# وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

## جامعة سبها _ كلية العلوم

قسم علم الحيوان

شعبة : تقنيات حيوية

مذكرة تخرج لاستكمال متطلبات الحصول علي درجة البكالوريوس

**بعنوان:_**

**التأثيرات السمية لمستخلص الكلورفورم والأسيتون**

**لأزهار نبات الدفلة** oLeader Nerium **علي القمم النامية لجذور نبات البصل** cepa ALLium

**أعداد الطالبات:_**

﴿ حسنيه محمد زايد – سعده علي صالح ﴾

**تحت إشراف الأستاذة**

﴿ فاطمة سليمان عريش ﴾

بسم الله الرحمن الرحيم

(الرحمن علم القرآن "١" خلق الإنسان علمه البيان "٢")

صدق الله العظيم

سورة الرحمن الآية (1-2)

## الإهـــــــــــــداء ...

إلى من وهبنا الحياة ومدنا بالروح إلى من ميزنا بالأصغرين القلب واللسان وفضلنا بنعمتي المنطق والبيان

الله عز وجل

إلى منارة العلم إلى من أمدنا بالآيات البينات كل البيان

سيدنا محمد عليه الصلاة والسلام

إلى يومنا وغدنا إلى التي حضنت غصن الزيتون للسلام وحملت سنبله من قمح أرض طيبه

وطننا الحبيب ليبيا

إلى قدوتنا الأولي والنبراس الذي ينير دربنا إلى من علمونا الصمود أمام أمواج البحر الثائر إلى من رفعنا رؤوسنا عاليا افتخارا بهم .

أبائنا الأعزاء

إلى من رآنا قلبها قبل عينيها وحضنتنا أحشائها قبل يديها إلى الظل الذي تأوي إليه في كل حين

أمهاتنا الصامدات

إلى من ملكتم عروقنا وأفكارنا إلى من كنتم شامخين ووقفتم إلى جانبنا كالجبل الصامد

أخواننا وأخواتنا

إلى دفاترنا وأقلامنا مساطرنا ومماحاتنا كلماتنا حروفنا حكمنا وأشعارنا

صديقاتنا الوفيات

إلى الشموع التي تحترق ولكن ليس للفناء ولكن لتنير دربنا

معلمي الأجيال

# كلمـــة الشكـــــــــــر

اللهم لك الحمد والشكر حتي ترضي أن رضيت وبعد الرضي حمدا كثيرا بجمال وجهك وعظيم سلطانك .

يا من خلقت فسويت ' أنعمت فأكثرت ' أعطيت فأكرمت ' لك الشكر كله يا ذا الجلال والإكرام ' وبعد الصلاة والسلام علي سيدنا محمد صلي الله عليه وسلم ' تتقدم بجزيل الشكر إلي الأستاذة / **فاطمة سليمان عريش** ، المشرفة علي البحث التي كانت نعمة المرشدة والناصحة لنا أثناء إشرافها علي هذا البحث ونرجو الله أن يمدها بدوام الصحة والعافية .

كما نتقدم بالشكر الجزيل إلي الأستاذ الدكتور / **أحمد علي الجنقه** أمين قسم علم الحيوان الذي كان لنا نعم الأب المرشد في طوال مسيرتنا التعليمية .

كما أتقدم بخالص الشكر والتقدير إلي أختي العزيزة أمنة محمد زايد التي وقفت بجانبي ودعمتني لاستكمال البحث .

# فهرس الموضوعات


| الرقم | الموضوع | رقم الصفحة |
|---|---|---|
| ١ | الأية | أ |
| ٢ | الإهداء | ب |
| ٣ | كلمة الشكر | ج |
| ***الفصل الأول*** | | |
| ٥ | المقدمة | ١ |
| ٦ | الهدف من الدراسة | ٨ |
| ***الفصل الثاني*** | | |
| ٧ | الدراسات السابقة | ٩ |
| ***الفصل الثالث*** | | |
| ٨ | المواد وطرق العمل | ١٤ |
| ***الفصل الرابع*** | | |
| ٩ | النتائج والمناقشة | ١٩ |
| ***الفصل الخامس*** | | |
| ١٠ | الخلاصة | ٤١ |
| ١١ | التوصيات | ٤٢ |
| ***الفصل السادس*** | | |
| ١٢ | المراجع | ٤٣ |
| الفصل السابع | | |
| ١٣ | الملحق | ٤٨ |

# فهرس الأشكال


| ت | الشكل | رقم الصفحة |
|---|---|---|
| ١ | شكل(١) يوضح التركيب الكيميائي لOleandrinC32H48O9المادة الكيميائية السامة في نبات الدفلة | ٢ |
| ٢ | شكل(٢) يوضح التركيب الكيميائي لdigoxinC4H64O14 | ٣ |
| ٣ | شكل (٣) يبين مجهر مزود بشاشة وكاميرا | ١٨ |
| ٤ | شكل(٤) يوضح تأثير مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة علي معامل الانقسام والمراحل المختلفة للأطوار الكروموسومية بعد المعاملة بتراكيز مختلفة ولأزمنة مختلفة | ٢٩ |
| ٥ | شكل(٥) يوضح تأثير مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة علي معامل الشذوذ الكروموسومية في خلايا القمم النامية لجذور نبات البصل بعد المعاملة بتراكيز مختلفة ولأزمنة مختلفة | ٣٠ |
| ٦ | شكل(٦) يوضح تأثير مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة علي معامل الانقسام والمراحل المختلفة للأطوار الكروموسومية بعد المعاملة بتراكيز مختلفة ولأزمنة مختلفة | ٣١ |
| ٨ | شكل(٧) يوضح تأثير مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة علي معامل الشذوذ الكروموسومية في خلايا القمم النامية لجذور نبات البصل بعد المعاملة بتراكيز مختلفة ولأزمنة مختلفة | ٣٢ |

# فهرس الجداول


| ت | الجدول | رقم الصفحة |
|---|---|---|
| ١ | جدول (١) يوضح المستخلص النباتي لنبات الدفلة | ١٨ |
| ٢ | جدول (٢) يوضح متوسطات تكرار معامل الانقسام (MI) ومراحل الانقسام في خلايا القمم النامية لجذور نبات البصل بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة ولأوقات مختلفة | ٢٥ |
| ٣ | جدول(٣) يوضح متوسطات تكرار الأختلالات الكروموسومية الحادثة في خلايا القمم النامية لجذور نبات البصل بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من مستخلص الكلوروفورم لأزها نبات الدفلة ولأوقات مختلفة | ٢٦ |
| ٤ | جدول (٤) يوضح متوسطات تكرار معامل الانقسام (MI) ومراحل الانقسام في خلايا القمم النامية لجذور نبات البصل بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة ولأوقات مختلفة | ٢٧ |
| ٥ | جدول(٥) يوضح متوسطات تكرار الأختلالات الكروموسومية الحادثة في خلايا القمم النامية لجذور نبات البصل بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة ولأوقات مختلفة | ٢٨ |

# فهرس الصور


| ت | الصور | رقم الصفحة |
|---|---|---|
| ١ | صورة (١)توضح الأختلالات الحادثه في الطور التمهيدي بالتراكيز المختلفةml\mg0.02,0.2,2 ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الكلورفورم لأزهار نبات الدفلة. | ٣٣ |
| ٢ | صورة (٢)توضح الأختلالات الحادثه في الطور الاستوائي بالتراكيز المختلفةml\mg0.02,0.2,2 ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الكلورفورم لأزهار نبات الدفلة. | ٣٤ |
| ٣ | صورة (٣)توضح الأختلالات الحادثه في الطور الانفصالي بالتراكيز المختلفةml\mg0.02,0.2,2 ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الكلورفورم لأزهار نبات الدفلة. | ٣٥ |
| ٤ | صورة (٤)توضح الأختلالات الحادثه في الطور النهائي بالتراكيز المختلفةml\mg0.02,0.2,2 ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الكلورفورم لأزهار نبات الدفلة. | ٣٦ |
| ٥ | صورة (٥)توضح الأختلالات الحادثه في الطور التمهيدي بالتراكيز المختلفةml\mg0.02,0.2,2 ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة. | ٣٧ |
| ٦ | صورة (٦)توضح الأختلالات الحادثه في الطور الاستوائي بالتراكيز المختلفةml\mg0.02,0.2,2 ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة. | ٣٨ |
| ٧ | صورة (٧)توضح الأختلالات الحادثه في الطور الانفصالي بالتراكيز المختلفةml\mg0.02,0.2,2 ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة. | ٣٩ |

| | | |
|---|---|---|
| ٨ | صورة (٨)توضح الأختلالات الحادثه في الطور النهائي بالتراكيز المختلفة0.02,0.2,2mg\ml ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة. | ٤٠ |

# أزهـــــار الـــدفلـــــــة

## تصنيفها :-

*Kingdom:-planate*

*Phylum: Angioperm*

*Class:-dicotyledona*

*Genus:-nerium*

*Species:-oleander*

*(Engler and lineous, 1983)*

ويطلق عليه أحيانا اسم الصفصاف ويتبع عائلة أبو سنيانية والاسم العلمي nerium oleander والاسم الشعبي "الدفلة " وهو نبات شجيري دائم الحضرة أوراقه مستطيلة ومحبه سوارية مدببة القمم ، الأزهار تكون بيضاء أو حمراء أو وردية (الدجوي ١٩٩٦).

