تاثير المستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز *Musa paradisiaca* في الانقسام المايتوزي في خلايا النبات واللبائن

ندى عبد المجيد الأنصاري* نهلة رشيد النجار** رشا كريم محمد السعدي **

تاريخ قبول النشر 15 /12 /2009

الخلاصة:

اختبر تاثير المستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز على الانقسام المايتوزي في النبات واللبائن باستخدام اختبار القمة النامية لجذور البصل *Allium cepa* و خلايا نخاع العظم في الفأر الابيض *Mus musculus* . عوملت جذور البصل لمدة اربعة ساعات بخمسة تراكيز من المستخلص (5 ، 10 ، 20 ، 40 ، 60 ملغم \ مل) ، توقف الطور الاستوائي في جميع المعاملات ، سجلت النسبة الاعلى (100 %) في التركيز الاول ، التركيز الاخير سبب لزوجة وتكتل الكروموسومات . لم تسبب المعاملات اختلاف معنوي في دليل الانقسام . قورن مستخلص الغلاف بتركيز 5 ملغم \ مل مع مستخلصات لب الثمرة ، اوراق وجذور نبات الموز ، وجد ان مستخلص الغلاف كان الاكثر فعالية وفقا لنسبة الطور الاستوائي المتوقف في خلايا جذور البصل . حقنت الفئران البيض *Mus musculus* عن طريق غشاء الخلب بمستخلص غلاف الثمرة (0.01 ، 0.02 ، 0.04، 0.06 ، 0.08 ملغم \ غم وزن الجسم) ، كانت نسب الطور الاستوائي مقاربة للنسب التي سجلت عند حقن الفئران مادة الكولجسين (0.01 ملغم \ غم) . بينت الدراسة الفعالية المضادة للانقسام المايتوزي للمستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز في خلايا النبات والحيوان في الجسم الحي . هذه الفعالية تدل على احتمال الحصول على نتائج ايجابية في الدراسات التي سيتم فيها اختبار الفعالية المضادة للخلايا السرطانية في الزجاج in vitro وفي الجسم الحي in vivo .

الكلمات المفتاحية : الفعالية المضادة للانقسام ، الطور الاستوائي المتوقف ، غلاف ثمرة الموز ، المستخلص المائي ، *Allium cepa* ، *Mus musculus* .

المقدمة:

تحتوي النباتات على عدد من المركبات phytochemicals التي تستخدم في معالجة الأمراض التي يصاب بها الإنسان ومنها مرض السرطان او تساعد في الوقاية من السرطان وتعزيز الجهاز المناعي . وعرفت انواع من مركبات الفينولphenolic compounds بفعاليتها المتنوعة فهي مضادة للحساسية ، مضادة للأكسدة ، مضادة للفيروسات والخلايا السرطانية [1 ، 2] ، وعدت فعالية مركبات الكومارين ومشتقاتها المضادة للنبيبات الدقيقة Mirotubules سببا في تاثيرها المضاد للانقسام المايتوزي Antimititic [3 ، 4]. تعد ثمار نبات الموز Banana *Musa paradisiaca* مصدر غذائي جيد لعدد من الفيتاميات والمعادن [5، 6، 7] والكاروتين [8 ، 9] ، كذلك تعد مصدرا لمضادات الأكسدة الطبيعية natural antioxidants [10]، لاحتوائها على مركبات فينولية نوع Catechins و Gallic acid [11،12]. المستحضر الحيوي Cell Quest الذي يحتوي على مستخلص الموز ونسبة عالية من التانين اظهر تاثيرا مضادا لبعض خطوط الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي in vitro وعزي ذلك الى فعالية حامض التانيك في تثبيط نشاط الجسيمات البروتينية proteasomal activity والحث على موت الخلية [13] . توجد المركبات الفينولية ايضا في غلاف الثمرة Fruits peal وأجزاء النبات الأخرى ، إذ وجد أن للمستخلص المائي للغلاف فعالية مضادة للأكسدة والبكتريا [14] والطحالب [15].

هدفت هذه الدراسة إلى اختبار تأثير المستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز في الانقسام المايتوزي Antimitotic activity باستخدام اختبار خلايا القمة النامية لجذور البصل *Allium cepa* ، و خلايا نخاع العظم في فئران المختبر *Mus musculus* . حيث تستخدم هذه الاختبارات للكشف عن التأثير المضاد للانقسام والسمية الخلوية Cytotoxity للمواد المدروسة [16، 17] .

المواد وطرائق العمل

المستخلص المائي :

تم تجهيز ثمار الموز من الاسواق المحلية ،و جمعت اجزاء النبات الاخرى (الاوراق والجذور)

* قسم علوم الحياة ، كلية العلوم للبنات ، جامعة بغداد
** قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة بغداد

من اشجار الموز في الحديقة المنزلية . اخذت نماذج من غلاف الثمرة واللب والاوراق والجذور وقطعت الى قطع صغيرة واضيف لكل منها الماء المقطر بنسبة غم وزن / مل حجم ، وضعت في الخلاط الكهربائي لمدة 5 – 10 دقاقق ، ثم نقل الخليط الى قناني زجاجية ووضعت في الجهاز الهزاز لمدة ساعة ،بعدها رشح المزيج باستخدام قطعة شاش واهمل الراسب. وضع الرائق في اطباق زجاجية في الحاضنة بدرجة حرارة 37 لمدة 48 ساعة لغرض التجفيف ، ثم حضرت منه التراكيز المستخدمة في الاختبارات باستخدام الماء المقطر .

