة من كالس سيقان نبات الحبة السوداء خلال مراحل النمو ١٥ و ٣٠ يوما.

النتائج

تأثير السلفاستياميد في نمو بادرات الحبة السوداء

يشير الجدول (١) إلى ان معاملة بذور الحبة السوداء بتراكيز متعددة من السلفاستياميد قبل زراعتها أدى إلى انخفاض واضح في معدل اطوال الجذور بعد فترة نمو ٦ أيام مقارنة بمعدل اطوال الجذور للبادرات النامية من بذور معاملة بالماء المقطر فقط (معاملة المقارنة) وان المعدل قد انخفض بزيادة تركيز السلفاستياميد المستخدم مع ملاحظة انخفاض في نسبة الانبات.

الجدول (١)

معدل اطوال جذور نبات الحبة السوداء ونسبة الانبات للبذور بعد مدة ستة أيام وبعد معاملتها بتراكيز متعددة من السلفاسيتاميد

التراكيز (مولار)	*معدل اطوال الجذور (سم)	**عدد البذور النابتة	نسبة الانبات (%)
10^{-6}	0.030 m 1.321	45	90
10^{-5}	0.022 m 1.10	42	84
10^{-4}	0.012 m 0.62	35	70
10^{-3}	0.038 m 0.20	31	62
10^{-2}	-	0	0
معاملة المقارنة	0.011 m 1.8	49	98

*كل قيمة تمثل معدل عشرين قراءة ** كل قيمة تمثل معدل قراءة ٥٠ بذرة

- عدم حصول انبات m يمثل الخطأ القياسي

تأثير السلفاسيتاميد في الوزن الطري

اختلف معدل الوزن الطري للكالس باختلاف تركيز السلفاسيتاميد المضاف إلى الوسط الغذائي. وأدت التراكيز العالية (10^{-2}) مولار إلى موت معظم خلايا الكالس وتحوله إلى اللون البني بعد مرور مدة نمو ٣٠ يوما مقارنة بالكالس الهش ذي اللون الاخضر المصفر النامي على الوسط الغذائي الخالي من السلفاسيتاميد (الوسط القياسي) بينما أدت التراكيز 10^{-3} و 10^{-4} و 10^{-5} و 10^{-6} مولار إلى انخفاض في معدل الوزن الطري للكالس (الجدول ٢).

الجدول (٢)

معدل الوزن الطري لكاس سيقان نبات الحبة السوداء بعد مرور ١٥ و ٣٠ يوما من النمو على وسط MS المدعم بـ 2,4-D بتركيز 10^{-6} مولار والسلفاسيتاميد بتراكيز متعددة.

التراكيز (مولار)	معدل الوزن الطري (غرام)		
	العمر (يوم)		النسبة المئوية للانخفاض %
	15	30	
10^{-6}	0.02 m 2.602	0.031 m 3.992	32

التراكيز (مولار)	معدل الوزن الطري (غرام)		
	العمر (يوم)		النسبة المئوية للانخفاض %
	15	30	
10^{-5}	0.011 m 1.810	0.001 m 2.68	55
10^{-4}	0.031m 1.231	0.021 m 2.025	66
10^{-3}	0.081 m 1.031	0.04 m 1.505	74
10^{-2}	0.022 m 0.823	-	100
الوسط القياسي	0.031 m 3.232	0.021 m 5.899	0

كل قيمة تمثل معدل عشرة قراءات m يمثل الخطأ القياسي - موت قطعة الكالس

تأثير السلفاسيتامايد في المحتوى البروتيني الكلي

ازداد المحتوى البروتيني للكالس بعد مدة ٣٠ يوما من النمو على الوسط الغذائي القياسي (الخالي من السلفاستيامايد)، بينما انخفضت هذه الزيادة في كمية البروتين بإضافة تراكيز متعددة من السلفاسيتامايد من الأوساط الغذائية النامي عليها الكالس (الجدول ٣).

الجدول (٣)

المحتوى البروتيني لكالس سيقان نبات الحبة السوداء بعد مرور ١٥ و ٣٠ يوما من النمو على وسط MS المدعم بـ 2,4-D بتركيز 10^{-6} مولار والسلفاسيتامايد بتراكيز متعددة.