نبات الدفلة هو موجود من سنين وكما يقال هي من البيئة المحلية ولا أحد يدري كم شخص توفي بسبب هذه النبتة طوال تلك السنين وخاصة الأطفال لأنهم يأكلون ما تتناول أيديهم ويعتبر نوع من نباتات الزينة التي تزرع في المناطق الحارة والاستوائية وهي نبته سامة وتستخدم أحيانا لدواعي طبية وحتى كمبيد حشري(الدجوي ١٩٩٦).

هناك حوالي ١٣٠٠ نوع مصنف تحت هذا الاسم، ينمو هذا النباتٍ ليصل طوله من ٢ – ٦ أمتارٍ استخدمت منذ قديم الزمان في العلاج (الدجوي ١٩٩٦).

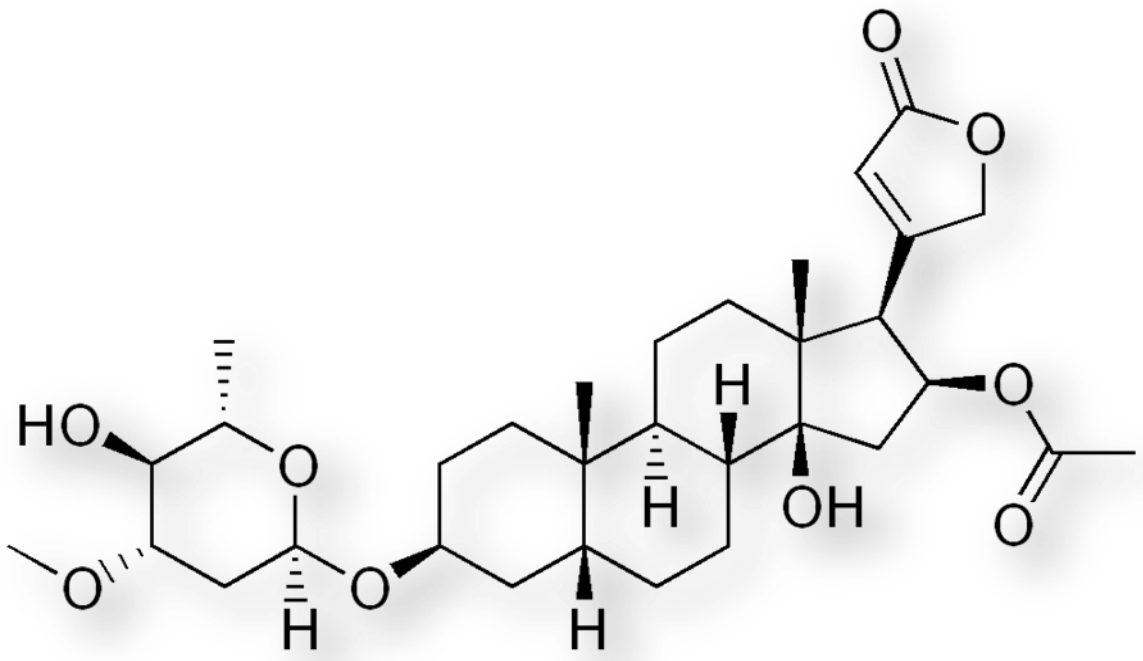
وكذلك أطلق على هذا النبات اسم راولفيا نسبة إلى العالم الألماني ليونهارد راولف والذى اكتشف هذا النبات كان موطنه الأصلى قارتى أسيا وأفريقيا وكان يستعمل بكثرة في الهند وثم إدخاله إلي أوروبا(الدجوي ١٩٩٦).

## المـــواد الفعـــالـــــة :-

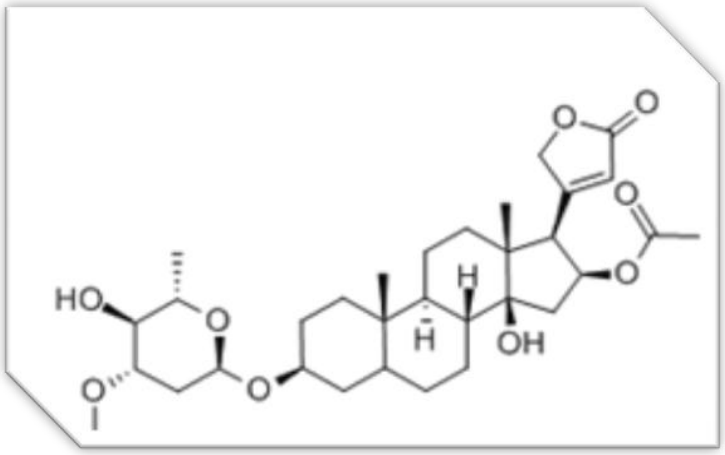
يحتوي علي جليكوسيدات من أهمها : الأولندرين،كوتيزين،نيرينتين،روزاجنين (القاضي ١٩٨٦).

لنبات الدفلة نوعين فقط ويحتوي كل نوع منهما علي أنواع مختلفة من الجلايكوسيدات وهي: Nerioignoside- digitoxinogenin- odoroside- nerita- folinerin- oleandrin- nerizoside في الدفلة الوردية،و thevetine- thevetoxin في الدفلة الصفراء،وهذه المجموعة الجليكوسيدية تتضمن أيضا المواد الكيماوية digtoxin,digoxin.أهم هذه الأنواع من حيت السمية oleandrin,neriine (jortani1996,Goetz1998,Desai2000)

السم الذي نال حظا من الدراسة من بين أفراد المجموعة الجليكوسيدية لنبات الدفلة هو ال(oleandrin) والاسم الكيميائي له 16b-acetoxy-3b(2.6dideoxy-3-0-metyl-a2-1-arabino- hexopranosy1)oxy-14-hydroxy-5S,14S-card-20(22)-enolide وصيغته الكيميائية C32H48O9 أن تركيب oleanderin مشابه جدا لتركيبdigoxin كما هو مبين في الشكلين (٢،١)حيت أن oleanderin يحتوي علي نواة نشطة وحلقة lactone غير مشبعة،وأن اختلاف oleanderin عنdigoxin يكمن في بديلها الإضافي لمجموعة acetyloxy في C16 وفقدان مجموعة هيدروكسيل في موقع ١٢ ويحتوي oleanderin أيضا علي dideoxy-arabinose (jortani1996).




شـــكل (١) يوضـــح تركيـــب المـــادة الكيميائيـــة الســـامة فـــي نبـــات الدفلـــة oleanderin(C32H48O9)(jortani1996)




شكل(٢)يوضح التركيب الكيميائي لdigoxin(C41H64O14)(jortani1996)

استهلاك الإنسان البالغ من١٠-٢٠ ورقة تؤدي إلي أثار جانبية خطيرة بينما استهلاك الرضيع لورقة واحدة تؤدي لمقتله،وكذلك الكثير من حيوانات الماشية بنسبة من ٠.٠٠٥% إلي ٠.٠١٥% من الدفلة 0.5mg\ml من أوراق نبات الدفلة لكل كيلو جرام من وزن الجسم تكون قاتلة وجرعات مختلفة ستؤثر علي الحيوانات الأخري(Jortani1996,watson2003,inchem2005).

## الأهمية العلاجية لأزهار نبات الدفلة :-

يستعمل النبات لعلاج الدمامل والبتور السوداء بأن توضع ضميدة من أوراق النبات على المكان المصاب مرة واحدة في اليوم لمدة ٣ أو ٤ أيام ( القاضي ١٩٨٦ ) وفي عام ١٩٣١ استخلص عالمان هنديان بلورات لمركبين كيمائيين من جذور الراولفيا ووصفا تأثيرهما على علاج ضغط الدم العالي وقد أشار إلي أن مسحوق الجذور يمكنه تهدئة التوتر العصبي .

والمركب oleandrin السام الموجود في نبات الدفلة له تأثير علي القلب،وبشكل غير مباشر علي الجهاز العصبي المركزي،حيث يثبط مضخة الصوديوم والبوتاسيوم،مما يؤدي إلي تجمعات الصوديوم بين الخلايا بنسب متزايدة ،كما يؤدي إلي زيادة مستويات الكالسيوم،وكذلك يؤثر علي قوة ضربات القلب حيث يؤدي إلي تقليل ضربات القلب ويثبط معدل إستقطاب العقدة الجيبية الأدينية الشريانية بواسطة زيادة إنقباطات العصب الحائر والذي يغلق التوصيل العصبي المتجة للجهاز العصبي المركزي،وتعود سميتة إلي ارتباطه بكمية عالية من البروتين في بلازما الدم مما يقلل من نسبة التركيز الحر الموجود بالدم والذي يعمل كمادة سامة(Desai2000,jortani1996) .