اختبار انقسام خلايا القمة النامية في جذور البصل *Allium cepa* :

استخدم هذا الاختبار للتعرف على تاثير المستخلص المائي لغلاف الثمرة على الانقسام الخلوي في النبات ، وكذلك لمقارنة فعالية مستخلص غلاف الثمرة مع مستخلصات لب الثمرة و الاوراق والجذور . حضر ت التراكيز الاتية من مستخلص غلاف الثمرة باستخدام الماء المقطر : 5 ، 10، 20 ، 40 ، 60 ملغم / مل. وحضرت مستخلصات لب الثمرة والاوراق والجذور بتركيز 5 ملغم \مل .

جهزت الابصال من السوق المحلي ، غسلت وقشطت الطبقة الجافة في القرص القاعدي ، ثم وضعت في قناني زجاجية فيها ماء لحين نمو الجذور الى طول 1 – 2 سم . قطعت الجذور ونقلت الى قناني زجاجية تحتوي على التراكيز المستخدمة من المستخلص لمدة اربع ساعات . لكل معاملة ثلاث مكررات ، وكذلك ثلاث مكررات للسيطرة التي نقلت فيها الجذور الى ماء مقطر . بعد انتهاء المعاملة نقلت الجذور الى المحلول المثبت (3 حجم كحول اثيلي مطلق : 1 حجم حامض الخليك الثلجي)، لمدة 5 – 24 ساعة ، بعدهاغسلت بالماء المقطر ثم جففت بورق ترشيح ووضعت في قناني زجاجية تحتوي على 1N HCl في فرن كهربائي بدرجة حرارة 60 م°. استخدمت صبغة الاسيتو الكارمين وحضرت الشرائح بطريقة الهرس المؤقت Squash method [18] . استخدم المجهر الضوئي ، فحصت 1000 خلية لكل مكرر من المعاملة والسيطرة . تم تقدير دليل الانقسام ودليل الطور [19] والنسبة المئوية للحالات الشاذة في كل طور .

اختبار انقسام خلايا نخاع العظم في الفئران البيض *Mus musculus* :

استخدم هذا الاختبار للتعرف على تاثير مستخلص غلاف الثمرة في الانقسام الخلوي في الحيوان ، ولمقارنة فعاليته بمادة الكولجسين colchicine .

جهزت ذكور الفئران البيض *Mus musculus* الضرب Balb/c من قبل المركز الوطني للرقابة الدوائية في وزارة الصحة ،تراوح عمر الفئران بين 6 – 8 اسبوع ، وكان متوسط وزنها 25 ± 2 غم . حقنت الفئران عن طريق غشاء الخلب Intraperitonial injection بالماء المقطر حجم 0.25 مل الحاوي على مستخلص غلاف الثمرة بالنسب الوزنية الاتية :- 0.01 ، 0.02 ، 0.04 ، 0.06 و 0.08 ملغم \غم وزن الجسم . أما حيوانات السيطرة فقد حقنت بمادة الكولجسين (0.01 ملغم/ غم وزن الجسم)، استخدمت ثلاثة مكررات لكل معاملة وللسيطرة . ,بعد مرور ساعتين تم تضحية الحيوانات بطريقة فصل النخاع ألشوكي من العنق ؛ شرحت مباشرة ، و حضرت خلايا نقي العظم Bone marrow حسب الطريقة المعتمدة في اللبائن (20) قدر معامل الانقسام الخيطي بدلالة الخلايا المتوقفة في الطور الاستوائي .

قورنت النتائج في كلا الاختبارين باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود MRT [21] ، والنسبة المئوية من السيطرة.

النتائج والمناقشة:

النتائج:

تأثير المستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز في الانقسام الخلوي في القمة النامية لجذور البصل :

دليل الانقسام Mitotic index

تراوح دليل الانقسام في الجذور المعاملة لمدة أربع ساعات بالتراكيز : 5، 10 ، 20 ، 40 ، 60 ملغم \ مل من المستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز بين 5.4 و 9.9 ، ولم يكن الفرق عن دليل الانقسام في السيطرة (7.0) معنويا (جدول 1- أ) . تقدير النسبة المئوية من السيطرة لدليل الانقسام في الجذور المعاملة (جدول 1 – ب) بينت انخفاض دليل الانقسام في الجذور المعاملة بالتراكيز 5 ، 10 ، 20 ملغم \ مل الى 90 ، 77.1 ، 88.6 % من السيطرة على التوالي، ثم صار مقاربا للسيطرة (111.4 %) في االتركيز 40 ملغم \ مل وارتفع إلى 141.4 % من السيطرة في التركيز 60 ملغم \ مل . تبين هذه النسب ان دليل الانقسام في الجذور المعاملة بهذه التراكيز من المستخلص لم ينخفض الى 50% من السيطرة وكذلك لم يزد عن السيطرة بمقدار 50% .

أطوار الانقسام

الطور التمهيدي Prophase

كان متوسط دليل الطور التمهيدي في خلايا جذور السيطرة (52.83) وتراوح في خلايا جذور المعاملة بين 41.60 و72.40 (جدول1- أ). انخفضت النسبة المئوية من السيطرة إلى 78.7% و87.1% على التوالي عند التركيزين (5 , 10) ملغم / مل، ثم ارتفعت إلى 113.6 % , 137.6% , 105.4% على االتوالي) في التراكيز (60,40,20) ملغم / مل (جدول 1- ب) .

