امكانية استعمال مستخلص كالس نبات عرق السوس *Glycyrrhiza glabra* L. بديلاً لمنظمات النمو النباتية في المزارع النسيجية

The possibility of using *Glycyrrhiza glabra* L. Callus extracts as an alternative to plant growth regulators in plant tissue culture experiments

كاظم محمد ابراهيم اشواق شنان عبد* اروى عبد الكريم توفيق**
خلود وهيب السامرائي* نبيل خلف العاني

قسم التقانة الاحيائية - كلية العلوم/ جامعة النهرين
*مركز بحوث التقنيات الاحيائية / جامعة النهرين
**كلية العلوم للبنات

المستخلص

يعد نبات عرق السوس من النباتات المهمة على المستوى الطبي والاقتصادي ، كونه غنيا بالمركبات والفيتامينات والمعادن ، فضلا عن ذلك فقد اشارت بعض المصادر الحديثة الى احتواء هذا النبات على نسبة من منظمات النمو النباتية ، لذا تم وضعه قيد الدراسة المختبرية لمعرفة مدى امكانية استعمال مستخلصات الكالس كبديل عن منظمات النمو المستخدمة في الاوسلط الزرعية الخاصة بزراعة الانسجة النباتية . اجريت تجربة عاملية تداخل فيها الاوكسين 2,4-D مع السايتوكاينين BA لايجاد افضل توليفة منهما في استحثاث الكالس على الاجزاء النباتية لعرق السوس ، وقد وجد بان التوليفة (2) ملغم/لتر من 2,4-D مع (2.5) ملغم/لترمن BA افضلها من حيث كمية الكالس المنتجة ، لذا اعتمدت هذه التوليفة في انتاج الكالس في التجارب اللاحقة. اجري الاستخلاص المائي والكحولي على كميات الكالس المتكونة من زراعة العقد الساقية المفردة لنبات عرق السوس على الوسط الزرعي MS لغرض استخدام تراكيز مختلفة من هذين المستخلصين(0، 2، 4، 6، 8 أو 10) مل/لتر كبديل لمنظمات النمو، في تاثيرها في نمو وتطور انسجة واعضاء عدد من النباتات كفول الصويا و البطاطا والحنطة خارج الجسم الحي . اظهرت النتائج التاثير الايجابي للمستخلص المائي على نشوء الافرع من العقد المفردة للبطاطا، لا سيما عند التراكيز العالية منه . فيما اعطى كلا المستخلصين زيادة معنوية واضحة في وزن الكالس لنبات فول الصويا، اما التاثير على النمو الخضري و الجذري للحنطة ، فقد وجد ان تاثير المستخلص المائي كان ذو فعالية اكثر من المستخلص الكحولي في زيادة اطوال المجموعين الخضري والجذري لبادرات الحنطة .

Abstract

Liquorices' plant is considered one of the important medicinal and economical plants. It is rich with many compounds, minerals, vitamins, and even plant hormones. This research is aimed to study the possibility of using callus tissue extracts as an alternative to plant growth regulators added to the culture media. A

factorial experiment was implemented to find out the appropriate combination between 2, 4-D and BA for callus induction on Liquorice node explants. It was found that a combination of 2 mg/l 2, 4-D with 2.5 mg/l BA is the best one for callus induction and maintenance using MS medium. Water and alcoholic extracts were prepared from callus tissue at concentrations (0, 2, 4, 6, 8 or 10) ml/l then added to culture medium as an alternative to plant growth regulators. The effect of these concentrations on growth and development of tissues and organs for some plants was studied using soya bean, potato and wheat plants for this purpose. Results showed that water extract induced shoot proliferation from potato single nodes. Both types of extracts increased soya bean callus fresh weight significantly. It was found also that water extract was more effective than alcoholic one in increasing vegetative and root parts in germinating wheat seeds.

المقدمة

نبات عرق السوس من نباتات العائلة البقولية (Fabaceae) واسمه العلمي *Glycyrrhiza glabra* L. ، اما اسمه الانكليزي فهو Liquorice أو Licorice . تعد مناطق البحر الابيض المتوسط واسيا الصغرى وتركستان شرقا الى اسبانيا غربا المواطن الاصلية للنبات ، ويعد هذا النبات في العراق من الادغال التي تنمو في الحقول والبساتين وضفاف الانهار وبين المزروعات، ويكثر تواجده في الموصل والسهل الرسوبي الشرقي والاوسط، ومنطقة المستنقعات وراوندوز [1] .

وتوجد عدة اصناف من هذا النبات واهمها تجاريا ، ثلاث انواع هي عرق السوس الاسباني (. Liq Spanish) والروسي (.Russian Liq) والفارسي (.Persian Liq) ، ويوجد النوع الاخير في كل من العراق وايران ، والذي يتميز بأزهاره ذات اللون البنفسجي ، وهو من الاعشاب المعمرة يصل ارتفاعه الى حوالي (1.5) م . ويتكون مجموعه الجذري من جذور رئيسية طويلة ورايزومات او مدادات رفيعة ، ويخترق الجذر الرئيسي التربة الى عمق اكثر من 1م ، ويكثر خضريا بزرع قطع فتية من مداداته ، كما يمكن اكثاره بالبذور . واجزاء هذا النبات المستعملة طبيا هي الجذور والمدادات [2] . ويحتوي عرق السوس على الكثير من المركبات الكيميائية النباتية (Phytochemicals) والتي يمكن تصنيفها الى ثمانية مجاميع رئيسية هي :

1- مركبات (Terpenoids) : وهي مركبات دهنية تضم glycyrrhizin وglycyrrhetol β-amyrin و glabrolide و licoric acid و liquiritic acid .

