

دراسة فعالية أنزيم اليوريز داخل الجسم الحي وخارجه في كمية البروتين و إنتاج قلويدات التروبين في نوعي الداتوره *Datura metel linn* و *Datura innoxia mill*

د . كريم طالب الحاتمي

كلية العلوم / جامعة الكوفة

الخلاصة

أجريت التجربة في كلية العلوم – جامعة الكوفة للفترة من 1/2/2010 ولغاية 1/8/2010 لتحديد فعالية أنزيم اليوريز Urease ومحتوى البروتين في بذور وأوراق نوعي الداتوره *Datura innoxia* و *Datura metel* وفي أنسجة الكالس (Callus) المستحثة من الأوراق باستخدام وسط MS المجهز بمنظم النمو 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid) وال BA (Benzyl adenine) تركيز (1) ملغم / لتر لكل منهما لتحفيز نشوء الكالس . بينت النتائج وجود انخفاض معنوي في فعالية أنزيم اليوريز في الانسجة المستحثة من أوراق نوعي الداتوره مقارنة بفعاليتها في الأوراق والبذور التي أعطت ارتفاعا معنوياً في فعالية أنزيم اليوريز وسجل كالس أوراق نوع *D. innoxia* اقل فعالية لأنزيم اليوريز في معدل هذه أصفه وبلغ (0.6) وحده /مل مقارنة بالنوع *D.metel* وسجل (0.9) وحده /مل . في حين كانت السيادة لبذور نوعي الداتوره في فعالية الأنزيم المدروس وبلغ (0.52 و 0.17) وحده /مل على التوالي ، وكما سجلت أوراق وبذور نوع *D.innoxia* تفوقا واضحا في فعالية أنزيم اليوريز مقارنة بأوراق وبذور نوع *D.metel* النامية في الحقل وأما بخصوص المحتوى البروتيني في الأجزاء النباتية المدروسة فقد سجلت بذور وأوراق و كالس نوع *D.metel* تفوقا واضحا في معدل هذه أصفه وبلغ (3.6 ، 2.5 ، 1.7) ملغم /مل على التوالي مقارنة بمحتواها في كالس نوع *D.innoxia* والذي بلغ ((3.2 ، 2.2 ، 1.2) ملغم /مل ، على التوالي . أما بخصوص محتوى الانسجة والأجزاء النباتية المدروسة من المركبات القلويدية فتشير النتائج إلى ارتفاع معنوي في محتوى الانسجة المستحثة من أوراق نوعي الداتوره من المركبات القلويدية مقارنة بمحتواها في الأوراق والبذور النامية في الظروف الطبيعية ، وكانت السيادة لأنسجة نوع *D.innoxia* من قلويدات التروبين (الهوسيامين والهوسين) مقارنة بمحتواها في نوع *D.metel* .

المقدمة Introduction

اليوريز (Urea amidohydrolase Ec.3.5.1.5) من الأنزيمات المعتمدة على النيكل ويحفز التحلل المائي لليوريا (NH₂ CO NH₂) في النباتات والفطريات وعدد من الأحياء المجهرية إلى مركبي الامونيا والكارباميت . وتكون هذه العملية المحفزة أنزيميا أسرع بحوالي عشر مرات في التقاعلات غير المحفزة (Friedrich وجماعته، 2005؛ Mobley و Hausihger، 1999) . إن الدور الرئيسي لليوريز هو تمكين النبات من استخدام اليوريا الخارجية فضلا عن المتكون داخليا بصورة طبيعية كمصدر للنيتروجين (Goldrij و Polacco، 1999) وينتج أنزيم اليوريز من قبل الكثير من النباتات أراقية والأحياء المجهرية وله ادوار مختلفة في النبات من خلال مشاركته في العمليات الفسلجية خلال مراحل نمو وتطور النبات إضافة إلى دوره المميز في إنتاج النبات من مركبات نيتروجينية حيث انه مسؤول عن تحولات النيتروجين (Nitrogen transformation) إضافة إلى أهميته في التقانة الاحيائية والكيمياء السريرية وكيمياء المناعة . وبما جنس الداتوره (*Datura*) من النباتات الطبية المهمة الذي يحتوي على المركبات القلويدية ذات الاستخدام الطبي الواسع كالهوسيامين (Hyoscyamine) والذي يسمى تجاريا بالأتروبين والهوسين (Hyoscine) (Chakravarty، 1976، الخالدي، 2005) فقد استخدم الهوسيامين في علاج مرض الربو Asthma ومنبه للجهاز العصبي المركزي Central nervous system (Dale، 1996) أما قلويد آل والهوسين له تأثير مثبط للجهاز العصبي المركزي ويستخدم لعلاج الألام الحادة الناشئة من اضطراب وظائف الجهاز العصبي والتناسلي (Brown، 1996، Tylor و Narula وآخرون، 2004) . وتوجهت الدراسات الحالية إلى استخدام التقنيات الاحيائية الحديثة كزراعة الانسجة النباتية في إنتاج واستخلاص المركبات الثانوية التي ينتجها النبات وبشكل واسع نظرا لما تقدمه هذه التقنيه المهمة في زيادة إنتاج وتجميع هذه المركبات في الانسجة النباتية النامية خارج الجسم الحي في أوساط غذائية محدده (Hara وآخرون، 1987 و Stockigt، 1995) ووفرت هذه التقنية أمكانية التلاعب بمكونات الوسط الغذائي للانسجة النباتية المستحثة من أجزاء نباتية مختلفة مما يساعد على تحفيز هذه الانسجة على مضاعفة إنتاج المركبات الثانوية وزيادة تجميعها في خلايا النبات . ونظرا للأهمية الطبية للمركبات القلويدية توجهت التجربة الحالية إلى دراسة فعالية أنزيم اليوريز ودوره في إنتاج وتراكم قلويدات التروبين ومحتواها من البروتينات في الانسجة المستحثة خارج الجسم الحي في نبات الداتوره ومقارنتها بفعاليتها

