

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

تأثيرات السمية الوراثية لمبيد الحشائش Goal على نبات *Allium cepa* L.

* د. عزالدين شعيب محمد علي، ** د. مفتاح ابوبكر ارحومه.

(* عضو هيئة تدريس بكلية الزراعة - جامعة عمر المختار ** عضو هيئة تدريس بكلية الموارد الطبيعية وعلوم البيئة - جامعة عمر المختار - البيضاء - ليبيا)



المخلص:

تأثيرات السمية الوراثية لمبيد الحشائش Goal كانت محل تقييم باستخدام الخلايا الإنشائية لنبات البصل (*Allium cepa* L.). التركيز الفعال (EC_{50}) والذي عنده يحدث خفض في معدل النمو حدد للمبيد قيد الدراسة. الأبحاث المتجانسة التجدير والخالية من الإصابات وزعت على المعاملات المختلفة و مجاميع المراقبة. أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن جميع التركيزات وجميع فترات التعرض للمبيد حفزت على إنتاج عدد من أنواع الشذوذ الكروموسومي في خلايا قمم الجذور لنبات البصل (*Allium cepa* L.). عدد 5 أنواع من الشذوذ الكروموسومي سجلت بهذه الدراسة وقد كانت: التصاق الكروموسومات والجسور الكروموسومية وتأخر الكروموسومات والميتوزي المبعر والشظايا الكروموسومية. نتائج الدراسة الحالية تشير وبكل وضوح إلى جدوى استخدام الخلايا الإنشائية لنبات البصل في المسح الحيوي للملوثات البيئية مثل المبيدات.

مفتاح الكلمات: السمية الوراثية، Genotoxicity ، نبات البصل، *Allium cepa* L.

ABSTRACT

The genotoxicity effects of herbicide Goal was evaluated in the root meristem cells of onion plant (*Allium cepa* L.; $2n=16$). The effective concentration (EC_{50}) value was determined for herbicide Goal. The bulbs of homogeneously rooted transferred to the control and different treatments for tested herbicide. The results showed that, all concentration and treatment periods were induced a number of chromosomal aberrations in root tips cells of *Allium cepa* L. Five types of aberrations were recorded: stickiness, bridges, laggards C-mitosis and fragments. The results of present study clearly indicate the utility of root meristem cells of *Allium cepa* L. in bio-monitoring environmental pollutants such as herbicides.

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

- المقدمة:

التلوث البيئي Environmental pollution زاد بشكل مروع خلال العقود الأخيرة وهذا عائد إلى أفعال ونشاطات الإنسان المختلفة. الكيماويات الزراعية Agrochemicals ومنها المبيدات وهي من ضروريات الإنتاج الزراعي ذو العائد المجزي تعتبر احد أهم مصادر التلوث الرئيسية. نظراً لاستخداماتها الواسعة في قطاع الزراعة، تعتبر المبيدات الزراعية من أكثر المركبات التي يتم إطلاقها بصورة متكررة ودائمة في البيئة. وعلى الرغم من التأثيرات المفيدة المرتبطة باستعمال هذه المركبات الكيميائية في مجالات الزراعة الحديثة، إلا أن العديد منها قد يتسبب في أضرار ودرجة عالية من الخطر علي الإنسان والبيئة (Ecobichon, 2010).

المبيدات الزراعية عبارة عن مواد أو مخاليط من مواد تستخدم بواسطة الإنسان لتقليل من الآفات والكائنات الأخرى التي تؤثر علي إنتاج الغذاء أو صحة الإنسان. المبيدات في الغالب تعمل على تعطيل بعض مكونات العمليات الحياتية للأفة بحيث تقتلها أو تعمل على تثبيطها. المبيدات تشمل مواد أخرى منها جاذبات الحشرات Insect attractants والمواد المستخدمة في إسقاط أوراق النبات Plant defoliants والمجففات Desiccants ومنظمات النمو Growth regulators (Draggan, 2010). المبيدات تتمتع بفعل بيولوجي يتضمن التسبب في السمية الوراثية (Dimitrov et al., 2006; Lamsal et al., 2010).

تأثيرات السمية الوراثية Genotoxic effect للمواد الكيميائية والعقاقير والمبيدات كانت محل تقييم ودراسة من قبل العديد من الباحثين من خلال استخدام أنظمة الاختبار والفحص الحيوي Bioassays. هناك العديد من اختبارات الفحص الحيوي Bioassays لتقييم تأثيرات السمية الخلوية Cytotoxicity والتي وظفت العديد من الكائنات الحية لتعمل بمثابة كائنات تجريبية ومنها الكائنات الدقيقة والثدييات والنباتات (Nilan, 1978).

ومن أهم النباتات المستخدمة في تقدير درجة السمية الوراثية نجد نبات البصل (*Allium cepa* L.). اختبار الفحص الحيوي باستخدام نبات البصل Allium test assay يتصف بعدد من المميزات والخصائص التي تجعله من أفضل أنظمة الفحص الحيوي مقارنة مع أنظمة الفحص الأخرى ومنها الكائنات الدقيقة والثدييات والمستخدم في المراقبة البيئية (Fiskesjo 1988).

مبيدات الحشائش Herbicides تستخدم على نطاق واسع ضد الأعشاب والنباتات المتطفلة لغرض تقليل تكلفة الإنتاج في حقول المحاصيل المختلفة. أبحاث مبكرة أجريت لدراسة تأثيرات مبيدات الحشائش على نشاط الانقسام الميتوزي Mitotic activity في العديد من النباتات (Wuu and Grant 1966). ولكن في السنوات الأخيرة، لوحظ أن استخدام مبيدات الحشائش في مقاومة الأعشاب والنباتات المتطفلة زاد وبدرجة كبيرة وذلك لتقليل تكلفة الإنتاج.