التراكيز (مولار)	المحتوى البروتيني الكلي (ملغرام / غرام وزن طري)		
	العمر (يوم)		النسبة المئوية للانخفاض %
	15	30	
10^{-6}	0.011 m 1.021	0.02 m 1.582	32
10^{-5}	0.02 m 0.905	0.03 m 1.099	53
10^{-4}	0.04 m 0.721	0.10 m 0.852	63
10^{-3}	0.01 m 0.621	0. 02 m 0.662	72
10^{-2}	0.05 m 0.400	-	100
الوسط القياسي	0.031 m 1.530	0.01m 2.325	0

كل قيمة تمثل معدل عشرة قراءات m يمثل الخطأ القياسي - موت قطعة الكالس

تأثير السلفاسيتامايد في المحتوى الكلي للاحماض النووية

تأثر المحتوى الكلي للاحماض النووية بنوعيها DNA و RNA للكالس النامي على الاوساط الغذائية الحاوية على تراكيز متعددة من السلفاسيتامايد بعد مرور مدة نمو ١٥ و ٣٠ يوما، وأدت إضافة التراكيز العالية (10^{-3} و10^{-2}) مولار من المركب إلى انخفاض واضح في محتوى الكالس من DNA تبعه انخفاض مطابق تقريبا في كمية RNA (الجدول ٤).

الجدول (٤)

كمية الحامض النووي منقوص الاوكسجين (DNA) والحامض النووي الرايبوزي (RNA) المستخلص من كالس سيقان نبات الحبة السوداء بعد مرور ١٥ و ٣٠ يوما من النمو على وسط MS المدعم بـ 10^{-6} مولار (2,4-D) والسلفاسيتامايد بتراكيز متعددة.

التراكيز (مولار)	كمية DNA مايكروغرام / غرام وزن طري		النسبة المئوية للانخفاض	كمية RNA مايكروغرام / غرام وزن طري		النسبة المئوية للانخفاض %
	العمر (يوم)			العمر (يوم)		
	15	30	%	15	30	
10^{-6}	m 11.621 0.055	m 12.231 0.011	35	m 97.21 0.012	m 100.00 0.022	33
10^{-5}	m 7.032 0.032	m 9.948 0.120	48	m 56.256 0.023	m 75.11 0.031	50
10^{-4}	m 6.501 0.010	m 7.22 0.092	62	m 52.088 0.033	m 57.322 0.082	62
10^{-3}	m 4.527 0.031	m 5.205 0.012	72	m 42.01 0.052	m 43.101 0.131	71
10^{-2}	m 2.003 0.042	-	100	m 18.027 0.062	-	100
الوسط القياسي	m 13.621 0.021	m 19.02 0.031	0	m 127.21 ٠.٠٣٢	m 150.222 ٠.٠١١	0

كل قيمة تمثل معدل عشرة قراءات m يمثل الخطأ القياسي - موت قطعة الكالس

تأثير السلفاسيتامايد في محتوى الكالس من الفوليت الكلي

يوضح الجدول (٥) ان مستوى الفوليت الكلي للكالس قد تباين باختلاف تراكيز السلفاسيتامايد المضافة إلى الأوساط الغذائية النامي عليها الكالس وانخفضت كميته بزيادة تركيز المركب حيث كانت نسبة الانخفاض في كمية الفوليت ١٠٠% عند إضافة السلفاسيتامايد بتركيز 10^{-2} مولار بعد مرور مدة ٣٠ يوما من النمو على الوسط الغذائي.