أنزيم اليوريز في بذور وأوراق نبات الداتوره النامي في الظروف الطبيعيه ودوره في إنتاج قلويدات التروبين في نبات الداتوره .

المواد وطرائق العمل (Materials and Methods)

إعداد أوراق وبذور نوعي الداتوره للاستخلاص والتنقية

جمعت الأوراق والبذور من نوعي الداتوره النامية في الحقل وجففت في الظل في درجة حرارة الغرفة ثم طحنت باستخدام الخلاط الكهربائي كلا على حده واخذ (5) غرام من مسحوق البذور ومسحوق الأوراق كلا على حده وأضيف إليه 25 مليلتر من فوسفات البوتاسيوم (دارئ الفوسفات) عند رقم هيدروجيني قدره 7.5 (بنسبة 5:1 وزن / حجم) ثم ترك المزيج لمدة 45 دقيقة في حمام ثلجي مع التحريك المغناطيسي، ثم رشح المزيج باستخدام طبقات عده من الشاش وفصل بجهاز الطرد المركزي لمدة 45 دقيقة وبسرعة 3000 دوره / دقيقة ثم استعمل الرائق (بوصفه مستخلصا خاما) في تقدير الفعالية الانزيميه وتركيز البروتين وحساب كمية قلويدات التروبين لحساب الفعالية النوعيه .

Standard Curve of Ammonia للامونيا

- A-** حضرت تراكيز مختلفة من كلوريد الامونيوم تراوحت من (0.1 – 1) مايكرومول/مليلتر بإجراء التخفيف اللازمه للمحلول الخزين (1 مايكرومول/ مل) المحضر سابقا وباستخدام محلول دارئ HEPES (50 mM ، PH 7.5) بحيث يصبح الحجم النهائي 250 مايكروليتر .
- B-** حضنت الأنابيب في حمام مائي بدرجة حرارة 37 م لمدة 15 دقيقة ثم أضيف 5 مليلتر من الكاشف الذي يحتوي على الفينول الكاشف A : (Phenol nitroprusside) و 5 مليلتر من الكاشف الذي يحتوي على الهايوكلورات الصوديوم القاعدي الكاشف B : (Alkaline hypochlorite) .
- C-** مزجت المحتويات جيدا ثم ترك المزيج في الحمام المائي بدرجة حرارة 37 م لمدة 20 دقيقة حيث ظهر اللون الأزرق المتدرج حسب تراكيز الامونيا المضافة .
- D-** حضر كفي الكواشف (المحلول القياسي الأساس Blank) من 25 مايكروليتر من محلول دارئ HEPES مضاف إليه 5 مليلتر من الكاشف (A) + 5 مليلتر من الكاشف (B) ثم اتبعت الخطوات أنفة الذكر نفسها . (أجريت التجربة بواقع مكررين للمحلول القياسي والتراكيز المختلفة للامونيا) .
- E-** تم قياس امتصاصية اللون الناتج من التفاعل عند طول موجي 625 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي ، ثم رسمت العلاقة الخطية بين الامتصاص وتركيز الامونيا للحصول على المنحنى القياسي الذي يستدل منه على فعالية أنزيم اليوريز Mobley وآخرون، 1987 و Weatherburn، 1967)
- تقدير فعالية أنزيم اليوريز في العينات المدروسة