ذكرت نتائج عدد من الدراسات أن مبيدات الحشائش تشجع على ظهور أنواع مختلفة من الشذوذ الكروموسومي. هناك حالات شذوذ مثل حالات الميتوزي المبعثر C-mitosis والخلايا متعددة المجموعة الكروموسومية Polyploid cells والجسور الكروموسومية Bridges وتأخر الكروموسومات Lagging chromosomes والناجمة عن تأثيرات مبيدات الحشائش (HacsKaylo and Amato, 1968; Lignowski and Scott, 1972).

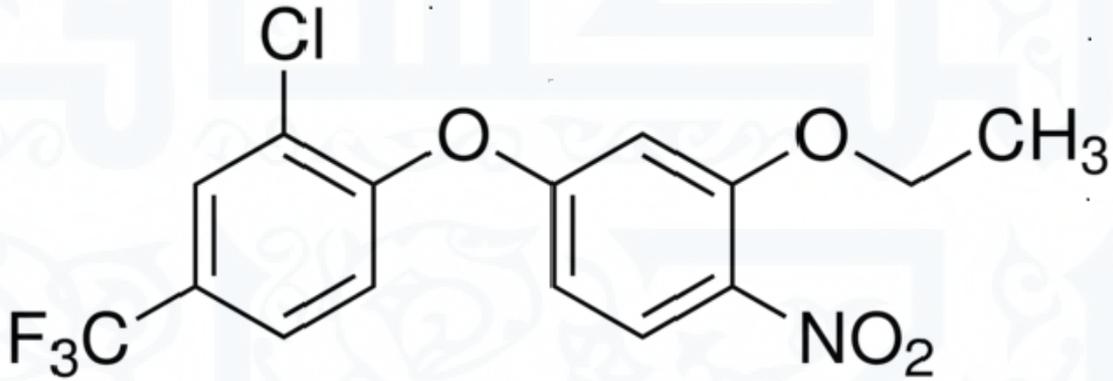
الدراسة الحالية تهدف الحالية إلي تقييم التأثيرات السمية الوراثية لمبيد Goal المادة الفعالة Oxyfluorfen ، 24 % على المادة الوراثية في نبات البصل.

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

- المواد وطرق البحث:

النظام الحي الاختباري المستخدم في هذا البحث كان نبات البصل *Allium cepa* L. (العدد الكروموسومي $2n=16$) حيث تم انتقاء وبعدد مناسب أبصال متجانسة الحجم كوحدة تجريبية للبحث مع مراعاة أن تكون هذه الأبصال خالية من الإصابات المرضية ونظيفة من الأضرار الميكانيكية والفسولوجية. الأبصال حفظت جافة وتحت ظروف تخزين غير رطبة حتى موعد تنفيذ تجارب الدراسة. مباشرة وقبل الشروع في استخدام الأبصال لتنفيذ معاملات البحث تمت إزالة القشور الخارجية الجافة للأبصال مع التخلص من الجذور الجافة القديمة، أيضاً أجريت عملية كشط للأقراص أسفل الأبصال بحرص شديد دون الأضرار بالمنطقة الإنشائية للجذور *Primordia*.

المبيد قيد الدراسة بهذا البحث كان مبيد الحشائش المعروف تجارياً باسم Goal المادة الفعالة Oxyfluorfen تركيز 24% يتبع مجموعة مبيدات الحشائش Diphenyl ether الصيغة الكيميائية لهذا المادة هي $C_{15}H_{11}ClF_3NO_4$ الوزن الجزيئي لهذه المادة $MW=361.7$ شكل (1). الجرعة المطبقة في الحقل: 750 cm^3 لكل 200 لتر مياه وهذا وفقاً لورقة البيانات المرفقة.



الشكل (1): الصيغة الكيميائية لمركب Oxyfluorfen المادة الفعالة بمبيد Goal.

اختبار تحديد التركيز الفعال (EC_{50}) نفذ طبقاً لما جاء به (Fiskesjo 1985)، حيث جهزت سلسلة من التركيزات المختلفة من المبيد لغرض تحديد التركيز EC_{50} والذي عنده يحدث خفض في معدل النمو (طول الجذر) بمقدار 50%. كانت التركيزات المستخدمة لذلك هي 3.0 و 2.0 و 1.0 و 0.75 و 0.5 و 0.25 و 0.125 ml/L. خصصت 5 أبصال لكل تركيز من التركيزات المشار إليها مع وضع خمسة أبصال في مياه مقطرة كمجموعة مراقبة (Control). بعد خمسة أيام قيست أطوال عدد 10 جذور لكل بصلة من الأبصال الخمسة أي 50 جذر لكل تركيز. النقص النسبي لأطوال الجذور حسبت على أساس النسبة المئوية لانحراف أطوال جذور المعاملة بالنسبة لأطوال جذور مجموعة المراقبة ($T/C\%$). بالاستعانة ببرنامج Probit analysis استخدمت هذه القياسات في حساب التركيز الفعال EC_{50} وقيمة EC_{50} لمبيد Goal كانت 0.5 ml/L. وبما أن النبات التجريبي المستخدم البصل من النباتات التي دورة الخلية فيها يوم كامل فقد حددت فترات التعرض لتكون 24 ساعة و 12 ساعة و 6 ساعات.

لغرض تنفيذ التجربة، أجريت عملية أنبات لعدد كبير من الأبصال المتجانسة الحجم السليمة بوضعها على كؤوس تحتوي على مياه مقطرة لمدة 24 ساعة لإتمام وإنجاح عملية إنبات و تجذير الأبصال، ثم وزعت الأبصال المتجانسة التجذير بصورة عشوائية على معاملات التجربة، و تم تخصيص

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

5 أبحاث لكل معاملة بالإضافة إلى مجموعة المراقبة، فقد كان هناك 3 تركيزات مختلفة من المبيد: التركيز الفعال (EC_{50}) ونصف التركيز الفعال ($1/2 EC_{50}$) وربع التركيز الفعال ($1/4 EC_{50}$) عليه فقد كانت 0.50 و 0.25 و 0.125 ml/L . و فترات التعرض (6 ، 12 ، 24 ساعة) بالإضافة إلى مجموعة مراقبة لكل فترة زمنية.