الطور الاستوائي Metaphase

كان متوسط دليل الطور الاستوائي في جذور السيطرة 25.63، أما في الجذور المعاملة فقد تراوح بين 16.97 و46.77 . ارتفعت النسبة المئوية من السيطرة لهذا الطور في خلايا الجذور المعاملة بالتراكيز 5 , 10 ملغم/مل إلى 182.4% و178.5% على التوالي (جدول1- ب) ؛ وذلك لتوقف الخلايا في الطور الاستوائي (شكل – 1أ) بنسبة 100 % و98.6 % على التوالي عند المعاملة بهذين التركيزيين (جدول 1–أ) . أما عند المعاملة بالتراكيز 20 ، 40 ، 60 ملغم/ مل فكانت نسبة هذا الطور 88.8 %, 66.1 % و98.8% من السيطرة على التوالي. تاثرت نسبة الخلايا في هذا الطور بنسب الخلايا في الطور التمهيدي . كانت نسبة الطور الاستوائي المتوقف في هذه التراكيز 80 ، 91 و 11.01 % ، انخفاض النسبة المسجلة في التركيز الاخير يعزى الى عدم القدرة على تمييز حالة الطور الاستوائي المتوقف بسبب تميع الكروموسومات وتكتلها لذا وصف الطور بالاستوائي المتميع Sticky metaphase ، وكانت نسبته 20.00% و88.93% عند التركيزين 20 و60 ملغم \مل على التوالي .

الطور الانفصالي Anaphase

كان متوسط دليل الطور الانفصالي في خلايا جذور السيطرة 16.80 وتراوح بين 0.80 و 9.40 في الجذور المعاملة بالتراكيز المستعملة (جدول 1-أ)، انخفضت النسبة المئوية من السيطرة إلى أقل من 60 % في جميع التراكيز المستعملة (25 %, 4.8 %, 56.0 %, 16.07 %, 15.3 % على التوالي) (جدول1-ب). شوهدت حالة الجسور Bridges في جميع التراكيز باستثناء التركيز الأول (5 ملغم/مل) ، و تراوحت نسبتها في هذا الطور والطور النهائي بين 6.67 % و 66.67 % . ذكر في دراسة سابقة (22) أن نسبة الجسور في الطور الانفصالي في خلايا جذور البصل المعاملة بمادة الفينول تزداد أيضا عند استخدام التراكيز العالية .. يعزى تكون الجسور الكروموسومية في الانقسام الميتوزي إلى تميع ولزوجة الكروموسومات او الى تاثير المواد المستخدمة في تركيب او وظيفة البروتينات اللازمة لفصل الكروماتيدات [23].

الطور النهائي Telophase

كان متوسط دليل الطور النهائي في خلايا جذور السيطرة 4.63 ، وتراوح بين 7.23 و 16.17 في خلايا الجذور المعاملة بالتراكيز المستعملة (جدول 1-أ). ارتفعت النسبة المئوية من السيطرة في جميع التراكيز المستخدمة وكانت 156.2 % , 159.8 % ,166.3% ,166.3% و349.2% على التوالي (جدول 1-ب). زادت النسبة من السيطرة عن ثلاثة اضعاف عند التركيز 60 ملغم \ مل، والتي قد تكون السبب في زيادة دليل الانقسام الى 141.4 من السيطرة عند هذا التركيز . قد تكون الخلايا احتبست في هذا الطور بسبب تميع ولزوجة الكروموسومات ولكن زادت النسب من السيطرة الى اكثر من 150 % في التراكيز التي لم يسجل فيها حالة تميع ولزوجة الكروموسومات . شوهدت الجسور في هذا الطور ايضا وكذلك حالة الانحراف في الأقطاب (شكل – 1ب) في جميع التراكيز المستعملة ، وتراوحت نسبها بين 7.40 % و46.50 % .

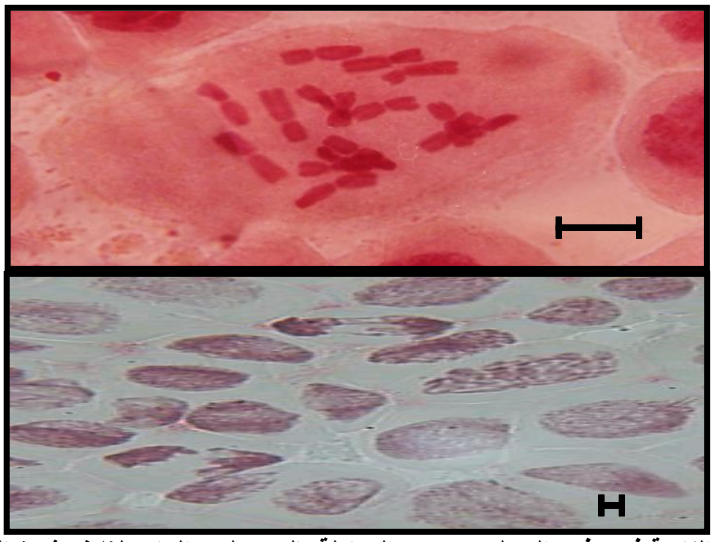
جدول (1 _ أ) : دليل الانقسام المايتوزري ودليل الأطوار و نسب الحالات الشاذة في خلايا جذور البصل *A.cepa* المعاملة بخمسة تراكيز من المستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز لمدة أربع ساعات.