ويستخرج من جذور النبات زيت يفيد في علاج أمراض الجلد وخاصة مرض القشرة الصدفية وكذلك يستخدم مغلي الأوراق للأنف وغرغرة لتقوية الأسنان واللثة ،ويستخدم مستخلص الأوراق في علاج بعض أمراض القلب وتقوية عضلاته وتنظيم ضرباته ومدر للبول ،وهو عقار مهدئ ويساعد على علاج التوتر العصبي الحاد وبعض الأمراض العصبية حيث يعود بحالته الطبيعية ( الدجوي ١٩٩٦ ) .

## الوصف النباتي لنبات الدفلة أو الورد الكاذب nerium oleander .

شجيرة أو شجرة صغيرة معمرة يصل ارتفاعها من ٢.٥ – ٦ متر وهي ذات شكل قائم التفريع وأفراعها غزيرة ومقوسة (الدجوي ١٩٩٦) .

### الســـــاق والأوراق :-

الأوراق بسيطة ترتيبها سواري من ٣ أوراق محببة مطاولة ضيقة ذات قمة حادة تستدق عند القاعدة كاملة الحواف سميكة سطحها العلوي أخضر داكن والسفلي أخضر باهت مستديمة الخضرة (الدجوي ١٩٩٦) .

### الأزهـــار والثمـــار :-

الأزهار كبيرة ذات لون أبيض أو قرنفلي أو أحمر أو ارجواني توجد في مجاميع متفرقة طرفية تظهر في المدة من نيسان / تشرين الأول / أكتوبر والتمرة جرابية متطاولة (الدجوي ١٩٩٦) .

## المكونات الفعالة لنبات الدفلة وتأثيراتها :-

المكونات الفعالة وتأثير هذا النبات فيقال نبات الدفلة من النباتات شديدة السمية للإنسان والحيوان فهو يحتوي على مواد تسمى جليكوسيدات إذ تسبب بذوره وأوراقه وأزهاره الغثيان والاقياء وشلل الجهاز التنفسي ومن تم الموت، أيضاً تأثيراتها على الجهاز العصبي النعاس وارتعاش العضلات ونوبات تسنجية وغيبوبة وكذلك له تأثيرات أخرى على الجهاز الهضمي (الدجوي ١٩٩٦) .

## نبـــات البصـــــل :-

يعتبر البصل Allium–cepa نبات ممتاز لدراسة التغيرات الكروموسومية والشذوذ الكروموسومي ، والبصل نبات عشبي ذو حولين (Ahmed,Yasmen 1992؛حسن ١٩٨٨)وصف شكل النواة في Alium–cepa،حيت أن دراسة الانقسام الميتوزي باستخدام هذا النبات بسيطة جدا ،فهي تنجز أو تنفد في المعمل ،ولا تحتاج ألي بيت زجاجي أوصوبات أوحقل لسهولة نمو نضج النبات،إن الانقسام الميوزي Alium–cepa يكون مستجيبا لدراسة الاختلالات الكروموسومية

والخصائص المورفولجية الشكلية للكروموسومات، وكذلك الانقسام الميتوزي فيAlium_cepaوالتي درست من قبلMensikai(١٩٣٩) للدراسات السيتولوجية ،عقب معاملة الكروموسومات بالمواد الكيمياوية والعوامل الفيزيائية،وجميعها تتضمن أوتشمل كسور وفجوات وتغيرات أخري.(Grant1982).

كما وجد في النباتات البقولية مثل البصل والفول بها كروموسومات كبيرة الحجم،تعطي تخصرات جيدة للانقسام الخلوي عند قمم الجدور النامية(سالم١٩٩٩؛عبد التواب١٩٩١).

## دورة الخلية Cell cycle :-

هي الفترة ما بين دورتي الانقسام غير المباشر الخيطي المتثاليين أي الفترة ما بين جيل الخلية والجيل الذي يليه وتستغرق دورة الخلية في خلايا الثديات حوالي "١٨" : "٢٨" ساعة وتتألف دورة الخلية من مرحلتين :-

المرحلة الأولى : المرحلة البينية ( التحضيرية ) وتشمل G1 ، S ، G2 .

المرحلة الثانية : المرحلة التوزيعية : وتشمل الانقسام الخيطي (M) mitosis وانقسام السيتوبلازم( C).

يشكل الانقسام الفعلي للنواة حوالي ٥٠% من دورة الخلية ، ويظل الباقي في الطور البيني Interphase. وكان يعتقد أن الطور البيني عبارة عن فترة سكون حيث تبدو النواة خاملة تحت المجهر الضوئي العادي إلا أن الدراسات والاكتشافات أوضحت أن استنساخ المادة الوراثية ( DNA) يحدث في هذا الطور ( البيني ) ومراحله هي :-

مرحلةG1:تستغرق عدة ساعات ويمكن أن تنجز في فترة زمنية قصيرة أو تستمر إلي عدة أيام أو شهور ،ويعتمد ذلك علي أنواع وحالة الخلية والعوامل البيئية ،ولا يحدث استنتاج للمادة الوراثية (DNA)في هذه المرحلة ولكن تعتبر مرحلة هامة أو تحضيرية لنسخ الDNA حيث يتم تخليق DNA الناقل (DNA)وDNAالرسول (DNA-m) والعديد من الإنزيمات.

مرحلةS:تستغرق ٥ساعات ،وهي مرحلة تلي G1 ،حيث يحدث استنتاج المادة الوراثية ،وعند نهاية هذه المرحلة تكون الخلية ثنائية الصبغية ،وتنفصل هذه الصبغيات ما بين انتهاء عملية تناسخ المادة الورثية وبداية عملية الانقسام غير المباشر.

مرحلة G2 : هي فترة استجمام بعد بناء الـ DNA ، وتستغرق من ٢-٥ ساعات في المعدل ، ويتم تخليق برزتينات المغزل والنجم في هذه المرحلة ، وهي عملية تحضيرية لانفصال الأجسام الصبغية والصبغات أثناء الانقسام الميتوزي ، وتعتبر مرحلة G2 أقصر مرحلة G1 .(الفيصل ١٩٩٩) .

مرحلة الانقسام غير المباشر : تستغرق حوالي ساعة واحدة Mitosis=P+M+A+T .

P = الطور التحضيري ( التمهيدي ) .

M = Metaphase الطور الاستوائي .

A= Anaphase الطور الانفصالي .

T= Telophase الطور النهائي (الفيصل ١٩٩٩) .

## *الانقسام غير المباشر – الخيطي أو الفتيلي Mitosis :-

يتميز بعدة مراحل على درجة كبيرة من التماثل في جميع الكائنات الحية ورغم بعض الفوارق الطفيفة فالنتائج النهائية لهذه العملية هي واحدة ، حيث تتوزع فيها أزواج الكروماتيدات Chromatids الناتجة عن تضاعف مختلف الصبغيات Chromosomes في نواة خلية الأصل ، وفي النهاية على الخليتين الناتجتين عن هذا الانقسام ، وبذلك تحفظ المادة الوراثية وتورث 2N، ويحدث هذا الانقسام في الخلايا الجسمية ( الذاتية ) ويتم في عمليتين اثنتين متميزتين : تضاعف النواة ( انقسام ) ، وانقسام السيتوبلازم . انقسام النواة هو الجزء الأكثر وضوحاً وتعقيداً لانقسام خلية ، وهو ذو أهمية لدراسة علم الخلية ، وينقسم الانقسام غير المباشر إلي أربعة أطوار هي : الطور التحضيري ( التمهيدي ) والاستوائي والانفصالي والطور النهائي(الفيصل ١٩٩٩) .

١_الطور التحضيري (التمهيدي)Prophase :-

وفي هذا الطور تبدأ عملية التكتف لذا الصبغيات غير المتميزة علي هيئة أجسام خيطية تصل إلي أقصر حد ،وتأخذ في التغلظ تدريجيا بسبب اكتسابها الذهن المفسفر وبعض RNA الذي يكون مشتقا من النوية ويمكن مشاهة أحد الصبغيات علي أنه متكون من شطرين – كروماتيدين متماثلين تماما،ويلتفان حول بعضهما ويرتبطان في النقطة المركزية (السنترومير)Centromere ،ويزول الغشاء النووي تدريجيا مما يؤدي إلي اختلاط محتويات النواة بمحتويات السيتوبلازم.وفي نهاية هذا الطور تبدو الصبغيات متصلة بالألياف المغزلية(الفيصل ٢٠٠٠) .

