The North African Journal of Scientific Publishing (NAJSP)
مجلة شمال إفريقيا للنشر العلمي (NAJSP)
E-ISSN: 2959-4820
Volume 2, Issue 3, July – September 2024, Page No: 168-175
Website: https://najsp.com/index.php/home/index
SJIFactor 2023: 3.733 معامل التأثير العربي (AIF) 2023: 0.63 ISI 2023: 0.383

التأثيرات السيتووراثية للمستخلص المائي لنبات الفيجل *Ruta chalepensis* L. على المادة الوراثية للخلايا المنقسمة في نبات البصل

فوزية مفتاح حمد الجازوي [1 *]، سميرة فرج محمد بوحجر[2]، فوزية رجب القربولي [3]
[2،1] قسم النبات، جامعة بنغازي، بنغازي، ليبيا
[3] قسم الوراثة، جامعة مصراتة، مصراتة، ليبيا

Cytogenetic Effect of Aqueous Extract of the Plant *Ruta chalepensis* L. on The Material Genetic of The Dividing Cells in *Allium cepa*

Fawzia Muftah Hamed AlJazwia [1 *], Samira Farag Mohamed Bo Hagar [2], Fauzia Rajab ElGarbulli [3]
[1,2] Department of Botany, Benghazi University, Benghazi, Libya
[3] Department of Genetics, Misurata University, Misurata, Libya

*Corresponding author fawzia.aljazwia@uob.edu.ly *المؤلف المراسل
تاريخ الاستلام: 2024-06-29 تاريخ القبول: 2024-08-17 تاريخ النشر: 2024-08-23

الملخص
الغرض من هذه الدراسة هو معرفة التأثير السيتووراثي لتراكيز مختلفة (0، 0.002، 0.02، 0.2 و2 ملجم/مل) من المستخلص المائي للأوراق نبات الفيجل *Ruta chalepensis* على الخلايا القمية في جذور نبات البصل *Allium cepa* L. ولفترات زمنية مختلفة (3، 6، 12، 24 ساعة). وقد تبين من النتائج أن التركيز المرتفع من المستخلص المائي (2 ملجم/مل) كان يعمل على تثبيط الخلايا المنقسمة مع انخفاض في معدل الانقسام. وهذا التثبيط ازداد بزيادة وقت المعاملة. أما التراكيز المنخفضة (0.2، 0.02، 0.002 ملجم/مل) أدت إلى ارتفاع معدل الانقسام ونسبة ونوع الطفرات كلما زادة فترة التعرض. وهذا يدل على أن المستخلص ثبط الانقسام الخلوي في التركيز العالي وبالتالي يفسر استخدامه كمضاد للسرطان ولكن في نفس الوقت الإدمان عليه ولو بتراكيز منخفضة قد تؤدي إلى حدوث السرطان وبالتالي يجب الحذر عند استخدامه خاصة للأطفال لأنه يرتبط بجزيء DNA.

الكلمات المفتاحية: نبات الفيجل، السمية الخلوية، معدل الانقسام.

Abstract
The objective of this was to study investigate the cytogenetic of different concentrations (0, 0.002, 0.02, 0.2 and 2 mg/ml) of aqueous extract of the Faigel leaves (Ruta chalepensis L.) on growing root tip cells of Allium cepa L. for different exposure times (3, 6, 12 and 24 hours). The obtained results indicated that the high concentration (2 mg/ml) of plant extract had an inhibitory effect on cell division which represented with the decrease in mitotic index of treated cells. This inhibition increased by increasing time of treatment. At low concentrations (0.002, 0.02, 0.2 mg/ml) there was an increase in mitotic index and in abnormalities percentages by increased time of treatment. The inhibition of cell division in high concentrations treatments cansequenty employed as an anti-cancer but the genotoxicity evidence obtained in this study suggested that the addicting use of Faigel plant even at low concentrations may be harmful to human life especially children because it binds to DNA molecule.

Keywords: Ruta Chalepensis Plant, Cytotoxicity, Mitotic Index.

المقدمة

نظرًا لأهمية النباتات الطبية والعطرية بين الشعوب المختلفة والأمم المتتالية قام العلماء بمعرفة أسرار النباتات الطبية والعطرية مما شجعهم على تحليلها، وصناعة عقارمنها وإجراء تجارب عليها، وتدوين استخدامها بطرق عديدة، وتسجيل علاجها لكثير من الامراض وتسكين العديد من الألآم والتئام الجروح. ولمعرفة الألية التي تعمل بها هذه الأدوية الشعبية وتأثيرها على نشاط الخلايا قامت العديد من الدراسات والبحوث لدراسة تأثيرها أولا على النشاط المادة الوراثية، ثانيا على النشاط البيولوجي، ثالثا تأثيره على الميكروبات وغيرها من الاختبارات

لمعرفة مدى أثارها السلبية وأن كان ينصح باستخدامها. وعرف من خلال هذه الاختبارات كمية الجرعات التي بها تأثر وأيضا الجرعات القاتلة أو المانعة للنمو. وأستخدم لهذه الاختبارات الحيوية العديد من النباتات مثل *Allium cepa* و *Vicia faba* [20، 38، 14] وغيرها.

نبات الفيجل *Ruta chalepensis* ينتمي إلى عائلة Rutaceae وموطنه الأصلي في جنوب أوروبا ووجد في مناطق شبه الاستوائية وشائع زراعته في الحدائق الهندية [25]. النبات دائم الخضرة، عطري، يصل أرتفاعه (60-75) سم، أوراقه مركبه (الشكل 1-أ)، متبادل، نورته محدودة النمو وعنقودية (cymose clusters) له أزهار صغيره صفراء أما بتلات *Ruta chalepensis* تكون حافتها مهذبة وعليها زوائد الشكل (1- ب) وثماره كبسوله [23، 25]. يحتوي النبات على عدة مركبات منها زيوت طيارة، قلويدات وكيومارينس. نبات الفيجل له خاصية مسكن للتقلصات لوجود bergapten، xanthotoxin ، الزيوت الطيارة وال coumarin هو مضاد للتنشج أيضا ، مجهض ومضاد للجراثيم [25]. وأن الرائحة العطرية التي تُميز هذا النبات نتيجة لوجود الكبريت به [39]. وبين المسح Phytochemical أن الأجزاء الهوائية لنبات الفيجل *Ruta chalepensis* وجود قلويدات، فلافونيد، كيومارينس، تانينات، زيوت الطيارة، ستيرولات [5].