2- مركبات (Flavonoids و Isoflavones): وهي مركبات فينولية تضم formononetin و glabrin و labrol و glabrone و lycyrol و glabridin ومشتقاته licoflavonol وlicoisoflavanone والـ chalcones ومنها isoliquiritigenin و licuraside و licochalcones A, B. و .

3- مركبات (Coumarins): وهي من المركبات الفينولية ايضا وتضم glcyrine و heniarine و liqcoumarine و umbelliferone.

4- الفيتامينات (Vitamins) : وتضم B1 ، B2 ، B3 ، B6 ، C ، E ، Biotin ، Folic acid ، Pantothenic acid .

5- العناصر المعدنية (Minerals) : وتشمل المنيوم ، كالسيوم ، كوبلت ، حديد ، زنك ، قصدير ، مغنيسيوم ، منغنيز ، فسفور ، سليكون .

6- مركبات اخرى : احماض امينية ، بروتينات ، لكنين ، صبغات صفراء ، سكريات كالكلوكوز والسكروز والفركتوز والمانيتول والمالتوز.

7- هرمونات نباتية شبيهة بالـ estrogen و progesterone [1، 2 ، 3 ، 4 ، 5] ، اما استعمالاته فيمكن تصنيفها الى طبية وغذائية وزراعية :

1-الاستعمالات الطبية : مقشع (Expectorant) ، ملين (Laxative) ، ولعلاج القرحة المعدية (Pepticulcer) ، والتهابات المعدة (Chronic gastritis) والتهابات الاغشية المخاطية في القصبات الهوائية (Bronchialcatarrh) وامراض البرد والتهاب المفاصل الرثوي ، ولعلاج مرض اديسون، ولتحلية الادوية ، ومرطب للجلد ومشجع للهضم ومحفز للشهية ، ولعلاج التشنجات (Antispasmodic) ، وداء القوباء (Herpes) ، والربو (Asthma) ، وضد الامراض الفايروسية كالتهاب الكبد الفايروسي ونقص المناعة المكتسبة ، والاعياء المزمن (Chronic futigue) ، وانخفاض السكر(Hypoglycemia) [23,4,2,1] . ولاحتوائه على هرمونات نباتية مشابهة لعمل الهرمونات الجنسية في الانسان ، مثل Phytoesterogen [6,5] لذا فهو يعمل على تنظيم مستوى الهرمونات في جسم الانسان لاسيما المرأة . وللنبات اثار جانبية مثل (Edema formation) ، (Hypokalemia) ، كما يزيد من ضغط الدم (High blood pressure) [7] .

2- الاستعمالات الغذائية : عنصر يضيف نكهة للاغذية ، ويدخل في صناعة العلكة والحلويات والسكاير وانواع التبوغ ولزيادة الرغوة في صناعة البيرة وكشراب مرطب في العراق .

3- الاستعمالات الزراعية : يؤمل كثيرا في ان يكون له دورا مهما في المجالات الزراعية فقد اشارت العديد من المصادر الى احتوائه على مواد شبيهة او تسلك سلوك منظمات النمو النباتية كالجبرلينات [9,8] .

ولاهمية هذا النبات فقد اهتمت العديد من الدراسات باكثاره خارج الجسم الحي *in vitro* ووضع بعض الحلول المناسبة للمشكلات التي تواجه هذا الاكثار ، [11,10] كما درس العديد من الباحثين زراعة عر ق السوس نسيجيا لغرض تكوين الكالس لزيادة كمية واستخلاص المركبات الفعالة منه [16,15,14,13,12] . لذا هدفت الدراسة الحالية الى امكانية اضافة مستخلصات الكالس المائية والكحولية الى المزارع النسيجية في محاولة لاستعمال هذه المستخلصات بديلاً عن منظات النمو النباتية الضرورية لنمو الانسجة النباتية المزوعة خارج الجسم الحي .

المواد وطرائق العمل

- تعقيم الاجزاء النباتية لعرق السوس : قطعت الافرع الساقية الغضة للحصول على العقد كمصادر للاجزاء النباتية المزروعة (Explants) ، وغسلت بالماء الجاري لمدة ساعة واحدة ، ثم نقلت الى منضدة تعقيم الهواء الطبقي Laminar air flow hood ، وغسلت بالكحول الاثيلي 70% لمدة دقيقة واحدة ، ثم عقمت سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم التجاري(تركيز 5.25%) و بنسبة تخفيف(1:1) مع ماء مقطر معقم ، مع اضافة قطرات من المادة الناشرة 20 (Tween) ، وبعد ازالة هذه المواد المعقمة ، اعيد غسل النماذج بالكحول الاثيلي 70% لمدة نصف دقيقة ، ثم غسلت

بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ، وقطعت الى طول (1) سم وزرعت على الاوساط الزرعية ، في قناني زجاجية (vials) ذات ابعاد (2x 8) سم .