٢-الطور الاستوائي Metaphase :-

في أثناء هذا الطور تترتب الصبغيات فوق الصفيحة الاستوائية ،هي خط استوائي متعامد مع جهاز الانقسام (المغزل)وتعتبر الصفيحة نقطة البدء في تشكيل جدار الخلية لاحقا،ووسط المنطقة النووية Metaphase Plate،وتكون النقاط المركزية Cenromeres في نهاية هذا الطور في المستوي واحد علي الصحيفة الاستوائية التي يرتبط كل من وجهيها بقطبي المغزل المتشكل ويعزي الموقع الاستوائي للصبغيات إلي ترسيخ حالة التوازن،أي أن الصبغيات غير جاهزة للانشطار (الانفصال)،وهكذا تتوازن قوى جذب كلا القطبين عن طريق الجذب المتبادل للكروماتيدات الشقيقةChromatids Sister مسببة توزيعا استوائيا للصبغيات(الفيصل٢٠٠٠) .

٣-الطور الانفصالي Anaphase :-

تنفصل في هذا الطور الكروماتيدات الشقيقة وتتجه وتتجمع نحو الأقطاب المتضادة للمغزل ،حيث تنشق القطعة المركزية التي تربط الكروماتين معا ويتكون صبغيان مستقلان.عندها يصبح كل كروماتيد كامل البنية مكونا صبغيا جديدا.ويعتبر هذا الطور أقصر الأطوار،يحدث انفصال الكروماتيدات الشقيقة نتيجة لعاملين :

العامل الأول:استطالة المغزل المركزي وازدياد كتلته

العامل الثاني:تختزل الألياف نصف المغزلية إلي حوالي خمس طولها في بعض الحالات.

٤-الطور النهائيTelophase :-

عندما تصل الصبغيات المتماثلة إلي القطبين،تصبح مكتظة وتبدأ في العودة تدريجيا إلي حالتها قبل الانقسام،حيث تتحول إلي خيوط رفيعة وتصبح شبكة كروماتية ،ويتكون الغشاء النووي حول النواتين البنويتين الناتجين من هذا الإنقسام(الفيصل ٢٠٠٠) .

# الهدف من الدراسة

تهدف هذه الدراسة لتقييم السمية الوراثية لمستخلص (الكلوروفورم والأسيتون)المستخلصة من أزهار نبات الدفلة Nerium oleader علي القمم النامية لجذور نبات البصل Alium – cepa وذلك باستخدام اختبار test _ .

Alium cepa

## الدراسات السابقة :-

أجريت دراسة علي المستخلص المائي لأزهار نبات الدفلة علي الفطر المسبب لموت بادرات الخيارضد الفطرحيت أختبرت عدة تراكيزمختلفة للمستخلص النباتي علي وسط ADP لتحديد التراكيز المؤثرة علي نمو الفطر Pytiumapharnidermatium.

أظهرت النتائج وجود تأثير معنوي واضح للمستخلص النباتي بزيادة التراكيز المستخدمة ضد الفطر المستهدف. فقد أظهر تركيز ٣%فعالية تثبيطية عالية لنمو فطر المستعمرة .

كما تم اختيار تأثير التراكيز المحددة علي النسبة المئوية لإصابة مرض سقوط بادرات الخيار وقد أظهرت النتائج وجود تأثير واضح في خفض النسبة المئوية لإصابة بادرات الخيار عند تركيز ٣% التي بلغت ٣٠.٤٧% مقارنة بباقي التراكيز ٠%،٠.٥%،١%،٢%.

وكذلك أوضحت النتائج أن مستخلص أوراق نبات الدفلة كمادة مؤثرة علي نمو وتثبيط الفطر هو أحد فطريات التربة الممرضة وكذلك أجراء الأبحاث الألية التي تؤثر فيها المادة علي نمو الفطر حيت تحتوي جميع أجزاء نبات الدفلة علي المادة السامة Dleadrin cardioactiveglcosides والزيوت النباتية والطيارة.

وقد وجد أيضا أن مستخلص زيت الكيروسين الأبيض للأجزاء المقلمة حديثا من نبات الدفلة (التفلة) (Neriumoleander) له تأثير شديد السمية علي سوس الأرز rice(weevil:curclionidae:sitophilusoryzae) بل أنة أكتر سمية من البيرثرم المركز وذلك لاحتوائه علي جليكوسيدات استرويدية كالنيريين(Niriin)والنيريانثي وأولياندرين وقلويدكيورارين استرويدي ،كما وجد أن مستخلص مكوني سيمسدين وهابلوفيتين لنبات Haolophyton cimicidum التابع لنفس فصيلة الأبوسيانية له فاعلية بيولوجية عالية على الصرصار الألماني ( عفيفي وعطي ٢٠٠٣) .

كما أشار(عفيفي وعطي ٢٠٠٣) أن للمستخلص الأيتيلي لمكونات أوراق نبات الدفلة تأثير سام جداً على أسماك الجمبوزيا بعد ساعة وثلاثة ساعات وست ساعات وأربعة وعشرون ساعة وثلاثة ساعات وست ساعات وأربعة وعشرون ساعة من التعريض وأن نسبة الموت التي تؤدي ألي قتل ٥٠% من الأسماك المعاملة هي ١٥٩٠جرام/لتر وذلك لأحتواء المستخلص علي جليكوسيدات استرويدية ومن أهم هذه الجليكوسيدات نيرين ونيريانتين وأولياندرين وكذلك تحتوي الأوراق علي مركبات من مجموعة كيميائية أخري هي مجموعة القلويدات ومن هذه المركبات القلوية هي pseudocuta. أجرت(رغد٢٠٠٦) تجربة لدراسة تأثير المستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات الدفلة على النبيبات الدقيقة لخلايا H22 cell السرطانية لدراسة تأثيرها على وقف

الانقسام الخلوي في الطور الاستوائي، وأظهرت نتائج المعاملة الأولى بالمستخلص المائي لنبات الدفلة بالتراكيز 0.01مكغم /مل إلى10 مكغم /مل لمدة 60 دقيقة عدم قدرة المستخلص على وقف الانقسام الخلوي في الطور الاستوائي وكذلك التأثير على النبيبات الدقيقة في حين أظهرت المعاملة الثانية بالمستخلص الكحولي بالتراكيز ذاتها لمدة60 دقيقة القدرة على وقف الانقسام الخلوي في الطور الاستوائي لخلايا الكبد الفاري l مكغم /مل وكذلك التأثير على وقف النبيبات الدقيقة وذلك باستخدام مجهر immunofluroresence وتم تحديد الجرع العلاجية من المستخلصين الكحولي والمائي للأوراق اعتماداً على قيمة الجرعة المميتة النصفية.

وأثبتت التجارب العلاجية فعالية عالية لهذين المستخلصين في اختزال حجم الورم بشكل يعتمد على الجرعة المستخدمة منها ومدة التجريع . وكانت الجرعة العلاجية الأعلى لكل من المستخلصين (16.5، 20 غم/كغم من وزن الفأرة على الترتيب) هي الأفضل تأثيراً من خلال اختزالها لحجم الورم في الفئران بنسبة 84.09% ، 86.7% على الترتيب ، من ثم موت الخلوي المبرمج للخلايا السرطانية،نالت الأعشاب الطبية اهتماماُ كبيراُ منذ القدم وذلك لقدرتها الكبيرة على تسكين الألم والشفاء، ولا نزال نعتمد عليها حتى يومنا هذا في صناعة عدد كبير من الأدوية لأن طب الأعشاب يكمل العلاجات التقليدية في الغالب فيوفر أدوية مأمونة على الرغم من أن بعض النباتات قد تنتج آثاراُ جانبية على غرار كل الأدوية، لذا فمن الضروري ألا تؤخذ وتستخدم في بعض منها إلا بأشراف ممارس، تتوقف قدرة الدواء العشبي على التأثير في أنظمة الجسم على المكونات الكيميائية التي يحتوي عليها لذا بدأ الباحثون باستخلاص وعزل هذه المواد من النباتات في القرن الثامن عشر ومنذ ذلك الوقت أعتدنا النظر إلي الأعشاب وتأثيراتها بدلالة المكونات الفعالة التي تحتويها كما أشار Toshioوآخرون (2008).

زاد الاهتمام بالمكونات الفعالة (مركبات الايض الثانوي) بوصفها علاجاُ للسرطان إذ تمتلك تلك المركبات خصائص علاجية تختلف في تأثيراتها في الخلية السرطانية إذ قد تكون لهذه المركبات فعالية تثبيطية تؤدي إلى قتل الخلية الورمية أو إيقاف نموها Schmidt,Bastins (2007)،ومن هذه المركبات التي أثبتت فعاليتها المثبطة لتكاثر الخلايا السرطانية هي القلويدات وتعد من أهم وأكثر المركبات الفعالة الموجودة في المستخلصات النباتية، إذ تمتاز بسميتها العالية للخلايا نتيجة تأثيرها في عدة آليات في الخلية ومنها الانقسام الخلوي أو في مرحلة تسبق الانقسام أو تحفيز الخلايا السرطانية للدخول في مرحلة الموت المبرمج Apoptosis كما أشار Mukherjee وآخرون (2001).