الجدول (٥)

كمية الفوليت الكلية المستخلصة من كالس سيقان نبات الحبة السوداء بعد مرور ١٥ و ٣٠ يوما من النمو على وسط MS المدعم بـــ 2,4-D بتركيز 10^{-6} مولار والسلفاسيتامايد بتراكيز متعددة

التراكيز (مولار)	كمية الفوليت (مايكروغرام / غرام وزن طري)		النسبة المئوية للانخفاض (%)
	العمر (يوم)		
	15	30	
10^{-6}	0.051 m 0.855	0.031 m 1.225	36
10^{-5}	0.032 m 0.799	0.011 m 0.932	51
10^{-4}	0.082 m 0.521	0.091 m 0.632	67
10^{-3}	0.011 m 0.411	0.152 m 0.495	74
10^{-2}	0.112 m 0.402	-	100
الوسط القياسي	0.031 m 0.988	0.011 m 1.921	0

كل قيمة تمثل معدل عشرة قراءات m يمثل الخطأ القياسي - موت القطعة النباتية

المناقشة

ان تقانة زراعة الانسجة النباتية وفرت مصدرا بديلا عن النبات الكامل في تفسير بعض الجوانب المتعلقة بايض حامض الفولك. ومن المعروف ان الكائنات الحية تمتاز بانها على مستوى عال من التنظيم وتعتمد قدرة الكائن الحي على النمو والتكاثر اعتمادا كبيرا على خطوات سير التفاعلات البايولوجية المعقدة التي تتم داخل خلاياه وفق نظام خاص ودقيق. وان تثبيط أي خطوة من خطوات تلك التفاعلات سواء بالعوامل الفيزياوية (عبود، ٢٠٠٨) او بالمواد الكيمياوية يؤدي فيما بعد إلى انخفاض في نمو تلك الخلاياو موتها. وتعد مركبات السلفا احد مشابهات الفوليت التي تعمل على تثبيط عدد من المسارات الايضية التي تشمل بناء البيورين والثايمدين والمثيونين والسيرين والكلاسين من خلال تثبيطها لبناء المساعدات الانزيمية لحامض الفولك (الدليمي وعبود، ٢٠٠٩)، وذلك بسبب التشابه الكبير بين مركبات السلفا وحامض البارا - امينوبنزوك من حيث التركيب الكيميائي (Fernley *etal*, 2007).

أشارت النتائج إلى ان معاملة بذور نبات الحبة السوداء، بتراكيز متعددة من السلفاسيتامايد قبل زراعتها أدى إلى انخفاض معدل نمو البادرات بدلالة انخفاض معدل اطوال الجذور النامية ونسبة انبات البذور مقارنة بالبادرات النامية من بذور معاملة بالماء المقطر فقط مع عدم حصول انبات للبذور نهائيا عند استخدام تركيز 10^{-2} مولار، ويعزى ذلك عند تشرب البذور بالماء يتحفز انزيم dihydropteroate synthase لبناء مركبات الفوليت الضرورية لانبات البذور ونمو البادرات وبسبب ارتباط السلفاسيتامايد بالموقع الفعال في انزيم dihydropteroate synthase بدلا من حامض البارا – أمينوبنزوك تثبط فعالية الانزيم تثبيطا تنافسيا مسببا منع تكوين التتراهيدروفوليت ومن ثم منع تكوين مركبات الفوليت الضرورية

للانقسام والنمو (Jabrin *etal*, 2003) وهذا التثبيط أيضا أدى إلى انخفاض في محتوى خلايا الكالس من الفوليت عند اضافة السلفاسيتامايد إلى الاوساط الغذائية النامي عليها الكالس.

أشارت النتائج إلى انخفاض واضح في كمية الـ DNA للكالس وهذا يعود إلى التثبيط الذي حدث لبناء مركبات الفوليت التي تشارك في تكوين حلقة البيورين بإضافة ذرة الكربون رقم ٢و٨ اليها (الجلبي، ١٩٩١) وفي بناء نيوكليوتيد الثايمين بتحويل الدوكسي يوردي احادي الفوسفيت إلى الدوكسي ثايمدين احادي الفوسفيت (محمد وآخرون، ٢٠٠٧). ومن المعروف ان عملية بناء RNA تعتمد أساساً على كمية DNA الموجودة في الخلية وان أي تغير لهذه الكمية سوف يؤثر ومن دون شك على كمية RNA (الدليمي، ٢٠٠٥). فوجد ان انماط الانخفاض في RNA للكالس النامي على الأوساط الغذائية تشبه إلى حد ما لتلك التي في DNA. وانماط الانخفاض في البروتينات متشابهة أيضا لتلك التغيرات في كمية RNA لخلايا الكالس بعد فترة نمو ٣٠ يوما. ومن دون شك فان الانخفاض في المحتويات الخلوية أدى إلى الانخفاض في الوزن الطري للكالس وبنمط متشابه تقريبا.