- تنمية ونشوء الكالس : استخدم الوسط Murashige and Skoog 1962 (MS) لغرض تنمية الكالس من الاجزاء النباتية المزروعة (العقد) وباستخدام عدد من المعاملات الهرمونية والمتضمنة هرموني النمو (2,4-D و BAP) بصورتيهما المفردة والمتداخلة مع بعضهم البعض ، وحسب سلسلة التراكيز(0، 0.5، 1، 1.5، 2، 2.5) ملغم/لتر، وبواقع (10) مكررات لكل تركيز .

حضنت الانابيب عند درجة حرارة25 –28م ، وفترة اضاءة اضاءة 16 ساعة/يوم وشدة اضاءة مقدارها 3000 لوكس . وقد استخدم الوسط المذكور وفقا لما اشار اليه المصدر [11] في اكثار نبات عرق السوس نسيجيا باستخدام الوسط الزرعي (MS) .

- مستخلص كالس عرق السوس : بعد (6) اسابيع من زراعة العقد ونشوء الكالس ، تم حصاد الكالس المتكون واستخلاصه مائيا وكحوليا :

أ- الاستخلاص المائي : استخلص الكالس مائيا كما ورد في[18] ، بأخذ (1) غم من الكالس ونقعه في (10) مل من الماء المقطر المعقم ، ثم سحق في جفنة خزفية وترك لمدة نصف ساعة ، ثم وضع في حمام مائي وعلى درجة الغليان لمدة ساعة ، بعدها تم ترشيح المستخلص ونبذ مركزيا على 2000 دورة/دقيقة ولمدة 10 دقائق ، ثم بخر الراشح وركز الى نصفه على درجة حرارة 45 م . عقم بورق التعقيم مللي بور فلتر(0.45µM) و اضيف الى الوسط الزرعي (MS) المعقم وبتراكيز (0 ، 2، 4 ، 6 ، 8 ، 10) مل/لتر.

أ- الاستخلاص الكحولي : اتبعت الطريقة المذكورة من قبل [19] ، اذ تم وزن غرام واحد من الكالس ونقع بالكحول الاثيلي 70% وبمقدار 10 مل ولمدة يوم كامل ومن ثم سحق بالهاون الخزفي ، رشح ونبذ بجهاز الطرد المركزي عند 2000 دورة/ دقيقة ولمدة 10 دقائق ، و ركز الرائق الى النصف عند درجة حرارة 25 –28م ، وعقم بوساطة ورق المللى بور فلتر (0.45µM) واضيف الى الوسط الغذائي المعقم (MS) ، وبنفس التراكيز المذكورة في المستخلص المائي .

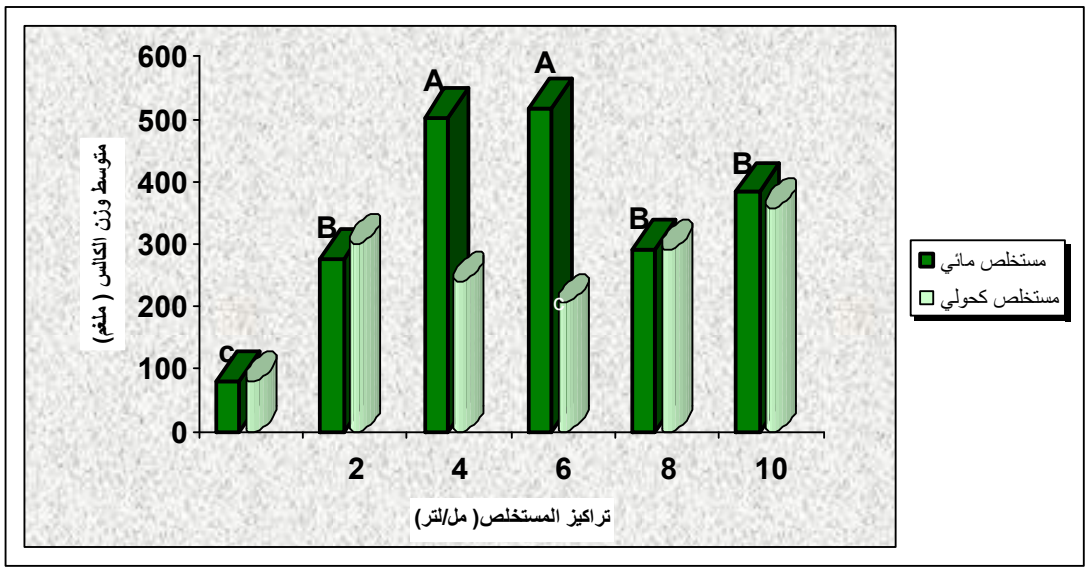
دراسة تأثير المستخلصات في بعض معايير النمو :