التركيز ملغم/مل	دليل الانقسام	دليل أطوار الانقسام				الحالات الشاذة			
		التمهيدي	الاستوائي	الانفصالي	النهائي	الطور الاستوائي		الطور الانفصالي والنهائي	
						المتوقف	المتميع	جسور	انحراف الاقطاب
السيطرة	*a7.0±0.6	52.83	25.63	16.80	4.63	0.00	0.00	0.00	0.00
5	a6.3±0.5	41.60	46.76	4.20	7.23	100	0.00	0.00	7.40
10	a5.4±1.5	46.00	45.74	0.80	7.40	98.60	0.00	33.33	15.27
20	a6.2±3.1	60.03	22.77	9.40	7.70	80.00	20.00	57.23	41.67
40	a7.8±1.8	72.40	16.97	2.70	7.70	91.00	0.00	6.67	46.50
60	a9.9±1.2	55.70	25.33	2.57	16.17	11.01	88.93	66.67	37.67

* الحروف المتشابهة في العمود الواحد تدل على عدم وجود فرق معنوي

جدول (1-ب) : النسبة المئوية من السيطرة لدليل الانقسام المايتوزي ودليل أطوار الانقسام في خلايا جذور البصل المعاملة بالمستخلص المائي الخام لغلاف ثمرة الموز لمدة أربع ساعات .

التركيز ملغم/مل	دليل الانقسام %	دليل أطوار الانقسام %			
		التمهيدي	الاستوائي	الانفصالي	النهائي
5	90	78.7	182.4	25.0	156.2
10	77.1	87.1	178.5	4.8	159.8
20	88.6	113.6	88.8	56.0	166.3
40	111.4	137.0	66.2	16.1	166.3
60	141.4	105.4	98.8	15.3	349.2



شكل (1) خلايا القمم النامية في جذور البصل *A.cepa* المعاملة بالمستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز بتركيز 5 ملغم / مل: أ- خلية متوقفة في الطور الاستوائي، ب- الجسور وانحراف الاقطاب في الطور النهائي ، قطعة المستقيم تمثل 5 مايكروميتر .

تأثير مستخلصات أجزاء نبات الموز في انقسام خلايا القمة النامية في جذور البصل :

عوملت جذور البصل لمدة أربع ساعات بالمستخلص المائي لكل من غلاف الثمرة ولب الثمرة والأوراق والجذور بتركيز 5 ملغم \ مل و حيث تبين في الاختبار الأول أن المعاملة بهذا التركيز من مستخلص غلاف الثمرة أدت إلى توقف الخلايا في الطور الاستوائي بنسبة 100 % ، ولم تسبب تميع الكروموسومات ولزوجتها . كان متوسط دليل الانقسام في السيطرة لهذا الاختبار 5.5 ، لم يختلف عنه بفرق معنوي دليل الانقسام في الجذور المعاملة بالمستخلصات المذكورة (جدول 2- أ) . لكن انخفض دليل الانقسام في جذور البصل المعاملة بمستخلص جذور نبات الموز (3.8) بفرق معنوي عن دليل الانقسام في الجذور المعاملة بمستخلص الغلاف (7.1) . بلغ دليل الانقسام عند المعاملة بمستخلص الغلاف 129.1 % من السيطرة، وقارب السيطرة عند المعاملة بكل من مستخلص اللب والأوراق (101.8 % و 94.5 % من السيطرة على التوالي) . المعاملة بمستخلص جذور نبات الموز أدت إلى انخفاض دليل الانقسام إلى 69 % من السيطرة جدول (2 – ب). جميع التراكيز أدت إلى إيقاف الطور الاستوائي لكن بنسب مختلفة ، بلغت نسبة الخلايا في الطور الاستوائي المتوقف عند المعاملة بمستخلص الغلاف 100 % ، وانخفضت بفرق كبير عند المعاملة بالمستخلصات الأخرى (48.0 ، 29.3 و 23.6 % على التوالي) أثرت هذه النسب في دليل الطور الاستوائي فارتفعت نسبة الطور الاستوائي عند المعاملة بمستخلص غلاف الثمرة إلى 167 % من السيطرة ، وزادت قليلا عن السيطرة عند المعاملة بمستخلص الاوراق والجذور (120.5 و 113.5 % من السيطرة على التوالي)، وانخفضت عند المعاملة بمستخلص اللب الى88,8% من السيطرة وقد يعزى ذلك إلى زيادة نسبة الخلايا في الطور التمهيدي إلى 123.7 % من السيطرة . انخفضت نسبة الطور الانفصالي في جميع المعاملات عن السيطرة وكذلك نسبة الطور النهائي باستثناء المعاملة بمستخلص الجذور فكانت نسبته مقاربة للسيطرة (101.8 % من السيطرة) ، لوحظ تكون الجسور في الطور الانفصالي والنهائي فقط عند المعاملة بمستخلص الغلاف بنسبة 29.5% ولم تشاهد في المعاملات الاخرى. تبين هذه المقارنة ان مستخلص غلاف الموز هو الافضل وفقا لقدرته على ايقاف الخلايا في الطور الاستوائي .

جدول (2- أ) : متوسط دليل الانقسام المايتوزي ودليل الأطوار ونسب الحالات الشاذة في خلايا جذور البصل *A.cepa* المعاملة بالمستخلصات المائية للأجزاء المختلفة من نبات الموز وبالتركيز 5 ملغم/مل لمدة أربع ساعات .