بعد اكتمال فترات التعرض للمبيد قطعت الجذور لكل معاملة حسب الوقت التعرض ووضعت مباشرة في محلول القتل والتثبيت ثم غسلت الجذور بماء مقطر ووضعت في كحول 70% و خزنت بالثلاجة إلى حين الاستخدام.

عند إجراء الفحص المجهرى تجرى أولاً عملية Hydrolysis للجذور باستخدام محلول HCl عياري 1N على درجة حرارة 60 درجة مئوية لمدة 7 دقائق ثم تغسل الجذور بالماء المقطر ثلاثة مرات. تصبغ الكروموسومات بصبغة Aceto-carmin مع الهرس. تم إعداد شريحة واحدة لكل بصلة أي إعداد 5 شرائح لكل معاملة. كل الشرائح رقمت وفحصت بدقة خلال أطوار الميتوزي. حيث قدرت السمية الوراثية على أساس فحص 300 خلية لكل معاملة. وثقت الشرائح باستخدام كاميرا رقمية نوع Digital Olympus CX Compact Camera, Olympus, Camedia, C-7070 مثبتة على مجهر ضوئي Olympus CX.31

التحليل الإحصائي المستخدم في هذه الدراسة كانت طريقة تحليل التباين (ANOVA) للبيانات. اجري التحليل الإحصائي على أساس تجربة عاملية حيث العامل الأول فترة التعرض للمبيد والعامل الثاني تركيز المبيد والتداخل بين العاملين. بيانات التجربة حللت باستخدام البرنامج الإحصائي Minitab الإصدار 13.

- النتائج:

- تأثير العامل الأول (فترة التعرض):

من الشكل (2) نجد أن أنواع الشذوذ الكروموسومي التي سجلت خلال الدراسة الحالية كانت خمسة أنواع ناتجة عن المعاملة بالمبيد Goal وهي التصاق الكروموسومات Stickiness والجسور الكروموسومية Bridges وتأخر الكروموسومات Lagging والميتوزي المبعثر C-mitosis وشظايا الكروموسومية Fragments .

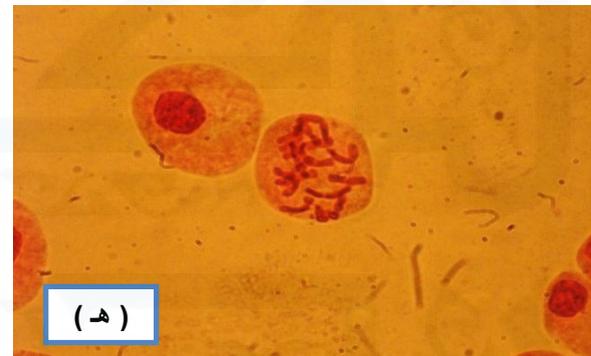
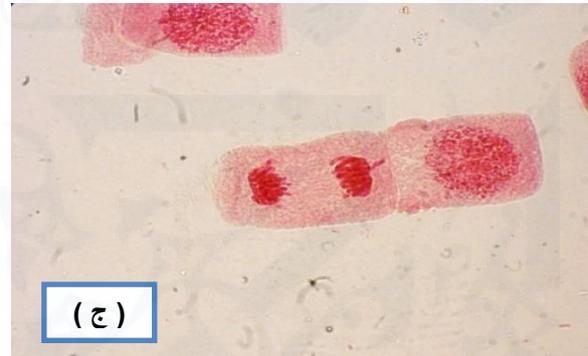
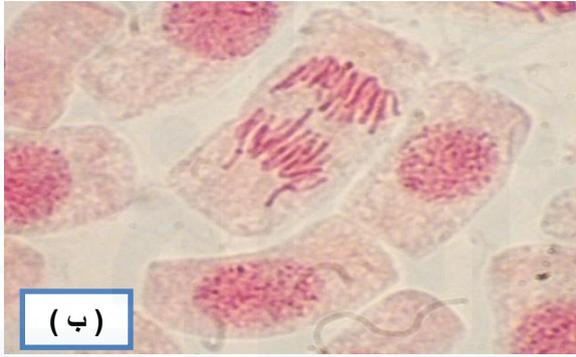
النتائج المبينة في الجدول (1) توضح تأثير فترات التعرض لمبيد Goal (6 ساعات، 12 ساعة، 24 ساعة) على نسب الخلايا الشاذة و نسب أنواع الشذوذ الكروموسومي. أوضحت النتائج أن هناك فروق معنوية بين فترات التعرض في نسب الخلايا الشاذة حيث سجلت فترة التعرض 24 ساعة أعلى نسبة و كانت 13.67%. بينما لم تظهر الفترتين 6 ساعات و 12 ساعة فروق معنوية فيما بينها و كانت 10.42% و 11.34% على التوالي.

من الجدول (1) نجد أن أكثر أنواع الشذوذ الكروموسومي تكراراً كان التصاق الكروموسومات Stickiness or Sticky chromosomes (الشكل 2، أ) حيث أظهرت النتائج وجود فروق معنوية بين فترات التعرض الثلاثة. أيضاً بينت النتائج أن كلما زادت فترة التعرض للمبيد كلما زادت نسب التصاق الكروموسومات، فقد كانت أعلى نسبة عند فترة التعرض 24 ساعة وكانت 6.5% بينما سجلت أقل نسبة عند فترة التعرض 6 ساعات وكانت 2.92% ، في حين أن فترة التعرض 12 ساعة سجلت النسبة 4.67%. الجدول (1) ومن خلال نتائج التحليل الإحصائي بين أنه لا يوجد فروق معنوية في نسب الجسور

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

الكروموسومية Bridges (الشكل 2، د) بين فترات التعرض الثلاثة للمبيد حيث سجلت فترات التعرض 6 ساعات و 12 ساعة و 24 ساعة النسب 1.92%، 1.42%، 1.58 على التوالي.

