التأثيرات الخلوية الوراثية للمبيد الحشري Lambda cyhalothrin على الخلايا المرستيمية لجذور البصل *Allium cepa L.*

*بتول علي شهاب**

تاريخ قبول النشر 2008/3/5

الخلاصة

تمت دراسة التأثير الخلوي الوراثي للمبيد الحشري Lambda cyhalothrin على الخلايا المرستمية لجذور البصل باستعمال ثلاثة تراكيزهي 5% , 7.5% , 10% ولفترات معاملة 6 ,12 , 24 ساعة. المبيد خفض معدل دليل الانقسام لجميع التراكيز معنويا عن السيطرة واظهر قابليته في زيادة طور C-metaphase في التركيز 10% بنسبة 100% وكذلك ازدياد حالات الزيغ الكروموسومي متمثلة بـ الكروموسومات المتميعة في الطورين الانفصالي والنهائي, خلايا ثنائية النواة , انويه صغيرة مما يدل تاثير المبيد على تكوين وتوزيع الالياف المغزلية .

المقدمة:

أستناداً الى مبيعات السوق في عام (1997) وجد ان حوالي 5684 مليون رطلا من المبيدات الفعالة تستعمل سنويا (1) ولقد نشرت منظمة الصحة العالمية (2) ان حوالي ثلاثة ملايين حالة اصابة بالتسمم حدثت نتيجة التعرض الى المبيدات الحشرية و حصول حوالي 220,000 حالة وفاة حيث ان الكثير من هذه المواد هي مطفرات (3) ,(4) مرتبطة بظهور حالات التسرطن (5) وان الكثير منها يؤدي الى حدوث الاعاقة (6) , ومن هذه المبيدات، المبيدات الحشرية Pyrethroid الواسعة الاستعمال في الحياة العامة حيث تستعمل لحماية الانسان و الحيوان والنبات من مجموعة كبيرة من الحشرات وهي ذات فعالية عالية ضد الحشرات حتى في الجرع القليلة (7) وان استخدام هذه المبيدات ازداد في السنوات الاخيرة بسبب سميته القليلة للكائن وكذلك قابليته المحدودة للبقاء في التربة مقارنة بالمبيدات Organo phosphate, Organo chlorine بالاضافة الى قابليته على التحلل المائي السريع (8) .

هذه المبيدات تعرف ايضاً بـ Synthetic Pyrethroid وتكون مشابهة كيميائياً الى مادة Pyrethrum الطبيعية المستخلصة من ازهار نبات *Chrysanthemum* المعروفة بفعاليتها العالية ضد الحشرات (9) بالاضافة الى كونها ذات سمية عالية جداً للاسماك والكائنات المائية الصغيرة (10)(11).

ادى أزدياد أستعمال هذه المبيدات في الاونة الاخيرة الى ظهور حالات السمية في كل من النبات، الحيوان والانسان حيث بينت الدراسات ازدياد حالات الزيغ الكروموسومي Chromosome aberration وظهور الانوية الصغيرة micronuclei formation وكذلك تبادل الكروماتيدات الشقيقة sister chromatides exchange من خلايا نقي العظم للفأر (16,15,14,13,12) وكذلك وجد ان مبيدات Pyrethroid تؤدي الى زيادة الخلل في DNA للخلايا البيضاء المحيطية في الانسان human peripheral Leucocytes(17) وكذلك الى زيادة الانوية الصغيرة في الاسماك والى زيادة الكروماتين في الكريات الحمراء Polychromatic erythrocytes في الفأر (19,18) .

أختبرت عدد من النباتات لاستعمالها كدليل للتحري عن المطفرات البيئية لان كروموسوماتها طويلة وانها تتعامل مع المطفرات بنفس الطريقة التي تتعامل بها مع خلايا اللبائن وخلايا بقية كائنات حقيقة النواة (22,21,20) ومن هذه النباتات البصل *Allium cepa.L* حيث استخدم لدراسة التأثير السمي لكثير من المواد على الكروموسومات وانقسام الخلية (23) لهذا اجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير المبيد الحشري Lambda cyhalothrin احد احدث انواع Pyrethroids على خلايا القمم النامية لجذور البصل لتقييم سميته الوراثية حيث يستوجب الاستعمال الواسع الانتشار لهذه المبيدات الى تقييم امكانية التسمم الوراثي والخلوي cytogenotoxicity لهذا المركب خاصة وان هذه المبيدات تكون بتماس مباشر ومؤثر على الكائنات ومنها الانسان.