الجزء النباتي	دليل الانقسام	دليل أطوار الانقسام				الحالات الشاذة	
		التمهيدي	الاستوائي	الانفصالي	النهائي	طور استوائي متوقف	جسور في الطور الانفصالي والنهائي
السيطرة	ab 5.5	57.6	17.0	8.5	16.6	0.00	0.00
غلاف الثمرة	a 7.1	53.5	28.4	3.5	14.3	100	29.5
لب الثمرة	ab 5.7	71.3	15.1	6.3	7.0	48.0	0.00
الأوراق	ab 5.2	60.4	20.5	5.5	13.3	29.3	0.00
الجذور	b 3.8	60.8	19.3	2.7	16.9	23.6	0.00

*(الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية عند المستوى P=0.05)

جدول(2 - ب) : النسبة المئوية من السيطرة لدليل الانقسام المايتوزي ودليل أطوار الانقسام في خلايا جذور البصل المعاملة بالمستخلصات المائية للأجزاء المختلفة من نبات الموز وبالتركيز 5 ملغم/مل لمدة أربع ساعات .

الجزء النباتي	دليل الانقسام	دليل أطوار الانقسام			
		التمهيدي	الاستوائي	الانفصالي	النهائي
الغلاف	129.6	92.8	167.0	41.1	86.1
اللب	101.8	123.7	88.8	74.1	42.1
الأوراق	94.5	104.8	120.5	64.7	80.1
الجذور	69.0	105.5	113.5	31.7	101.8

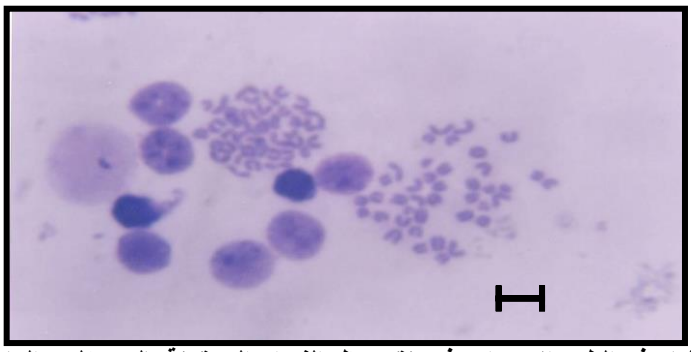
تأثير المستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز في انقسام خلايا نقي عظم الفئران البيض *Mus musculus*

أدى حقن الفئران المختبرية البيض *Mus musculus* من الضرب Balb / C عن طريق غشاء الخلب Intraperitonial injection بـمستخلص غلاف ثمار الموز (0.01 ، 0.02 ،0.04 ، 0.06 ، 0.08 ملغم/غم وزن الجسم) الى توقف خلايا نقي العظم في الطور الاستوائي(شكل 2)، بنسب 3.24 ، 2.70 ، 2.47 ، 4.07 ، 3.43 على التوالي (جدول 2) . لم تختلف النسب المسجلة في الجرع المستخدمة بفرق معنوي عن بعضها وكذلك عن النسبة المسجلة (3.35) في حيوانات السيطرة التي حقنت بالكولجسين (0.01 ملغم \ غم وزن الجسم). مقارنة تاثير الجرع باعتماد النسبة المئوية من السيطرة بينت ان نسبة الخلايا المتوقفة في الجرع 0.01 ، 0.02 و 0.04 ملغم/كلغم بلغت 96.7 % , 80.6 %, 73.7 % من السيطرة على التوالي ، وزادت عن ذلك عند المعاملة بالجرع 0.06 و 0.08 ملغم/كلغم إلى 121.5 و 102.4% من السيطرة على التوالي.

جدول 3 : نسبة خلايا نقي عظم الفئران في الطور الاستوائي المتوقف عند حقنها بالمستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز والنسبة المئوية من السيطرة المعاملة بالكولجسين

المادة	التركيز ملغم\غم	متوسط دليل الطور الاستوائي المتوقف	% من السيطرة
كولجسين (السيطرة)	0.01	a 3.35	-
مستخلص غلاف ثمرة الموز	0.01	a3.24	96.7
	0.02	a2.70	80.6
	0.04	a 2.47	73.7
	0.06	a 4.07	121.5
	0.08	a 3.43	102.4

* الحروف المتشابهة في العمود الواحد تدل على عدم وجود فرق معنوي عند مستوى P=0.05



شكل (2) خليتان متوقفتان في الطور الاستوائي في نقي عظم الفئران المحقونة بالمستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز . قطعة المستقيم تمثل 5 مايكروميتر

المناقشــة:

بينت نتائج هذه الدراسة فعالية المستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز التي سببت ايقاف الطور الاستوائي في الانقسام المايتوزي في خلايا القمة النامية في جذور البصل و خلايا نخاع العظم . توقف الطور الاستوائي arrested Metaphase يدل على ان المركبات المستخدمة لها فعالية مضادة للنبيبات الدقيقة التي تكون خيوط المغزل فتفشل الكروموسومات من اكتمال اصطفافها في الصفيحة الاستوائية [24 ، 25] ، انحراف الاقطاب الذي سجل بنسب واطئة في الطورين الانفصالي والنهائي يعزى ايضا الى التاثير في النبيبات الدقيقة التي تسهم في تكوين الهيكل الخلوي والجسيمات المركزية centrosomes [25 ، 26] ، زيادة النسبة المئوية من السيطرة للخلايا في الطور النهائي في الجذور المعاملة بالمستخلص قد تكون بسبب صغر عدد الخلايا المسجلة في هذا الطور فالاضافات الى الاعداد الصغيرة وان كانت قليلة تسبب زيادة اكبر في النسبة المئوية ، وقد يعزى ذلك الى المواد المضادة للنبيبات الدقيقة التي وجد انها تؤثر في غلاف النواة أو الطبقة المبطنة Nuclear lamina [27]، ووجد إن البروتين المسمى Antheridial chromatin (ACCF) condensation factor المعزول من الطحلب