- 1- اخذ 215 مايكروليتر من المحلول الدارئ HEPES و 25 مايكروليتر من محلول اليوريا الخزين (500 mM) ووضعت في أنابيب اختبار وتركت في حمام مائي بدرجة حرارة 37 م لمدة ثلاث دقائق .
- 2- تم إضافة 10 مايكروليتر من المحلول الحاوي على الأنزيم إلى مكونات التفاعل ليصبح الحجم النهائي 250 مايكروليتر وكان التركيز النهائي لليوريا 50 ملي مولار . حضنت الأنابيب في حمام مائي بدرجة حرارة 37 م لمدة 15 دقيقة (زمن التفاعل الذي من خلاله يتم تحلل اليوريا بوجود اليوريز) .
- 3 -أضيف 5 مليلتر من الكاشف (A) و 5 مليلتر من الكاشف (B) إلى الأنابيب مع الرج السريع وتركت في حمام مائي بدرجة حرارة 37 م لمدة 20 دقيقة لكي يظهر اللون الأزرق .
- 4- تم قياس الامتصاص الضوئي للون الناتج من التفاعل عند الطول الموجي 625 نانوميتر .
- 5- تم قياس كمية الامونيا المتحررة بالميكرومول (mM) اعتمادا على المنحنى القياسي لمحلول الامونيا و قدرت الفعالية الانزيميه (وحده / مليلتر) على وفق المعادله ألتاليه : (Moncrief و 1996 ، Hausinger) .

كمية الامونيا (مايكرومول)

الفعالية الانزيميه (وحده / مليلتر) = -----

$$2 \times 15 \times 0.01$$

حيث يمثل:-

(0.01) من تعريف وحدة الفعالية للأنزيم (Enzyme unite) هي كمية الأنزيم اللازمة لتحويل واحد مايكرومول من اليوريا إلى أمونيا خلال دقيقة واحدة وعند درجة حرارة 37 م .

(15) زمن التفاعل (دقيقة) .

(2) كمية الامونيا (مايكرومول/مليلتر) الناتجة عن تحليل اليوريا (Shobe و Wong 1974)

تقدير البروتين Protein assay

استخدمت طريقة براد فورد في تقدير تركيز البروتين (Bradford, 1974)

استحثاث أنسجة الكالس Callus tissue culture

استؤصلت الأوراق من النبات في الصباح الباكر وخلال مدة التزهير لغرض استحثاث أنسجة الكالس منها باستعمال المشارط المعقمة ثم جرى غسلها بالماء الجاري ، واعدت للزراعة النسيجية في الوسط الغذائي الخاص باستحثاث الكالس باستعمال الوسط الغذائي المعروف Murashige و Skoog , 1962 (MS) والمينه مكوناته في الجدول (1) ، إذ وضعت الأوراق في وعاء زجاجي سعة 500 مل وأضيف إليها الكحول الايثيلي بتركيز 70 ٪ مع التحريك المستمر لمدة نصف دقيقة ثم غسلت الأوراق بالماء المقطر ثلاث مرات وبعد ذلك استعملت مادة هايبيوكلورات الصوديوم (Sodium hybochloride) NaOCl بتركيز 2 ٪ لمدة نصف دقيقة مع إضافة مادة Tween 20 كماده ناشره ، ثم غسلت الأوراق بالماء المقطر ثلاث مرات لإزالة آثار ألماده المعقمة ، وتم إجراء عملية ألزراعه في ظروف معقمة باستعمال جهاز انسياب الهواء الطبقي (laminar air flow) .

جدول (1) مكونات وسط MS الغذائي

ت	المادة	التركيز ملغم / لتر
1	أملاح MS	قوة كاملة
2	Thiamine – HCL	0.1
3	Pyridoxine - HCL	0.5
4	Nicotinic acid	0.5
5	Glycine	2.0
6	Inositol	100
7	Sucrose	30000
8	Agar	8000

ثم تم تقطيع الأوراق المعقمة إلى أجزاء مساحتها 2 سم 2 تقريبا وزرعت في الوسط الغذائي MS في قناني زجاجيه معقمة بحجم 20 سم 3 مضافا إليه منظم النمو 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid) وال (BA) بتركيز 1 ملغم / لتر لكل منهما وبواقع جزء نباتي واحد لكل قنينة زجاجيه وبمعدل 12 مكررا لكل تركيز وروعي في التقطيع والزراعة أن تجري العملية في ظروف معقمة باستعمال منضدة انسياب الهواء الطبقي وباستعمال الأواني الزجاجيه والملاقط والمشارط المعقمة جيدا باستعمال جهاز أل Autoclave وحضنت الزر وعات في ألحاضنه على درجة حرارة 25±1 م° وشدة أضائه 1000 لوكس لمدة 16 ساعة ، وبعد مرور