وجد العالم Mayadah وآخرون [31] أن الأجزاء الهوائية لنبات *Ruta chalepensis* النامي في الأردن، تحتوي على إثنين من furanocoumarins (bergapten و chalepensin)، واحد flavonoid glycoside (rutin) بالإضافة إلى عدة مركبات بسيطة تم عزلها.

أ

ب

الشكل 1: (أ) يوضح ورقة نبات *Ruta chalepensis*، (ب) يوضح نورة النبات وأزهاره ذات بتلات تكون حافتها مهذبة.

الفيجل كَانَ أحد الأعشاب الطبية الرئيسية في التقليدِ الشعبي الأوروبي، وفي تركيا [29] وفي الصين استعمل كمجهض ومنبه للرحم [28]. وأعتبرَ وسيله مهمةَ أيضاً للحمايةِ ضدّ الشرّ الخارقِ (supernatural evil) في العديد مِنْ أجزاءِ العالمِ. التطبيقات الأكثر تكراراً تَتعلّقُ بمزايا وقائيةِ أو بيطريةِ أو طبيةِ. النَتائِج لوحظت مِنْ الاستعمالات الطبيةِ الرئيسيةِ بشكل صيدلي حيث نباتِ الفيجل سجل بأنه مجهض، يساعد على الهضم، علاج للروماتزم، الالتهابات، مسكن للألمِ، ومانع لانتقال الطفيليات بين الأفراد وانتشار الإصابة [33،22، 5، 1]. وأستخدمه الرومان واليونان كتوابل [10]، أوراق الفيجل ذات مفعول جيد في معالجة مشاكل الدورة الدموية، لأن لها خاصية إزالة الاحتقان الدموي، ولهذا استخدمت في معالجة الصداع، والالتهابات الجلدية [1]. ولقد أثبت أن له نشاطِ تحفيزي للجهاز المناعي immunostimulatory [19]. ولقد أستخدم نبات الفيجل كمضاد للملاريا antimalarial[4] ، و كطارد للبعوض في أثيوبيا [21]، كذلك طارد للديدان المعويه عند الأطفال في ليبيا [1] ، وفي المكافحة البيولوجية [30] ولقد أظهرت الدراسات أيضا أن هذا النبات مضاد بكتيري [24] ومضاد فطري[6]. وفي دراسة للعالم Ciganda و Laborde استخدام فيها منقوع النبات للأحداث الاجهاض[12] .

ويستخدم اللبيين نبات الفيجل كما في العالم كدواء شعبي لمعالجة أمراض البرد والروماتيزم والسكر للبالغين كما يعطى للأطفال والمواليد في كثيرا من مناطق ليبيا خاصة في الدواخل والمدن الصغيرة كالمرج، كعلاج للنزلة المعوية وتدهور صحة الأطفال. بالرغم من نجاح هذا النبات كعلاج شعبي إلا أن الحذر من استخدامه للأطفال المواليد واجب خاصة في مرحلة النمو، حيث قمة النشاط البيولوجي من حيث الانقسام الخلوي والتعبير عن الجينات التي ممكن أن تتأثر بالمركبات العديدة الموجودة في هذا النبات والتي يمكن أن يكون لها تأثير سمي على المادة الوراثية.

في السنوات الأخيرة قامت العديد من الدراسات والأبحاث الطبيعية لنبات الفيجل *Ruta chalepensis* ومركباته كعلاج. ولكن هذه الدراسات لم تشمل التأثير السيتووراثي والسمية الجينية.

هذه الدراسة قامت للبحث عن احتمال وجود تأثير طافر أو ذات سمية على المادة الوراثية وسلوك الصبغيات للمستخلص المائي لنبات الفيجل كما يستخدم شعبيًا. لمعرفة التأثير السيتوراثى للمستخلص المائي لنبات الفيجل *Ruta chalepensis* استخدمت الخلايا المنقسمة في القمم النامية لجذور نبات البصل *Allium cepa* الذي أستخدم حديثا لكشف عن السمية الجينية للعديد من الأعشاب الطبية والملوثات البيئية.

في سنة 2000 قام Zeichen وآخرون بدراسة تأثير *Ruta chalepensis* على الأجنة لأنه كان يستخدم كعلاج منظم للأخصاب أو حدوث العقم، في هذا البحث أستخدم منقوع النبات في جرعات يومية 0.16، 0.80، 1.60 جرام/كيلو في فترة من1-14يوم من post coitum ولقد وجد أن هناك انخفاض معنوي لوقت ظهور العلامات الطبيعية كالحركة. الكثير من الدراسات النسيجية أظهرت حدوث antigenic في الحبل المشيمي، ضعف مجري الدم في الدماغ والغدة التونية هذه النتائج استدل بها على الخاصية السمية للأجنة وحذر من استخدامه[47] .

وفي دراسة قام بها Ulabelen وآخرون (2006) فلقد وجد أن تطور الكيس المثاني وألتصاق أو إلتحام وإندماج قطاعي لوحظ في الكلى كما لوحظ أنه غير ضار على الدماغ. Naseri وآخرون [34] درس تأثير المستخلص الكحولي لأوراق الفيجل على أمعاء ذكور الفئران وأظهرت النتائج أن تراكيز المستخلص (0.01 ، 0.02 ، 0.03 ، 0.04 ، 0.05 ، 0.06 ، 0.07 ملجم/مل) خفضت تقلصات الأمعاء اعتماد على الجرعة وبشكل معنوي ملحوظ (P<0.001). من جهة آخرى فلقد وجد أن التأثير التحفيزي للمستخلص المائي على أعضاء الجنسية والهرمونات تكون في ذكور الفئران حيث تعمل على زيادة الخصوبة الناتج من زيادة في كمية وحركة الحيوانات المنوية [9].

