

تأثير مركب السلفاسيتاميد 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: 2010/9/16 ؛ تاريخ قبول النشر: 2011/1/31

ملخص البحث:

تضمنت الدراسة تأثير مركب السلفاسيتاميد في نمو بادرات وكالس سيقان نبات الحبة السوداء (*Nigella sativa L.*). استخدم هذا المركب بتركيزات 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 بتركيزات متعددة من السلفاسيتاميد قبل زراعتها قد تباينت باختلاف التركيزات المستخدمة من السلفاسيتاميد. وأدت التركيزات العالية من السلفاسيتاميد (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} مولار من 2,4-D وتركيزات متعددة من السلفاسيتاميد ($10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$) مولار، هذا ومن ناحية أخرى أدى التركيز العالي من السلفاسيتاميد (10^{-2} مولار) إلى موت خلايا الكالس المستحدثة بعد فترة نمو 30 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 sulfacetamide (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، 2002؛ النعيمي، 2004؛ Al-Ani

(Nabeel, 2008 ؛ الدليمي وعبود، 2009). ويوفر كالكس الحبة السوداء مادة جيدة لدراسة بعض المسارات الايضية المختلفة المعتمدة إلى حد ما على مركبات حامض الفولك (الدليمي، 2005، 2009 ؛ عبود، 2008). تعمل مساعدات الانزيمات المشتقة من حامض الفولك على نقل وحدات تحتوي على ذرة كاربون واحدة مثل المثيلين والمثيل والفورمايل وتشارك 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 مشابهاة الفوليت من مجموعة مضادات المواد الايضية (الجلبي، 1991) التي تتداخل مع تكوين المساعدات الانزيمية لحامض الفولك وبالتالي تثبيط عملية بناء حامض الفولك (الدليمي، 2005) وتعد مركبات السلفا احد هذه المركبات التي تعمل على تثبيط بناء حامض الفولك في خلايا الكائن الحي وذلك بسبب التشابه لحد ما بين التركيب الكيميائي لمركبات السلفا مع حامض البارامينوبتروك مما يؤدي إلى ارتباط تلك المركبات بالبتريدين (Pteridine) بدلا من حامض البارامينوبتروك (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 بنوعها 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 النباتات، فقد درس تأثيرها على نمو جذور الشوفان (Jones, 1944 - Forbes) والخلايا المعلقة لنبات الكرفس (Hewertson and Collin, 1984) وخلايا كالكس نبات الخس (Mohammad *etal.*, 1991) وفي خلايا *Arabidopsis* (Prabhu and King, 1997) والخلايا المعلقة لنبات الحبة السوداء (الدليمي وعبود، 2009) وتشير بعض الدراسات إلى استخدام السلفانيل امايد بتراكيز واطئة جدا أدى إلى زيادة في نمو وتكاثر بعض النباتات (محمد وآخرون، 2000؛ النعيمي، 2004). يهدف البحث في علاقة الانقسام والنمو السريع لخلايا الكالكس بكمية الفوليت الكلية وذلك عن طريق دراسة علاقة محتوى خلايا كالكس سيقان نبات حبة السوداء من الفوليت بالمحتويات الخلوية من الاحماض النووية والبروتينات والوزن الطري للكالكس باستخدام احد مشابهاة حامض الفولك (السلفاسيتاميد).

مواد العمل وطرائقه تعقيم وزراعة البذور

عقمت بذور الحبة السوداء، بعد التأكد من حيويتها، تعقيما سطحيا بمعاملتها بمحلول الكحول الايثيلي بتركيز 96% لمدة دقيقتين، ثم نقلت إلى محلول هايپوكلورات الصوديوم (القاصر) المخفف مع الماء المقطر من المحلول الرئيسي المركز 6% وبنسبة 2:1 (قاصر:ماء) لفترة (4-5) دقائق (البكر، 2002). 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 (20±2°م) لحين بزوغ الجذير، ثم نقلت البذور النامية الى حاضنة النمو المجهزة

بالضوء بشدة إضاءة 1500 لوكس وبتعاقب يومي لمدة 16 ساعة إضاءة و8 ساعات ظلام للحصول على البادرات التي استخدمت مصدراً لقطع السيقان.