URL: <http://www.uokufa.edu.iq/journals/index.php/ajb/index>

Email: biomgzn.sci@uokufa.edu.iq

15 يوم من زراعة الأجزاء الورقية لنباتات النوعين في وسط (MS) تكون كالس في قواعد الأجزاء الورقية بلون بني غامق لاحتوائه على أكبر عدد من الكلوروبلاست (Dale, 1996) وبعد مرور 45 يوما اكتمل تكون أنسجة الكالس .



شكل (1) كالس نبات *D.inoxia* المستحث في وسط MS باستخدام 2,4-D تركيز 2 ملغم / لتر

وال BA تركيز (1 ملغم/لتر) لكل منهما .

تقدير فعالية أنزيم اليوريز ومحتوى البروتين في نسيج الكالس

أخذ 5 غرام من نسيج الكالس الطري وسحق في هاون خزفي مع المحلول المنظم Phosphate buffer تركيز 0.2 m و pH 7 وتم ترشيح المزيج باستعمال قطعتين من الشاش الطبي وأخذ الراشح وقدرت فعالية اليوريز باستعمال طريقة الخفاجي ، (2007) المحوره . وقدرت كمية البروتينات في أنسجة الكالس حسب طريقة (Bradford ، 1974) .

تقدير الكمية الكلية لقلويدات التروبين في أوراق وبذور وأنسجة الكالس لنوعي الداتوره .

اتبعت الطريقة المستخدمه من قبل الحاتمي (2006) في تقدير كمية قلويدات التروبين في أوراق وبذور وأنسجة الكالس المستحثه من أوراق النوعين كلا على حده ، إذ أن كمية حامض الكبريتيك المستعمله في التقدير تكافئ 0.01444 غرام من القلويدات المحسوبة كهيوسيامين في أوراق وبذور نباتات النوعين في حين تكافئ كمية حامض الكبريتيك المستعمله مامقداره 0.0057879 غرام من القلويدات المحسوبة كهيوسيامين في أنسجة الكالس .

التحليل الإحصائي

نفذت التجربة وفق التجارب العاملية في تصميم القطاعات العشوائية الكاملة بعاملين :-

نوع النبات على مستوى النبات الطبيعي وأنسجة الكالس المستحثه من الأوراق .

واختبرت المتوسطات وفق اقل فرق معنوي (LSD) وعلى مستوى احتمال 5٪ (الراوي وخلف الله ، 1980) .

النتائج والمناقشة Results and Discussions

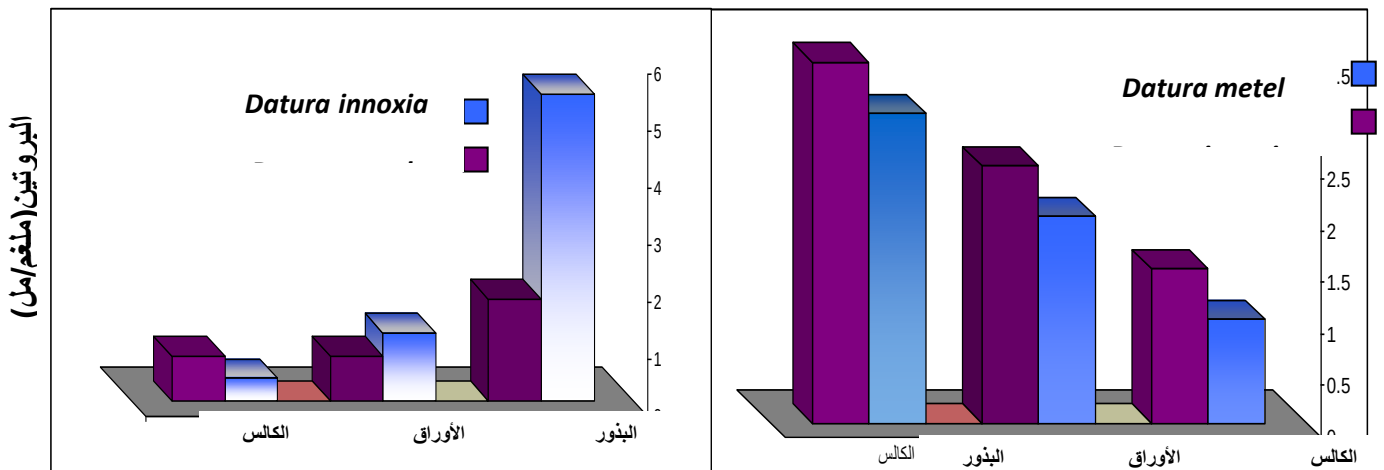
كمية البروتين (ملغم / مل) وفعالية أنزيم اليوريز (وحده/مل) في أنسجة الكالس والبذور والأوراق النباتية