Chara tomentosa يسبب تقليص مدة الطور التمهيدي و زيادة مدة الطور النهائي[28].
دراسة الانقسام الخلوي في جذور البصل تظهر كل من دليل الانقسام ودليل الاطوار بذلك تتيح الفرصة للتفسير الاولي لطبيعة تاثير المواد المدروسة وعن المرحلة التي تؤثر فيها . التراكيز المستخدمة من المستخلص المائي لغلاف الثمرة لم تسبب انخفاض معنوي في دليل الانقسام ، قد يعزى ذلك الى احتباس الخلايا في الطور الاستوائي وفي الطور النهائي وزيادة نسبتها في هذين الطورين عن السيطرة فادى ذلك الى زيادة العدد المشاهد من الخلايا المنقسمة في الجذور المعاملة وزادت نسبتها من السيطرة قي التركيز 60 ملغم \ مل الذي سبب تميع وتكتل الكروموسومات ويدل ذلك على تاثير المستخلص عند هذه التركيز على تركيب الكروموسوم ومكوناته ، ولا يستبعد وجود تداخل بين تاثير المركبات الموجودة في المستخلص الخام واختلاف نسبته وفقا للتركيز .

مقارنة تاثيرمستخلص غلاف الثمرة عند التركيز 5 % مع تاثير مستخلص لب الثمرة والاوراق والجذور بينت انه افضل جزء من النبات لاستخلاص المركبات التي تسبب توقف الخلايا في الطور الاستوائي بنسبة 100 %. تختلف المركبات الموجودة في اجزاء النبات وفقا لموقع تكوينها وخزنها ، اذ سجل وجود اللكتينات الملزنة agglutinins في لب ثمار الموز الناضجة وعدم وجودها في انسجة الاجزاء الاخرى من النبات[29]. لم تتوفر امكانية الحصول على الثمار واجزاء النبات الاخرى لغرض المقارنة من نبات واحد، وكذلك تجهيز الثمار من السوق المحلي لايضمن ان تكون الثمار من صنف واحد او من مصدر واحد . قد تتباين كمية وفعالية المواد في المستخلص النباتي بسبب اختلاف الظروف البيئية والجغرافية التي تؤثر في الفعاليات الحيوية ونواتجها في النبات [30] . وكذلك يسبب التباين الوراثي التنوع في الصفات المظهرية وفي بعض مكونات لب ثمار الموز [9] . وقد تختلف بعض المكونات بدرجة تاثرها بكل من التباين البيئي والوراثي ، في دراسة لمكونات لب ثمار الموز من نباتات ذات تراكيب وراثية مختلفة وجد تباينا في بعض المكونات ولم يسجل في مكونات اخرى [31] . من الضروري مقارنة فعالية مستخلص غلاف ثمرة الموز من اصناف مختلفة للتعرف على مدى ثبات فعالية المكونات التي تسبب توقف الخلايا في الطور الاستوائي .

تم تشخيص طبيعة تاثير القلويدات ذات التاثير المضاد للنبيبات الدقيقة والتي استخدمت في صناعة عدد من العقاقير االشائعة المستخدمة في علاج السرطان وصنفت الى مجموعتين. المجموعة الاولى تضم قلويدات Vinca و Colchicines التي تسبب ازالة بلمرة النبيبات الدقيقة depolymerize microtubules وتفكك خيوط المغزل ، وفي التراكيز الواطئة لها فعالية مضادة لميكانيكية النبيبات بدون ان تسبب ازالة البلمرة . المجموعة الثانية تضم قلويد Paclitaxol ومشتقاته تثبط ميكانيكية النبيبات ايضا لكن بسبب ثبات النبيبات الدقيقة وتحفزيها على زيادة البلمرة و في التراكيز الواطئة تسبب فقط ثباتها. هدم النبيبات الدقيقة او تثبيط الميكانيكية التي تشمل عمليتي نمو وتقصير النبيبات يسبب منع انتقال الخلية الى الطور الانفصالي في كلا المجموعتين ، وبالتالي توقف الانقسام والتحفيز على الموت المبرمج للخلية Apoptosis [24].المركب الفينولي Combrestatins يرتبط مع النبيبات الدقيقة في موقع ارتباط الكولجسين ويسبب توقف الخلايا في الطور الاستوائي ويسبب موت الخلية [25]. وقد تكون المركبات الفينولية الموجودة في مستخلص غلاف ثمرة الموز لها نفس التاثير اذ بينت النتائج ان الاوزان من المستخلص المائي التي حقنت بها فئران المختبر سببت توقف انقسام خلايا نخاع العظم بنسب مماثلة لما حققه الكولجسين ، علما ان المستخلص المائي خام يحتوي على عدة مركبات فالوزن المستخدم لايمثل وزن المادة الفعالة . نتائج هذه الدراسة كشفت عن فعالية المستخلص المائي لغلاف ثمرة الموز المضادة للانقسام المايتوزي في النبات واللبائن ، لذا قد يكون غلاف ثمرة الموز مصدرا لتصنيع مواد بديلة عن الكولجسين الذي يستخدم لمعاملة الخلايا قبل التثبيت Prtreatment لغرض دراسة الكروموسومات [18]، وكذلك لصناعة العقاقير المضادة للسرطان والتي تعد النبيبات الدقيقة الهدف الرئيس لها ، حيث في الجسم الحي يستمر تاثيرها ليؤدي الى نتائج اخرى مثل الموت المبرمج للخلايا السرطانية و تثبيط تكوين الاوعية الدموية المرتبطة بالورم السرطاني inhibition . of angiogenis [24] . لذا سيكون الهدف في البرامج اللاحقة فصل مكونات المستخلص المائي لغلاف الموز ودراسة تاثير كل منها على حدة ، واختبار تاثيرها المضاد للسرطان في الزجاج in vitro وفي الجسم الحي in vivo .