1- فول الصويا : زرع كالس فول الصويا والذي انتج حسب ما ورد في [22] على الوسط الزرعي (MS) ، والحاوي على التراكيز المذكورة سابقا للمستخلصات المائية والكحولية لكالس عرق السوس فقد زرع وزن كالس بمعدل (150) ملغم لكل انبوبة زرعية وبواقع (10) مكررات وحضنت لمدة شهر كامل على حرارة 25-28 م وفترة اضاءة 16ساعة/يوم وشدة اضاءة 3000 لوكس ، وبعدها تم حساب الفرق في الوزن الطري للكالس ليكون دالة على تأثير كل من المستخلصين المائي والكحولي على هذا النمو بعد مقارنته بالاوساط التي لا تحتوي على مستخلص عرق السوس .

2- البطاطا : قطعت افرع البطاطا المزروعة نسيجيا في المختبر الى عدد من القطع كل قطعة تحتوي على عقدة مفردة واحدة (Single node) بعد ان تم اكثارها كما ورد في [22] وزرعت على الاوساط الزرعية الحاوية على مستخلصي كالس عرق السوس وبواقع (10) مكررات ، حضنت تحت نفس ظروف الحضن المذكورة سابقا ، ولمدة شهر ، ثم سجلت اعداد الافرع واطوالها وعدد العقد المفردة المتكونة.

3- الحنطة : زرعت بذور الحنطة (صنف ابو غريب3) في اطباق بتري معقمة حاوية على الوسط الزرعي (MS) (بدون اكار) و الحاوية على مستخلصي كالس عرق السوس وبواقع (10) مكررات ، وحضنت ثلاث ايام في الظلام ، ثم نقلت

لفترة اضاءة مقدارها 16 ساعة/يوم ، عند حرارة 25 –28م وشدة اضاءة مقدارها 3000 لوكس ، وبعد اسبوعين تم احتساب معدل اطوال المجموع الخضري (اطوال الافرع) ، ومعدل اطوال المجموع الجذري لبادرات نبات الحنطة (طول الجذور) ، لمعرفة مدى تأثير مستخلصي كالس عرق السوس فيها .



شكل (1): تأثير المستخلص المائي والكحولي لكالس عرق السوس في متوسط الوزن الطري (ملغم)
*الاحر ف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية.عند مستوى احتمالية 0.05.

نشوء الكالس : اتبعت طريقة [23] في استحثاث الكالس من الاجزاء النباتية ، اظهرت النتائج نجاح توليفة منظمات النمو (2,4-D 2.0 BA+2.5) ملغم/لتر في استحثاث الكالس على الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط الغذائي بعد (6) اسابيع من الزراعة (مع ملاحظة تغير لون الكالس الى اللون الداكن بعد الاسبوع السادس من الزراعة) ، وبالاعتماد على هذه النتيجة تم انتخاب هذه المعاملة كافضل توليفة لاستحثاث الكالس (ضمن الدراسة الحالية) ، وعليه تم اجراء عمليات الاستخلاص المائي والكحولي على الكالس المتكون من هذه المعاملة .

النتائج

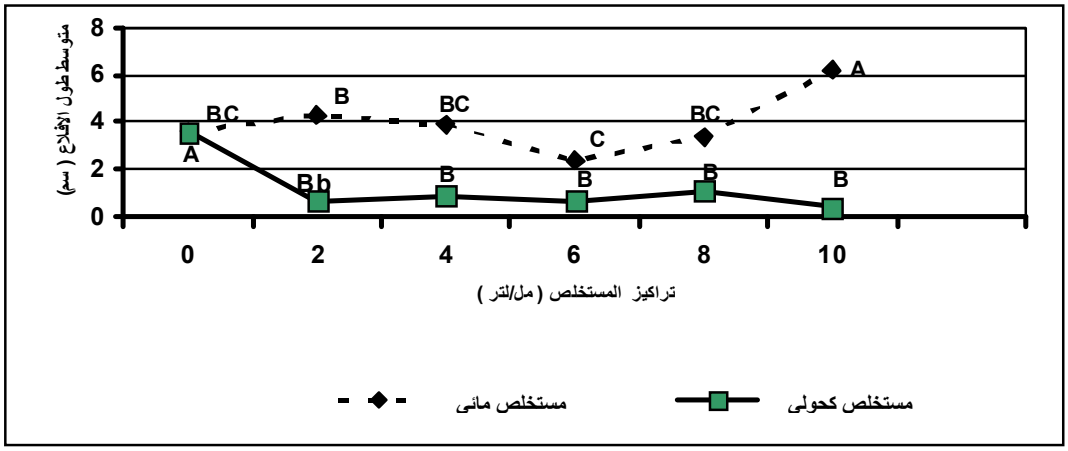
تأثير المستخلصات على بعض معايير النمو :

1- تأثير المستخلصات في نمو كالس فول الصويا : ادت جميع تراكيز المستخلص المائي الى تأثيرات معنوية في زيادة الوزن الطري للكالس مقارنة مع معاملة السيطرة، وكانت اعلاها عند التركيزين (4 و 6) مل/لتر واللتين اظهرتا ارتفاعا كبيرا في نمو خلايا الكالس محققة فرقا معنويا بينها وبين سائر معاملات او تراكيز المستخلص المائي ، اذ بلغتا (502 و518) ملغم على التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغ فيها وزن الكالس (80) ملغم فقط وهو الوزن الابتدائي للكالس .