المواد وطرق العمل:

حضر محلول قياسي من المبيد الحشري Lambda cyhalothrin ماركة تجارية (Icon) المستخدم في العراق لمكافحة الافات الحشرية الزراعية حيث تم اذابة 1.5 غم من المبيد في 250

*قسم علوم الحياة/ كلية العلوم للبنات/ جامعة بغداد

مل من الماء للحصول على 10% من المادة الفعالة ثم خفف للحصول على التركيزين 5% ,7.5% .

أستخدم البصل المحلي حيث غسلت الابصال وزرعت في قناني وبعد نمو الجذور نقلت الى قناني زجاجية حاوية على تراكيز مختلفة من المبيد 10%, 7.5%, 5% واستخدم الماء كسيطره وبعد انتهاء كل فترة من فترات المعاملة البالغة (24,12,6) ساعة غسلت الجذور وقطعت و وضعت في قناني صغيرة حاوية على محلول مثبت كارنوي (3حجوم كحول أثيلي.1 حجم حامض الخليك الثلجي) المحضر انياً ، بعدها حضرت شرائح زجاجية للقمم النامية للجذور، فحصت 1000 خلية لكل مكرر اي 3000 خلية لكل تركيز وفترات المعاملة.

حسب دليل الانقسام mitotic index (M I) ودليل الطور phase index ودليل الحالات الشاذة كما ورد في (24) وبحسب المعادلات التالية :-

دليل الانقسام %=(عدد الخلايا المنقسمة÷ العدد الكلي للخلايا) ×100

دليل الطور %=(عدد خلايا الطور ÷ عدد الخلايا المنقسمة) ×100

عدد الحالات الشاذة%=(عدد الخلايا غير الطبيعية في الطور ÷ العدد الكلي للخلايا في الطور نفسه)×100

حللت النتائج أحصائياً حسب أختبار دنكن (25).

النتائج والمناقشة:

تراوح معدل دليل الانقسام في خلايا جذور السيطرة بين 10.03, 9 (الجدول1) ولم يكن الاختلاف معنوي خلال فترات المعاملة الثلاثة وكان الاختلاف معنوياً عن بقية التراكيز المستخدمة 10%, 7.5%, 5% وللفترات الثلاثة حيث انخفض معدل دليل الانقسام في خلايا جذور المعاملة بالمبيد وسجل أقل معامل للانقسام في التركيز 10% ولجميع فترات المعاملة وتراوح مابين (0.76, 2.63) عند المعاملة 24 ساعة حيث ادى المبيد الى خفض دليل الانقسام الى اقل من 50% بالمقارنة كنسبة مئوية من جذور السيطرة (الجدول2) حيث كان 45.50 في التركيز 5% و34.92 في التركيز 7.5% ووصل الى 17.16 من 10% مما يدل على سميته العالية على الخلايا وكذلك تبين هذه النتائج بأن له نفس تأثير أنواع اخرى من pyrethroid الصناعية مثل Cypermethrium و Fenvalerate و Deltamethrin في خفض دليل الانقسام (28,27,26) , يتبين من الجدول (3) بأن المؤثر في خفض دليل الانقسام هو التركيز وليس الوقت و لم تكن الفروق معنوية عند حساب المتوسط العام للساعات وكانت الفروق معنوية بين التراكيز.

ظهرت حالات من الزيغ الكروموسومي متمثلة بـ C-metaphase حيث بلغت نسبته 100% في التركيز10% ولفترات المعاملة الثلاثة شكل (1) هذه النتيجة مماثلة للمبيد fenvalerate في تأثيره على الخلايا اللمفاوية للانسان حيث ادى الى زيادة معنوية في طور C-meta مما يدل على تأثيره في توزيع وتكوين خيوط المغزل (29) .