استحداث الكالس وتنميته

استخدمت قطع من سيقان بادرات الحبة السوداء المعقمة وبعمر 25-30 يوماً وبطول 1 سم تقريباً. زرعت هذه القطع على وسط موراشيغ وسكوك (MS Murashige and Skoog, 1962) الحاوي على - 2,4D بتركيز 10^{-6} مولار والسكروز بتركيز 35%، وحضن الوسط الغذائي الحاوي على القطع النباتية في حاضنة نمو بدرجة حرارة $(20 \pm 2^\circ \text{C})$ والمجهزة بإضاءة 1500 لوكس وبتعاقب يومي لمدة 16 ساعة و8 ساعات ظلام. (البكر، 2002).

تأثير مركب السلفاسيتاميد في نمو بادرات الحبة السوداء

بعد التأكد من حيوية البذور عقمت بمعاملتها بمحلول الكحول الايثيلي 96% لمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المقطر المعقم لمرات عدة، ونقلت البذور إلى أوراق حاوية على تراكيز متعددة من السلفاسيتاميد ($10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$ مولار) برقم هيدروجيني 6.9. واستعمل الماء المقطر بدلاً من السلفاسيتاميد كمعاملة مقارنة وبعد التحضين والنمو في الظلام بدرجة 25مُ غسلت البذور عدة مرات، ثم وضعت في أطباق بتري حاوية على أوراق ترشيح رطبت بالماء المقطر. نقلت الأطباق إلى حاضنة النمو في الظلام بدرجة حرارة $(20 \pm 2^\circ \text{C})$ مع مراعاة ترطيب الأطباق الحاوية على البذور يوميا كي لا تجف بعد ستة أيام من الزراعة حسبت نسبة الانبات ومعدل طول الجذور للبادرات النامية.

تأثير مركب السلفاسيتاميد في نمو كالس سيقان نبات الحبة السوداء

نقلت قطع من كالس نبات الحبة السوداء بعمر 35 يوماً وبوزن 0.3 غم تقريباً إلى دوارق زجاجية حاوية على وسط MS المدعم بـ 10^{-6} مولار من 2,4-D و السلفاسيتاميد بتركيز متعددة ($10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$ مولار) واستخدام الوسط القياسي الحاوي على 2,4-D بتركيز 10^{-6} مولار والخالي من السلفاسيتاميد.

قياس نمو الكالس

حدد الوزن الطري للكالس بعد مضي 15 و 30 يوماً من النمو، وحدد المحتوى الكلي لبروتينات خلايا الكالس حسب الطريقة المتبعة من قبل Lowry وآخرون (Lowry *etal.*, 1951) وقدرت كمية الأحماض النووية بنوعيه DNA و RNA حسب ما ذكر من قبل Cherry (1962). واستخدمت الطريق المايكروبيولوجية التي اتبعتها Association of Official Agricultural Chemists (AOAC, 1950) لتقدير كمية الفوليت الكلية المستخلصة من كالس سيقان نبات الحبة السوداء خلال مراحل النمو 15 و 30 يوماً.

النتائج

تأثير السلفاسيتاميد في نمو بادرات الحبة السوداء

يشير الجدول (1) إلى أن معاملة بذور الحبة السوداء بتركيز متعددة من السلفاسيتاميد قبل زراعتها أدى إلى انخفاض واضح في معدل اطوال الجذور بعد فترة نمو 6 أيام مقارنة بمعدل اطوال الجذور للبادرات النامية من بذور معاملة بالماء المقطر فقط (معاملة المقارنة) وأن المعدل قد انخفض بزيادة تركيز السلفاسيتاميد المستخدم مع ملاحظة انخفاض في نسبة الانبات.

الجدول (1)

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

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

* كل قيمة تمثل معدل عشرين قراءة ** كل قيمة تمثل معدل قراءة 50 بذرة

– عدم حصول انبات $\pm$ 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 30 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 2).

الجدول (2)

معدل الوزن الطري لكاس سيقان نبات الحبة السوداء بعد مرور 15 و 30 يوما من النمو على وسط MS المدعم بـ 2,4-D بتركيز 10^{-6} مولار والسلفاسيتاميد بتركيز متعددة.