اما تأثير المستخلص الكحولي فقد اظهر ايضا فرقا معنويا في زيادة نمو خلايا الكالس مقارنة مع معاملة السيطرة وعند جميع تراكيز المستخلص المدروسة شكل (1) .

2- تأثير المستخلصات في عدد الافرع واطوالها وعدد العقد لنبات البطاطا أثر المستخلص المائي لكالس عرق السوس معنويا في زيادة عدد افرع نبات

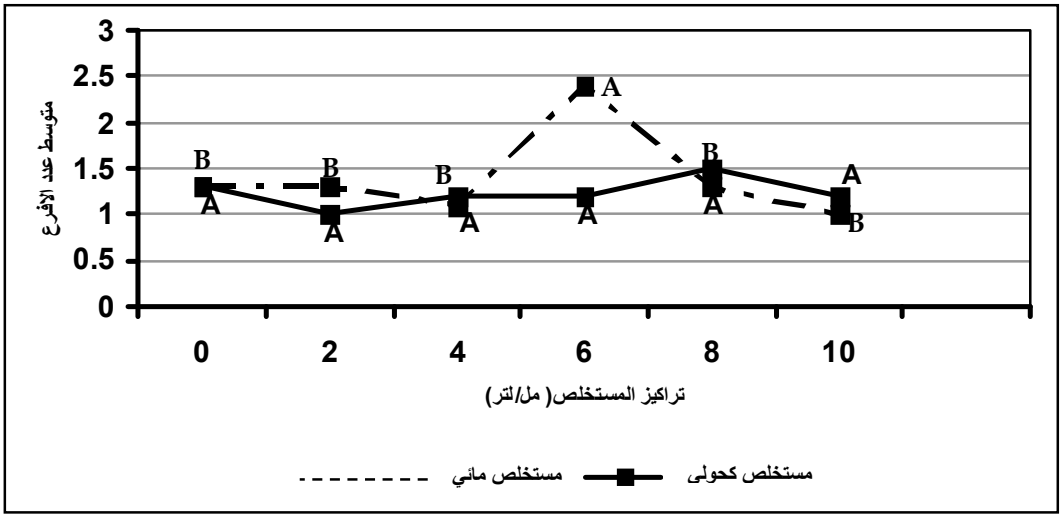
البطاطا عند التركيز (6) مل/لتر، في حين لم يؤثر المستخلص الكحولي في ذلك ولكافة التراكيز المدروسة شكل(2) . اما أطوال الافرع فقد ازدادت معنويا عند التركيز(10) مل/لتر للمستخلص المائي ، وانخفضت عند التركيز(6) مل/لترللمستخلص ذاته ، في حين انخفضت أطوال الافرع معنويا عند جميع تراكيز المستخلص الكحولي مقارنة مع معاملة السيطرة شكل (3) .



شكل(2): تأثير المستخلص المائي والكحولي لكالس عرق السوس في متوسط عدد الافرع المتكونة على العقد المفردة لنبات البطاطا بعد شهر من زراعتها على وسط MS.

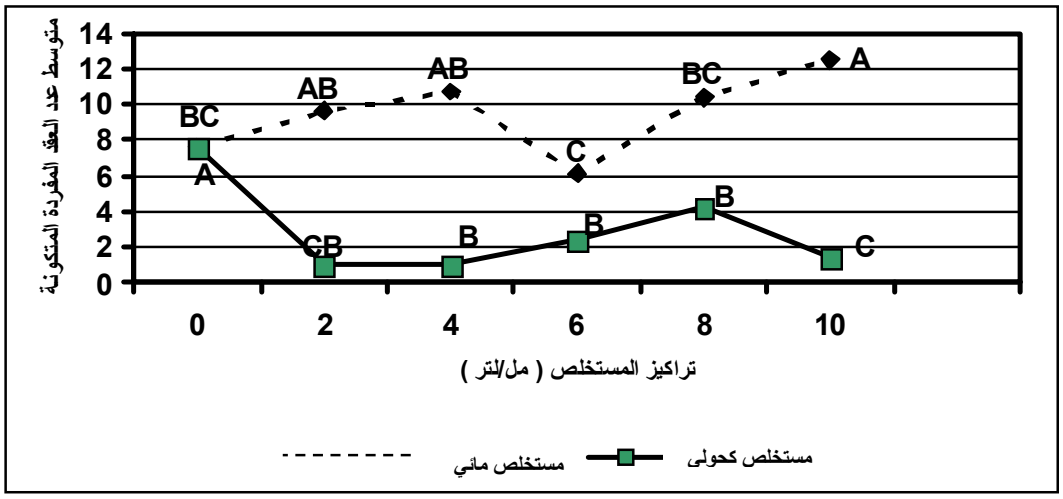
* الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية.عند مستوى احتمالية 0.05.