تشير النتائج الموضحة من خلال الشكل (2) إلى ارتفاع معنوي في كمية البروتين في بذور وأوراق نوعي الداتوره النامية في الظروف الطبيعيه مقارنة بكميته في أنسجة الكالس المستحثه منها وسجل نبات الداتوره *Datura metel* تفوقا واضحا في محتواه البروتيني في البذور والأوراق وأنسجة الكالس المستحثه من الأوراق وبلغ (3.6 ، 2.5 ، 1.7) ملغم/مل مقارنة بنبات *Datura inoxia* وبلغ (3.2 ، 2.2 ، 1.2) ملغم/مل مع تفوق بذور نوعي الداتوره في المحتوى البروتيني على باقي الأجزاء النباتية .

أما بخصوص فعالية أنزيم اليوريز فنتبين النتائج ألموضحة في الشكل (3) إلى ارتفاع معنوي في فعالية الأنزيم المدروس في أوراق وبذور نوعي الداتوره مقارنة بفعاليتها في أنسجة الكالس المستحثة من أوراقهما وسجلت بذور وأوراق نبات *Datura innoxia* (5.6 ، 1.4) وحده/مل على التوالي وتوقفت معنويا على نبات الداتوره *Datura metel* الذي سجل (2.2 و 1.4) وحده/مل على التوالي . في حين سجل كالس أوراق *Datura metel* أكثر فعالية لأنزيم اليوريز وبلغ (0.9) وحده/مل مقارنة بفعاليتها في كالس أوراق

Datura innoxia الذي سجل فعالية لأنزيم اليوريز مقدارها (0.6) وحده/مل .

وتشير الدراسات التي أجراها الباحثين Bensaddek وجماعته (2001) و Afsharqpuar وجماعته (1997) بأنه من خلال انخفاض المحتوى البروتيني في أنسجة الكالس قد يعزى إلى انخفاض فعالية أنزيم اليوريز لعدم وجود اليوريا الذي يؤدي إلى انخفاض معدل المركبات النيتروجينية وانخفاض كمية البروتين فيها . وتتفق هذه النتائج مع النتائج المتحصل عليها من قبل Toivonen وآخرون (2004) إن انخفاض إنتاج قلويدات الاندولية في الجذور الشعرية نبات عين البزون النامية في أوساط غذائية مجهزه بتركيز عاليه من KNO_3 و Na_2HPO_4 وقد يعود السبب في ذلك إلى عمل أنزيم اليوريز على استحداث نقط الإنبات في بذور النباتات ويقوم بنقل النتروجين من مركبات اليوريد مثل الالانتونين وحامض الالانتويك واستخدامه في بناء البروتين في خلايا النبات النشط على حساب بناء المركبات القلويدية الاساسيه فيها



شكل (2) كمية البروتين (ملغم / مل) في أنسجة الكالس
في والبذور والأوراق لنوعي الداتوره

شكل (3) فعالية أنزيم اليوريز (وحدة / مل)
أنسجة الكالس والبذور والأوراق لنوعي الداتوره

2 - كمية قلويدات التروبين (ملغم / غرام وزن جاف) في أنسجة الكالس والبذور والأوراق النباتية