معدل الوزن الطري (غرام)			التراكيز (مولار)
النسبة المئوية للانخفاض %	العمر (يوم)		
	30	15	
32	0.031 ± 3.992	0.02 ± 2.602	10 ⁻⁶

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

كل قيمة تمثل معدل عشرة قراءات $\pm$ يمثل الخطأ القياسي - موت قطعة الكالس

تأثير السلفاسيتاميد في المحتوى البروتيني الكلي

ازداد المحتوى البروتيني للكالس بعد مدة 30 يوما من النمو على الوسط الغذائي القياسي (الخالي من السلفاسيتاميد)، بينما انخفضت هذه الزيادة في كمية البروتين بإضافة تراكيز متعددة من السلفاسيتاميد من الأوساط الغذائية النامي عليها الكالس (الجدول 3).

الجدول (3)

المحتوى البروتيني لكالس سيقان نبات الحبة السوداء بعد مرور 15 و 30 يوما من النمو على وسط MS المدعم بـ 2,4-D بتركيز 10⁻⁶ مولار والسلفاسيتاميد بتركيز متعددة.

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

كل قيمة تمثل معدل عشرة قراءات $\pm$ يمثل الخطأ القياسي - موت قطعة الكالس

تأثير السلفاسيتاميد في المحتوى الكلي للاحماض النووية

تأثر المحتوى الكلي للاحماض النووية بنوعيهما DNA و RNA للكالس النامي على الاوساط الغذائية الحاوية على تراكيز متعددة من السلفاسيتاميد بعد مرور مدة نمو 15 و 30 يوما، وأدت إضافة التراكيز العالية (10^{-3} و 10^{-2}) مولار من المركب إلى انخفاض واضح في محتوى الكالس من DNA تبعه انخفاض مطابق تقريبا في كمية RNA (الجدول 4).

الجدول (4)

كمية الحامض النووي منقوص الاوكسجين (DNA) والحامض النووي الريبوزي (RNA) المستخلص من كالس سيقان نبات الحبة السوداء بعد مرور 15 و 30 يوما من النمو على وسط MS المدعم بـ 10^{-6} مولار (2,4-D) والسلفاسيتاميد بتراكيز متعددة.

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

كل قيمة تمثل معدل عشرة قراءات $\bar{x}$ يمثل الخطأ القياسي – موت قطعة الكالس

تأثير السلفاسيتاميد في محتوى الكالس من الفوليت الكلي

يوضح الجدول (5) ان مستوى الفوليت الكلي للكالس قد تباين باختلاف تراكيز السلفاسيتاميد المضافة إلى الأوساط الغذائية النامي عليها الكالس وانخفضت كميته بزيادة تركيز المركب حيث كانت نسبة الانخفاض في كمية الفوليت 100% عند إضافة السلفاسيتاميد بتركيز 10^{-2} مولار بعد مرور مدة 30 يوما من النمو على الوسط الغذائي.

الجدول (5)

كمية الفوليت الكلية المستخلصة من كالس سيقان نبات الحبة السوداء بعد مرور 15 و 30 يوما من النمو على وسط MS المدعم بـ 2,4-D بتركيز 10^{-6} مولار والسلفاسيتاميد بتركيز متعددة

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

كل قيمة تمثل معدل عشرة قراءات $\pm$ يمثل الخطأ القياسي – موت القطعة النباتية

المناقشة

ان تقانة زراعة الانسجة النباتية وفرت مصدرا بديلا عن النبات الكامل في تفسير بعض الجوانب المتعلقة ببيض 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 الفيزيائية (عبود، 2008) او بالمواد الكيميائية يؤدي فيما بعد إلى انخفاض في نمو تلك الخلايا او موتها. وتعد مركبات السلفا احد مشابهاة الفوليت التي تعمل على تثبيط عدد من المسارات الابيضية التي تشمل بناء البيورين والثايمين والمثيونين والسيرين والكلالسين من خلال تثبيطها لبناء المساعدات الانزيمية لحامض الفولك (الدليمي وعبود، 2009)، وذلك بسبب التشابه الكبير بين مركبات السلفا وحامض الباراك – امينوبنزوك من حيث التركيب الكيميائي (Fernley *etal*, 2007).

