اختبار السمية الوراثية الخلوية لمبيد الاعشاب Paraquat باستعمال تقدير الشذوذ الكروموسومي في الطور الانفصالي- النهائي في البصل Allium cepa.

وجدي صبيح صادق

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

(تاريخ الاستلام: ١٩ / ١١ / ٢٠٠٩ ، تاريخ القبول : ٩ / ١٢ / ٢٠٠٩)

الملخص:

تم تقييم التأثيرات الوراثية الخلوية لمبيد الأعشاب Paraquat في الخلايا المرستيمية لجذور البصل Allium cepa . إذ جرى تعيين قيمة التركيز المؤثر (EC50) في اختبار نمو جذر البصل. وتم إجراء التجارب الخلوية باستعمال تراكيز من (EC50/2)، (EC50) و (EC50x 2). عند 24، 48، 72 و 96 ساعة مع معاملة سيطرة لكل مجموعة. انخفض دليل الانقسام الميتوزي مع ازدياد تركيز المبيد عند كل وقت للتعريض. وكانت النسب المئوية للالتصاق Stickness، الجسور bridges، الكروموسومات الشاردة Vagrant chromosomes، انفصال غير منتظم c- anaphase، تعدد قطبية multipolarity والشظايا fragments في خلايا الطور الاستوائي-النهائي anaphase-telophase طبقا للعدد الكلي للخلايا ذات الشذوذ الكروموسومي المحسوبة هي (38.87، 28.48، 16.67، 14.10، 1.60 و 0.64)% على التوالي. وقد ازداد الشذوذ الكروموسومي مع زيادة تركيز المبيد كما تمت ملاحظة الخلايا ذات النوى الصغرى Micronuclei عند الطور البيني. وكان: تكرار النوى الصغرى أعلى كثيرا عند التركيز 5 جزء بالمليون مقارنة مع التراكيز المختبرة الأخرى.

كلمات مفتاحية: Paraquat، Allium cepa، السمية الوراثية، EC50

المقدمة:

للمبيدات المستعملة في تطبيقات الزراعة الحديثة للسيطرة على الأمراض تأثيرات خطيرة(1). وتوفر النباتات الراقية أنظمة تقدير وراثية ذات قيمة لكشف وتعيين الملوثات البيئية ويعد البصل Allium cepa واحدا من أكثر النباتات الزهرية استعمالا لهذا الغرض (2). وقد ادخل اختبار البصل للسمية الوراثية بواسطة Levan سنة (1938). وتم استعماله على المبيدات في دراسات أخرى (11-31). ويكون اختبار البصل بسيطا وواقعيا تماما كطريقة لدراسة الشذوذ الكروموسومي المسجل في كل أنواع خلايا الطور الاستوائي (2). ويمكن استخدام هذا الاختبار لكل من السمية (التركيز المؤثرEC50، عندما يكون طول حزم الجذور مساوي لنصف الطول في السيطرة والسمية الوراثية.

يمكن تعيين العلاقة بين معدل نمو الجذر ودليل الانقسام الميتوزي (12). وقد اتضح أن تقديرات الشذوذ الكروموسومي والنوى الصغرى تكون موثوقة في اختبار السمية الوراثية(14,13).

يعد المركب Paraquat مبيد عشبي. ومبيدات الأعشاب هي واحدة من أنواع المبيدات ، تستعمل في الزراعة للسيطرة على الأدغال. يبرر الاستعمال غير الموجه لمبيدات الأعشاب في الزراعة وكذلك زيادة التلوث البيئي الذي يعزى إلى النمو الصناعي تقييم سمية هذه المواد الكيميائية (8). تشير الدراسات الحالية إلى عدم وجود تأثيرات خلوية للمبيد في الأنظمة النباتية. وتهدف الدراسة الحالية إلى اختبار تأثيرات المبيد على نمو الجذور، دليل الانقسام النوى الصغرى في الخلايا المرستيمية لجذور نبات البصلAllium cepa .

المواد وطرائق العمل:

الكائن المستخدم \ ظروف النمو:

تم اختيار أبصال متساوية الحجم (بقطر 25- 30 ملم) من نوع تجاري من البصل Allium cepa (2n=16). وتم خزنها في مكان بارد وجاف لحين إجراء اختبار السمية الخلوية. تمت إزالة القشور الخارجية بعناية قبل الاستعمال مباشرة وقشط القرص القاعدي البني دون الإضرار بالبادئات الجذرية وأجريت التجارب في ظروف مختبريه عند 22 ± 2°م . وتمت حماية الجذور من ضوء الشمس المباشر لتقليل التذبذب في معدلات الانقسام الخلوي (16).