و من أهم هذه القلويدات vinca alkaloid (vinblastine ، vincristine) colchicinemaytansine و( taxanes، paclitaxel) وخاصة docetaxel التي تستخدم بشكل كبير بوصفها مركبات مضادة للانقسام من

خلال عملها على ديناميكية نبيبات المغزل (خيوط المغزل ) التي لها دور مهم في انفصال الكروموسومات خلال الانقسام الخيطي كما أوضح الباحثان Lopus و panda (2006) ونظراً للدور الذي تقوم به النبيبات الدقيقة في انقسام الخلية الأمر الذي جعلها الهدف المناسب لتطور أدوية العلاج الكيميائي Chemotherapeutic drugs ضد النمو السريع والتوالد غير الطبيعي للخلايا السرطانية، لذا صار التوجه للبحث عن أنواع أخرى من المركبات منها الكلايوسيدات لاستخلاصها ومعرفة تأثيرها في الانقسام.

اتجهت أنظار الباحثين في السنوات الأخيرة إلى أهمية استخدام بعض الأعشاب الطبية في محاولة لعلاج مرض السرطان منها مادة Sangumarine اذ وجد انه يثبط عدة أنواع من الخطوط الخلوية السرطانية البشرية المقاومة للعقاقير المتعددة من خلال منع بلمرة النبيبات الدقيقة وتثبيطه لتكاثر الخلايا وحثها على الموت المبرمج كما أشار الباحث Jordan (2002).

ومن الدراسات الحديثة التي اهتمت بهذا الجانب ونجحت في استخدام المستخلصات النباتية في تثبيط نمو خطوط الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي وداخله وشملت نبات المرير Sonchus oleraceus زغير (2009)، ونبات المديد Convolvulues arvensis الربيعي (2009) .

إذ توصلت هذه الدراسات إلى أن لهذه المستخلصات تأثيرات سمية في مختلف أنواع خطوط الخلايا السرطانية، ومازالت البحوث جارية ومنها الدراسة الحالية لاختبار فعالية المستخلصات النباتية سعياً ومحاولة لإيجاد مواد فعالة ضد مرض السرطان.

إن نبات الدفلة يحتوي على المركبات الكلايكوسيدية والسكريات والفلافونات وهذا ما أكدهChakravarty ( 1976) .

وتحتوي المستخلصات الخام على خليط من المركبات الفعالة والتي يؤدي أستخدام التراكيز العالية الى تعطيل نفاذية الخلية من خلال تعطيل الفعالية المحفزة لأنزيم NaKATPase مما يعطل من عمل مضخة صوديوم والبوتاسيوم الأمر الذي يؤدي إلى فقدان نفاذية الغشاء البلازمي وهذا ما تفعله أغلب الكلايكوسيدات القلبية

كالـ gitoxin ,digitoxigenin, oleandrin الأمر الذي يؤدي إلى السماح للمركبات الأخرى ومنها مركب الأولندرين ( الذي ثبت أحتواء المستخلصات الخام عليه ) إلى داخل الخلية والعمل على أحداث التشوهات في تسلسل القواعد النايتروجينية مما يحدث زيادة في معدل Sister chromatid exchange(SCE).

وقد ذكر FULواخرون (2005) أن كلا من المستخلص المائي الخام لأوراق الدفلة ومركب الأولندرين تؤدي الى فقدان للتيلومير telomere في الـ DNA وأنخفاض في مستويات عامل TRF2 مما يحفز على موت الخلايا المبرمج . ،كما أنهما يؤديان إلى تثبيط دورة الخلية عند الطور G2/M ومنعها من التقدم وهذا ما أكدته دراسة رغد (2006).

كما أشار Meng وآخرون (2002) تقترح هذه الدراسة تأثيرا مباشر أخر لهذه المستخلصات في قدرتها على اختزال حجم الورم بسبب احتوائها على المركبات القادرة على أظهار فعل مضاد لتخليق الأوعية الدموية كما أشار Okamura وآخرون (1998)تأثير جرع مختلفة من المستخلصين الخام للدفلة في الموت المبرمج في الحي تشير النتائج إلى وجود زيادة معنوية في معدل الخلايا التي عانت موتاً خلوياً مبرمجاً عند مستوى احتمالية (P < 005)ع السيطرة بالنسبة للمستخلص المائي، فقد كانت معدلات الخلايا متقاربة للجرع الثلاث ( 4.1, 16.5, 8.2) ملغم \كغم وهي (27.21 ، 26.70 ، 25.34)% على التوالي ولكنها أعلى من معدل الخلايا لمجموعة السيطرة 19.32%، بينت النتائج وجود تأثير ايجابي للمستخلص الكحولي الخام في معدل الخلايا التي عانت موتاً مبرمجاً لجميع الجرع المستخدمة بشكل معنوي (P < 005) عن السيطرة، كانت الجرع ( 5, 10, 20)ملغم \كغم وكانت نسبة الخلايا التي عانت موت الخلوي المبرمج (28.16 ، 25.06 ، 24.53)% على التوالي بالمقارنة مع السيطرة 18.30% .

وقد بينت النتائج أن أفضل المستخلصين المستخدمة في علاج سرطان الكبد الفأري هو المستخلص الكحولي الخام وذلك لأنه أظهر تثبيطا للورم بنسبة تثبيط بلغت 86.7% عند استخدام الجرعة العالية .وربما يرجع السبب في الفعالية التثبيطية العالية للمستخلصات الخام إلى احتواء المستخلصات الخام لأوراق نبات الدفلة على عدد كبير من المركبات الفعالة الأخرى وأغلبها من الكلايكوسيدات القلبية ومن هذه المركبات الموجودة في أوراق نبات الدفلة هي Oleanolic acid , ursolic acid والتي ثبت أن لها فعالية مضادة لعدة أنواع من الخلايا السرطانية Okamura واخرون(1998) .

وليس بالضرورة أن تعمل هذه المركبات كمضادات للورم فقط وإنما قد تؤثر على أداء الجهاز المناعي فتنشطه وبذلك تعمل كمنشطات مناعية ، ومن الأمور التي يجب أن تؤخذ بنظر الاعتبار بجانب الفعالية الحالة للسرطان ، ظاهرة الموت المبرمج التي قد تستحثها المستخلصات الخام حيث تحصل إزالة سريعة للخلايا المعانية من الموت المبرمج .

وقد ذكرت دراسات أخرى والمستخلص المائي الخام لأوراق نبات الدفلة لهما تأثير كابح على عدد من العوامل التي أدت إلى تثبيط عاملي NFκB و AP−1 والتي تنظم التعبير الجيني gene expression لعدد من الجينات التي تلعب دورا مهما في الموت المبرمج للخلايا apoptosis كما أشار Pathake وآخرون (2000)،كذلك وجد بعض لافقاريات المعروفة لاتتأثر بسموم الدفلة.

كذلك استخدام كميات صغيرة من المواد الجليكوسيدات مسؤولة عن تحفيز التأثيرات العصبية علي النظام المناعي لمرضي السرطان(AWadhi2008) .

كذلك وجد أن ابتلاع أولياندرين يمكن أن يسبب تأثيرات المعوية و القلبية التأثيرات المعوية تشمل الغثيان وتقيؤ وسيلان لعاب فائق وألم بطني وإسهال الذي قد أو قد لايحتوي علي دم( Langford 1996)،حيت نجد أن في الخلايا التي تنقسم يتحد الكوليتشسين مع مادة التيوبيولين البروتينية الأصل، والتي تكون الأنابيب الدقيقة المكونة للخيوط المغزلية وعندما تكون الأنابيب الدقيقة نشطة نجد أن الكوليتشسين تعمل علي منع عملية البلمرة(Polymerization) مما يؤدي إلي تحلل المغزل (Dissolution).

وعند التركيز الكافي والمناسب من مادة الكوليتشيسين لإيقاف عملية الانقسام المباشر، نجد أن هذا التركيز لا يثبط من عمل حمض الديزوكسي نيوكليك والريبونيوكليك ولا حتي تصنيع البروتين.

وتوجد في العديد من الكالويدات النباتية (Botanical Alkaloids) المستخرجة منVinca rosea L والتي تستطيع أن تؤثر علي الثدييات أثناء عملية الانقسام المباشر، وتكون أقل تخصصا من الكوليشسين حيت يكون أقصي تأثير لهذه القلويدات هو تثبيط تداخل البيوريدين مع حمض الريبونيوكليك بالإضافة إلي تجمع الريبوسومات (البنهاوي و أخرون١٩٩٥،عفيفي٢٠٠٠).