تشير النتائج ألموضحة في الشكل (4) إلى ارتفاع معنوي في محتوى الانسجة المستحثة من أوراق نوعي الداتوره من المركبات القلويدية مقارنة بمحتواها في الأوراق والبذور النامية في الظروف الطبيعية ، وكانت السيادة لأنسجة كالس *D.innoxia* من قلويدات التروبين (الهيوسيامين والهيوسين) وبلغت (0.81 و 0.41) ملغم/غرام وزن جاف على التوالي مقارنة بمحتواها في أنسجة كالس النوع *D.metel* وبلغ (0.64 و 0.58) ملغم/غرام وزن جاف (الهيوسيامين والهيوسين) على التوالي . في حين سجلت أوراق وبذور نوع *D.metel* تقوفا معنويا واضحا في محتواها من قلويدات التروبين وبلغت في الأوراق (0.46 و 0.42) ملغم/غرام وزن جاف كهيوسيامين و هيوسين على التوالي و في البذور (0.76 و 0.45) ملغم/غرام وزن جاف كهيوسيامين و هيوسين على التوالي . أما نبات *D.innoxia* فان محتواها من قلويدات التروبين (الهيوسيامين والهيوسين) وبلغت في الأوراق (0.55 و 0.42) ملغم/غرام وزن جاف على التوالي وبلغت في البذور (0.86 و 0.37) ملغم/غرام وزن جاف على التوالي . ومن خلال النتائج ألموضحة أعلاه يتبين تفوق النوع *D.innoxia* و *D.metel* في محتواها من المركبات القلويدية الاساسيه في أنسجة الكالس المستحثة من الأوراق مع انخفاض واضحا بمحتوى البروتين وفعالية أنزيم اليوريز في حين حصل العكس في نتائج البذور والأوراق الذي انخفض محتواها من المركبات القلويدية الاساسيه وارتفعوا واضحا بمحتوى البروتين وفعالية أنزيم اليوريز، وهذا يفسر ارتفاع كمية أنزيم اليوريز في بذور نباتات الداتوره الذي يعمل على تحويل اليوريا إلى أمونيا وكاراميت التي

URL: <http://www.uokufa.edu.iq/journals/index.php/ajb/index>

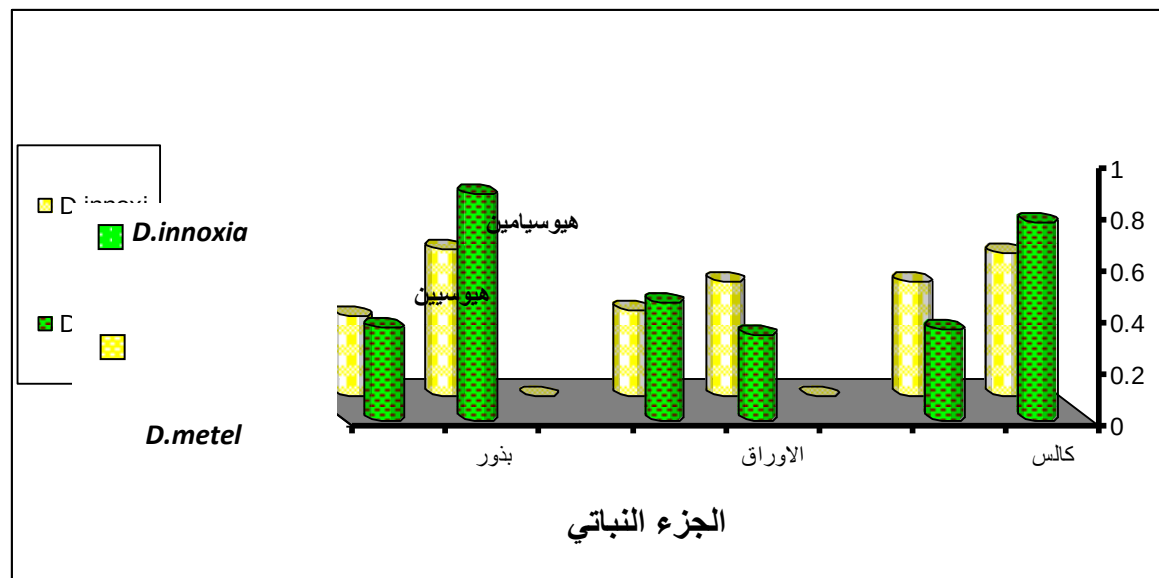
Email: biomgzn.sci@uokufa.edu.iq

من شأنها إن تثبط إنتاج المركبات القلويدية في الأجزاء النباتية النامية خارج الجسم الحي . أما انخفاض محتوى أنسجة الكالس من أنزيم اليوريز لعدم وجود اليوريا في وسط نمو الكالس وبذلك لارتفاع نسبة الامونيا والكارماميت في الأنسجة النامية في وسط النمو و يرتفع معدل إنتاج المركبات القلويدية لعدم تأثر عملية التخليق الحيوي لها .

ولقد أشار Zenk وآخرون (1977) إلى أن إضافة KNO_3 و NH_4NO_3 إلى وسط نمو النباتات تثبط إنتاج العديد من المركبات ومنها المركبات القلويدية بنسبة 80% وبذلك يمكن أن يستنتج بأنه من خلال انخفاض المحتوى البروتيني في أنسجة الكالس قد يعزى إلى انخفاض فعالية أنزيم اليوريز لعدم وجود اليوريا الذي يؤدي إلى انخفاض معدل المركبات النايتروجينية وانخفاض كمية البروتين فيها . وتتفق هذه النتائج مع النتائج المتحصل عليها من قبل Toivonen وآخرون (2004) ارتفاع إنتاج قلويدات الاندوليه في الجذور الشعرية نبات عين البزون النامية في أوساط غذائية مجهزه بتركيز عاليه من KNO_3 و Na_2HPO_4 .