المواد الكيميائية:

اختبار نمو جذر البصل\ تعيين EC50

تم اختيار أبصال نظيفة وصحيحة وسمح لها بتكوين جذور في ماء مقطر لمدة 24 ساعة وبعد التجذير المتجانس تم نقل خمس منها إلى معاملة محاليل مختلفة من المبيد (1- ٣، 1-10 و 5- 50) جزء بالمليون وسيطرة (ماء مقطر) لمدة 96 ساعة. مع مراعاة تبديل محاليل الاختبار خلال التجربة كل 24 ساعة بدلا من التهوية. وجرى قياس أطوال الجذور لمجوعة السيطرة ومجاميع الاختبار(أطوال عشرة جذور من كل بصلة) عند نهاية مدة التعريض. وتم حساب الاختزال النسبي في طول الجذور كنسبة مئوية من الانحراف عن السيطرة(T/C %). وجرى تعيين قيمة التركيز المؤثر EC50 وكان تقريبا 4.8 جزء بالمليون(يشير EC إلى التركيز المؤثر والرقم 50 يمثل التركيز المؤثر لمنع 50% من النمو. وتم إجراء التجارب بثلاثة مكررات.

المقاييس الوراثية الخلوية:

تم تجذير الأبصال في ماء مقطر لمدة 24 ساعة. وجرى نقل البصلات الخمس إلى محاليل السيطرة ومادة الاختبار. أجريت التجارب الخلوية باستعمال تراكيز من المبيد(EC50/2)، (EC50) و(EC50x2). ولمدة 24، 48، 72 و 96 ساعة مع سيطرة لكل تركيز. وتم اخذ نماذج الجذور بين الساعة 07.00 و 08.00 باعتبار أن أعلى تكرار للانقسام الميتوزي في البصل يكون بين الساعة 06.00 و 09.00 (15). وبعد استكمال التعريض، جرى قطع الجذور من خمس بصلات وتم تثبيتها مباشرة في محلول من الايثانول (99%) وحامض الخليك الثلجي(1:3) لمدة 24 ساعة ثم نقلت الجذور إلى كحول (70%) وخزنت في الثلاجة لحين استكمال باقي الخطوات. اجري تحليل القمم النامية بالنقع في محلول من

HCl عياريته 1N في درجة حرارة 60 مئوي لمدة 7 دقائق. ثم غسلت الجذور بالماء المقطر ثلاث مرات وصبغت الكروموسومات بالكمزا لمدة خمسة دقائق بالظلام ثم سحقت في حامض ألخليك 45% وتم تحضير شريحة واحدة من كل بصلة.

وضعت علامات على جميع الشرائح وفحصت عشوائيا. واجري الفحص لدليل الانقسام الميتوزي والنوى الصغرى في الطور البيني، والشذوذ الكروموسومي في الطور الانفصالي- النهائي ضمن التحليل الوراثي الخلوي لكل تركيز ومدة تعريض. وتم تعيين دليل الانقسام بتسجيل أكثر من 5000 خلية (أكثر من 1000 خلية لكل شريحة) وتم حساب دليل الانقسام كنسبة مئوية للخلايا المنقسمة من العدد الكلي المسجل للخلايا. كما جرى تعيين النوى الصغرى بواسطة فحص أكثر من 1000 خلية في الطور البيني لكل شريحة (أكثر من 5000 خلية طور بيني لكل معاملة). أما في اختبار الشذوذ الكروموسومي فقد تم فحص 100 خلية في الطور الانفصالي أو النهائي لكل شريحة ولذا فان الشذوذ الكروموسومي قد فحص لمجموع 500 خلية طور انفصالي أو نهائي لكل معاملة. وكانت أنواع الشذوذ الكروموسومي المسجلة كما يأتي: التصاق الكروموسومات Stickness والانقسام الداخلي c-anaphase والتعددية القطبية multipolarity والشظايا fragments.

التحليل الإحصائي:

تم تحليل البيانات باستعمال الحقيبة الإحصائية للعلوم الاجتماعية SPSS الإصدار العاشر واستعمل تحليل التباين (ANOVA) لتعيين الاختلافات المعنوية بين السيطرة وكل معاملة وعند وجود اختلافات عند مستوى $P<0.05$. تم تحليل البيانات التجريبية باستخدام اختبار Duncan المتعدد.

النتائج:

التأثير على نمو جذر البصل ودليل الانقسام الميتوزي:

انخفض نمو الجذر مع ازدياد تركيز المبيد ($P<0.05$). ولم يحصل نمو في الجذور مع التراكيز الأعلى من 10 جزء بالمليون خلال المعاملة لمدة 96 ساعة. وكان متوسط الطول للجذور بعد 96 ساعة من النمو في مجموعة السيطرة 5.34 ± 0.18 سم. وتم تعيين منحيات الجرعة (تراكيز المبيد) والاستجابة (نمو الجذر) لغرض تقدير قيمة التركيز المؤثر EC50 والتي تعيّن 50% من نمو الجذور وكانت (4.8) جزء بالمليون. وكان طول الجذر بعد 96 ساعة في EC50 هو 2.75 ± 0.06 سم. ولأغراض تجريبية استعمل 4.8 كتركيز مؤثر EC50 للمبيد.