النوع الآخر من الشذوذ الكروموسومي المشاهد في هذه الدراسة كان تأخر الكروموسومات Lagging Chromosomes (الشكل 2، ب، ج) حيث أوضحت النتائج المبينة بالجدول (1) أن هذا النوع من الشذوذ أظهر فروق معنوية بين فترات التعرض الثلاثة مع ملاحظة إن هذا النوع يزداد مع زيادة فترة التعرض، فأقل نسبة كانت 3.25% عند فترة التعرض 6 ساعات يليها فترة التعرض 12 ساعة بنسبة 3.67% بينما سجلت فترة التعرض 24 ساعة أعلى نسبة لظاهرة تأخر الكروموسومات و كانت 4.58%.



شكل (2) أنواع الشذوذ الكروموسومي المشاهد في هذه الدراسة نتيجة المعاملة بمبيد Goal :

- أ. التصاق الكروموسومات ب. تأخر الكروموسومات ج. تأخر الكروموسومات
د. الجسور الكروموسومية هـ. ميتوزي مبعثر و. شظايا كروموسومية

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

الجدول (1) تأثير فترات التعرض لمبيد Goal على نسبة الخلايا الشاذة وعلى نسب ظهور أنواع الشذوذ الكروموسومي.

شظايا كروموسومية %	ميتوزي مبعثر %	تأخر كروموسومات %	جسور كروموسومية %	التصاق كروموسومات %	الخلايا الشاذة %	فترة التعرض
0.58 a	1.75 a	3.25 c	1.92 a	2.92 c	10.42 b	6 ساعات
0.50 a	1.08 ab	3.67 ab	1.42 a	4.67 b	11.34 b	12 ساعة
0.58 a	0.41 b	4.58 a	1.58 a	6.50 a	13.67 a	24 ساعة
0.59	0.86	1.23	0.93	0.78	1.06	قيمة LSD

(القيم المتبوعة بنفس الحرف وداخل نفس العمود لا تختلف فيما بينها معنوياً)

الميتوزي المبعثر C-mitosis (الشكل 2، هـ) سجل فروق معنوية بين فترات التعرض الثلاثة مع ملاحظة أن أعلى نسبة سجلت عند فترة العرض 6 ساعات وكانت 1.75% ثم يليه فترة التعرض 12 ساعة بنسبة 1.08% وأخيراً فترة التعرض 24 ساعة بنسبة 0.41%.

أشارت نتائج الدراسة المعروضة بالجدول (1) أن النوع الأخير من شذوذ الكروموسومات والمسجل بهذا الدراسة كان النوع المعروف باسم شظايا الكروموسومية Fragments (الشكل 2، و) وقد أظهرت النتائج بعدم وجود فروق معنوية في نسب ظهور هذا النوع من الشذوذ بين فترات التعرض الثلاثة.

- تأثير العامل الثاني (تركيز مبيد Goal):

الجدول (2) يعرض النتائج التي توصلت إليها الدراسة الحالية بالنسبة لتأثير تركيز المبيد على نسبة الخلايا الشاذة ونسب ظهور أنواع الشذوذ الكروموسومي.

تشير النتائج المبينة بالجدول (2) أن هناك فروق معنوية في نسب الخلايا الشاذة بين التركيزات المستخدمة من مبيد Goal وهي التركيز 0.125 و التركيز 0.25 و التركيز 0.50 ml/L بالإضافة إلى مجموعة المراقبة (Control). يلاحظ من النتائج أيضاً أن اعلي نسبة للخلايا الشاذة كانت للتركيز المرتفع بقيمة 18.78% بينما أقل نسبة كانت لمجموعة المراقبة بقيمة 0.77. في حين أن نسبة الخلايا الشاذة للتركيز 0.125 ml/L و التركيز 0.25 ml/L كانت 12.56% و 15.22% على التوالي.

ومن خلال استعراض نتائج الدراسة والمبينة بالجدول (2) نجد أن تركيزات مبيد Goal المستخدمة في هذه الدراسة شجعت على إحداث أنواع مختلفة من الشذوذ الكروموسومي وأن نسبة تكرار حدوث هذه الأنواع زادت مع الزيادة في تركيز مبيد Goal. أحد أهم هذه الأنواع كان التصاق الكروموسومات Stickiness (الشكل 3، أ) حيث نجد أن النسبة المئوية لهذا النوع قد زادت مع الزيادة في تركيز المبيد، وبالرجوع إلى الجدول (2) نجد أن أعلى نسبة مئوية لظاهرة التصاق الكروموسومات تحقق عند التركيز الثالث وكانت 7.89% بينما سجلت مجموعة المراقبة (الضابط Control) غياب تام لهذا النوع من شذوذ الكروموسومات.

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

الجدول (2): تأثير التركيزات المختلفة لمبيد Goal على نسبة الخلايا الشاذة وعلى نسب ظهور أنواع الشذوذ الكروموسومي.

أنواع الشذوذ الكروموسومي					إجمالي الخلايا الشاذة %	تركيز المبيد
شظايا كروموسومية %	ميتوزي مبعر %	تأخر كروموسومات %	جسور كروموسومية %	التصاق كروموسومات %		
0.00 b	0.33 b	0.22 c	0.22 c	0.00 d	0.77 d	الضابط
0.44 ab	1.22 ab	4.11 b	2.11 ab	4.67 c	12.56 c	الأول
1.00 a	1.22 ab	5.33 ab	1.44 b	6.22 b	15.22 b	الثاني
0.88 a	1.56 a	5.67 a	2.77 a	7.89 a	18.78 a	الثالث
0.68	0.99	1.43	1.07	0.90	1.23	قيمة LSD

(القيم المتبوعة بنفس الحرف وداخل نفس العمود لا تختلف فيما بينها معنوياً)

أشارت نتائج الدراسة والموضحة بالجدول (2) إلى وجود فروق معنوية في النسبة المئوية للجسور الكروموسومية Bridges (الشكل 3، د) بين التركيزات المختلفة للمبيد. أشارت النتائج إلى أن النسبة المئوية للجسور الكروموسومية قد ازدادت مع الزيادة في التركيز. يلاحظ أن أقل نسبة كانت عند الضابط بقيمة 0.22% وأن أعلى نسبة كانت للتركيز المرتفع من المبيد بقيمة 2.77%. من ناحية أخرى نجد أن التركيز الأول والثاني سجل النسب 2.11% و 1.44% على التوالي.