## المواد المستخدمة وطرق العمل :-

**أولا:- الأجهزة:-**

١- جهـــاز التعقيم.

٢- جهاز الطرد المركزي.

٣- المجهـر الالكتروني .

٤- جهـــاز الرجاج.

٥-الفـــرن الحراري.

٦-الميـــزان الحساس.

**ثانيا:-المواد:-**

١- أنـــابيب اختبـــــار.

٢- ورق تـــرشيـــــح.

٣- دوارق زجـــاجيـــة.

٤- مثبت فـــارمـــــر.

٥-حمض الهيدروكلوريك Hcl(١عياري) .

٦- البصـــــلAlium cepa .

٧-صبغة الأسيتوكارمن AcetoCarmin .

٨-علبـــــة تشـريـــح.

٩-شرائح زجاجية Slide preparation وغطاء الشريحةCover Slipe

## **طريقة استخلاص العينة** Sample Extraction Method :-

تم في هذه الدراسة استخلاص عينات نباتية لنبات الدفلة Nerium oleander على النحو التالي :-

جمع عينات من مناطق مختلفة داخل كلية العلوم / جامعة سبها بتاريخ ٢٠١٢/٤/٣٠ .

تنظيف الأزهار وغسلت جيداً من الأتربة العالقة بها .

تم وضعت في فرن كهربائي بدرجة حرارة ٢٠م° ولمدة ٣ أيام .

تم تحضير المستخلص النباتي بطحن وسحق النبات الجاف ومن ثم وضعه في قوارير زجاجية محكمة الأغلاق جيداً لمنع تطاير المواد التي تتكون منها.

قمنا بإضافة ٥٠٠ مل / ٥٠ جم من مذيب كلوروفورم والأسيتون، توضع في الرجاج لمدة ٢٤ ساعة وذلك لرج محلول كلوروفورم والأسيتون مع النبات .

تم بعد ذلك رشحت بورق الترشيح لفصل العوالق الكبيرة.

تم رشحت باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ١٠ دقائق لفصل العوالق الصغيرة .

تم تبخير الراشح باستخدام الفرن الحراري بدرجة ٤٠ م° لمدة عشرة أيام وذلك للتجفيف والحصول على مستخلص لزج (Sakthivadivel,M.Daniel,T2008) .

ويتم أجراء نفس الخطوات مع مستخلص الأسيتون.

**طـــرق التحضيـــــر** :-

١- مثبت فارمر Farmer ( Solution ١ مل : ٣ مل ) :-

جزء واحد من حمض الخليك مع ٣ أجزاء من كحول إيتلي مطلق ( يستعمل لإيقاف الانقسام الميتوزي في الدور الاستوائي ) (الأنصاري١٩٩٩) .

٢- حمض الهيدروكلوريد HCL :-

حمض HCL ١ عياري .

يتم تحضيره بالطريقة التالية :-

العيارية = الوزن

تم تحضير محلول واحد عياري .

محلول / محلول الوزن الجزيئي

التكافؤ X الكثافة النوعية X التركيز

تحضير محلول عياري Hcl كثافته ١.١٨ – تركيز ٣٦% – تكافؤه ١ – وزنه الجزيئي ٣٦.٤ .

٣٦.٤

٨٥.٦=٣٦ X١.١٨ X١

مذاب في ٩١٤،٤٢ من الماء المقطر لتكمل الي١٠٠٠مل.

٣- صبغة الأسيتوكارمن :-

يزن ١–٢ جرام من مسحوق كارمن إلي٤٥مل من حمض الخليك المركز ونسخن ثم نضيف ٥٥ مل من الماء المقطر بعد تبريد المحلول(خليل والسيد ١٩٨٥Grant,sharma1980) .

**اختبار** *test Alium-cepa* .

هذا الاختبار يوفر إجراء وقائي وسريع للكيماويات والملوثات السامة ----الخ والتي قد تمثل خطورة محتملة علي البيئة والإنسان ،ويعتبر نبات البصل ممتاز لدراسة التغيرات الكروموسومية والشذوذ الكروموسومي بعد المعالجة بهذه المواد الكيميائية والملوثات،حيث أن قمم الجذور غالبا ماتكون علي تلامس أو احتكاك مباشر مع الكيماويات الموجودة في التربة والماء المتخلف والمتدفق من المصانع فبملاحظة قمة الجذر في النوع المستخدم Alium–cepa بينت النتائج حساسية هذا النبات بوضوح للتأثيرات الضارة لهذه الملوثات البيئية وفحص الكروموسومات في الخلايا الفردية لقمة الجذر يمكن أن تبين تأثيرات مطفرة علي اللأرجح (Fiskesj١٩٨٩).

**طـــــــرق العمـــــل**:-

**١–أعداد الأبصال:–**

يتم أختيار بصل صغير الحجم متماثل (الوزن من ١٠–٣٠ جرام).

تنظف الأبصال وتعري بإزالة القشرة الخارجية السائبة وكشط أو حك قاعدة البصلة لكي يساعدها علي نمو الجذر وبذلك تكون الأبصال جاهزة للاستعمال (Grant1982,Fiskesj1989) .

**٢–أستنبات الأبصال :–**

تغمر الأبصال في ماء عادي (ماء الصنوبر) بحيث تكون ربع قلب البصلة تقريبا مغمورة في الماء ويتم تغير الماء يوميا (Grant1982,Rank2003–الأنصاري ١٩٩٩).

توضع الأبصال في مكان نعرض للهواء حتي يسهل علي تنفس النبات جيدا.

تترك الأوعية في الظلام طوال فترة التجربة عند ٢٠ درجة مئوية لمساعدة الجذور علي النمو.

تنقل الأبصال عندما تنمو الجذور وتصل إلي ١–٥سم بحيث كل بصلة تحتوي علي معدل من ١٠–٢٠ جذير إلي وعاء أخر يحتوي علي محلول المعاملة المستخلص.يتم قص الجذور وتثبيتها بعد إنقضاء الفترة الزمنية المحددة للمعاملة (Grant1982b) .

**٣–التثبيت** Fixation **:–**

توضع في المثبت لمدة ساعتين (كذلك نستطيع تركه لمدة 24ساعة أو أسبوع في المثبت) (الأنصاري ١٩٩٩)

**٤-تحضير الشرائح** Slide preparation **:-**

تخرج الجذور من المثبت وتوضع علي الشريحة زجاجية نظيفة ،ونقوم بقطع قمم الجذور بمقياس 0.5سم.

ومن ثم نضع قطرة أو قطرتين من HCL علي القمم النامية لمدة 5دقائق وبعدها نقوم بتجفيفها بواسطة ورق الترشيح.

تم نضع قليلا من صبغة الأسيتوكارمن لمدة تتراوح من نصف ساعة إلي ساعة.

**٥-الهرس** Squash **:-**

ويتم هرس قمم الجذور بواسطة أداة حديدية تعمل علي هرس الخلايا،ثم يوضع غطاء الشريحة بشكل زاوية حادة لمنع تكون فقاعات،ثم توضع بين ورقتي ترشيح،ويضغط فوق غطاء الشريحة بواسطة الإبهام ليسمح بفرد وتوزيع الخلايا عن بعضها،ثم تسخن بلطف لمدة ٣ثواني،وتفحص الخلايا بواسطة المجهر(الأنصاري١٩٩٩).

**٦-التخزين** Storag **:-**

يتم التخزين في ٧٠%كحول بعد التثبيت وتحفظ في المبرد(Sharma,Sharma1980).

**٧-التثبيت الدائم**

يستخدم الكحول الإيثيلي بتركيز 70 % مع ماء مقطر، حيت توضع الشريحة في هذا المحلول، وتترك لمدة من 3-5 دقائق حتي يزال غطاء الشريحة، ثم يتم أخراج الشريحة ووضعها بشكل مائل علي ورق الترشيح لفترة من الزمن، حتي تجف ثم توضع قطرة من كندا بلسم، وبعد ذلك يتم وضع غطاء الشريحة(خليل والسيد ١٩٨٥)

**٨-الفحص والعد** Examination and Calculation:

تم فحص الإختلالات الكروموسومية في عد من ٣-٥ شرائح علي الأقل من كل معاملة تحت المجهر الضوئي مزود بشاشه وكاميرا كماهو موضح في الشكل (٣) ligth microscope(Mansour1993).