ولقد أثبت أيضا أن المستخلص المائي له تأثير على أيض السكر حيث أدى إلى تصاعد مستوى الأنسولين [7]، وسبب زيادة خلايا الدم الحمراء بينما نقص خلايا الدم البيضاء والصفائح [8]. ولقد وجد العالم Pathak وآخرون [35] أن معاملة مرضى سرطان الدماغ ب Ruta6 المستخلص من الفيجل بالإضافة إلى فوسفات الكالسيوم أدت إلى نجاح معالجة سرطان الدماغ داخل الجمجمة حيث أظهر إرتداد (إنحسار) كامل للورم، وفي بعض الحالات أظهر ارتداد جزئي حُدد بواسطة المسح بالتصوير الاشعاعي الطبقي. أحدث مستخلص الفيجل مع الملح تفتت (تأكل) ل DNA التيلومير في خلايا السرطان مع وجود تكاثر خلوي في الخلايا الطبيعية.

المواد وطرق البحث

طريقة الاستخلاص وتحضير التركيزات:

الأجزاء الهوائية (الأوراق) من نبات الفيجل المزهر تم تنظيف وتجفيفها في الظل، ثم طحنها في خلاط بعد ذلك أخذ منها 1جم وضع في 50 مل من ماء مقطر درجة حرارته 45- 55 م^0، وترك ليبرد في درجة حرارة الغرفة(التركيز الأول)، سلسلة من التخفيفات ثم تحضيرها بالطريقة

المعادلة (إضـافة 1 مل من التركيز الأول إلى 9 مل ماء مقطر للحصـول على التركيز الثاني , كذلك حضـر التركيز الثالث من الثاني والرابع من الثالث).

الأختبار الحيوى لنبات البصل Onion plant bioassay

إنبات بذور البصل Germination of onion seeds

تم إنبات بذور البصل في أطباق بتري تحتوي على ورق ترشيح مبلل بالماء عند درجة حرارة $20^0 \pm 2$ م لمدة ثلاثة أيام مع تغيير الماء كل 24 سـاعة لغرض التهوية، وبعد وصـول طول القمم النامية 0.5-1 ملم، قسـمت الأطباق إلى مجموعتين المجموعة الأولي: عوملت البذور النامية بالتراكيز المختلفة من مستخلص النبات باستثناء الكنترول الذي حفظ دون معاملة وتم تجميع العينات بعد 3 ساعات، 6 ساعات، 12 ساعة و 24 سـاعة من المعاملة. تثبت الخلايا cell fixation بمحلول مثبت (3إيثانول: 1وحمض ألخليك الثلجي) لمدة 24 سـاعة، ووضـعت في إيثانول 70 % للحفظ.

أما المجموعة الثانية: عوملت البذور النامية بالتراكيز المختلفة من مسـتخلص النبات ثم عوملت أيضـا بالكولشـسـين قبل تجميع العينات وتثبيتها بثلاث ساعات المعاملة بالكوليشسين شملت أيضا خلايا القمم النامية في الماء فقط بدون مستخلص النبات وأعتبر الكنترول للمجموعة الثانية.

إعداد الشرائح Slide Preparation

أستخدم 1N-HCl للتحليل المائي hydrolysis عند درجة حرارة 60^0 م لمدة 15 دقيقة للخلايا المثبتة وصبغت بصبغة كارمين (carmine 1stian %) لمدة ساعة تم غسلت بواسطة 45 % حمض ألخليك الثلجي [48]. حضـرت شـرائح كل معامله من 9 بذور نامية . وتم فحصـها بالمجهر الضوئي بقوة تكبير x40 ، تم تسجيل كلا من العدد الكلي للخلايا (total cells) في الشريحة والخلايا المنقسمة (mitotic cells) في جميع الأطوار، ومن ثم حساب كل من معدل الانقسام ونسبة الطفرات في كل طور [48 ، 40].

معدل الانقسام =عدد الخلايا المنقسمة / العدد الكلى للخلايا × 100

نسبة الطفرات(معدل التطفر) = عدد الخلايا الطافرة / عدد الكلي للخلايا المنقسمة ×100

التحليل الإحصائي:

البيانات حللت عن طريق برنامج SPSS طبقاً لتحليلِ مزدوجِ التباينِ(Two-way Analysis of Variance (ANOVA . المقارنات المتعدّدة أدّيتْ بأقلّ الإختلافِ معنوي(Least Significant Difference (LSD) إستعمال مجموعة حاسوب وبرامجِ SPSS قيمة (*P*) (P<0.05) كالمستوى الأدنى للأهميةِ الإحصائيةِ (للاختلاف المعنوي).

النتائج والمناقشة

أ- تأثير مستخلص *Ruta chalepensis* على معدل الأنقسام :

بينت النتائج إن مسـتخلص نبات الفيجل المائي له تأثير معنوي على معدل الانقسـام الميتوزي في خلايا البصـل المعاملة بالتراكيز المختلفة مقارنة بالكنترول ممثلة في الجدول (1)، كما يوجد اختلاف معنوي في التأثير بين جميع التراكيز والمحلول المركز للمسـتخلص (2 ملجم/مل) الذي كان له تأثير مثبط للانقسـام الخلوي غير معتمد على الزمن وهذا محتمل أن يكون ناتج عن المركبات والموجودة في المسـتخلص المائي لنبات الفيجل (P< 0.05). ، ذات تأثير سمي على الخلايا تؤدي إلى موتها وتوقف الانقسام فيها [47 ، 8]. النتائج تؤكد أن المستخلص بهذا التركيز يؤدي إلى توقف النشـاط النووي (ولم يشـاهد تكسير المادة الوراثية فيها) وبالتالي توقفها عن الانقسـام مما يؤدي إلى إنخفاض معدل الانقسـام MI عند هذا التركيز وهذا يمكن تفسير اسـتخدامه كمضـاد للسـرطان داخل الجمجمة [35] حيث أثبت أنه يكسـر جزيئ DNA لمنطقة التيلومير مما يؤدي إلى توقف الأنقسـام في الخلايا المسـرطنة فقط. انخفاض معدل الانقسـام ممكن أن يكون راجع إلى تثبيط تخليق الحامض النووي DNA كما هو واضـح في الشـكل 3 ي [42] الذي يعتبر أهم المتطلبات الأسـاسـية لانقسـام الخلية[3]. إيقاف الخلايا في مرحلة G2 من الدورة الخلوية ومنع الخلايا من الدخول إلى مرحلة M بسبب تطفرها أيضـا تؤدي إلى انخفاض معدل الانقسام [45]. كذلك تكسير المادة الوراثية في الخلايا المنقسمة[18، 15] .