وعند ملاحظة النتائج الخاصة بتأثير المستخلص المائي على متوسط عدد العقد المفردة المتكونة وجد بأن التركيز(10) مل/لتر هي المعاملة الوحيدة التي أظهرت زيادة معنوية في متوسط عدد العقد المفردة المتكونة والبالغة (12.5) مقارنة مع معاملة السيطرة والبالغة (7.6) ، في حين انخفض المتوسط معنويا عند التركيز (6) مل/لتر ، اذ بلغ (5.2) . اما المستخلص الكحولي فقد أثر معنويا بتقليل متوسط عدد العقد المفردة المتكونة عند جميع تراكيز المستخلص قيد الدراسة مقارنة مع معاملة السيطرة شكل (4) .



شكل(3): تأثير المستخلص المائي والكحولي لكالس عرق السوس على طول الافرع(سم) المتكونة على العقد المفردة لنبات البطاطا بعد شهر من زراعتها على وسط MS.

* الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية. عند مستوى احتمالية 0.05.

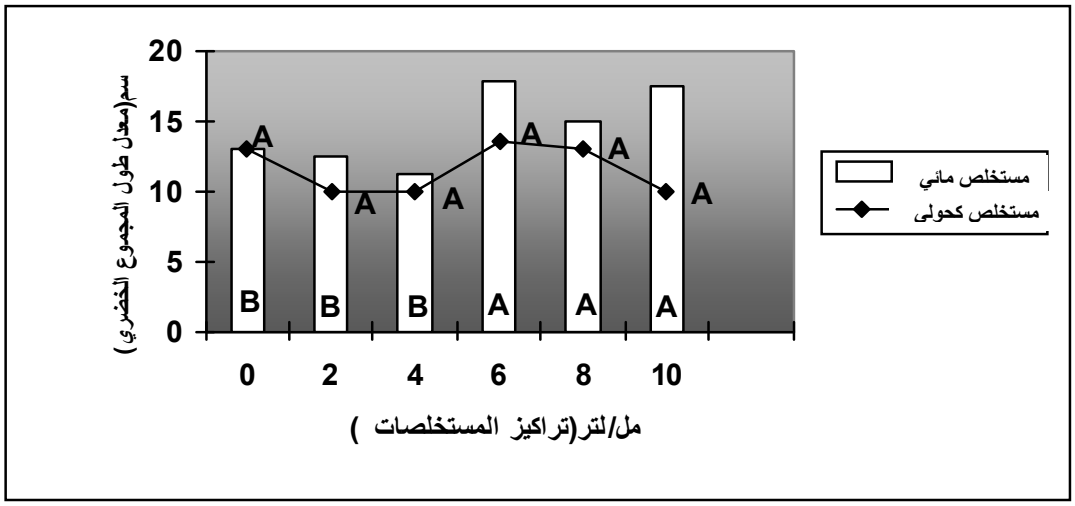


شكل(4): تأثير المستخلص المائي والكحولي لكالس عرق السوس في متوسط عدد العقد المفردة المتكونة لنبات البطاطا بعد شهر من زراعتها على وسط MS.

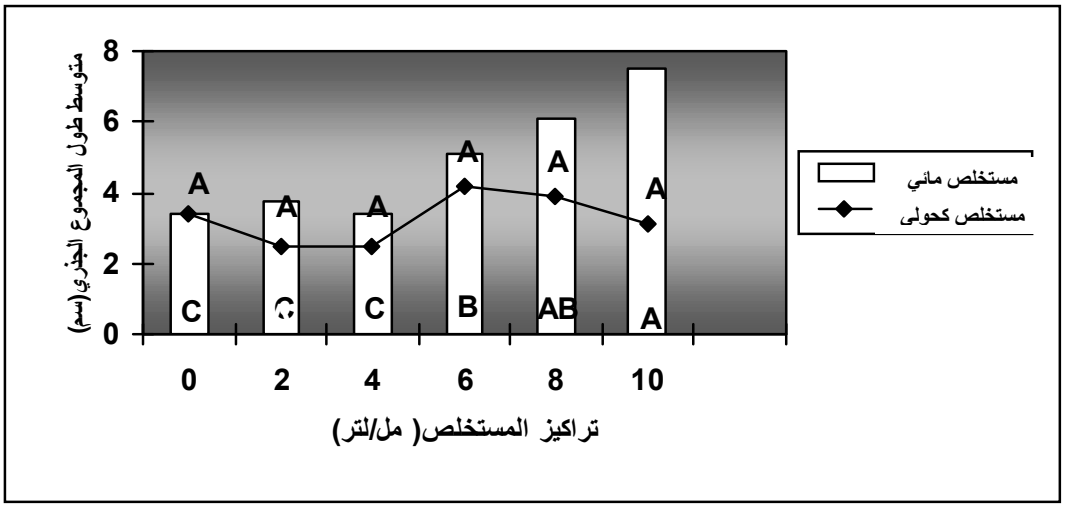
* الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية.عند مستوى احتمالية 0.05.