وتم تعيين تأثير المبيد على دليل الانقسام الميتوزي (%) بين الخلايا المرستيمية لجذور Allium cepa ويوضحها الجدول (1). أظهرت النتائج فروق معنوية بين تراكيز المبيد والسيطرة ($P<0.05$). إذ انخفض دليل الانقسام معنويا في تراكيز المبيد مقارنة مع السيطرة عند كل مدة تعريض. وكانت النسبة المئوية لدليل الانقسام واطئة معنويا مع 2.4 جزء بالمليون مقارنة مع التراكيز الأخرى بعد 24، 72 و 96 ساعة. بالمقابل لم تكن هناك فروقا معنوية بين تراكيز المبيد بعد 48 ساعة (جدول 1).

التأثيرات على الشذوذ الكروموسومي وتكون النوى الصغرى

يظهر الشكل (1) انواع الشذوذ الكروموسومي الذي تم حثه بالمعاملة مع تراكيز مختلفة من مبيد الاعشاب Paraquat

أ

ب

ج

د

شكل- ١- انواع الشذوذ الكروموسومي الذي تم حثه بالمعاملة مع تراكيز مختلفة من مبيد الاعشاب Paraquat (أ) نواة صغرى (ب) كروموسوم شارد (ج) جسور كروموسومية (د) انفصال غير منتظم وكروموسومات شاردة.

تم تقييم نتائج اختبارات السمية الوراثية بواسطة اختبار الطور الانفصالي–النهائي للبصلAllium cepa (جدول 1).

اظهر التركيز الأعلى 4.8 جزء بالمليون من المبيد أعلى سمية على خلايا الجذور. لذا لم يكن بالإمكان العثور على 500 خلية طور انفصالي او نهائي للفحص بعد مدة 72 أو 96 ساعة. وتمت ملاحظة التغيرات في تنظيم وشكل الكروموسومات في قمم الجذور المعرضة للمبيد ويوضحها الشكل (1) وقد تم تسجيل أنواع من الشذوذ الكروموسومي في خلايا الطور الانفصالي– الطور النهائي (شكل. ب– د).

وجرى حساب النسب المئوية لالتصاق الكروموسومات والجسور والكروموسومات المتأخرة والانقسام الداخلي والقطبية المتعددة والشظايا من العدد الكلي للخلايا ذات الشذوذ الكروموسومي وكانت 38.87، 28.48، 16.67، 14.10، 1.60 و 0.64% على التوالي. وكان الالتصاق هو الأكثر تكرارا من بين أنواع الشذوذ الكروموسومي فضلا عن انه لم يلحظ في مجاميع السيطرة. كما ازداد الشذوذ الكروموسومي الكلي مع ازدياد تراكيز المبيد. ولم تلحظ فروقا معنوية بين التركيز 1.2 والتركيز 2.4 جزء بالمليون وبعد كل مدد التعريض. وكانت النسبة المئوية للشذوذ الكروموسومي الكلي أعلى معنويا مع التركيز الأعلى 4.8 جزء بالمليون مقارنة مع التراكيز الأخرى من المبيد. وتمت ملاحظة الخلايا ذات النوى الصغرى في الطور البيني (شكل 1 – أ) ولوحظ حث تكوين النوى الصغرى في كل المعاملات بشكل عام. وكان تكون النوى الصغرى أعلى كثيرا مع التركيز 4.8 جزء بالمليون مقارنة مع التراكيز الأخرى من المبيد وفي كل مدد التعريض (الجدول 2).

جدول(1) نتائج اختبار السمية الوراثية لمبيد الاعشاب Paraquat في تقدير الشذوذ الكروموسومي للطور الانفصالي – النهائي في Allium cepa

المعاملة		عدد الخلايا المسجلة	دالة الانقسام S.E±%	الشذوذ الكلي S.E±%	انواع الشذوذ الكروموسومي					
المدة ساعة	التركيز جزء بالمليون				التصاق	جسر	كروموسوم شارد	انقسام داخلي	تعدد الاقطاب	شظية
٢٤	0	500	9.7±0.37	3.20±0.4	0	11	3	2	0	0
	2.4	500	8.0±0.41	10.6±1.9	13	18	8	11	3	0
	4.8	500	7.8±0.33	13.6±0.8**	23	16	20	9	1	1
	9.2	500	3.5±0.86	20.6±2.0**	31	26	22	23	0	1
٤٨	0	500	10.4±0.92	2.6±0.51	0	8	0	3	1	٢
	2.4	500	7.3±0.32	13.0±0.45**	22	27	6	5	4	0
	4.8	500	7.5±0.36	13.8±1.4**	25	19	7	17	1	٠
	9.2	500	7.0±0.26	20.0±1.2**	54	21	13	12	0	1
٧٢	0	500	9.1±0.46	2.4±0.4	0	9	1	٢	٠	1
	2.4	500	8.7±0.43	11.4±0.5	23	12	11	7	3	0
	4.8	500	5.2±0.44	13.8±0.9**	23	20	13	12	0	1
	9.2	500	3.4±0.51	27.16±1.4**	68	6	11	2	0	1
٩٦	0	500	8.4±0.26	2.8±0.4	0	6	2	4	1	0
	2.4	500	5.87±0.22	16.9±0.9**	30	33	15	4	0	1
	4.8	500	5.0±0.47	19.0±1.1**	25	32	21	16	1	0
	9.2	500	2.2±0.16	40.58±1.6**	24	٢	٠	٢	٠	1