وهذا يتفق مع ما وجده Saggoo وآخرون [38] حيث التراكيز العالية من مسـتخلص أوراق .*Tylophora indica*L أدت إلى نقصـان في معدل انقسـام الخلايا المرسـتمية في خلايا نبات البصـل مقارنة بالكنترول. الانخفاض في معدل الانقسـام عند المعاملة بالتراكيز المرتفعة كان ناتج عن امتداد أو إطالة مرحلة S وإضعاف الخلايا في مرحلة G1 ومنع دخولها مرحلة S.

العديد من الدراسات ترجع سبب النقص في قيمة معدل الانقسام إلى كبح تخليق البروتين خاصة الأنواع البروتينات النووية الضرورية لإتمام دورة الانقسـام الميتوزي [17]. فلقد وجد EL-Nahas أن كبح انقسـام الخلية كان مصـاحبا بالعديد من التغيرات في البروتين في *Vicia faba* المعاملة بمبيد الأعشاب imazethapyr [17] .

كبح الانقسـام الخلوي وجد أيضـا أنه له علاقة للانخفاض في كمية ال DNA و RNA في الخلايا المعاملة كنتيجة لكبح لتخليق الDNA [16]. Badr وأخرون [11] سجل إنخفاض في نشاط الانقسام الميتوزي للفول *Vicia faba* بعد المعاملة بمبيد الأعشاب gespax ارتبط بالانخفاض في كمية ال DNA و RNA. إنخفاض في معدل الانقسـام سـجل أيضـا كنتيجة لتراكم خلايا الانقسـام الميتوزي في الطور البيني وعدم دخولها مرحلة M [26، 2].

من جهة أخرى، التراكيز المخففة من مسـتخلص نبات الفيجل أحدث زيادة ملحوظه في معدل الانقسـام عند جميع الفترات الزمنية المسـتخدمة في التجربـة بدراجـات متفاوتـة معتمدة على التركيز(P=0.00)، هذا التـأثير المعنوي يؤكد أن عمل المسـتخلص المـائي لا يعتمد على الزمن (P=0.18)حيث أنه محفز للانقسـام الخلوي عند التركيز المنخفضـة ومثبط عند التركيز العالي. وهذا أيضـا يتفق مع النتائج التي تحصـل عليها Saggoo وأخرون [38]عند إستخدام التراكيز المنخفضة من مستخلص أوراق .*Tylophora indica* L والتي أحدث إرتفاع في معدل إنقسام الخلايا المرستمية في خلايا نبات البصل مقارنة بالكنترول. الزيادة في معدل الانقسام في الجذور المعاملة بالتراكيز المنخفضة من *Tylophora indica* L. ربما يكون ناشـئ عن حث لانقسـام الخلية في الخلايا المعاملة. كما تتفق مع نتائج تأثير السـيتووراثي لمبيدات الفطرية (topsin ، و vitavax) في خلايا البصـل *Allium cepa*، التي أحدثا انخفاض في معدل الانقسـام عند التراكيز المرتفعة، وازدياد في معدل الانقسـام عند التراكيز المنخفضة [44].

الجدول (1): معدل الانقسام الميتوزي والطفرات في قمم جذور البصل المعاملة بتراكيز مختلفة من المستخلص المائي لنبات الفيجل ولفترات زمنية مختلفة.

التركيز ملجم	الزمن	عدد الخلايا الكلي	عدد الخلايا المنقسمة	معدل الانقسام	متوسط الخلايا الطافرة
c	3	4962	658	13.26±0.6	0
2		5951	696	11.7±0.7	6.3
0.2		5456	1278	23.4±5.9	7.7
0.02		4552	855	18.8 ±8.4	4.3
0.002		5237	924	17.6±1.8	3.3
c	6	5667	931	16.4±1.6	0
2		5168	388	7.51±3.4	7.2
0.2		5343	850	15.9 ±5.8	9.4
0.02		5268	950	18.0±2.5	7.3
0.002		5137	922	18.0±5.5	6.4
c	12	4687	797	17.0 ±7.4	0
2		4308	463	10.8±2.7	6.4
0.2		5045	1248	24.7±5.8	7.8
0.02		5254	846	16.1±2.9	6.5
0.002		5052	985	19.5±2.0	9.6
c	24	5177	679	13.1±3.5	0
2		4044	234	5.8 ±1.6	2.1
0.2		5074	1244	24.5±4.2	7.6
0.02		4923	1043	21.2 ±4.1	8.2
0.002		4402	1163	26.4±4.4	9.8

(c): الكنترول

ب-تأثير مستخلص النبات على تكرار أنواع الطفرات الميتوزية :

بالمقارنة تأثير مستخلص النبات على تكرار أنواع الطفرات الميتوزية مع الكنترول دلت نتائج التحليل الإحصائي ب استخدام-Two way Analysis of Variance (ANOVA) أن جميع التراكيز المستخدمة كان لها تأثير معنوي (0.00) طافر على الصبغيات وسلوكها أثناء الانقسام الميتوزي. كما بين التحليل الإحصائي أنه ليس هناك اختلاف معنوي بين تأثير 0.2 و 0.02 ملجم/مل وتأثير التركيز 0.002 ملجم/مل ولكن هناك اختلاف معنوي عالي (0.00) بين التراكيز العالي للمستخلص (2 ملجم/مل) وباقي التراكيز نسبة الطفرات كانت إحصائيا معتمدة على تأثير الزمن والتركيز معا (0.00) تأثير الزمن وحده كان معنويًا (0.017) ولكن قوة تركيز المستخلص كان أكثر تأثيرًا (0.00).