ذكرت النتائج أن هناك فروق معنوية بين تركيزات المبيد في نسب تأخر الكروموسومات Lagging (شكل 3، ب، ج). يلاحظ أن النسبة المئوية لهذا الشذوذ ازدادت مع الزيادة في تركيز المبيد، حيث أن أعلى نسبة كانت للتركيز المرتفع بقيمة 5.67% ثم تدرجت هذه النسبة بالانخفاض إلى 5.33% للتركيز الأوسط ثم إلى 4.11% للتركيز المنخفض إلى أن وصلت إلى 0.22% لمجموعة الضابط.

الميتوزي المبعر C-mitosis (الشكل 3، هـ) شوهد خلال عملية استقصاء تأثير التركيزات المختلفة للمبيد. أشارت النتائج المنشورة بالجدول (2) إلى وجود فروق معنوية في النسب المئوية للميتوزي المبعر بين التركيزات المختلفة للمبيد. حيث أظهرت النتائج أن أعلى نسبة لهذا النوع كانت للتركيز المرتفع من المبيد وكانت 1.56% بينما سجل كل من التركيز الأول والثاني نفس النسبة وكانت 1.22% في حين سجل الضابط أقل نسبة وكانت 0.33%.

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

أظهرت النتائج وجود فروق معنوية بين تركيزات المبيد في النسبة المئوية للشظايا الكروموسومية (الشكل 3، و). ذكرت النتائج المبينة بالجدول (2) أن التركيز المرتفع للمبيد والتركيز الأقل منه مباشرة لم تسجل فروق معنوية في النسبة المئوية للشظايا الكروموسومية. كانت النسبة 0.88% للتركيز المرتفع و 1.00% للتركيز الأوسط من المبيد، بينما كانت 0.44% للتركيز المنخفض من المبيد في حين لم يسجل أي تواجد لهذا الشذوذ الكروموسومي في الضابط.

- تأثير التداخل بين العامل الأول (فترة التعرض) والعامل الثاني (تركيز مبيد Goal):

الجدول (3) يوضح تأثير التداخل بين العامل الأول (فترة التعرض) والعامل الثاني (تركيز المبيد) على نسبة الخلايا الشاذة والنسب المئوية لأنواع الشذوذ الكروموسومي. من الجدول نجد أن هناك فروق معنوية بين مختلف المعاملات مع ملاحظة عدم وجود فروق معنوية في نسب الخلايا الشاذة بين مجاميع المراقبة الثلاثة وكانت 1.00%، 0.66%، و 0.66% لفترات الأولي والثانية والثالثة على التوالي. نجد أيضاً أن النسبة زادت بزيادة التركيز داخل نفس الفترة الزمنية. حيث كانت دائماً أعلى ما يمكن عند التركيز المرتفع للمبيد (0.50ml/L) فقد سجلت القيم 16.67% و 18.33% و 21.33% لفترات التعرض 6 و 12 و 24 ساعة على التوالي. من ناحية أخرى نجد أن أقل نسبة كانت للتركيز المنخفض لفترة التعرض 6 ساعات وكانت 10.33%، بينما التركيز الثاني لفترة التعرض 6 ساعات والتركيز الثاني لفترة التعرض 12 ساعة لم تسجل اختلاف معنوي فيما بينهما.

من الجدول (3) نجد أن التصاق الكروموسومات Stickiness كان أكثر أنواع الشذوذ الكروموسومي ظهوراً حيث سجل أعلى نسبة مئوية في جميع معاملات الدراسة. النسبة المئوية لظاهرة التصاق الكروموسومات سجلت زيادة مع زيادة تركيز المبيد في جميع فترات التعرض. يلاحظ أيضاً أن مجاميع المراقبة لفترات التعرض الثلاثة لم تسجل وجود التصاق للكروموسومات. أيضاً أشارت النتائج أن نسبة كانت دائماً أقل ما يمكن داخل نفس فترة التعرض عند التركيز 0.125ml/L في جميع فترات التعرض حيث كانت 2.33% و 4.33% و 7.33% لفترات التعرض الأولي والثانية والثالثة على التوالي. يلاحظ أن أعلى نسبة مئوية للتصاق الكروموسومات كانت دائماً للتركيز 0.50ml/L داخل نفس فترة التعرض حيث كانت 5.33% و 8.00% و 10.33% لفترات التعرض 6 و 12 و 24 ساعة على التوالي. أيضاً نجد أن التركيز 0.25ml/L سجل النسب 4.00% و 6.33% و 8.33% لفترات التعرض 6 و 12 و 24 ساعة على التوالي.

من الجدول (3) يلاحظ أن النسبة المئوية للجسور الكروموسومية Bridges (شكل 3، د) سجلت فروق معنوية بين معاملات الدراسة وإن كانت تلك الفروق متقاربة. ويلاحظ أيضاً أن أعلى نسبة مئوية للجسور الكروموسومية كانت أعلى ما يمكن عند التركيز المرتفع للمبيد في فترات التعرض الثلاثة، حيث كانت 3.00% لفترة التعرض 6 ساعات وكانت 2.33% لفترة التعرض 12 ساعة و 3.00% لفترة التعرض 24 ساعة، في حين نجد أن مجاميع المراقبة (Control) سجلت أقل نسب مئوية لظهور الجسور الكروموسومية حيث كانت 0.33% و 0.00% و 0.33% لفترات التعرض 6 ساعات و 12 ساعة و 24 ساعة على التوالي.

الجدول (3): تأثير التداخل بين العامل الأول والعامل الثاني لمبيد Goal على النسبة المئوية للخلايا الشاذة ونسب أنواع الشذوذ الكروموسومي.