S.E= الخطأ القياسي ** معنوي عند $P< 0.05$ في اختبار دنكن متعدد المدى

جدول (2) نتائج اختبار السمية الوراثية لمبيد الاعشاب Paraquat لتقدير النواة الصغرى في Allium cepa

معاملة		عدد خلايا الطور البيني المسجلة	النوى الصغرى %
مدة / ساعة	تركيز / جزء بالمليون		
24	0	5000	0
	2.4	5050	0.12
	4.8	4980	0.07
	9.6	4790	0.25
48	0	5000	0.01
	2.4	5030	0.02
	4.8	4870	0.09
	9.6	4910	0.22
72	0	5000	0
	2.4	5090	0.05
	4.8	4720	0.06
	9.6	4830	0.14
96	0	5000	0.03
	2.4	5120	0.04

0.08	4960	4.8	
0.09	4680	9.6	

المناقشة:

يمكن تقييم التأثيرات السمية للملوثات البيئية بواسطة تحليل الانخفاض في نمو الجذور فضلا عن المقاييس الخلوية (أنواع وترددات الشذوذ الكروموسومي) (13). فقد اتضح من اختبار نمو جذر البصل Allium cepa إن انخفاض نمو الجذر أكثر من 45% يثبت بقوة حقيقة وجود مواد سامة (17) تمتلك تأثيرات سمية شبه مميتة للنبات (18). لقد أظهر طول الجذر بعد 96 ساعة من النمو مع كل التراكيز مؤشرا منطقيا لسمية مبيد الأعشاب (paraquat). تشير نتائج الدراسة الحالية بوضوح إلى فائدة الخلايا المرستيمية لجذر Allium cepa في استكشاف الملوثات البيئية مثل مبيدات الأعشاب. من جهة ثانية برهنت قيمة التركيز المؤثر (EC50) أنها تصلح كمقياس مفيد لاختيار التراكيز لتقديرات السمية الوراثية (19,4). لذا فقد تم تعيين قيمة (EC50) في هذا البحث وكانت تقريبا (4.8) جزء بالمليون وجرى اختيار التركيز الأعلى لاختبار السمية الوراثية وكان (9.6) جزء بالمليون [(2x (EC50].