وقد يعود السبب في ذلك إلى عمل أنزيم اليوريز على استحداث نطق الإنبات في بذور النباتات ويقوم بنقل النتروجين من مركبات اليوريد مثل الالانتونين وحامض الالانتويك واستخدامه في بناء البروتين في خلايا النبات النشط على حساب بناء المركبات القلويدية الاساسيه فيها . وفقدان فعالية أنزيم اليوريز تعتمد على تراكم المركبات الفينولية والتي يمكنها أن تحتل مجاميع SH الأنزيم (Cifuentes وآخرون ، 1981) . وقد أشار (Lea , 1999) بأن الوضيفه الاساسيه لأنزيم اليوريز هو تمثيل اليوريا المتكونة في بداية نمو النبات كنتيجة لتحلل الحامض الاميني الارجنين Arginine إلى اورنثين Ornthine بواسطة أنزيم Arginase الذي يعمل بشكل تناسقي مع اليوريز الذي يحفز تحلل اليوريا إلى أمونيا و CO_2 وهذا يفسر تواجد أنزيم اليوريز في الأجزاء النباتية النشطة كالأوراق النباتية وبذلك تقل عملية التخليق الحيوي للمركبات القلويدية في النباتات النامية في الحقل مقارنة بكميتها في أنسجة الكالس المستحثة منها .

ومن خلال نتائج هذه التجربة توضحت الاهمية لزراعة الانسجة النباتية في مجال إنتاج ومضاعفة جميع مركبات الايض الثانوي في الانسجة والخلايا النامية خارج الجسم الحي عن طريق دراسة نشاط الأنزيمات التي تساهم بشكل أساسي في عملية التخليق الحيوي لهذه المركبات و يستنتج من هذه التجربة نجاح تقنية زراعة الانسجة النباتية في مجال إنتاج وتراكم مركبات الايض الثانوي واحتفاظ الانسجة المزروعة خارج الجسم الحي بفعاليتها الانزيميه وزيادة عملية التخليق الحيوي للمركبات الاساسيه فيها مع انخفاض نشاط أنزيم اليوريز في أنسجة الكالس وزيادة تمثيل المركبات النتروجينية في الأوساط الغذائية إلى الأحماض الامينية المنشئه للمركبات



القلويدية الاساسيه في نباتات الداتوره .

شكل (4) كمية قلويدات التربوين ملغم/ غم وزن جاف في الأجزاء النباتية المدروسة

المصادر



الحاتمي، كريم طالب (2006) . دراسة مقارنة لإنتاج قلويدات الترويين داخل وخارج الجسم الحي في نوعي الداتوره *Datura metel* linn. و *Datura innoxia* mill. ، أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم – جامعة بابل

الراوي ، علي وجاكره فارتي (1988) . النباتات الطبية في العراق . وزارة الزراعة والري – الهيئة العامة للبحوث الزراعية والموارد المائية ، ص 2- 8 .

الدجوي ، علي (1996) . موسوعة النباتات الطبية والعطرية ، مكتبة مدبولي ، القاهرة .

الخالدي ، مؤيد صبري شوكت (2005) . إنتاج بعض القلويدات من نوعي نبات الداتوره

Datura stramonium و *Datura innoxia* باستعمال تقنية زراعة الانسجه النباتيه ، أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة بغداد .

الخفاجي، محمد عبد الله جبر (2007) . تنقية وتوصيف أنزيم اليوريز الحر المستخلص من بذور نبات الحنظل كمصدر جديد . مجلة جامعة كربلاء . 5 (3) : 1- 14 .

الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيز خلف الله (1980) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل . العراق .

خلاصي ، حسام الدين (2004) . نشره علميه ، كلية الزراعة – جامعة حلب ، ص 12 .

● Afsharypuar, S.; Mostajerna, A.; Shaneh-Ssz, A. (1997). Effect of Urea Fertilizer on the Weight of Different parts of *Datura Stramonium* and their Alkaloidal contents at Different Developmental Stages ; pharmacy and pharmaceutical Sciences , Isfhan University , I.R. Iran.

● Brown ,G.H. and Tylor (1996) . Muscarinic Receptor Agonism and Antagonisms: In Hardman ,J.G. Limbird , LE(eds) Goodman and Gilman's : The Pharmacological Basis of Therapeutics , 9th Edition , New York : MC Growhill Inc ;pp . 141-160 .