نتائج الدراسة تؤكد أن التركيز العالي 2 ملجم/لتر له تأثير كابح للانقسام وهذا التأثير ناتج من تراكم الخلايا الطافرة في المراحل المختلفة من الإنقسام الميتوزي الذي يؤدي إلى موتها (الجدول 2) وكان أغلب هذه الطفرات في الطور الانفصالي والنهائي في جميع الخلايا المعاملة 91.9، 78.1، 56.4، 38.6 في الفترة الزمنية 3، 6، 12 و24 ساعة على التوالي وكانت من النوع الجيني الذي يؤشر إلى تأثير مركبات الموجود في مستخلص الفيجل على مستوي ال DNA مباشرة وهذا يتفق مع ما جاء في المراجع السابقة [26 ، 3]. ومن جهة أخرى، زيادة زمن المعاملة عند التركيز العالي 2 ملجم لمدة 24 ساعة يصحبها نقصان في معدل الانقسام وهذا يفسر انخفاض نسبة الطفرات إلى 1.7% في التركيز المرتفع 2 ملجم/مل نتيجة لموت الخلايا في مرحلة G1 أو G2 وعدم دخولها مرحلة M ووقف نشاط الخلية. أما التراكيز المنخفضة أدت إلى ارتفاع معدل الانقسام وهذا يدل على وجود مواد محفزة للانقسام [9] أو حدوث طفرات جينية تؤدي إلى التحفيز بزيادة الزمن. من النتائج نلاحظ أيضا أن زيادة معدل الانقسام مقرون بزيادة عدد الخلايا الشاذة في الجذور المعاملة دلالة على السمية الجينية لهذا المستخلص، هذه السمية تكون قاتلة عند التركيز العالي.

التراكيز المنخفضة من المستخلص المائي له تأثير تحفيزي لمعدل الانقسام والغير معتمد على الزمن هذا التأثير مصحوب بنسبة عالية من الطفرات التي تحفز الخلية للدخول في مرحلة M نلاحظ من الجدول (2) أن بزيادة الزمن تزداد نسبة حدوث الطفرات خاصة في التراكيز المنخفضة 0.02، 0.002 ملجم/مل. أعلى نسبة طفرات كانت 9.2 % عند تعرض الخلايا إلى التركيز المنخفض 0.002 ملجم/مل لمدة 12 ساعة، حيث كانت معظم الطفرات في الطور الانفصالي والنهائي (68.1 %) معظم هذه الطفرات كانت من النوع السمي الجيني بمعدل 81.6 % ، نسبة الطفرات في الطور الاستوائي 27.9 % ، وكانت أكثرها من نوع الفسيولوجي 92.0 % .

نتائج البحث تشير إلى أن الطفرات الجينية (الشكل3) كانت نسبتها أعلى من الطفرات الفسيولوجية (الشكل 4) وهذا يؤكد ألية التأثير السيتووراثي لمستخلص الفيجل بارتباط محتوياته مع جزيئ DNA. والتي يمكن أن ترجع إحتوائه على نسبة عالية من المواد القلويدات، furanocoumarins والكومارنز coumarines. ولقد تبين أن هذه المواد تسبب حدوث سمية جينية، مضاد للخصوبة Antifertility ومضاد للبكتيريا [47، 25، 46، 24].

الجدول (2): أنواع الطفرات ونسبتها في خلايا البصل المعاملة بتراكيز مختلفة من مستخلص المائي لنبات الفيجل ولفترات زمنية مختلفة.

التركيز mg	الزمن (ساعة)	عدد الخلايا الكلي	عدد الخلايا المنقسمة	نسبة الطفرات %	الطفرات التمهيدية			الطفرات الاستوائية			الطفرات الانفصالي والنهائي		
					نسبة الطفرات %	نوع الطفرات		نسبة الطفرات %	نوع الطفرات		نسبة الطفرات %	نوع الطفرات	
						جينية	فسيولوجية		جينية	فسيولوجية		جينية	فسيولوجية
C	3	4962	658	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2		5951	696	7.2	0.8	100	0	7.3	42.6	57.5	91.9	87.7	12.3
0.2		5456	1278	6.7	0	0	0	11.5	33.3	66.7	88.5	99.3	0.7
0.02		4552	855	3.4	0	0	0	25.7	15.1	84.9	74.3	97.3	2.7
0.002		5237	924	3.7	0	0	0	7.5	3	97	92.5	86	14
C	6	5667	931	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2		5168	388	7	3.3	100	0	18.6	18.2	81.8	78.1	89.7	10.3
0.2		5343	850	8.8	7.3	100	0	17.7	23.9	76.1	75	87.2	12.8
0.02		5268	950	7.4	0.9	100	0	9.8	42.2	57.8	89.6	90.5	9.6
0.002		5137	922	6.7	2.2	100	0	10.1	28.4	71.6	88	88.8	11.2
C	12	4687	797	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2		4308	463	8.6	3.1	100	0	18.2	25.9	74.1	56.4	82.7	17.3
0.2		5045	1248	7.5	6.6	100	0	29.5	10.3	89.7	63.9	84.4	15.6
0.02		5254	846	6.2	1.6	100	0	35.7	8.3	91.7	62.7	87.5	12.5
0.002		5052	985	9.2	3.9	100	0	27.9	8	92	68.1	81.6	18.4
C	24	5177	679	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2		4044	234	1.7	0	0	0	28.1	0	100	38.6	100	0
0.2		5074	1244	7.7	3.6	100	0	39.5	10.7	89.3	57	79.7	20.3
0.02		4923	1043	8	2.5	100	0	34.2	3.5	96.5	63.3	82.5	17.5
0.002		4402	1163	8.8	3.1	100	0	23.9	10	90	73	84.5	15.5

(C): الكنترول

المركبات التي يحتويها النبات يمكن أن تمنع إعادة تأسيس للصبغيات تحت الشروط الطبيعية خلال التدخل في التصليح الطبيعي DNA repair [36]. النوع الأكثر شيوعا من الإنحرافات في هذه الدراسة كان إحداث الجسور الكروماتينية والصبغية في الطور الانفصالي والطور النهائي (الشكل 3 ب، د). هذه الجسور قد تنتج من لزوجة الصبغيات [37]. بسبب هذه اللزوجة إنفصال الصبغيات يصبح غير كامل حتي في وجود خيوط المغزل وهكذا تبقي الصبغيات مرتبطة بجسور كروماتينية [2]. الجسور قد تنتج أيضا من كسر الصبغيات يليه إعادة إرتباط الكروماتيدي، الذي يؤدي إلى صبغيات ثنائية السنترومير والشكل المميز للأطوار الانفصالي والنهائي.