أنواع الشذوذ الكروموسومي المشاهد					إجمالي الخلايا الشاذة %
شظايا كروموسومية	ميتوزي مبعثر	تأخر كروموسومات	جسور كروموسومية	التصاق كروموسومات	

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

%	%	%	%	%			
0.00 b	0.33 c	0.33 d	0.33 c	0.00 g	1.00 g	0.00	6 ساعات
0.33 ab	1.67 abc	3.33 c	2.67 ab	2.33 f	10.33 f	0.01	
1.33 a	2.33 ab	4.33 c	1.67 abc	4.00 e	13.67 de	0.05	
0.66 ab	2.67 a	5.00 bc	3.00 a	5.33 de	16.67 bc	0.10	
0.00 b	0.33 c	0.33 d	0.00 c	0.00 g	0.66 g	0.00	12 ساعة
0.33 ab	1.67 abc	3.67 c	2.33 ab	4.33 e	12.33 ef	0.01	
1.00 ab	1.00 abc	5.00 bc	1.00 bc	6.33 cd	14.33 de	0.05	
1.00 ab	1.33 abc	5.67 ab	2.33 ab	8.00 b	18.33 b	0.10	
0.00 b	0.33 c	0.00 d	0.33 c	0.00 g	0.66 g	0.00	24 ساعة
0.66 ab	0.33 c	5.33 ab	1.33 abc	7.33 bc	15.00 cd	0.01	
0.66 ab	0.33 c	6.67 a	1.67 abc	8.33 b	17.67 b	0.05	
1.00 ab	0.66 bc	6.33 ab	3.00 a	10.33 a	21.33 a	0.10	
1.196	1.72	1.47	1.86	1.56	2.14	LSD قيمة	

(القيم المتبوعة بنفس الحرف وداخل نفس العمود لا تختلف فيما بينهما معنوياً.)

أوضحت نتائج التجربة المبينة بالجدول (3) أن هناك فروق معنوية بين المعاملات بالنسبة لتأخر الكروموسومات Lagging chromosomes (شكل 3، ب، ج). حيث أشارت النتائج إلى أن تأثير تركيزات مبيد الحشائش Goal وفترات التعرض للمبيد قد أدت إلى زيادة النسبة المئوية لظهور الخلايا التي تعاني من هذا النوع من الشذوذ الكروموسومي. مجاميع الضابط لفترات التعرض الثلاثة لم تسجل فروق معنوية فيما بينها وسجلت النسبة الأقل. أعلى نسبة مئوية لتأخر الكروموسومات كانت للتركيز المرتفع وفترة التعرض 24 ساعة وعند التركيز الأوسط وفترة التعرض 12 ساعة وقد كانت على التوالي 6.33% و 6.67%. بينما سجل التركيز المنخفض للمبيد وفترة التعرض 6 ساعات أقل نسبة مئوية لهذا الشذوذ الكروموسومي وقد كانت 3.33%، مع ملاحظة أن هذه المعاملة لم تسجل فرق معنوي عن المعاملة تركيز الأوسط وفترة تعرض 6 ساعات وكانت النسبة 4.33%. وأيضاً نجد أن التركيز المنخفض وفترة تعرض 12 ساعة سجلت النسبة 3.67.

النتائج المبينة بالجدول (3) توضح أن هناك فروق معنوية بين نسب الميتوزي المبعثر C-mitosis لمختلف المعاملات. يلاحظ أن مجاميع الضابط لفترات التعرض الثلاثة سجلت أقل نسبة لهذا النوع من الشذوذ وقد كانت 0.33%، في حين أن أعلى قيمة كانت عند فترة التعرض الأولى (6 ساعات) ولجميع التركيزات، حيث كانت 1.67% و 2.33% و 2.67% للتركيز الأول والثاني والثالث على التوالي. أيضاً نجد أن فترة التعرض 12 ساعة سجلت لتركيزات الأول والثاني والثالث القيم 1.67% و 1.00% و 1.33%. أيضاً ذكرت النتائج أن فترة التعرض 24 ساعة سجلت انخفاض ملحوظ وكان غير معنوي مقارنة مع الضابط للتركيز الأول والتركيز الثاني.

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

أوضحت النتائج المتحصل عليها بهذه الدراسة و المعروضة بالجدول (3) أن نوع الشظايا الكروموسومية Chromosomal fragments (شكل 3، و) سجلت فروق معنوية وإن كانت متقاربة بين معاملات الدراسة. ويمكن القول أن المعاملة الثالثة (التركيز الثاني لفترة التعرض 6 ساعات) سجلت فروق معنوية مقارنة بالضابط، حيث سجلت أعلى قيمة لوجود الشظايا الكروموسومية وقد كانت 1.33% مع ملاحظة أن الضابط لم يسجل وجود الشظايا الكروموسومية لجميع فترات التعرض بصورة عامة.

- المناقشة:

أجريت هذه الدراسة لغرض اختبار السمية الوراثية Genotoxicity لمبيد Goal على الخلايا الإنشائية Meristem cells لقمم جذور نبات البصل (*Allium cepa L.*) والذي وظف في تجارب هذا البحث كنظام اختباري حي. تجدر الإشارة إلى أن الشكل التجاري للمبيد هو المستخدم باختبارات الدراسة، وهذا يرجع إلى أن الأشكال التجارية للمبيدات هي الأشكال التي تستخدم في التطبيقات الزراعية، وبالتالي فإنها الأكثر انتشاراً في البيئة.

أشارت نتائج الفحص المجهرى للخلايا خلال أطوار الانقسام الميتوزي بهذا البحث إلى أن مبيد Goal أدى إلى ظهور عدد من أنواع الشذوذ الكروموسومي في الخلايا الإنشائية لقمم جذور النبات الاختباري (البصل: *Allium cepa L.*) في جميع التركيزات Concentrations وجميع فترات التعرض Treatment periods.