أشارت النتائج إلى ان معاملة بذور نبات الحبة السوداء، بتركيز متعددة من السلفاسيتاميد 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 السلفاسيتاميد بالموقع الفعال في انزيم dihydropteroate synthase بدلا من حامض الباراك – 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 السلفاسيتاميد 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 2 و8 إليها (الجلبي، 1991) وفي بناء نيوكليوتيد الثايمين بتحويل الدوكسي يوردي احادي الفوسفيت إلى الدوكسي ثايمين احادي الفوسفيت (محمد وآخرون، 2007). 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، 2005). 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 30 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 السلفاسيتاميد جاء تأثيره مشابها لحد ما لتأثير مركب السلفانيل اميد في نمو واستحداث كالس نبات الخس (Mohammad *etal*, 1991) ونبات الحبة السوداء (الدليمي وعبود، 2009).

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 السلفاسيتاميد أعطى دلالة واضحة حول مقدرة خلايا الكالس على بناء حامض الفولك بمسار الذي نوفو (عبود وآخرون، 2008؛ الدليمي، 2009).

المراجع

- البكر، رحاب عبد الجبار حامد عبد الله (2002)، دور بعض منظمات النمو القياسية والمصنعة حديثاً 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 (1991)، الاحماض النووية، دار الكتب للطباعة والنشر، مطبعة جامعة الموصل، العراق.
- الدليمي، حكمت مصطفى (2005)، 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 (2009) تأثير مشابهاة الفوليت في نشوء مزارع المعلقات الخلوية المشتقة من كالس الحبة السوداء *Nigella sativa* L. ، المؤتمر العلمي الأول لعلوم الحياة 22- 23 نيسان.
- الدليمي، حكمت مصطفى (2009)، عزل وتشخيص وتنقية خزئية لانزيم المثيلين تتراهيدروفوليت ديهيدروجينيز من السيقان تحت الفلقية لكالس نبات الحبة السوداء (*Nigella sativa* L) مجلة جامعة كويه، العدد (10):3-20.
- النعمي، مها محمد طه حسن (2004)، تأثير تداخل بعض منظمات النمو والسلفانيل أميد في نمو واستحداث الكالس والمزارع الخلوية لنبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L.، رسالة ماجستير / كلية العلوم / جامعة الموصل / العراق.
- عبود، ساجدة عزيز (2008)، تأثير تعريض كالس سيقان نبات الحبة السوداء (*Nigella sativa* L.) لاشعة كاما على فعالية انزيم الداى هيدروفوليت رديكتيز وكمية الفوليت المستخلصة منه، مجلة التربية والعلم، المجلد (21)، العدد (4): 34-44.
- عبود، ساجدة عزيز، محمد، امجد عبد الهادي، الدليمي، حكمت مصطفى (2008)، عزل وتشخيص وتنقية جزئية لانزيم الداى هيدروفوليت سنثيز من كالس السيقان تحت الفلقية لنبات الخس (*Lactuca sativa* L.). مجلة زراعة الرافدين، المجلد (36)، العدد (4): 150-156.
- محمد، عبد المطلب سيد، الصالح، هناء سعيد وعبود، ساجدة عزيز (2000)، دور مركب السلفانيل أميد في زيادة الافرع الخضرية لنبات الخس والتفاح والكمثري بطريقة زراعة الانسجة، مجلة علوم الرافدين، 11(1): 15-36.
- محمد، عبد المطلب سيد، الجلبي، قصي عبد القادر، عبود، ساجدة عزيز (2007)، عزل وتنقية جزئية لانزيم الثايمدليت سينثيز من كالس نبات الخس (*Lactuca sativa* L.). مجلة التربية والعلم، المجلد (19)، العدد (2): 1-11.
- 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., Iliads 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 sulfanamide 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 Rebeille 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 ecotoxicity 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 duto 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 prophylaxis. *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 dihydropteroate 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 Itamson 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* dihydropteroate synthase: General properties and inhibition by reaction product and sulfonamides. *Phytochemistry*, 45: 23-27.