يعد دليل الانقسام الميتوزي مقياسا يسمح باستنتاج تكرار الانقسام الخلوي (8). وغالبا ما يتم استعمال تثبيط الفعالية الميتوزية لاقتفاء اثر المواد السامة للخلايا (20) فإذا تم اختيار قيمة (EC50) كأعلى تركيز لاختبار السمية الوراثية فان دليل الانقسام سوف لن يكون أدنى من50% من السيطرة (3). في الدراسة الحالية كانت قيم دليل الانقسام مع التركيز (4.8) جزء بالمليون وهي قيمة (EC50) من مبيد الأعشاب (Paraquat) ومع كل مدد التعريض فوق 50% من قيم السيطرة. وكان انخفاض الانقسام الخلوي أكثر معنوية عند ازدياد تركيز المبيد مع كل مدة تعريض. وقد تم تعيين انخفاض أكثر أو يساوي 63% في الفعالية الميتوزية مع التركيز (9.6) جزء بالمليون في جذور البصل المعاملة مع مبيد الأعشاب (Paraquat) بعد 24، 72 و 96 ساعة. يثبت التثبيط المعتمد على التركيز في دليل الانقسام القدرة السمية الخلوية لمبيد الأعشاب (Paraquat) في A. cepa. وقد وصفت تأثيرات مماثلة على دليل الانقسام بواسطة عدد من الباحثين بعد معاملة جذر البصل مع المبيد الحشري Cypermethrin و Fenvalerate (4) ومبيدات الاعشاب Atrazine,(6) Racer Pentachlorophenol,2,4-D butachlor (5), (7)، Maleichydrazide (8)، و Avenoxan (١٠) والمبيدات الفطرية Ceresan، Agarosan و Mercuric chlorides (21). من ناحية أخرى، أظهرت نتائج التحليلات أن تأثير مبيد الأعشاب(Paraquat) ومدة التعريض على دليل الانقسام كان بمستوى معنوي، إلا أن تأثير التركيز كان أعلى 1.68 مرة من تأثير مدة التعريض. إذ كانت قيمة دليل الانقسام 3.48% مع التركيز (4.8) جزء بالمليون بعد مدة تعريض 24 ساعة فيما كانت قيمته 5.84% مع التركيز (1.2) جزء بالمليون بعد مدة تعريض 96 ساعة (في تجربة مستقلة). أي أن تعريض قمم الجذور لتركيز أعلى لمدة قصيرة يكون أكثر ضررا من تعريضها لتركيز واطئ لمدة أطول، فحالما يدخل المبيد إلى الخلية بتركيز حرج، يبقى في حالة فعالة مسببا إصابات خلال عدة دورات خلوية لاحقة (22,8). لذا يمكن تعيين السمية الخلوية للملوثات البيئية بواسطة انخفاض معدل دليل الانقسام الميتوزي (23). وان انخفاض دليل الانقسام إلى أقل من 22% من السيطرة السالبة يسبب تأثيرات مميتة على الكائن الحي المستعمل في الاختبار (24)، بينما يكون للانخفاض دون 50% تأثيرات شبه مميتة عادة (25). ويدعى حد السمية الخلوية (15). في الدراسة الحالية تم تعيين التأثير شبه المميت للتركيز (2.4) جزء بالمليون مقارنة مع السيطرة عند 24، 72 و 96 ساعة وكانت قيمته 35.87، 36.73 و 25.97% على التوالي. بالمقابل لم تلحظ تأثيرات سمية أو شبه مميتة عند مدة تعريض 48 ساعة، رغم أن دليل الانقسام قد انخفض معنويا مع التراكيز (0.6، 1.2 و 2.4) جزء بالمليون مقارنة مع السيطرة. وقد يكون الانخفاض المعنوي في الفعالية الميتوزية إثباتا للتأثير الكابح للانقسام بواسطة مبيد الأعشاب ويمكن للمبيد أن (a) يتداخل مع تطور الانقسام الميتوزي، لذا يمنع عددا من الخلايا من دخول الطور التمهيدي ويعطل دورة الانقسام خلال الطور البيني (26-28). أو (b) يعزى إلى زيادة في زمن طوري S وG2 (30,29,27). فضلا عن أن هكذا تأثير كابح للمواد الكيمياوية على الانقسام قد يعزى إلى تثبيط تخليق الدنا\ البروتين في الأنظمة البيولوجية (31,28,27,26). من جهة ثانية فقد ذكر Epel (32) أن معدل الانقسام الميتوزي يكون متعلقا جدا بمستوى ATP الناتج، لذا فان المعاملة بالمبيد قد تخرب المسارات التنفسية، مما يسبب انخفاض في مستوى إنتاج المركبات الحاوية على الطاقة والمركبات الأساسية الأخرى مثل ATP، سكريات وجزيئات بروتين (33). وقد لحظت التغيرات في شكل وتنظيم الكروموسومات في قمم الجذور المعرضة لمبيد الإعشاب (Paraquat) وكانت أنواعها (التصاق الكروموسومات، جسور نووية ، كروموسومات شاردة، والانقسام الداخلي، التعددية القطبية والشظايا وازدادت النسبة المئوية لمجموع الشذوذ الكروموسومي مع زيادة تركيز المبيد عند كل مدة تعريض. تظهر هذه النتائج أن دليل الانقسام الميتوزي لم يتم تعطيله بواسطة تأثير مبيد الأعشاب (Paraquat) حتى مع (2.4) جزء بالمليون. فلو كان التركيز (2.4) ساما جدا، فانه سيؤدي إلى موت الخلية، والذي قد يسبب تداخلا مع تسجيل الشذوذ الكروموسومي الذي يسببه المبيد. لذا فان النسبة المئوية للشذوذ الكروموسومي لم تنقص. وكان الالتصاق أو الكروموسومات اللاصقة هو النوع الشائع من الشذوذ الكروموسومي ، إذ كان أكثر أنواع الشذوذ الكروموسومي الملحوظة تكرارا في الطور الانفصالي – النهائي من الانقسام الميتوزي في قمم جذور A. cepa المعاملة بمبيد الأعشاب (Paraquat). ويعد الالتصاق احد أنواع الشذوذ الكروماتيدي (26) وقد اعتقد Darlington and Mc-Leish (1951) بان ذلك قد يعزى إلى تحلل أو تفتت الدنا الكروموسومي، إلا انه قد تبين ان الالتصاق ينتج عن تكثف الدنا (35) وتماسك الياف الكروماتين بين الكروموسومات والتي تؤدي إلى ترابطات كروماتيدية ثانوية بين الكروموسومات (37,36). وفي الدراسة الحالية لحظت الكروموسومات الملتصقة بتكرار مرتفع في جميع معاملات مبيد الأعشاب (Paraquat) ، بالمقابل لم تلحظ الكروموسومات الملتصقة في معاملات السيطرة. واعتقد Liu وجماعته (12) ان الكروموسومات الملتصقة تعكس تأثيرات سمية عالية وعادة ما تكون من النوع غير القابل للانعكاس، ومن المحتمل أنها تقود إلى موت الخلية. وكانت الجسور التي قد تشمل كروموسوما واحدا أو أكثر هي النوع الأكثر شيوعا وتكرارا بعد الكروموسومات الملتصقة ويعزى حث الجسور إلى كسور كروموسومية ، التصاق وكسر وإعادة اتحاد