أوضحت نتائج الدراسة أن هناك فروق معنوية في نسب الخلايا الشاذة بين فترات التعرض وأيضاً بين التركيزات المختلفة داخل فترات التعرض مقارنةً بالضابط Controls. أيضاً أشارت النتائج إلى أن نسبة الخلايا الشاذة تزداد بزيادة تركيز المبيد وبزيادة فترة التعرض، مع الأخذ في الاعتبار أن تأثير التركيز كان الأكثر فاعلية. كما أن التداخل بين العاملين (تركيز المبيد وفترة التعرض) يعمل على زيادة نسبة الخلايا الشاذة بفروق معنوية بين مختلف المعاملات مقارنة مع مجاميع الضابط. اتفقت النتائج الحالية مع العديد من الدراسات التي تقر بوجود تأثيرات غير مرغوبة للمبيدات الزراعية على المادة الوراثية في نبات التجريبي البصل (Smaka-Kincl et al., 1996 Asit and Matebesi, 2010).

توافقت هذه النتائج مع تلك النتائج التي توصل إليها Yuzbasioglu et al (2009) في دراسة لتقييم تأثيرات مبيد Illoxan على الخلايا الإنشائية لقمم جذور نبات البصل. حيث ذكر أن مبيد Illoxan يزيد من نسبة الخلايا الشاذة في نبات البصل وهذه الزيادة كانت معنوية في جميع التركيزات المستخدمة مقارنة مع الضابط، مع ملاحظة أن هذه الزيادة كانت تعتمد على الزيادة في الجرعة (زيادة تركيز المبيد).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود عدد 5 أنواع من شذوذ الكروموسومات تشمل: التصاق الكروموسومات Stickiness والجسور الكروموسومية Bridges وتأخر الكروموسومات Lagging والميتوزي المبعض C-mitosis والشظايا الكروموسومية Fragments مع تسجيل فروق معنوية في نسب تكراراتها Frequencies مقارنة بالضابط. أوضحت النتائج أن أنواع الشذوذ الأكثر تكراراً نتيجة المعاملة بالمبيد كانت التصاق الكروموسومات Stickiness يليها تأخر الكروموسومات Lagging مع ملاحظة أن تركيز المبيد كان الأكثر فاعلية في زيادة نسبة الشذوذ عن فترة التعرض للمبيد، وان التداخل بين تركيز المبيد وفترة التعرض سجلت النسب العالية لتلك الأنواع من الشذوذ. نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع العديد من الدراسات ومنها تلك الدراسة التي أشارت إلى ارتفاع نسبة التصاق الكروموسومات في جميع تركيبات وفترات التعرض لمبيد الحشائش QPE مقارنة بالضابط الذي لم تشاهد فيه حالات التصاق كروموسومات (Yildiz and Arikan, 2008).

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

اقترح (Darlington and Mc-Leish, 1951) أول تفسير لشرح نشؤ التصاق الكروموسومات والذي قال أنه يرجع إلى حدوث انفكاك بلمرة Depolymerization مادة DNA المكون الرئيسي للكروموسومات و بالتالي تصبح الكروموسومات لزجة وتميل إلى الالتصاق. بينما أشار Osterberg (1984) إلى أن التصاق الكروموسومات يحدث نتيجة تكاثف Condensation مادة DNA مما يعمل على تشابك Entanglement الخيوط أو اللفائف الكروماتينية. أيضا ذكر (Fiskesjo, 1985) أن التصاق الكروموسومات يشير إلى وجود تأثيرات عالية السمية والتي في الغالب تتسبب في حدوث أضرار غير قابلة للإصلاح في المادة الوراثية. والجدير بالذكر أن عملية التشابك Entanglement تحدث بين الخيوط الكروماتينية البين كروموسومية Inter-chromosomal chromatin fibers وهذا يمنع انفصال الكروموسومات البنوية Daughter chromosomes وبالتالي تبقى الكروموسومات متصلة مع بعضها البعض (Chauhan et al. 1986). وعلى الرغم من أن العديد من الدراسات أشارت إلى وجود ظاهرة التصاق الكروموسومات وعلى الرغم من أن العديد من تلك الدراسات قدمت تفسيرات لشرح وجود هذا الشذوذ إلا أن الأساس الكيميائي لا يزال غير معروف (Pagliarini, 2000).

الجسور الكروموسومية Bridges قد تنشأ نتيجة الالتحام بين الكروماتيدات، حيث تحدث كسور متزامنة لكلا الكروماتيدتين ثم إعادة التلاحم أو نتيجة فقدان تتابعات التيلوميرات الموجودة عند نهايات الكروموسومات (Gill and Shaukat, 2000). في حين ذكر عدد آخر من الباحثين أن الجسور الكروموسومية قد تنشأ نتيجة عدم اكتمال عملية التضاعف Incomplete replication بسبب خلل في نشاط أنزيمات التضاعف أو نتيجة انخفاض نشاط أنزيمات التضاعف (Sinha, 1979; Bader et al., 1992). أشار عدد آخر من الباحثين أن الجسور الكروموسومية قد تنشأ نتيجة تأخر تضاعف تتابعات DNA للتهيروكروماتين بمناطق التيلوميرات Telomeric heterochromatin ويلاحظ أن تتابعات Heterochromatin غير نشطة وراثيا حيث نجد أن معظم الجينات في الكائنات المميزة النواة تقع ضمن مناطق Euchromatin من المادة الوراثية (Bennet, 1977). وعليه فقد أشار عدد من الباحثين إلى انه في حالة أن هناك مناطق من التهيروكروماتين لم تستطع الانتهاء من عملية التضاعف والنواة أصبحت جاهزة لعملية الانقسام فإن الجسور الكروموسومية سوف تنشأ (Kaltsikes, 1984).

تأخر الكروموسومات Lagging يرجع إلى حدوث اضطراب خلال تكوين جهاز المغزل بحيث يحدث تشوه في هذا المغزل يمنع بعض الكروموسومات من اتباع السلوك الطبيعي في الانتظام على خط استواء الخلية مما ينتج عنه تأخر أو تلوؤ الكروموسومات في التحرك نحو الأقطاب (Rank, 2003).