شوهدت أيضاً الكروموسومات المتميعة والتي هي بسبب اختلاط اليأف كروماتيدات الكروموسومات فيما بينها (31,30) وايضاً لوحظت نفس الظاهرة عند تعرض الخلايا النباتية الى انواع اخرى من مبيدات pyrethroid الحشرية (28,26) .

ان تميع الكروموسومات في الطور الاستوائي يجعل عملية انفصال الكروماتيدات الشقيقة غير كاملة في الطور الانفصالي حيث تبقى متصلة بالجسور (bridges) (32) والتي عند انسحابها قد تؤدي الى حدوث تكسر في الكروموسومات وبالتالي الى تكون قطع صغيرة عديمة السنترومير تبقى في وسط السايتوبلازم متحولة الى نوى صغيرة او قد تظهر هذه النوى بسبب الكروموسومات المتاخرة في الانسحاب (Lagging) بسبب تاثير المبيد على خيوط المغزل والذي ادى الى تاخر ارتباط هذه الكروموسومات بالخيوط او عدم ارتباطها (32,28,26).

ظهور خلايا ثنائية النواة وكذلك عدم انتظام توزيع السايتوبلازم في الطور النهائي يدل على اختلال توزيع النبيبيات الدقيقة وبالتالي اختفائها في منطقة phargmoplast في الطور النهائي (28) وان تشتيت الخط المتوازي للنبيبيات الدقيقة في الطور الاستوائي يؤدي الى عدم اكتمال نمو الجدار الخلوي (28,26) .

يظهر مما تقدم ان ارتفاع نسبة الزيغ الكروموسومي وظهوره في الجذور المعاملة بالمبيد مقارنة مع خلايا جذور السيطرة يدل على تاثيره السمي الخلوي الوراثي cytogenotoxicity .

جدول (1)دليل معدل الانقسام الخيطي والنسبة المئوية لاطوار الانقسام والحالات الشاذة في جذور البصل المعاملة لساعات مختلفة بتراكيز مختلفة من المبيد الحشريLambda-cyhalothrin

الساعات	التركيز ملغم/مل	دليل الانقسام (%)	دليل الطور(%)			الحالات الشاذة(%)				
			التمهيدي	الاستوائي	الانفصالي والنهائي	استوائي متوقف	استوائي متميع	انفصالي ونهائي متميع	جسور	كروموسومات متأخرة
6	0%	0.56±9.0(A)a	54.31	17.25	28.44					
	5%	1.17±4.7(A)b	68.69	13.95	17.36					
	7.5%	0.63±3.26(AB)b	63.25	14.87	21.88	74	20.17		11.11	11.11
	10%	0.28±2.63(A)b	52.34	22.64	25.02	100		4		
12	0%	0.64±10.03(A)a	59.13	16.27	24.6			20.32		
	5%	0.16±3.73(A)b	61.23	17.49	21.28	22.87	30.73			
	7.5%	0.38±4.63(A)b	55.87	14.85	24.28	35.26		45.30	13.33	
	10%	0.12±1.46(B)c	61.73	24.87	13.40	100		7.46		
24	0%	1.09±9.83(A)a	56.78	20.4	22.32					
	5%	1.28±4.63(A)b	48.39	24.63	26.98	20.30	32.48			
	7.5%	0.06±2.20(B)bc	56.21	13.65	30.14	100		26.66		
	10%	0.21±0.76(B)c	52.2	42.22	5.58	100		100		

*الحروف الصغيرة للمقارنة بين التراكيز عند التوقيت نفسه والحروف الكبيرة للمقارنة بين التوقيتات عند التركيز نفسه فالحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بين العمود عند مستوى معنوية 0.05 وفق اختيار دنكن (Duncan 1955).