المصادر:

1. Kandaswami, C.; Lee, L.T.; Lee, P.P.; Hwang, J.J.; Ke,F.C.; Huang,Y.T.and Lee, M.T.,2005 .The antitumer activities of flavonoids. In Vivo. 19 (5): 895 – 909.
2. Sartippour, M.R. ; Pietras,R.; Marquez –Garban, D.C., Chen ,H.-

10. Perez–Perez,E.M.; Rodriguez-Malaver,A. J. , Medina-Ramirez, N.P.G. and Davila,J.,2006. Antioxidant capacity of crude extracts from clones of Banana and Plane species. J. Med. Food, 9 (4) : 517 -523.

11. Harnly, J.M.; Doherty, R.F.; Beecher, G.R.; Holden, J.M.; Haytowitz, D.B., Bhagwat, S. and Gebhardt, S. 2006. Flavonoid content of U.S. fruits, vegetables and nuts.J.Agric.Food Chem. 54 (26): 9966 – 9977.

12. Mendez,M.V.D.C.; Foster,M.P., Rodriguez–Delgado,M.A.; Rodriguez – Rodriguez, E.M. and Romer, C.D., 2003. Content of free phenolic compounds in bananas from Tenerife (Canary islands) and Ecuador. Eur. Food Res.Technol., 217: 287 – 290.

13. Kazi, A.; Urbizu, D.A.; Kuhan, D.J.;Acebo,A.L.; Jackson,E.R.; Greenfelder, G.P.; Kumar, N.B. and Dou,Q.P., 2003. A natural musaceas extract inhibits proteasome activity and induces apoptosis selectively in human tumor and transformed, but not normal and non – transformed cells. Int. J. of Mol. Med., 12: 879 – 887.

14. Mokbel, M.S. and Hashinaga, F., 2005. Antibacteria and Antioxidant activities of Banana (Musa,AAAcv. Cavendish) fruits peel. Amer. J. Biochem. and Biotech., 1(3) : 126 – 132.

15. Chen, J; Liu,Z; Ren, G and Jiang, Y., 2004. Control of *Microcystis aeruginosa* TH01109 with batangas mandarin skin and dwarf banana peel. Water SA., 30 (2) : 279 – 282.

16. Camparoto,M.L.; Teixeira, R.O.; Mantovani,M.S. and Vicentini, V.E.P., 2002, Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. And *Bauhinia candican* Benth infusions on onion W.; Herber,D.; Henning, S.M.; Sartippour, G.; Zhang, L.; Lu, M.; Weinberg, O.; Rao, J.Y. and Brooks,M.N., 2006. The combination of green tea and tamoxifen is effective against breast cancer. Carcinogensis, 27 (12): 2424- 2433.

3. Madari, H.; Panda, D.; Wilson, L. and Jacobs, R.S., 2003. Dicoumarol: A unique microtubule stabilizing natural product that is synergistic with taxol. Cancer Res., 63: 1214 – 1220.

4. Kostova I., 2005. Synthetic and natural coumarins as cytotoxic agents. Curr. Med. Chem. – Anti – Cancer Agents, 5 (1): 29 – 46.

5. Simmonds, N.W., 1959. Bananas. Longman Pub. London, pp:466

6. Cowgill, U.M., 1981. The chemical composition of Bananas .Market basket values, 1968 -1980. Biological trace elements research, 3: 33 – 54. The Humana Press Inc.Totowa.

7. Adeyemi,O.S. and Oladiji, A.T., 2009.Compositional changes in banana (Musa ssp.) fruits during ripening. Afr.J.of Biotech., 8 (5): 858 – 859.

8. Englberger,L.; Darnton-Hill,I.; Coyne,T.; Fitzgerald, M.H. and Marks,G.C.,2003. Carotenoid-rich bananas: A potential food soyrce for alleviating vitamin A deficiency. Food and Nutrition Bulletin (The united nations University) ,24 (4) : 303- 318.