يتضح مما سبق ان تأثير مركب السلفاسيتامايد جاء تأثيره مشابها لحد ما لتأثير مركب السلفانيل امايد في نمو واستحداث كالس نبات الخس (Mohammad *etal*, 1991) ونبات الحبة السوداء (الدليمي وعبود، ٢٠٠٩).

أكدت هذه الدراسة علاقة حامض الفولك بنمو وانقسام خلايا الكالس وذلك من خلال دوره في بناء نيوكليوتيد الثايمين والبيورين الداخلة في بناء الاحماض النووية وكذلك انخفاض في كمية الفوليت والوزن الطري للكالس بوجود السلفاسيتامايد أعطى دلالة واضحة حول مقدرة خلايا الكالس على بناء حامض الفولك بمسار الدي نوفو (عبود واخرون، ٢٠٠٨؛ الدليمي، ٢٠٠٩).

المراجع

البكر، رحاب عبد الجبار حامد عبد الله (٢٠٠٢)، دور بعض منظمات النمو القياسية والمصنعة حديثا في استحداث ونمو وتمايز الكالس من نبات الحبة السوداء (*Nigella sativa L.*) ومستوى المركبات الفعالة فيها، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

الجلبي، قصي عبد القادر (١٩٩١)، الاحماض النووية، دار الكتب للطباعة والنشر، مطبعة جامعة الموصل، العراق.

الدليمي، حكمت مصطفى (٢٠٠٥)، دور حامض الفولك في نمو بادرات نبات الحبة السوداء *Nigella sativa L.* وكالسها ومعلقاتها الخلوية، رسالة ماجستير، قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة الموصل.

الدليمي، حكمت مصطفى وعبود، ساجدة عزيز (٢٠٠٩) تأثير مشابهات الفوليت في نشوء مزارع المعلقات الخلوية المشتقة من كالس الحبة السوداء .*Nigella sativa L* ، المؤتمر العلمي الأول لعلوم الحياة ٢٢- ٢٣ نيسان.

الدليمي، حكمت مصطفى (٢٠٠٩)، عزل وتشخيص وتنقية خزئية لانزيم المثيلين تتراهيدروفوليت ديهايدروجينيز من السيقان تحت الفلقية لكالس نبات الحبة السوداء (*Nigella sativa L*) مجلة جامعة كويه، العدد (١٠):٣-٢٠.

النعيمي، مها محمد طه حسن (٢٠٠٤)، تأثير تداخل بعض منظمات النمو والسلفانيل أمايد في نمو واستحداث الكالس والمزارع الخلوية لنبات الحبة السوداء.*Nigella sativa L*، رسالة ماجستير / كلية العلوم / جامعة الموصل / العراق.

عبود، ساجدة عزيز (٢٠٠٨)، تأثير تعريض كالس سيقان نبات الحبة السوداء(*Nigella sativa L.*) لاشعة كاما على فعالية انزيم الداي هيدروفوليت رديكتيز وكمية الفوليت المستخلصة منه، مجلة التربية والعلم، المجلد (٢١)، العدد (٤) :٣٤-٤٤.

عبود، ساجدة عزيز، محمد، امجد عبد الهادي، الدليمي، حكمت مصطفى (٢٠٠٨)، عزل وتشخيص وتنقية جزئية لانزيم الداي هيدروفوليت سنثيز من كالس السيقان تحت الفلقية لنبات الخس (*Lactuca sativa L.*). مجلة زراعة الرافدين، المجلد (٣٦)، العدد (٤): ١٥٠-١٥٦.

محمد، عبد المطلب سيد، الصالح، هناء سعيد وعبود، ساجدة عزيز (٢٠٠٠)، دور مركب السلفانيل أمايد في زيادة الافرع الخضرية لنبات الخس والتفاح والكمثري بطريقة زراعة الانسجة، مجلة علوم الرافدين، ١١(١): ١٥-٣٦.