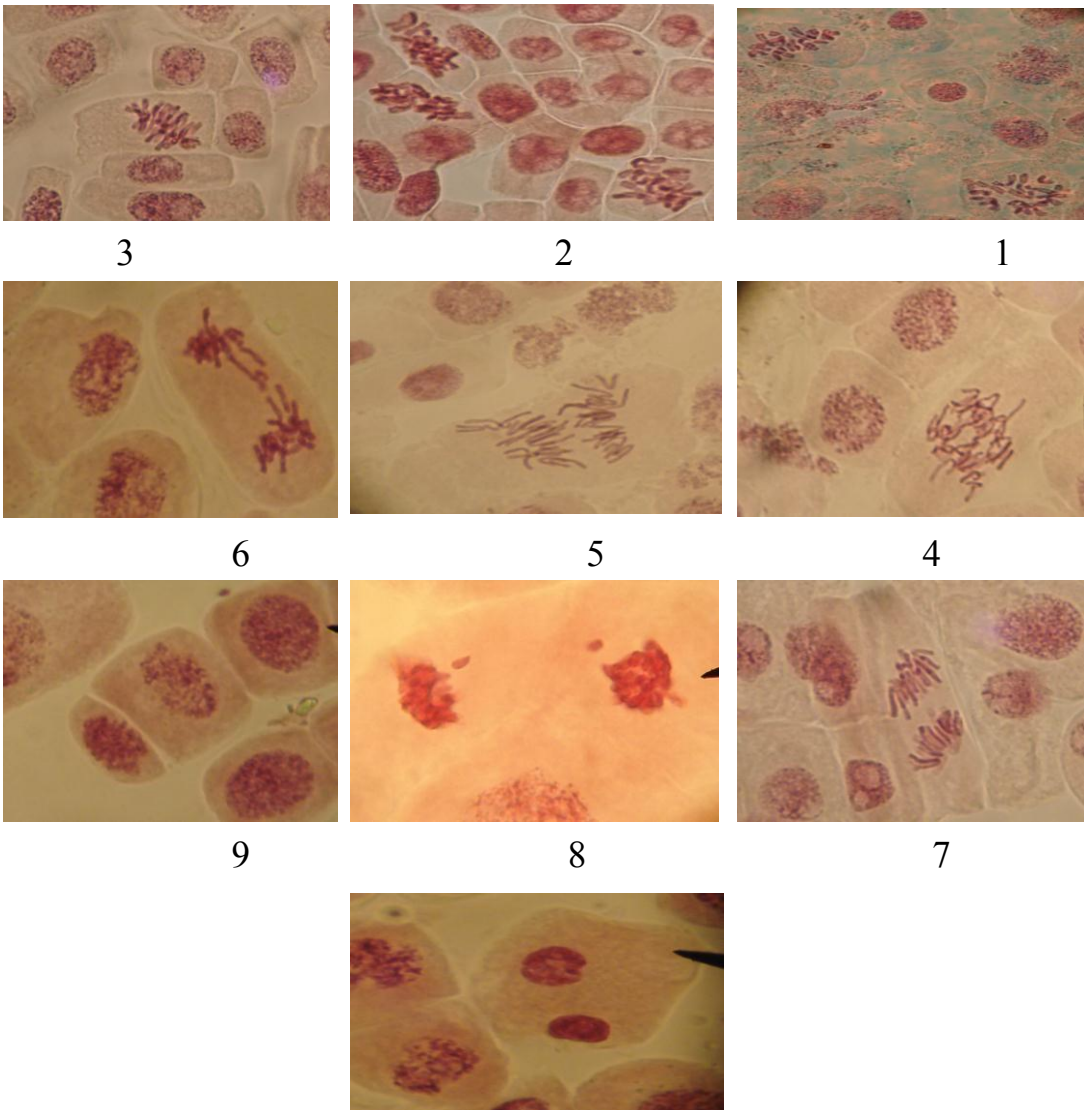
جدول رقم (2) دليل الانقسام الخيطي والاطوار في خلايا جذور البصل المعاملة بالمبيد الحشري Lambda-cyhalothrin كنسبة مئوية في السيطرة

التركيز	الساعات	دليل الانقسام (%)	الاطوار(%)		
			التمهيدي	الاستوائي	الانفصالي والنهائي
%5	6	52.22	126.47	80.86	61.04
	12	37.18	103.55	107.49	86.50
	24	47.10	85.22	117.84	120.87
المتوسط العام		45.50	105.08	102.06	89.47
%7.5	6	36.22	116.46	86.20	76.93
	12	46.16	94.48	122.0	98.69
	24	22.38	98.99	65.31	135.03
المتوسط العام		34.92	103.31	91.17	103.55
%10	6	29.22	96.37	131.24	87.97
	12	14.55	104.39	152.85	54.47
	24	7.73	91.93	202.0	25.00
المتوسط العام		17.16	100.53	162.03	55.81