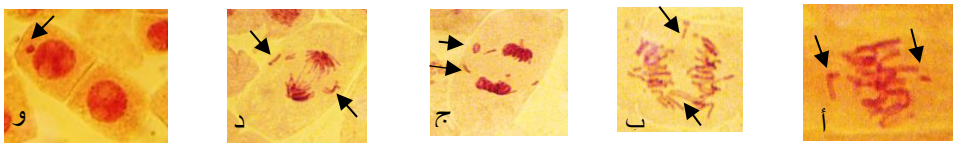
ومن الانحرافات التي كانت أكثر شيوعا في هذا البحث هي الصبغي المتأخر في طور الانفصالي (الشكل3 د)، الطور النهائي والطور الاستوائي. والتي لوحظت بعد المعاملة بمستخلص النبات بالتراكيز المختلفة. الحث لتأخر الصبغي يمكن أن ينسب إلى فشل الجهاز المغزلي لتنظيم ووظيفته بطريقة طبيعية بدلا من منع تكوين خيوط المغزل وهذه ربما تؤدي إلى توجيه غير منتظم للصبغيات [18]. وهذا دليل على تفاعل مركبات الفيجل مع بروتينات الخلية. بالإضافة إلى وجود الخلايا المعاملة في الطور الاستوائي كانت الصبغيات مبعثرة في سيتوبلازم الخلية C-metaphase (الشكل 4 ب)، موجودة في أغلب الخلايا المعاملة بالتراكيز المختلفة من مستخلص نبات الفيجل. في هذا النوع من الإنحرافات الصبغية تكون الصبغيات سميكة، قصيرة ولا تكون على خط الاستواء. في الانقسام الميتوزي الطبيعي حركة الصبغي ناتجة من تفاعل بين السنترومير وخيوط المغزل، منع مثل هذا التفاعل و/ أو غياب تشكيل المغزل يؤدي إلى حدوث C-metaphase [41]. إن وجود مثل هذا النوع من الانحرافات هو دليل لتفاعل المستخلص النبات مع البروتين الخلية الذي يلعب الدور الأساسي في تشكيل خيوط المغزل[41].

الانحرافات التي ظهرت كثيرا في *Allium cepa* بعد المعاملة بالتراكيز المختلفة من مستخلص نبات الفيجل كانت الزوجة الصبغية (الشكل 4 أ) وكانت نسبتها أعلى من الخلايا ذات الصبغيات منتشرة في الطور الإستوائي (C-metaphase). McGill وأخرون [32] ، klasterska وأخرون [27] أقترح أن اللزوجة تحدث كنتيجة للطي الغير صحيح للألياف الصبغية إلى كروماتيد أو ناتجة عن إختلاط الألياف والصبغيات تصبحان ملتصقات إلى بعضهم البعض بواسطة الجسور تحت الكروماتيدية subchromatid. حدوث اللزوجة دليل أخر من تفاعل مستخلص النبات الفيجل مع DNA بالإضافة إلى تفعله مع بروتين الخلية[38 ، 43]. ولوحظ وجود قطع صبغية في الخلايا المعاملة بمستخلص النبات بالتراكيز المختلفة (الشكل 3 أ، ب، ج، د) يدل على حدوث كسر في الصبغيات وهذا يبن أن المستخلص قد أثر على ال DNA. ولقد تبث أن المواد التي تؤدي إلى تكسير الصبغيات أو الكروميدات تكون عادة ناتج من تفاعل هذه المواد مع DNA وهو دليل على سميتها الجينية [46]. وأيضا تكون صبغي حلقي (الشكل 3 ج) وهذا دليل تكسر أطراف الصبغي والتحامها.

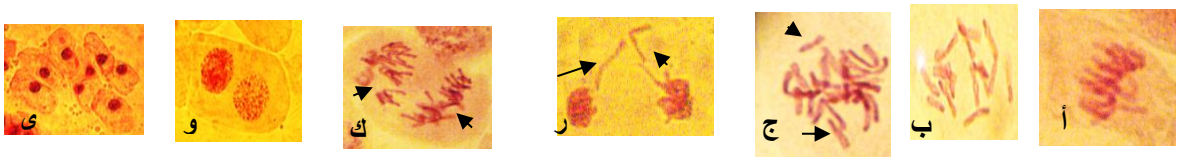
بالإضافة إلى أنواع الانحرافات الصبغيات الغير طبيعية تظهر نسبة عالية من الخلايا تحتوي على النواة الصغيرة micronuclei (الشكل 3 و)، في الطور البيني. تشير الدراسات ذات العلاقة بأن النواة الصغيرة قد تشكلت بطريقتين: أولا من أجزاء صبغية تشكلت في النهاية G2 ولا تعمل

في مرحلة M مع الصبغيات الطبيعية، وترفض خارج النواة في الطور البيني [13]. ثانيا: حدوث الأشكال المختلفة من الصبغيات المتأخرة، التي لا تترتب في خط الاستواء مع الصبغيات [36].الأنواع المختلفة لحالات الشذوذ الصبغية مثل الجسور، تأخر الصبغيات، اللزوجة، خلايا بها نواتين (الشكل 4 و)، تكسر الصبغيات والصبغيات المبعثرة في الطور الإستوائي C-metaphase كانت لوحظت في خلايا القمم النامية لجذور البصل *Allium cepa* بعد المعاملة بالتراكيز المختلفة من المستخلص المائي لنبات الفيجل بنسب مختلفة ويستدل بها على السمية الجينية genotoxicity لهذا النبات. وجود هذه الانحرافات الصبغية ربما ناتج عن الأحداث التالية : أولا المركبات التي يحتويها النبات له تأثير مباشر على DNA وتؤدي إلى انحرافات صبغية. ثانيا المركبات التي يحتويها النبات تعيق تخليق ال DNA والبروتين أو الترجمة لل RNA وبذلك لا تتكون المواد المتعلقة بحركة الصبغيات، وتؤدي إلى حدوث إنحراف الصبغيات في النهاية.

معاملة خلايا البصل نشطة بمستخلص نبات الفيجل لمدة 3 ساعات أظهر نسبة عالية من الطفرات الدالة على أنه يحتوي على مواد لها تأثير سيتووراثي سمي يعتمد على التركيز كلما زاد التركيز زادت نسبة الطفرات والتي كانت معظمها في الطور الانفصالي والنهائي وهذه الدراسة تشير إلى أن الطفرات الجينية هي السائدة مما يؤكد تفاعل مركبات الفيجل مع DNA مباشرة عند التراكيز العالية وأن الزمن 3 ساعات كان كافي لأحداث السمية الجينية. مع ملاحظة زيادة معدل الانقسام في التراكيز المنخفضة مما يدل على خطورة الادمان على استخدامه ولو بتراكيز منخفضة خاصة حول الخلايا المنقسمة التي قد يؤدي إلى حدوث سرطان.