النهايات المكسورة. إن التصاق الكروموسومات يمنع انفصال الكروموسومات البنتية لذلك تبقى مرتبطة بواسطة بالجسور (40,39). كما أن الجسور الالتصاقية قد تكون أيضا نتيجة التضاعف غير التام للكروموسومات بسبب نقص أو فقدان إنزيمات التضاعف (40) أو التضاعف المتأخر لتتابعات الدنا للهيتيروكروماتين التيلوميري(41). فان لم تنتهي قطع الهيتروكروماتين من تضاعف الدنا عندما تكون النواة جاهزة للانقسام فسوف تحدث الجسور (42). كذلك لحظت حالات عدم انتظام المغزل (كروموسومات شاردة، انقسام ميتوزي داخلي والتعددية القطبية)، وكانت الأخيرة هي الأدنى ترددا. إن حث الكروموسومات الشاردة يقود إلى انفصال غير متكافئ للكروموسومات في النوى البنتية وذلك يقود إلى تكون خلايا بنتية غير متساوية الحجم أو ذات شكل غير منتظم عند الطور البيني (43). وقد وصف Levan (44) تأثير الكولجسين في تعطيل المغزل يتبع بانتشار عشوائي للكروموسومات المكثفة في الخلية. وذكر أن التأثير المباشر لكل معاملات المبيد كان بشكل تعطيل جزئي أو كلي لميكانيكية المغزل تبعت بانتشار الكروموسومات (33). ويشير العدد الكبير للكروموسومات الشاردة والانقسام الميتوزي الداخلي الى ان مبيد الأعشاب (Paraquat) يعمل كمثبط فعال للمغزل. كذلك لحظت خلايا قليلة ذات شظايا عند الطور الانفصالي- النهائي في قمم جذور A. cepa في الدراسة الحالية. اعتقدت Saxena وجماعتها(45) أن حث كسور الكروموسومات بواسطة سايبرمثرين يثبت الفعل المفتت للكروموسوم بواسطة المركب المستعمل في الاختبار. وقد حدد حث مثل هذه الأنواع من الشذوذ الكروموسومي مع تراكيز ومدد تعريض مختلفة لملوثات بيئية (28,22, 45 -49). كما تم تعيين تكون النوى الصغرى في خلايا الطور البيني إلى جانب أنواع الشذوذ الكروموسومي في خلايا الطور الانفصالي- النهائي. وكانت النسبة المئوية للخلايا الحاوية على النوى الصغرى أعلى بشكل واضح مع التركيز الأعلى من مبيد الأعشاب (4.8) جزء بالمليون مما لحظ مع التراكيز الأخرى التي تم اختبارها. ويعد حث النوى الصغرى في الخلايا المرستيمية لجذر A. cepa إظهارا للشظايا أو الكروموسومات الشاردة (21, 50 -52). وقد تنحل الكروموسومات الشاردة والشظايا في السيتوبلازم أحيانا أو أنها تتجمع تدريجيا وقد تحاط بغلاف نووي لتكون نواة صغرى (43). من جهة ثانية فان تسجيل النوى الصغرى في خلايا الطور البيني قد اظهر أن هذا المؤشر لا يعطي معلومات عن الفعل الكلاستوجيني أكثر من الشذوذ الكروموسومي في خلايا الطور الانفصالي- النهائي (53). وكاستنتاج يمثل اختبار الشذوذ الكروموسومي في الأنظمة النباتية تقنية بسيطة وواقعية لتعيين السمية الوراثية للمبيدات (9). وتشير أيضا إلى أهمية اختبار القدرة التطفيرية للمواد الكيميائية التطبيقية مثل المبيدات قبل الاستعمال.

المصادر:

1- Pandy R. K., Shukla R. and data S. (1994) Chromotoxic effects of one fungicide (Ditban M-45) and two insecticides (Aldrex- 30 and Metacid- 50). Cytologia, 59: 419-422.

2- Grant W. F. (1994)The present status of higher plant bioassays for detection of environmental mutagens. Mutation Research, 310: 175- 185.

3- Rank J. and Nielsen M.H. (1997) Allium cepa anaphasetelophase root tip chromosome aberration assay on NmethylNitrosourea, Malleic hydrazide, sodium azide, and ethylmethanesulfonate. Mutation research, 3909: 121-127.

4- Chauhan L.K.S. Saxena P.N. and Gupta S.K. (1999) Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of Allium cepa. Environmental and Experimental Botany, 42: 181-189.

5- Ateeq B. Farah M.A. Ali M.N. and Ahmad W. (2002) Clastogenicity of pentachlorophenol, 2, 4D and butachlor evaluated by Allium root tip test. Mutation Research, 514: 105-113.

6- Yuzbasioglo D. Unal F. Sancak C. and Kasap R. (2003) Cytological effects of the herbicide racer “flurochloridone” on Allium cepa. Caryologia, 56: 97-105.

7- Bolle P. Mastrangelo S. Tucci P. and Evandari M.G. (2004) Clastogenicity of atrazine assessed with the Allium cepa test. Environmental and Molecular Mutagenesis, 43: 137-141.