3- تأثير المستخلصات في نمو بادرات نبات الحنطة:

اظهرت النتائج زيادة طول المجموعين(الخضري والجذري) لبادرات الحنطة النامية على الوسط الزرعي الحاوي على التراكيز(6، 8 و10) مل/لتر، من المستخلص المائي ، وكانت هذه الزيادة معنوية مقارنة مع باقي المعاملات الاقل تركيزا اذ بلغت (17.6، 14.5و17.8) سم على التوالي للمجموع الخضري و(7.5، 6.1 ،5.1) سم على التوالي للمجموع الجذري ، مقارنة مع معاملة السيطرة والبالغة (13) سم للخضري و (3.4) سم للجذري . في حين لم يظهر المستخلص الكحولي اي تأثير معنوي على نمو كل من المجموعين الخضري والجذري شكل(5 ،6) .



شكل(5): تأثير المستخلص المائي والكحولي لكالس عرق السوس في متوسط طول المجموع الخضري(سم) لبادرات نبات الحنطة بعد شهر من زراعتها على وسط MS.



شكل(6): تأثير المستخلص المائي والكحولي لكالس عرق السوس في متوسط طول المجموع الجذري(سم) لبادرات نبات الحنطة بعد شهر من نموها على وسط MS.

* الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية.تحت احتمالية 0.05.

المناقشة

يلاحظ من النتائج المستحصلة من هذا البحث تفوق المستخلص المائي على الكحولي في تأثيره الايجابي ، لاسيما التركيز (6) مل/لتر ، في جميع الصفات المدروسة . وقد يعود تفوق المستخلص المائي على الكحولي ، كون بعض المواد المستخلصة قد تسلك سلوك منظمات النمو (كالجبرلينات) في تأثيرها على النمو وفي ميلها العالي للذوبان في الماء ، فقد اشارت [9] الى ان رش المستخلص الما ئي لعرق السوس بتركيز (2.5) غم مسحوق/لتر على نبات الفريزيا *Freesia hybrida* L. أعطى افضل المؤشرات ذات التأثير المعنوي على النمو والازهار والعمر المزهري لنبات الفريزيا ، وعزت ذلك الى سلوك المستخلص سلوك الجبرلين في تأثيره الفسلجي في النبات المرشوش به ، وقد اتفقت هذه النتيجة مع ما ذكره [20] بان مستخلص عرق السوس يسلك سلوك الجبرلين في تأثيره الفسلجي بتراكيز(2.5-3) غم مسحوق/لتر ماء . كما ذكرت [9] احتواء المستخلص المائي لعرق السوس على منظمات النمو (الجبرلينات) او مواد شبيهة بها بسبب التأثير المعنوي لهذا المستخلص في زيادة نمو وتفرع الحمضيات واعطاء التركيز (6) مل مستخلص/لتر نتائج متوافقة مع التركيز (2) ملغم/لترGA3 في تأثيرها الفسلجي على نمو الزروعات خارج الجسم الحي . اما زيادة عدد افرع نبات البطاطا عند التركيز (6) مل/لتر وانخفاض طول هذه الافرع وكذلك عدد العقد المفردة المتكونة فيها عند التركيز ذاته ، فهذا قد يعود الى ان مركبات الكومارين التي يحتويها مستخلص عرق السوس [4] شجعت على زيادة عدد افرع النبات على حساب طول هذه الافرع وعدد العقد المفردة المتكونة فيها ، وعليه فمن الممكن النصح باستخدام التركيز(6) مل/لتر اذا ما اريد زيادة عدد الافرع لزروعات البطاطا النامية خارج الجسم الحي . وينصح ايضا بأستخدام المستخلص المائي فقط (دون الكحولي) في ابحاث تنمية نباتات الحنطة لكفائته في زيادة نمو كل من المجموعين الخضـــري والجذري ، لاسيما التراكيز العالية منه (6 ، 8 و 10) مل/لتر . ويستنتج من النتائج السابقة الى امكانية استخدام مستخلصات كالس نبات عرق السوس بديلا عن منظمات النمو في الزراعة خارج الجسم الحي وبنفس الكفاءة وكذلك في نمو بادرات

الحنطة ، وانها لا تقل اهمية عن نظيراتها (مستخلصات مسحوق الجذور) في تأثيرها الفسلجي ، بل وعلى العكس فقد اشارت دراسة [21] الى ان مستوى الايض الثانوي في خلايا الكالس المهندسة وراثيا (Transformed cells) لنبات عرق السوس يزيد بمقدار الضعف عنه في الخلايا غير المهندسة وراثيا .

المصادر

1- مجيد، سامي هاشم و محمود، مهند جميل (1988). النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي. الطبعة الاولى. مجلس البحث العلمي. مركز بحوث علوم الحياة، قسم العقاقير وتقييم الادوية. العراق.

2- Evans, W.C. (1999). Trease and Evans' Pharmacognosy. 14 ed., Saunders Company Ltd.