الشكل 3: حالات الشذوذ الصبغية الجينية في خلايا البصل المعاملة بمستخلص نبات الفيجل. أ: تكسير الصبغي في الطور الاستوائي. ب: قطع الصبغية في الطور الانفصالي. ج: تكسير الصبغي في الطور النهائي مع الصبغي الحلقي. د: الجسور في الطور الانفصالي مع وجود صبغيات متأخرة وقطع صبغية. ر: جسور في الطور النهائي. و: نواة صغيرة في الطور الابتدائي.



الشكل 4: حالات الشذوذ الصبغية الفسيولوجية في خلايا البصل المعاملة بمستخلص نبات الفيجل. أ : لزوجة الصبغية في الطور الاستوائي. ب: C-metaphase. ج : تأخر الصبغيات في الطور الاستوائي. د : تأخر الصبغيات في الطور الانفصالي ر : تأخر الصبغيات في الطور النهائي مع وجود قطع صبغية ك : تعدد الأقطاب في الطور الانفصالي و : خلايا بها نواتان ي :خلايا مرستيمة غير نشطة

.الاستنتاج

المستخلص المائي لنبات الفيجل بالتراكيز المختلفة له تأثير مثبط للانقسام الخلوي بزيادة التركيز والزمن، ووجود الطفرات من النوعين الجينية والفسيولوجية. الطفرات الجينية كانت أعلى نسبة من الفسيولوجية وهذا دليل على أن الإدمان على استخدامه حتى بجرعات بسيطة يكون خطر على حياة الإنسان لأنه يؤثر على جزيء DNA والبروتينات وبالتالي يجب الحذر عند استخدامه خاصة للأطفال والمرأة الحامل.

المراجع

[1] القاضي ، عبد الله ، عبد الحكيم و صفيه، محمد، الرماح، بشينة. إستعمالات بعض النباتات في الطب الشعبي الليبي. الجزء الأول. بنغازي: دار الكتب الوطنية. 1997.

[2] S. M. Abdullah, and F. R. El-Garabulli, Nickel Genotoxicity in Plant Bioassay. The 10th International Chemistry Conference and Exhibition in Africa. 2007.

[3] Z. M. Adam, F. A. Ebad, Z. A. Abo-Elkheir, and I. A. El-Sheikh, Alternations in nucleic acids, protein content and mitotic division of *Vicia faba* root tip cells as affected by malation and tamaron insecticides. *Cytologia*. 1990. 55: 349-355.

[4] A. N. Ali, k. Al-rahwi and U. Lindequist. Some Medicinal Plants Used in Yemen Herbal Medicine to Treat Malaria. *Afr.J.Trad.CAM*. 2004. 1:72-76.

[5] M. S. Al-Said, M.Tariq, M.A. Al-Yahya, S. Rafatullah, G.T. Ginnawi and A.M. Ageel. Studies on *Ruta Chalepensis*, An Ancient Medicinal Herb Still Used in Traditional Medicine. *Ethnophannacol*. 1990.28: 305-312.

[6] M. Ali-Shtayeh, S. Suheil, and I, Abu Ghdeib. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*. 1999. 42(11-12):665-672.

[7] O. AL-Sagair, Persistent Hyperinsuliemia as a Result of Infusion with *Ruta chalepensis* . *J. Appl. Res*., 2004a. 4(4):625-629.

[8] O. AL-Sagair, experimentally challenged Reactivity of the pituitary- Adrenal-Hematological Axis Aftar *Ruta chalepensis* Administration. *J. Appl. Res*., 2004b. 4(4):606-609.

[9] A. A. Al- Qarawi, Stimulatory Effect of the Aqueous Extract of Ruta *chalepensis* on the Sex Organs and Hormones of Male Rats. *J. Appl. Res*., 2005. 5(1):206-211.