8- Marcano L. Carruuyo I. Del Campo A. and Monttel X. (2004) Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of Allium cepa L., Environmental Research, 334: 185-195.

9- Chandra S. Shauhan L.K.S. Murthy R.C. Saxena P.N. Pande P.N. and Gupta S.K. (2005) Comparative biomonitoring of leacbates from hazardous solid waste of two industries using Allium cepa. Science of Total Environment, 347: 4652.

10- Kayamak F. and Muranli F.D. (2005) The cytogenetic effects of avenoxan on Allium cepa and its relation with pollen sterility. Acta Biologica Hungarica, 56: 313-321.

11- Mastrangelo S. Tomassetti M. Carratu M.R. Evandri M.G. and Bolle P. (2006) Quercetin reduces chromosome aberrations induced by atrazine in the Allium cepa test. Environmental and Molecular Mutagenesis, 47: 254-259.

12- Liu D. Jiang W. and Li M. (1992) Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell divison of Allium cepa. Hereditas, 117: 23-29.

13-SamakaKingel V. Stegnar P. Lovka M. and Toman M.J. (1996) The evaluation of wast, surface and ground water quality using the Allium test procedur, Mutation Research, 368: 171-179.

14- Natarajan A.T. (2002) Chromosome aberrations: Past, present and future. Mutation Research, 504: 3-16.

15- Sharma C.B.S.R. (1983) Plant meristems as monitors of genetic toxicity of environmental chemicals. Current Sciece, 52: 1000-1002.

16- Evans H.J. Meary G.J. and Tomkinson S.N. (1957) The use of colchicines as an indicator of mitoticrate in broad bean root meristem. Journal of Genetics, 55: 487-502.

17- Feskeesjo G. (1985) The Allium test as astandard invironmental monitoring. Hereditas, 102: 99-112.

18- Hidalgo A. Gonzalez-Reyes J.A. Navas P. and Garcia-Herdugo G. (1989) Abnormal mitosis and growth inhibition in Allium cepa roots induced by propham and chloroprophan. Cytobios, 57: 7-14.