**شكل(٣)يبين مجهر مزود بشاشة وكاميرا**

**الجدول رقم(١) يوضح وزن المستخلصات النباتية لأزهار نبات الدفلة.**

| المستخلص | وزن المستخلص الجاف | التركيز |
|---|---|---|
| كلوروفورم | 0.1g | 100mg\ml |
| الأسيتون | 0.1g | 100mg\ml |

## النتائج والمناقشة:-

### أولاً:- مستخلص الكلوروفورم:-

### تأثيره علي معامل الانقسام:-

تبين النتائج المدرجة في الجدول(٢) أن تأثير مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة علي القمم النامية لجذور نبات البصل تأثير مثبط علي معامل الانقسام (MI) بحيث نتجت من خلال المعاملة بالتراكيز المذكورة ٠.٠٢و٠.٢و٢mg\ml ولمدة ٢٤و٤٨ ساعة انخفاض واضح في معامل الانقسام مقارنة بالعينة الكنترول وهذا الانخفاض يزداد حدة مع زيادة التراكيز والزمن علي التوالي،فعند تحليل النتائج عند أعلي تركيز2.0mg\ml نجد تراجع في قيم معامل الانقسام تدريجياً مقارنة بالكنترول خلال الزمن ٢٤و٤٨ ساعة حيت كانت النتائج كالتالي

علـي التـوالي٢.١٩± ١٦.٣٤و١.٧٦±١٣.١ وعنـد المعاملـة بمسـتخلص الكلوروفـورم لأزهـار نبـات الدفلـة بأقـل تركيز 0.02mg\ml عند نفس الأزمنة ٢٤و٤٨ ساعة نلاحظ زيادة في معامل الانقسام مقارنة بالتركيز الأعلى حيت كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٤.١٢±٢٠.١٦ و٣.١٨±١٩.٦٦كما هو موضح في الشكل (٤) وهذه النتائج تتفق مع دراسة (Schmidt,Bastins2007) الذي أتبث أن المكونات الفعالة (مركبات الأيض الثانوي) لها فعالية تثبيطية تؤدي إلي قتل الخلية الورمية أو إيقاف نموها.

**تأثيره علي مراحل الانقسام الميتوزي:-**

من خلال النتائج المدرجة في الجدول(٢) تبين من تحليل تكرارات الطور التمهيدي الناتج عن تأثير مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة بالتراكيز ٠.٠٠٢mg\ml و٠.٢و٢ ولمدة ٢٤و٤٨ ساعة حيت وجد عند المعاملة بأعلي تركيز 2mg\ml من مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة ولمدة ٢٤و٤٨ ساعة نلاحظ انحدار في القيم حيت كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٧.٧٦±٢٦.٣٣ و٣.٠٢±١٥.٣٣كما هو موضح في الشكل (٤) ،وعند المعاملة بأقل تركيز 0.02mg\ml من مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة عند نفس الأزمنة ٢٤و٤٨ ساعة نلاحظ ارتفاع في القيم مقارنة بالتركيز الأعلى حيت كانت النتائج المتحصل عليها كالتالي علي التوالي ٢.٧٤±٢٧.٦٧و٥.٢٤±٢٣.٠٠.

أما عند تحليل معدل تكرارات الطور الاستوائي الناتج عن تأثير مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة حيت وجد عند المعاملة بأعلى تركيز 2mg\ml من مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة ولمدة ٢٤و٤٨ ساعة انحدار في القيم حيت كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٦.١٢ ±١٣.٢٢و٣.١٢±٨.٢٥ وعند المعاملة بأقل تركيز من مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة عند نفس الأزمنة نلاحظ ارتفاع في القيم مقارنة بالتركيز الأعلى حيت كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٤.٠٠±٢٤.٣٣و٦.٦٥±١٢.٦٧ وهذه النتائج لاتتفق مع دراسة(رغد٢٠٠٦) التي أشارت أن المستخلص المائي لأوراق نبات الدفلة غير قادر علي وقف الانقسام الخلوي في الطور الاستوائي.

أما عند تحليل الطورين الانفصالي-النهائي الناتج عن تأثير مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة حيت وجد عند المعاملة بأعلى تركيز 2mg\ml من مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة ولمدة ٢٤و٤٨ ساعة انحدار في القيم حيت كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٧.٢١±٣٠.٣٣و٣.٥٠±٢٥.٦٧ وعند المعاملة بأقل تركيز 0.02mg\ml عند نفس الأزمنة كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٦.٦٥±٣٧.٣٣و١.٥±٢٨.٢٤ حيت

نلاحظ ارتفاع في القيم مقارنة بالتركيز الأعلى كما هو موضح في الشكل (٤)،وكما نجد ارتفاع القيم في هذين الطورين؛وذلك لعدم المقدرة علي الفصل بين هذين الطورين الانفصالي–النهائي لذلك تم الجمع بينهما.

**تأثير المستخلص بأحداث الشذوذ الكروموسومي في مراحل الانقسام الميتوزي:-**

من خلال النتائج المدرجة في الجدول(٣) نلاحظ تأثير مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة بأحداث الشذوذ الكروموسومية علي مراحل الانقسام المختلفة في خلايا القمم النامية لجذور نبات البصل عند المعاملة بالتراكيز التالية 0.02mg\ml و٠.٢و٢ لمدة ٢٤و٤٨ ساعة حيت نجد أن هذه الشذوذ في الطور التمهيدي عند المعاملة بأعلى تركيز 2mg\ml ولمدة ٢٤ ساعة كانت أهمها المتكتل والمحبب وغير منتظم كما هو موضح في الصورة (١-٤) وكانت النتائج كالتالي علي التوالي ١.٣٧±٤.٥٤و٠.٠٥±٢.٢٥و١.٣٦±٣.١٥ حيت نلاحظ انخفاض في القيم عند المعاملة بنفس التركيز ولمدة ٤٨ ساعة كانت أهمها تمهيدي غير منتظم كما هو موضح في الصورة (١-٨) حيت كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٠.٠١±١.١٦و٠.٠١±١.٠٥و٠.٠٠±٠.٠٠ وعند المعاملة بأقل تركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة كانت أهمها تمهيدي غير منتظم كما هو موضح في الصورة(١-٢) وكانت النتائج كالتالي علي التوالي ٠.٥٠±٢.٧٦ و٠.٣٢±٢.٣٣و٠.٠٠±٠.٠٠ وعند المعاملة بنفس التركيز لمدة ٤٨ ساعة نلاحظ انخفاض في القيم مقارنة بالزمن ٢٤ ساعة حيت كانت أهمها تمهيدي محبب كما هو موضح في الصورة (١-٦)حيت كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٠.٠١±١.٦٥و٠.٠١±١.٠٥و٠.٠٠±٠.٠٠ونجد أن هذه الدراسة تتفق مع دراسة (Okamuraوآخرون ١٩٩٨) التي بينت أن المستخلص الكحولي الخام لأوراق نبات الدفلة لديه فعالية تثبيطية وذلك بسبب احتوائه علي عدد كبير من المركبات الفعالة الأخرى وأغلبها الكلايكوسيدات، وكذلك نجد أهم التشوهات عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml تمهيدي غير منتظم كما هو موضح في الصور (١-١٠)و(١-١١)و(١-١٢).

أما عند تحليل نتائج الطور الاستوائي كانت من أهم هذه الشذوذ عند المعاملة بأعلى تركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة كانت أهمها استوائي غير منتظم وC-metaphase نلاحظ ارتفاع في القيم حيت كانت كالتالي علي التوالي ١.٨٧±٢.٠٠و١.٢٨±٣.٢٨ ومن أهمها استوائي غير منتظم كما هو موضح في الصورة(٢-٤) و(٢-٩) وعند المعاملة بنفس التركيز لمدة ٤٨ ساعة نلاحظ انخفاض في القيم مقارنة بالزمن ٢٤ ساعة حيت كانت أهمها استوائي لزج كما هو موضح في الصورة (٢-٨)وكانت النتائج كالتالي علي التوالي ٠.١٦±١.١٤و١.٩٥±٢.٠٣ وعند المعاملة بأقل تركيز 0.02mg\ml لمدة٢٤ ساعة كانت أهمها استوائي غير منتظم كما هو موضح في الصور (٢-٢) و(٢-١٠) وكانت النتائج كالتالي علي التوالي

٠.٦٤±٣.٠٠و٣.٠٢±٦.٢١ وعند المعاملة بنفس التركيز لمدة ٤٨ ساعة كانت استوائي غير منتظم وبه شظايا كما هو موضح في الصورة (٢-٦) وكانت النتائج كالتالي علي التوالي ١.٠٢±٣.٢٤و٠.٠٢±٣.٥٢ حيت نلاحظ انخفاض في القيم مقارنة بالزمن ٢٤ ساعة ونجد أن هذه النتائج لا تتفق مع دراسة (البنهاوي وآخرون ١٩٩٥؛عفيفي ٢٠٠٠ ) الذي أشار أن الخلايالا تنقسم عندما يتحد الكوليتشسين مع مادة التيوبيولين البروتينية الأصل، والتي تكون الأنابيب الدقيقة المكونة للخيوط المغزلية.