محمد، عبد المطلب سيد، الجلبي، قصي عبد القادر، عبود، ساجدة عزيز (٢٠٠٧)، عزل وتنقية جزئية لانزيم الثايمدليت سينثيز من كالس نبات الخس (*Lactuca sativa L.*). مجلة التربية والعلم، المجلد (١٩)، العدد (٢): ١-١١.

Al-Ani Nabeel K. (2008) Thymol production from callus of *Nigella sativa* Tissue Culture and Biotechnology.18(2)181-185. *L*. Plant.

Arnon D. I. and Hoagland, D. R. (1944) The investigation of plant nutrition by artifical culture methods. Biol. Rev. 55-67.

Association of Official Agricultural Chemists (1950). Official methods of Analysis of the Associations of official Agricultural chemists - 7th ed. Washington D.C. 784.

Cherry J. H. (1962) Nucleic acid determination in storage tissue of higher plants. Plants Physiol., 37: 670-678.

Fernley R. T., lliads P. and Macreadie I. (2007) A rapid assay for dihydropteroate synthase activity suitable for identification of inhibitors. Analytical Biochemistry 360: 227-234

Forbes – Jones, R. (1944) P- aminobenzoic acid its on sulfanimide inhibition of the growth of oat roots, Nature, London, 153:371-380.

Hewertson, N. A. and Collin H. A. (1984) Mechanism of action of asulum in celery tissue cultures - weed Res., 24: 79-83.

Jabrin, S. Ravanel S., Gambonnet. B., Douce R. and Rebeillc F. (2003) One – carbon metabolism in plants, Regulation of tetrahydrofolate synthesis during germination and seedling development. Plant Physiol., 131: 1431-1439.

Jesus Garcia – Galian M., Sima Diaz-Cruz, M., Barcelo B. and Barcelo B. (2009) Combining chemical analysis and ecotozicity to determine environmental risk from sulfonamides. Analytical Chemistry, 28: 804-819.

Kulkarni F. D., Naik P. N. and Nandibewoor S. T. (2000). Mechanistic study in the oxidation of sulfacetamides by aqueous alkaline dihydro dato agentale (111). Ind. Eng. Chem. Res. , 48(2) 591-597.

Lowry O. H., Rosebrough N. J. Farr A. L. and Randall R. J. (1951). Protein measurement with the folin – phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.

Mal., Kovacs, J. A., Cargnel A., Valerio A., Fontoni G. and Alzori C. (2002) Mutations in the dihydropteroate synthase Gene of Human Derived Pneumocystis carinii isolates from Italy are infrequent but correlate with prior sulfa prophylakis. The Journal of Infections Disease, 185: 1530-1532.

Mohammad, A. M. S., Abood, S. A. and Al-Salih H. S. (1991) Effect of folate analogous on protein, RNA and DNA contents of lettuce .Iraqi J.Biol.Sci.,11:5-25.

Mouillon J. M., Ravanel S., Douce R. and Rebeille F. (2002) Folate synthesis in higher – plant mitochondria: coupling between the dihydropterin pyrophosphokinase and the dihyropteroate synthase activities, Biochem. J., 363: 313-319.

Murashige T. and Skoog F. (1962). Arevised medium for rapid growth and bioassys with tobacco tissue cultures - Physiol. Plant. 15: 473-497.

Nbdulawi N. and Danielson N. D. (2004) Characterization of sulfonamides flow injection – mass spectrometry after on line J. Chromal. Sci., 42: 509-515.

Orsomando G., Bozzo G. G., Garza R. D., Basset G. J., Quinlivan E. P., Naponlli V., Rebeilli F., Ravauel S., Gregory J. F. and ltamson A. D. (2006) Evidence for folate – salvgae reactions in plants. The Plant Journal, 46: 426-435.

Prabhu V., Lui H. and King J. (1997) *Arabidopsis* dihyropteroate synthase: General properties and inhibition by reaction product and sulfonamides. Phytochemistry, 45: 23-27.