جدول (3)تأثير مدة المعاملة وتراكيز المبيد الحشري Lambda-cyhalothrin على دليل الانقسام في خلايا جذور البصل

الساعات	التركيز ملغم/مل				المتوسط العام للساعات
	0.0	%5	%7.5	%10	
6	9	4.6	3.27	2.63	4.87±a .0.812
12	10.03	3.73	4.63	1.47	4.96±a0.962
24	9.83	4.63	2.2	0.76	4.35±a1.101
المتوسط العام للتراكيز	9.62a±0.431	4.32b±0.529	3.36b±0.412	1.62c±0.293	

*الحروف المتشابهة ضمن العمود الواحد تدل على عدم وجود فروق معنوية بمستوى $p\leq 0.05$.



شكل (1) : الخلايا المرستمية للجذورالبصل المعاملة بالمبيد الحشري Lambda cyhalothrin

1. خلية في طور C-metaphase .
2. خلايا في طور استوائي متميع .
3. انحراف ترتيب الكروموسومات عن خط استواء المغزل .
4. تعدد الاقطاب في الطور الانفصالي .
5. جسور متعددة في الطور الانفصالي .
6. كروموسومات متأخرة في الآنسحاب في الطور الانفصالي .
7. انحراف الاقطاب في الطور الانفصالي النهائي
8. كروموسومات متاخرة في الانسحاب في الطور النهائي .
9. عدم انتظام تكوين الجدار الخلوي .
10. خلية ثنائية النوى

قطعة المستقيم تمثل 5مايكرون

المصادر:

fenvalerate to salmon, Lobster and shrimp. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 25, 950.

11. Datta, M., Kaviraj, A., 2003. Acute toxicity of the synthetic pyrethroids deltamethrin to freshwater cat fish *Clarias gariepinus*. Bull. Environ. Contam. Taxicol. 70, 296-299.

12. Celika, A., Mazmanci, B., Camlica, Y., Ali As, Kin., 2005 Evalution of cytogenetic effets of Lambd-cyhalothrin on wistar rat bone marrow by gavage administration. Ecotoxicology and Environmental safety-VOL. 61: issue-1-128-133.

13. Celik A, Mazmanci B., Camlica Y, Askin A, Comelekoylu 2003. Cytogenetic effects of Lambda-cyhlathrin on wistar rat bone marrow. Mutat. Res., 539: 91-97.

14. Chauhan, L.K.S., Agarwal, D.K., Sundararaman, V., 1997 In vivo induction of sister chromatid exchanges in mouse bone marrow following oral exposure to commercial formulations of alpha-cyanopyrethroids. Toxicol. Lett. 93, 153-157.

15. Agarwal, D.K., Chauhan, L.K.S., Gupta, S.K., Sundararaman, V., 1994. Cytogenetic effects of deltamethrin on rat bone marrow. Mutat. Res. 311, 133-138.

16. Pati, P.C., Bhunya, S.P., 1989. Cytogenetic effects of fenvalerate in mammalians in vivo test system. Mutat. Res. 222, 149-154.

17. Villarini, M., Moretti, M.; Pasquini, R., Scassellati.S.G., Fatigoni, C., 1998. In vitro genetoxic effects of the insecticide detamethrin in human peripheral blood Leukocytes; DNA damage (comet assay) in relation to the induction of sister-chromatid exchanges and micronudei. Toxicology 130, 129-139.

18. Cavas T, Ergene-Go Zukara S 2003 . Evaluation of the genotoxic potential of Lambda-cyhalothrin using nuclear

1. USEPA, 2001. Pesticide industry sales and usage: 1996 and 1997 market estimates, available all: WWW. epa.gov/oppbead/oestsales/97pestsales/table.htm. (2001).

2. World Health Organization, 1995 , Guide to short term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals. Environ. Health criteria 51, 208(Geneva).