[10] A. C. Andrews, The Use of Rue as Spice by the Greeks and Romans. *Classical J*. 1948. 43(6):371-373.
[11] A. Badr, M. A. Hamoud, and S. A. Haroun, Effect of the herbicide Gespax on mitosis, mitotic chromosomes and nucleic acid in *Visia faba* L. root meristems. *Proc. Saudi Biol*., 1985. 8: 359-369.
[12] C. M. D. Ciganda, and A. Laborde, Herbal infusions used for induced abortion. *J. Toxicol Clin Toxicol*. 2003. 41(3):235-239.
[13] F. A. L. Clowes, Micronuclei and radio sensitivity in the root meristems of *Vicia faba*. *Ann. Botany*, 1964. 28: 345-350.
[14] L. C. M. Egito, M. G. Medeiros, S. R. B. de Medeiros, and L. F. Agnez-Lima, Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil *Genet. Molecular Biol.*, 2007. 30(2): 435-441.
[15] F. R. El- Garbulli, and J. A. Bashasha, Hazard of Paracetamol Addiction on Cell Division. J. Sci. and Its Applications. 2008**.** 2(1): 6-11.
[16] A. A. El-Ghamery, A. I. EL-nahas, and M. M. Mansour, 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.* 2000. 65(3): 277-287.
[17] A. L. El-Nahas, Mutagenic potential of imazethapyr herbicide (Pursuit) on *Vicia faba* in the presence of urea fertilizer. *Pakistan J. Biol. Sci.* 2000. 3: 900-905.
[18] S. M. El-Yassri, Genotoxic Effect of Nickel Sulfate on The Dividing Cells Using *Allium cepa* and *Saccharomyces cerevisiae* as Bioassays. M.S. thesis, univ. of Garyounis of science, Benghazi. 2008.
[19] J. Gibka, R. Ewaskopiska, E. A. K. Siwicki, A. W., Ewa S. and J. Bany, Stimulation of humoral immunity in mice by undecan-2- one, undecan-2-ol and their derivative. *Exp. Immunol*. 2008. 33(2): 47-49.
[20] W. F. Grant, The present status of higher plant bioassay for the detection of environmental mutagens. *Mutat. Res*. 1994. 310: 175-185.
[21] M. Hadis, M. Lulu, Y. Mekonnen, and T. Asfaw, Field trials on the repellent activity of four plant products against mainly Mansonia population in western Ethiopia. *Phytother. Res*. 2003.17(3):202-205.
[22] L. Iauk, K. Mangano, A. Rapisarda, S. Ragusa, L. Maiolino, R. Musumeci, R. Costanzo, A. Serra, and A. Seciale, Protection against murine endotoxemia by treatment with *Ruta chalepensis* L., a plant with anti-inflammatory properties. *J. Ethnopharmacol*. 2004. 90(2-3):267-72.
[23] S. M. H. Jafi, Rutaceae. Flora of Libya, 1977. 50:2-4.
[24] C. H. O. Jang-Hee, L. E. E. Chi-Hoon and L. E. E. Hoi-Seon, Antimicrobial Activity of Quinoline Derivatives Isolated from *Ruta chalepensis* Toward Human Intestinal Bacteria. *J. Microbiol. and biotechnol*. 2005.5(38): 646-651.
[25] P. P. Joly, J. Thomas, and P. S. Baby, MEDICINAL PLANTS. India: K A U. 1998.
[26] D. Khynriam, and S. B. Prasad, Effect of cisplatin on *Allium cepa* root meristem cells. *Cytobios*. 1999. 100(395):171-80.
[27] I. Klasterska, A. T. Natarajan, and C. Ramel, An interpretation of the origin of subchromatid aberrations and chromosome stickiness as a category of chromatid aberrations. *Hereditas,* 1976. 83: 153-162.
[28] Y. C. Kong, K. H. Ng, K. H. Wat, Yuehchukene, a novel anti-implantation indole alkaloid from *Murraya paniculata*. *Planta Med.* 1985. 3:304-307.
[29] H. Leclerc, *Precis de Phytotherapie.* 5th Ed. Paris, France: Massson and Cie. 1966.
[30] F. Mancebo, L. Hilje, G. A. Mora, H. C. Victor, and S. Rodolf, Biological activity of *Ruta chalepensis* (Rutaceae) and *Sechium pittieri* (Cucurbitaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Rev Biol Trop*. 2001. 49(2):501-508.
[31] B. Mayadah, F. Shehadeh, U. Afifi and Abu-H. Sawsan, Platelet Aggregation Inhibitors from Aerial Parts of *Ruta Chalepensis* Grown in Jordan. *Integrative Med. Insights*. 2007. 2: 35–39.
[32] M. McGill, S. Pathak, and T. C. Hsu, Effects of ethidium bromide on mitosis and chromosomes. A possible material basis for chromosome stickiness. *Chromosoma,* 1974. 47: 157-167.
[33] E. S. Miguel, 2003. Rue (*Ruta* L., Rutaceae) in traditional Spain: frequency and distribution of its medicinal and symbolic application. *Econ Bot.* **57:231**–244.
[34] M. k. Naseri, Gharib, N. Dabir, A. A. Moazedi and M. R. Zadkarami, The Role of Î²-Adrenoceptors at Inhibitory Effect of 0Hydroalcoholic Extract of *Ruta chalepensis* Leaf in Male Rat`s Ileum. *J. Biological Sci*. 2008. 8 (1): 88-94.

[35] S. Pathak, A. S. Multanil, P. Banerji and P. Banerji, Ruta 6 selectively induces cell death in brain cancer cells but proliferation in normal peripheral blood lymphocytes: A novel treatment for human brain cancer. *Int. J. Oncol.* 2003. 23: 975-982.
[36] X. W. Qian, Mutagenic effects of chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba*. *J. Zhejiang Univ. SCI.*, 2004. 5(12): 1570-1576.
[37] M. C. Sabini, L. N. Cariddi, F. M. Escobar, R. A. Bachetti, S. B. Sutil, M. S. Contigiani, S. M. Zanon, and L. I. Sabini, Evaluation of Cytogenotoxic Effects of Cold Aqueous Extract from *Achyrocline satureioides* by *Allium cepa* L test. *Natural Product Communications,* 2011. 6 (7): 995 – 998.
[38] M. I. Saggoo, S. Kumari and Bindu. Cytological Effect of Indian Medicinal Plants I. Mitotic effects of leaf homogenate of *Tylophora indica* L. on *Allium Cepa*. *Cytologyia*. 1991. 56:633-637
[39] C. Sarkenmann, V. Matthijs, N. Yvan, and E. Sina, Combinatorial Synthesis by Nature: Volatile Organic Sulfur Containing Constituents of *Ruta chalepensis* L. *Chem. Biodivers*. 2006. 3 (9):943-957.
[40] S. Sen, and D. K. Kar, Cytology and Genetics. India: Alpha Science Intrnational ltd. 2005.
[41] M. M. Shehata, A. Habib, N. S. Khalifa, and M. S. Salama, Cytological and biochemical effects of 5-florouracil and colchicine on *Vicia faba* plants. *Egypt. J. Biotech.,* 2000. 1: 218-233.
[42] T. Sifa, Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. *Mutat Res*., 2005.626: 4-14.
[43] M. I. Soliman, and G. T. Ghoneam, the mutagenic potentialities of some herbicides using *Vicia faba* as a biological system. *Biotechnol.* 2004. 3(2): 140-154.
[44] R. K. Somashekar, and T. G. Gowda, Effect of a Fungicide Vitavax on *Allium cepa. Cytologia.* 1984. 49: 177-181.
[45] H. Steinkellner, K. Mun-Sik, C. Helma, S. Ecker, T. H. Ma, O. Horak, M. Kundi, and S. Knasmuller, Genotoxic effects of heavy metals: Comparative investigation with plant bioassays. *Environ. Mol. Mutagen.,* 1998. 3:183-191.
[46] A. Ulubelen, L. Ertugrul, H. Birman, R. Yigit, G. Erseven and V. Olgac , Antifertility effects of some coumarins isolated from *Ruta chalepensis* and *R. chalepensis* var. *latifolia* in rodents. *Phytotherapy Res*. 2006. 8(4):233-236.
[47] De Sa R. Zeichen, A. Rey, E. Arganaraz and E. Bindstein, Perinatal Toxicology of *Ruta chalepensis* (Rutaceae) in mice. *J. Ethnopharmacol*. 2000. 69(2):93-98.
[48] J. Bashasha, 2004. Effeet of aspirin, paracetamol and vitamin C on genetic material and chromosome behavior during cell division. M. Sc. Thesis, Univ. of Garyounis Faculty of Science, Benghazi.