9. Amorim, E.P.; Vilarinhos, A.D.; Cohen, K.O.; Amorim, V.B.O.; Santos –Serego, J.A.dos ; Silva, S.O.e ; Pestana, K.N.; Santos, V.J. dos ; Paes, N.S.; Monte, D. C. and Reis,R.V.dos, 2009.Genetics diversity of carotenoid – rich bananas evaluated by diversity arrays technology(DArT). Genet. Mol. Biol., 32 (1): 96 – 103.

in Mitosis and induces mitotic cell death. American J of Path.,165: 1401 – 1411

26. Wendell, K.L.; Wilson, L. and Jordan, M.A., 1993. Mitotic block in HeLa cells by vinblastine: ultrastructural changes in kinetochore – microtubule attachment and in centrosomes. J.Cell Sci., 104: 261 – 274.

27. Theodoropoulos,P.A.; Polioudaki, H.; Kostaki,O.; Derdas, S.P.; Georogoulis,V.; Dargemont,C. and Georgatos, S.D., 1999. Txol affects nuclear lamina and pore complex organization and inhibitis import of karyophilic proteins into the cell nucleus. Can. Res. 59: 4625 – 4633.

28. Maszewski,J.; Maszewski, M. and Polit, J., 1999. Effects of antheridial peptides derived from Chara on cell cycle – regulated processes in human and yeast cells .Folia. Histochem. Cytobiol. 37 (3): 209- 217.

29. Peumans, W.J.; Zhang,w.; Barrem A.; Astoul, C.H.; Balint – Kurti, P.J. ; Rovira, P.; Rouge, P.; May, G. D.; Leuven, F.V.; Truffa – Bachi, P. and Van Damme, E.J.M., 2000. Fruit – specific lectins from banana and plantain. Planta, 211: 546 – 554.

30. Kämäräinen, T.; Uusitalo, J.; Jalonen J; Laine, K.and Hohtola, A.;. , 2003. Regional and habitat differences in 7 – methyljuglone content of Finnish *Drosera rotundifolia*. Phytochemistry, 63 (3) : 309 – 314.

31. Davey, M.W.; Bergh,I.V. den.; Markham, R.; Swennenm R. and Keulemans,J. , 2008. Genetic variability in Musa fruit provitamin a carotenoids, lutein and mineral micronutrient contents. Food Chem., 115 (3): 806 – 813.

root-tip and rat bone- marrow cells. Genet.and Mol. Bio., 25 (1) : 85 – 89.

17. Mustafa,Y. and Arikan, E.S., 2008. Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the *Allium cepa* anaphase – telophase chromosome aberration assay. Caryologia, 61 (1): 45– 52.

18. Sharma, A.K. and Sharma, A., 1980. Chromosome Techniques, Theory and Practice, 3rd ed., Butter Worth`s company. London, pp : 711

19. Becker,W.M.; Kleinsmith, L.J. and Hardin,J., 2003. The world of the cell, 5th ed., Benjamin Cummings Pub. Co.Inc. New York. pp: 812.

20. Allen, J.W.; Shuler, C.F.; Mendes, R.W. and Latt, S.A., 1977. A simplified techniques for in vivo analysis of sister chromatid exchange using 5 – bromodeoxy uridine tablets, Cytogent. Cell Genet. 18 (4): 231 – 237.

21. Little, T.M. and Hills, F.J., 1978. Experimentation, Design and Analysis. John Wiley and Sons, Inc. New York, pp : 350

22. El-Barghathi, M. and Asoyri, H., 2007.Effect of Phenol, Naphthol and Gibberelic acid on seed germination of Allium cepa L. (Onion). J. Science and Its Applications, 1 (1): 6 - 13.

23. Uhlmann,F., 2004. The mechanism of sister chromatid cohesion. Experimental Cell Researh, 296: 80 – 85.

24. Jordan, M.A.; and Wilson, L., 2004. Microtubules as a target for anticancer drugs. Nat.Rev. Cancer, 4: 253 – 265.

25. Kanthou,C.;Greco,O;Stratford,A.; Cook,I.; Knight,R.; Benzakour, O. and Tozer,G. , 2004.The tubulin – binding agent Combretastatin A-4-Phosphate arrest endothelial cells

Effect of the aqueous extract of Banana Fruits Peal *Musa paradisiaca* on Mitosis in Plant and Mammalian cells.

Al –Ansari,N.A.* Al-Najar,N.R.** Al-Saddi.R.K.M.**

*College of Science for Women , University of Baghdad
**College of Science , University of Baghdad

Abstract:

The aqueous extract of banana fruits peal was tested for its effect on mitosis . The root tips of *Allium cepa* were used as plant test system and the bone marrow cells of the albino mice *Mus musculus* were used as mammalians test system in vivo .Root tips of *Allium cepa* were treated for four hours with five concentrations of the extract (5 , 10 , 20 , 40 ,60 mg / ml.).The Metaphase was arrested in all the treatments , the highest percentage (100 %) was recorded in the first concentration , the last concentration caused stickiness and clumping of the chromosomes. The treatments did not cause significant difference in the mitotic index. The peals extract (5 mg /ml) was compared with the extracts of fruits bulb, leaves and roots of banana plant, it was found that the extract of fruits peal is the best considering the highest percentages of arrested Metaphase in the root tips cells. The albino mice *Mus musculus were* injected intraperitonial with the peals extract (0.01 , 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 mg / gm body weight), the percentages of arrested Metaphase in the bone marrow of these animals were comparable to the recorded percentages when the animals were injected with colchicine (0.01 mg / gm b.w.) .This study revealed the antimitotic activity of the aqueous extract of banana fruits peal on both the plant and mammalian cells in vivo. Studies will be conducted to investigate the effect of the extract and its components on the proliferation of cancer cells in vitro and in vivo.