3- Fuhrman, B., Buch, S., Vaya, J., Belinky, P.A., Coleman, R., Hayek, T. and Aviram, M. (1997). Licorice extract and its major polyphenol glabridin protect low-density lipoprotein against lipid peroxidation:*In vitro* and *Ex vivo* studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotei E-deficient mice. Americ. J. of Clinical Nutrition, 66: 267-275.

4- مهدي، احمد قاسم (2000). تأثير المعاملة بمستخلص عرق السوس في الاداء التناسلي لذكور الاغنام العواسي. رسالة ماجستير. كلية الزراعة / جامعة بغداد. العراق.

5- Sovak, M., Seligson, A.L., Konas, M., Hajduch, M., Dolezal, M., Machala, M., and Nagourney, R. (2002). Herbal composition PC-SPES for management of prostate cancer: Identification of active principles. J. of the National Cancer Institute, 94 (17): 1275-1280.

6- Bonham, M., Arnold, H., Montgomery, B. and Nelson, P.S. (2002). Molecular effects of the herbal compound PC-SPES. Identification of activity pathways in prostate carcinoma. Cancer Research, 62: 3920-3924.

7- Rudolf fritz Weiss, M.D. and Volker fintelmann, M.D. (2000). Herbal Medicine. 2nd ed., revised and expanded. Thieme Stuttgart. New York. Pp: 66-68.

8- الشمـــري، ماجدة عبد الكاظم سالم (2003). تأثير مستخلصي بذور وكوالح الـــذرة الصفراء وجذور عرق السوس في نمو الاجزاء النبـــاتية للتـــرويرالمزروعة خارج الجسم *Poncirus trifoliate* L. Raf x *Citrus sinensis* L. Osbeck الحي. رسالة ماجستير. كلية الزراعة / جامعة بغداد. العراق .

9- الربيعي، نوال محمود علوان منصور(2003). تأثير الرش بالمحلول المغذي النهرين ومستخلص عرق السوس في النمو والازهار والعمر المزهـــري في الفريـــزيا.*Freesia hybrida* L. رسالة ماجستير. كلية الزراعة / جامعة بغداد. العـــراق.

10- Masoodi, N. A. and Srivastava, L. J. (1994). Studies on the effect of growth regulators on initiation of rooting in cuttings of *Glycyrrhiza glabra* Linn. Indian Journal of Plant Physiol. 37(1): 28-29.

11- Thengane, S.R., Kulkarni, D.K. and Krishnamurthy, K.V. (1998). Micropropagation of Licorice *Glycyrrhiza glabra* L. through shoot tip and nodal cultures. Society for *in vitro* Biology.

12- Arias, C. C.and Scragg, A. H. (1993). The effect of cultural conditions on the accumulation of formononetin by suspension cultures of *Glycyrrhiza glabra*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 34(1): 63-70.

13- Kakutani, K., K. Ozaki, K.,Watanabe, H. and Tomoda, K. (1997). Preparation of licorice seedling by node culture, and glycyrrhizin production by several nutricultures using the seedling. Natural Medicines, 51(5): 447-451.

14- Li, W. and Asada, Y. (1998). Antimicrobial flavonoids from *Glycyrrhiza glabra* hairy root cultures. Planta Medica 64(8): 746-747.

15- Asada, Y., Li, W. and Yoshikawa, T. (1998). Isoprenylated flavonoids from hairy root cultures of *Glycyrrhiza glabra*. Phytochemistry, Oxford 47(3): 389-392.

16- Asada, Y and Li, W. (1999). The first prenylated biaurone, licoagrone from hairy root cultures of *Glycyrrhiza glabra*. Phytochemistry, Oxford. March 50(6): 1015-1019.

17- Murashige, T. and Skoog, T. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant., 15: 473-497.

18- Yashimichi, S., Hisamitsu, N. and Youki, O. (1986). Anti mutagencity of extract from crude drugs in Chiness medicine. Mutation Research, 174 :1-4.

19- Swamy, S.M. (2000). Cytogenetic and immunopotential effects of Ethanolic extract of *Nigella sativa* seeds. J. Ethanopharma, 70 (1) : 1-7.

20- المرسومي، حمود غربي خليفة (1999). دراسة العوامل المؤثرة على صفـــات النمو الخضري وحاصل البذور في البصل *Allium cepa*. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة/ جامعة بغداد. العراق.

21- Kovalenko, P.G., Antonjuk, V.P. and Maliuta, S.S. (2002). Secondary Metabolites production from transformed cells of *Glycyrrhiza glabra* and *Potentilla alba* as producents of Radioprotective compounds.Ukrainica Bioorganica Acta, 1 (1) : 21-32.

22- العبيدي ، هاشم كاظم (2005). استحداث التغايرات الوراثية لتحمل الملوحة خارج الجـسم الحي في محصـول فول الصويا *Glycine max* L. . اطـروحة دكتـوراه. كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية. العراق.

23- Ankica, K., Sesek, S., Maatencic, D. and Popovic, M. (1998). Utilization of callus culture as a preselection test for the salt tolerance of wheat (*triticum aestivum* L.) Proceeding of Balkan Symposium on field crops.Yogoslavia.