3. Galloway, S.M., Armstrong, M.J., Keuben, C., Colman, Brown, S.B., Cannon, C., Bloom, A.D., Nakamura, F., Ahmed, M., Duk, S., 1987. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster Ovary Cells, evaluation of 108 chemicals. Environ. MOL. Mutagen. 10, 1-175.

4. Garaj-vrhovac, V., Zeljezic, D., 2000. Evaluation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides using sigle-Cell gelelectrophoresis (SCGE) assay: Mutat. Res. 469, 279-285.

5. Leiss, J.K., Savitz, D.A., 1995 . Home pesticide use and childhood cancer: a case control study. Am.J. Public Health 85, 249-253.

6. Arbuckel, T.E., Server, L.E., 1998. Pesticides exposures and fetal death: a review of the epidemiologic Literature. Crit. Rev. Toxicol. 28, 229-270.

7. Leahey, J.P., 1985. The Pyrethroid Insecticides. Taylor and Francis, London.

8. Miyamato, J., 1976 Degra dation, metabolism and toxicity of synthetic pyrethroids, Environ. Heaith Pers. 14, 15.

9. (CPCN) compendium of pesticide common names 2001. Pyrethroid insecticides- http://www.helress.demon.co.uk.

10. Mcleese, D.W., Metcalfe, C.D., Zitko, V., 1980. Lethality of permethrin, cypermethrin and

and nucleolar biomarkers on fish Cells. Mutat. Res., 534: 93-99.

19. Campana, M.A., Panzeri, A.M., Moren, V.J., Dulout, F.N., 1999. Genetoxic evaluation of the prethroid Lambda-cyhlathrin using the micronucleus test in erythrocgtes of fish *Cheirodon interruptus*. Mutat. Res 438. 155-161.

20. Grant, W.F., 1994. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. Mutat. Res. 310, 175-185.

21. WHO, 1992 . Our Planet, Our Health: Report of the WHO Commission on Health and Environment. World Health Organization, Geneva.

22. Grant, W.F., 1978. Chromosome aberrations in plant as a monitoring system. Environ. Health perspect, 27, 37-43.

23. Fiskesjo, G., 1985. The Allium test as a standard in environmental monitoring. Hereditas 102, 99-112.

24. Becker, W.M.; Klem smith, L.J & Hardin, J. 2003. The world of the Cell 5th Edition. Benjamin cummings Publishing Compay, Inc. New York.

25. Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F. test. Biometrics, 1:1-45.

26. Saxena, P.N., Chauhan, L.K.S., 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.

27. Chauhan, L.K.S., Saxena , P. N., Gupta, S.K. 1999 Effects of Deitamethrin on the Wtrastructures of the root meristem Cell of *Allium cepa* pestieide Biochemistry and physiology 64, 135. 147.

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

29. Carbonell, Puig, M. , Xamena, N., Marcos, R. 1989 Mitotic arrest induced by fenvalerate in human Lymphocyte cultures . Toxicology Latters, 48045-48.

30. Klasterska, I. , Natarajan, A. T., Ramel, C. , 1976 . An interpretation of the origin of subchromatid aberrations and Chromosome stickiness as a category of chromatid aberrations. Hereditas 83. 153-162.

31. Mcgill, M. , Sen, P., Hsu, T.C., 1974, Effect of ethidium bromide on mitosis and chromosomes . A possible material basis for chromosomes stickiness. Chromosome 47, 175-167.

32. Lasada, A. & T. Hirano 2001 . Shapinathe metaphase chromosome : coordination of cohesion & condensation . Bio Essays. 23:924-935.

Cytogenetic effects of insecticide Lamda cyhalothrin on meristemic cells of *Allium cepa* L.

Batool Ali Shahab*

*Biology Dept, College of Sciences for women, Baghdad University

Abstract:

The effect of insecticide lamda cyhalothrin on *Allium cepa* L.root meristem were studied cytogenetically .Using three concentrations of the insecticide 5%, 7.5%, 10% at 6,12,24hours treatments . The insecticide significantly reduced the mitotic index at all concentrations. Moreover showed its ability to induced C – metaphase in 10% .The effects were also caused chromosome aberration like stickness in anaphase, telophase, binucleated cells, Micronuclei formation. These alternations indicating that this insecticide was effective in producing disturbance of spindle fibers.