19- Ma T.H. Xu Z.D. Xu C. McConnell Rabago E.V. Arreola G.A. and Zhang H. (1995) The improved Allium / Vicia root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. Mutation Research, 334: 185-195.
20- Linnainmaa K. Meretoja T. Sorsa M. and Vainto H. (1978) Cytogenetic effects of styrene oxide. Mutation Research, 58: 277-286.
21- Nadi S. (1985) Studies on the cytogenetic effect of some mercuric fungicides. Cytologia, 50: 921-926.
22-Rank J. Lopez L.C. Nielsen M.H. and Moretton J. (2002) Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEPH in Allium cepa root cells perfomed by two different laboratories. Hereditas, 136: 13-18.
23- SmakaKincl V. Stegnar P. Lovka M. and Toman M.J. (1996) the evaluation of waste, surface and ground water quality using the Allium test procedure. Mutation Research, 368: 171-179.
24- Antonsiewicz D. (1990) Analysis of the cell cycle in the root meristem of Allium cepa under the influence of Ledkrin. Folia Histochemica et Cytobiologica, 28: 79-96.
25- Panda B.B. and Sahu U.K. (1985) Induction of abnormal spindle function and cytokinesis inhibition in mitotic cells of Allium cepa by the organophosphorus insecticide fensulfotion. cCytobios, 42: 147-155.
26- Badr A. (1986) Effect of the s-triazine herbicide terbutryn on mitosis chromosomes and nucleic acids in root tips of Vicia faba. Cytologia, 51: 571-578.
27- Badr n. and Ibrahim A.G. (1987) Effect of herbicide glean on mitosis chromosomes and nucleic acids in Allium cepa and vicia faba root meristems. Cytologia, 52: 293-302.
28- ElGhamery A.A. ElNahas A.I. and Mansour M.M. (2000) The action of atrazine herbicide as an inhibitor of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of Allium cepa and vicia faba. Cytologia, 55: 209-215.
29- Webester P.L. and Davidson D. (1969) Changes in the duration of the mitotic cycle induced by colchicines and indolzylacetic acid in Vicia faba roots. Journal of Experimental Botany, 20: 671-685.
30-Van' Hoff J. (1968) The action of IAA and kinetin on the mitotic cycle of proliferative and stationary phase excised root meristems. Experimental Cell Research, 51: 167-176.
31- Chauhan L.K.S. Dikshith T.S.S. Sundarraman V (1986) effect of deltamethrin on plant cells. cytological effects of deltamethrin on the root meristem cells of Allium cepa. Mutation Research, 171: 23-30.
32- Epel D. (1963) the effect of carbon mono oxide inhibition on ATP level and the rate of mitosis in the sea urchin eggs . Journal of Cell Biology, 17: 315-317.
33- Jain A.K. and Sarbhoy R.K. (1987) Cytogenetical studies on the effect of some chlorinated pesticides. I. Effect on somatic chromosomes of Lens and pisum. Cytologia, 52: 47-53.
34- darlington C.D. and Mc-Leish L. (1951) Action of maleic hydrazide on the cell. Nature, 167: 407-408.
35- Osterberg R. Persson D. and Bjursell G. (1984) The condensation of DNA by chromium (III) ions. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2: 285-290.
36- Chauhan L.K.S. Saxena P.N. Sundararaman V. and Gupta S.K. (1998) Diuron induced cytological and ultrstructural alterations in the root meristem cells of Allium cepa. Pesticide Biochemistry and Physiology, 62:152-163.
37- Patel B.C. And Bhat T.G.I. (1992) Acomparative study of MH and EMS in induction of chromosomal aberrations on lateral root meristem in Clitorin termata L. Cytologia, 57: 259-264.
38- Kabarity A. El-Bayyoumi A.S. and Habib A.A. (1974) effect of morphine sulphate on mitosis of Allium cepa root tips. Biologia Plantarum, 16: 275-282.
39- Badr A. Ghareeb A. and El- Din H.M. (1992) Cytotoxicity of some pesticides in mitotic cells of V. faba roots. Egyptian Journal of Applied Sciences, 7: 457-468.
40- SinhaU. (1979) Cytomorphological and macromolecular changes induced by p- flurophenylalanine in Allium cepa and Triticale. Journal of Cytologia and Genetics, 14: 198.
41- Bennet M.D. (1977) heterochromatin, aberrant endosperm nuclei and grain shriveling in wheat-rye genotypes. Heredity, 39: 411-419.
42- Kaltsikes P.J.(1984) Breeding vegetable varieties resistant to diseases. Proc. 3rd Meeting on Protected Vegetables and Flowers, May 911, Heraklion, Crete, p. 60. Abstract.
43- ElGhamery A.A. ElKholy M.A. and El Yousser A. (2003) Evaluation of cytological effects of Zn2+ in relation to germination and root growth of Nigella sativa L. and triticum aestivum L. Mutation Research, 537: 2941.
44- levan A. (1938) the effect of cholchicinon root mitosis in Allium. Hereditas, 24: 471-486.
45- Saxena P.N. Chauhan L.K.S. and Gupta S.K. (2005) Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of Allium sativum: Spectroscopic basis of chromosome damage. Toxicology, 216: 244-252.
46- Chauhan L.K.S. saxena P.N. and Gupta S.K. (1999) cytological effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of Allium cepa. Environmental and Experimental Botany, 42: 181-189.
47- Amin A. (2002) Cytotoxicity testing of sewage water treatment using Allium cepa chromosome aberrations assay, Pakistan journal of biological Sciences, 5: 1184-1188.
48- ateeq B. Farah M.A. and Ahmad W. (2002) clastogenicity of pentchlorophenol, 2, 4D and butachlor evaluated by Allium cepa tip test. Mutation research, 514: 105-113.
49- Chandra S. Shauhan L.K.S. Murthy R.C. Saxena P.N. pande P.N. and gupta S.K. (2005) Comparative biomonitoring of lachates from hazardous solid waste of two industries using Allium cepa. Science of total environment, 347:4652.
50- Dash S. panda K.K. AND Panda B.B. (1988) biomonitoring of low levels of mercurial derivatives in water and soil by Allium micronucleus assay. Mutation Research, 203: 1121.
51- Grover I.S. and Kaur S. (1999) genotoxicity of waste water samples from sewage and industrial effluent detected by the Allium cepa root anaphase aberration and micronucleus assays. Mutatin research, 426: 183-188.

52- Yi H. and Meng Z. (2003) Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of Allium sativum and vicia faba. Mutation Research, 537: 109-124.
53- Rank J. and Nielsen M.H. (1997) Allium cepa anaphase –telophase root tip chromosome aberration assay on N methyl N nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate, mutation Research, 390: 121-127.

Test of geuotoxicity of herbicid paraquat using Chromosome aberration in anaphase- telophase in Alium cepa

Wajdi Sabeeh Sadek
Department of Biology , College of Science ,University of Tikrit , Tikrit , Iraq
(Received 19 / 11 / 2009 , Accepted 9 / 12 /2009)

Abstract
Genotoxic effects was evaluated for the herbicide Paraquat in the meristem cells of Allium cepa. The value of EC50 was determined in the root growth test. Experiments was conducted for the concentrations (EC50/2), (EC50) and (EC50× 2) at 24, 48, 72 and 96 h with control for each group. Mitotic index were reduced with herbicide concentration at any time of exposure. The percentage of Sickness, bridges, vagrant chromosomes, c- anaphase, multipolarity, and fragments in anaphase- telophase cells according to the total cells with chromosome aberration scored was 38.87, 28.48, 16.67, 14.10, 1.60, and 0.64% respectively. Chromosome aberration increased with paraquat concentratin. Cells with micronuclei was observed at interphase cells. The higher frequency of micronuclei was at the concentration 5ppm of paraquat compared with other tested concentrations.