● Bradford , M.M.(1996) . A rapid and Sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein –dye binding . Bio chem ., 72:248-254.

● Bensaddek' L' , Gillet , F. , Saucedo, J . and Fliniaux, M-A . (2001) . The effect of nitrate and ammonium concentrations on growth and alkaloid accumulation of *Atropa belladonna* hairy roots . *J. Bio*, 85, : 35-40

● Dale , J.; W.F., Campbell .(1981). Response of tomato plant to stress temperature : increase in abscisic acid concentration . *Plant Physiol* . 67:29.

● Friedrich, A.W.; Kock ,R.; Bielaszewka, M.; Zhang, Karch, H. and Mathys, W.(2005). Distribution of the urease gene cluster among and urease activities of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O127 isolated from humans. *Journal of clinical microbiology* , 43(2):546-550.

● Goldraij, H.L.T. and Polacco, J.C.(1999). Arginase is inoperative in complementation at the ubiquitous urease coding locus of soybean . *plant physiology* , 132:1801-1810.

● Hara, Y.; Morimoto , T. and Fujita, Y.(1987) . Production of shikonin devastative by cell suspension culture . *Plant rep*. 6:8-11.



- **Narula , A.; Kumar, S.; Pande, D.; Rajam, M.;Srivastava , P.(2004).** Agrobacterium – mediated transfer of Arginine decarboxylase and Ornithine decarboxylase gene to *Datura innoxia* enhances shoot regeneration and Hyoscyamine biosynthesis . J. Plant Biochemistry and Biotechnology , 13:127-130.
- **Mobley ,H.L.T. and Hausinger , R.P.(1989).** Microbial urease significance , regulation and molecular characterization microbial . Rev, 53(1):85-108.
- **Mobley ,H.L.T.; Jones , B.D. and Penner , J.L.(1987).** Urease activity of protein penneri.J, microbial ,25(2):2302-2303.
- **Moncrief , M.B.C. and Hausinger , R.P.(1996).** Purification and activation properties of UreD-Urease apportion completes. J. Bacterial ., 178(18):5417-5421.
- **Lea,P.(1999)** . Primary nitrogen metabolism . In P.M. Dey and J.B. Harborne (eds) Plant Biochemistry . Academic press , London , Harcourt, Brace and Company , Publishers, PP;273-306 .
- **Weatherburn,M.W.(1967).** Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia . Analytical Biochemistry, 34(8)71-947.
- **Wong , B.L. and Shobe , C.R.(1974).** Single-step purification of urease by affinity chromatography .Can.J.Microbil , 20: 623-630 .
- **Zenk,M.H,El-Shagi,H., Arens.H,Stockigt.J,Wellr,E.W. and Deus,B.(1977).** Formation of the Indole Alkaloids Serpentine and ajmalicine in cell suspension culture of *Catharanthus roseus* . New York , pp. 27-43.
- **Toivonen, L., Ojala, M. and Kauppinen, V. (1991)** Studies on the optimization of growth and indole alkaloid production by hairy root cultures of *Catharanthus roseus*.Biotechnology and Bioengineering, 37: 673–680. do: 10.1002/bit.260370709

Study of Urease Enzyme Activity *in vivo* and *in vitro* on Tropan Alkaloids production in *Datura metel* linn and *Datura innoxia* mill

Abstract

An experiment was conducted to determine the activity of Urease enzyme *in vivo* and *in vitro* in Leaves , Seeds of *Datura metel* linn and *Datura innoxia* mill and in leaves callus induced from leaves by using MS medium supplemented with 2,4-D and BA at concentrations of 1 mg/L each and to compare activity of Urease between callus, leaves and seeds in mother plant. Result revealed that there were an decrease the activity of Urease enzyme in callus induced from leaves compare with the activity of these enzymes in leaves and seeds in parent plant .Result also showed the superiority of *Datura innoxia* on *Datura metel* in leaves and seeds Urease enzyme activity . The data illustrated that the superiority of *Datura metel* leaves callus on leaves callus of *Datura innoxia* Urease enzyme activity .Also, the alkaloids content were decrease with an increase in enzyme activity in leaves and seeds of tow type of *Datura* , and the data showed that increase of alkaloids content in callus induced



ISSN: 2073-8854

magazin of alkufa university for biolog / VOL.4 / NO.2 / year : 2012

from leaves and illustrated that the superiority of *Datura innoxia* on *Datura metel* in alkaloids content .

URL: <http://www.uokufa.edu.iq/journals/index.php/ajb/index>

Email: biomgzn.sci@uokufa.edu.iq