وصف (Levan, 1938) ظاهرة Colchicines' mitosis الميتوزي الكولشيسيني (الناتج عن المعاملة بمادة Colchicines) بأنه الحالة التي يحدث فيه عدم تكون المغزل مما يجعل الكروموسومات تنتشر بصورة عشوائية في كل الخلية عوضاً عن انتظامها أو اصطافافها على محور وسط الخلية. بعض أنواع الملوثات البيئية ينشأ عنها مثل هذا الاضطراب وأصبح يعرف هذا النوع من الشذوذ باسم الميتوزي المبعثر أو C-mitosis (Levan, 1951). يؤكد عدد من الباحثين أن هذا النوع من الشذوذ ينشأ بفعل تأثير بعض المركبات أو الكيمياويات ومنها المبيدات التي تسبب تثبيط وفشل في تكوين جهاز المغزل Spindle apparatus وبالتالي لا يحدث اصطافاف للكروموسومات على محور وسط الخلية (Kaymak and Rasgele 2009).

الشظايا الكروموسومية Fragments هي عبارة عن قطع كروموسومية بدون سنتروميير وتنشأ عن حدوث كسور متتابعة. يعتقد أن الشظايا الكروموسومية قد تتحلل في سيتوبلازم الخلية نتيجة غياب السنتروميير والذي يقوم بعملية توجيه هذه القطعة نحو احد الأقطاب.

References:

- Aksoy, O., N. Ekici and F. Dane (2008). Mitotic changes in root meristems of lens culinaris treated with Fusilade (fluazifop-p-butyl). *Asian Journal of Cell Biology*. 3(1):34-40.
- Asita, A. and L. Matebesi (2010). Genotoxicity of Hormobon and seven other pesticides to onion root tip Meristematic cells. *African Journal of Biotechnology*. 9:4244-4250.
- Badr, A, A. Ghareeb and H. El-Din (1992). Cytotoxicity of some pesticides in mitotic cells of *V. faba* roots. *Egyptian Journal of Applied Sciences*, 7: 457-468.
- Bennet, M. D. (1977) Heterochromatin, aberrant endosperm nuclei and grain shriveling in wheat-rye genotypes. *Heredity*, 39:411-419.
- Chauhan, L. P. Saxena, V. Sundararman and S. Gupta (1986). Diuron-induced cytological and ultrastructural alterations in the root meristem cells of *Allium cepa*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 62: 152-163.
- Darlington, C. and L. Mc-Leish (1951). Action of maleic hydrazide on the cell. *Nature*, 167:407-408.
- Dimitrov B., P. Gadeva and D. Benova (2006) Comparative genotoxicity of the herbicides Roundup, Stomp and Reglone in plant and mammalian test systems. *Mutagenesis* 21: 375-382.
- Draggan, S. (2010). "Types of pesticides", in: *Encyclopedia of Earth*. Eds. Cutler j. Cleveland (Washington, D.C.: Environmental Information Coalition, National Council for Science and the Environment), Available: <http://www.eoearth.org>.
- Ecobichon, D. j., (2010). Toxic effects of pesticides, 22: 763-809. Available: <http://www.scribd.com>.
- Fiskesjo, G. (1985). The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102: 99-112.
- Fiskesjo, G. (1988). The Allium test an alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions. *Mutat. Res.*, 197: 243-260.
- Gill, R. S. and S. Shaukat (2000). Genotoxic effects of Captan fungicide on root meristems of *Allium cepa* L. in vivo. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3(1): 114-117.
- Hacskeylo, J. and V. Amato (1968). The action of trifluralin as an inhibitor of cell division in root meristems. *Weed Science*, 16:513-516.
- Kaltsikes, P. J. (1984). Breeding vegetable varieties resistant to diseases. Proc. 3rd Meeting on Protected Vegetables and Flowers, May 911, Heraklion, Crete, pp: 60. Abstract.
- Kaymak, F. and P. Resgele (2009). Genotoxic effects of Raxil on root tips and anthers of *Allium cepa* L. *Caryologia*, 62(1): 1-9.
- Lamsal, K., B. Ghimire, P. Sharma, A. Ghimiray and S. Kim (2010). Genotoxicity evaluation of the insecticide ethion in root of *Allium cepa* L. *African Journal of Biotechnology*, 9:4204-4210.
- Levan, A. (1938). The effect of colchicine on root mitosis in Allium. *Hereditas*, 24: 471-486.

العدد الثاني والعشرون - 25 / يونيو (2017)

- Levan A., 1951. Chemically induced chromosome reactions in *Allium cepa* and *Vicia faba*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 16: 233-243.
- Nilan, R. (1978). Potential of plant genetic systems for monitoring and screening mutagens. Environmental Health Perspectives, 27: 181-196.
- Osterberg, R. (1984). The condensation of DNA by chromium (III) ions. Journal of Bimolecular Structure and Dynamics, 2: 285-290.
- Pagliarini, M. S. (2000). Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. Genetics and Molecular Biology, 23(4); 997-1002.
- Rank, J. (2003). The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assay. Ekologika Vilinius, 1: 38-42.
- Sinha, U. (1979). Cytomorphological and macromolecular changes induced by p-fluorophenylalanine in *Allium cepa* and Triticale. Journal of Cytologia and Genetics, 14: 198-199.
- Smaka-Kincl, V., P. Stegnar, M. Lovka and J. Toman (1996). The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. Mutation Research, 368: 171-179.
- Wuu, D. and W. Grant (1966). Morphological and somatic chromosomal aberrations induced by pesticides in barley (*Hordium vulgare*). Canadian Journal of Genetics and Cytology, 8: 481-501.
- Yuzbasioglu, D., F. Unal, C. Sancak and R. Sancak (2009). Genotoxic effects of herbicide Illoxan on *Allium cepa* L. Turkey Journal Of Biology, 33 283-290.
- Yildiz, M. and E Arikan (2008). Genotoxicity testing of Quizalofop-P-ethyl herbicide using *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. Caryologia, 61(1): 45-52.