وأما بالنسبة للشذوذ في الطورين الانفصالي- النهائي عند المعاملة بأعلى تركيز ٢mg\ml لمدة ٢٤ساعة كانت من أهم الشذوذ المتأخر والمتكتل وشظايا حيث نلاحظ ارتفاع في القيم كانت كالتالي علي التوالي ١.٣١±٦.٦٠و٠.٤٢± ٣.١٢ و٠.٠٠±٠.١٥ ومن أهمها نهائي متكتل كماهو موضح في الصورة(٤-٤) و(٤-٩) وعند المعاملة بنفس التركيز 2mg\ml ولمدة ٤٨ساعة كانت أهمها نهائي متكتل ومتأخر كما هو موضح في الصورة (٤-٨) وكانت النتائج كالتالي علي التوالي ٢.٤٥±٥.١٧ و٠.٤٥±٢.٥٥ و٠.٠٠±٠.٠٠حيث نلاحظ انخفاض في القيم مقارنة بالزمن ٢٤ساعة عند نفس التركيز 2mg\ml.

وعند المعاملة بأقل تركيز ٠.٠٢mg\ml كانت أهمها نهائي متكتل كما هو موضح في الصورة (٤-٢)و(٤-١٠) و(٤-١١) وكانت النتائج كالتالي ٧.٥٧±١٣.٣٢ و٣.٥١±٧.٦٦ و٠.٦٤±١.٢٤،وعند المعاملة بنفس التركيز عند زمن ٤٨ ساعة كانت أهمها نهائي متكتل كما هو موضح في الصورة (٤-٦) وكانت النتائج كالتالي النتائج ٠.٠٢±٢.٣٥ و١.٩٥±٣.٨٦و٠.٣±٠.٨٩ حيث نلاحظ انخفاض في القيم عند زمن ٤٨ساعة مقارنة بالزمن ٢٤ساعة عند نفس التركيز، ونجد أن هذه النتائج تتفق مع دراسة (عفيفي وعطي٢٠٠٣) كما أشار أن المستخلص الأيتيلي لمكونات أوراق نبات الدفلة تأثير سام جداً علي أسماك الجمبوزيا بعد ساعة و٣ساعات و٢٤ ساعة،وكما نجد أنفصالي متعدد الأقطاب كما هو موضح في الصورة (٣-٢) و(٣-٤) (٣-٦) و(٣-٨) و(٣-١٠) و(٣-١١)، وكما نجد أن أختبار لم يعطي أي فروقات معنوية بين مستخلص الكلوروفورم والأسيتون كما هو موضح في الملحق في الجدول(٨).

**ثانياً**:- **مستخلص الأسيتون**:-

**تأثيره علي معامل الانقسام :-**

بينت النتائج المدرجة في الجدول (٤) أن تأثير مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة علي القمم النامية لجذور نبات البصل تأثير مثبط علي معامل الأنقسام (MI) ويزداد هذا بزيادة التركيز والزمن وذلك عند المعاملة بالتراكيز المذكورة mg\ml٠.٠٢و٠.٢و٢ لمدة ٢٤و٤٨ ساعة كما هو موضح في الجدول(٤) وهذه النتيجة وجدت في مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة عند المقارنة بالكنترول،فعند تحليل النتائج عند أعلي تركيز mg\ml2 نجد تراجع في قيم معامل الأنقسام تدريجياً مقارنة بالكنترول خلال الزمن ٢٤و٤٨ ساعة حيت كانت النتائج كالتالي علي التوالي١.١٥±١٦.١٤و١.٧٦±١٠.٤٥ وعند المعاملة بمستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة بأقل تركيز mg\ml0.02 عند نفس الأزمنة ٢٤و٤٨ ساعة نلاحظ زيادة في معامل الأنقسام مقارنة بأعلى تركيز حيت كانت النتائج كالتالي علي التوالي ١.٤٥±١٩.٨٠و٤.٥٠±١٦.٤٥ وكما هو مبين في الشكل (٦) ونجد أن هذه النتائج تتفق مع دراسة (Schmidt,Bastins2007) الذي أثبت أن المكونات الفعالة (مركبات الأيض الثانوي) لها فعالية تثبيطية تؤدي إلي قتل الخلية الورمية أو إيقاف نموها.

**تأثيره علي مراحل الانقسام الميتوزي:-**

من خلال النتائج المدرجة في الجدول (٤) تبين من خلال تحليل تكرارات الطور التمهيدي الناتج عن تأثير مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة بالتراكيز المختلفة ولأزمنة مختلفة حيت وجد عند المعاملة بأعلى تركيز mg\ml2 من مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة ولمدة ٢٤و٤٨ ساعة نلاحظ انحدار في القيم ٧.٠٠±٢٥.٠٠و٦.١١±١٧.٣وعند المعاملة بأقل تركيز mg\ml0.02 من مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة عند نفس الأزمنة ٢٤و٤٨ ساعة كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٢.١٤ ±٢٥.٦٦و٣.٥١±١٩.٦٦حيت نلاحظ ارتفاع في القيم مقارنة بالتركيز الأعلى وكما هو موضح في الشكل (٦) .

أما عند تحليل معدل تكرارات الطور الاستوائي الناتج من مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة عند أعلى تركيز mg\ml2 لمدة ٢٤و٤٨ ساعة كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٦.٥٥±٣٤.٠٠و٨.٣٨±١٥.٣٣ وعند المعاملة بأقل تركيز mg\ml0.02 من مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة عند نفس الأزمنة ٢٤و٤٨ ساعة كانت كالتالي علي التوالي

٤.٧٢±٣١.٦٦و٤.٠١±٢١.٠٦ وهذه النتائج لاتتفق مع دراسة (رغد ٢٠٠٦ ) التي أشارت أن المستخلص المائي لأوراق نبات الدفلة غير قادر علي وقف الانقسام الخلوي في الطور الاستوائي.

أما عند تحليل الطورين الانفصالي–النهائي لمستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة عند المعاملة بأعلى تركيز2mg\mlلمدة ٢٤و٤٨ ساعة كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٤.٥٨±٣٠.٠٠و٣.٠٥±١٤.٦٦ وعند المعاملة بأقل تركيز 0.02mg\ml عند نفس الأزمنة كانت كالتالي علي التوالي ٨.٣٨±٣٤.٦٧و٥.٨٥±٢٠.٦٦ حيت نلاحظ ارتفاع في القيم عند هذا التركيز مقارنة بالتركيز الأعلى كما هو موضح في الشكل(٦) ،ونجد ارتفاع القيم في هذين الطورين ؛وذلك نظراً لعدم المقدرة علي الفصل بين هذين الطورين لذلك ثم الجمع بينهما.

**تأثير مستخلص الأسيتون بأحداث الشذوذ الكروموسومي في مراحل الانقسام:-**

من خلال النتائج المدرجة في الجدول(٥) نلاحظ تأثير مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة بأحداث الشذوذ علي مراحل الأنقسام المختلفة في خلايا القمم النامية لجذور نبات البصل عند المعاملة بالتراكيز التاليةmg\ml٠.٠٢و٠.٢و٢ لمدة ٢٤و٤٨ ساعة نجد أن هذه الشذوذ في الطور التمهيدي عند المعاملة بأعلى تركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة كانت أهمها المتكتل وغير منتظم ومحبب كما هو موضح في الصورة (٥-٤) وكانت النتائج كالتالي علي التوالي ٠.٠٠±٠.٣٣و٠.٠٠±٠.٠٠و١.٣٣±٠.١٦ وعند المعاملة بنفس التركيز ولمدة ٤٨ ساعة كانت أهمها تمهيدي غير منتظم كما هو موضح في الصورة(٥-٨) وكانت النتائج كالتالي علي التوالي ٠.١٤±١.٤٥و٠.٠١±١.٠٠و٠.٠٠±٠.٣٣

أما عند المعاملة بأقل تركيز0.02mg\ml من مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة لمدة ٢٤ ساعة كانت أهمها تمهيدي غير منتظم كما هو موضح في الصور(٥-٢) و(٥-٩) و(٥-١١) وكانت النتائج كالتالي علي التوالي ٠.٠٣±١.٤٠و١.٢١±٣.٦٨و٠.٠٠±١.٠٦ وعند المعاملة بنفس التركيز ولمدة ٤٨ ساعة نلاحظ انحدار في القيم حيت كانت كالتالي علي التوالي ٠.٠٢±١.٠٧و٠.٤٠±٢.٧٦و٠.٠٠±١.٠٠وكانت أهمها تمهيدي غير منتظم كما هو موضح في الصورة (٥-٦) وكذلك من أهم التشوهات عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml تمهيدي غير منتظم ومحبب كما هو موضح في الصور (٥-٣)و(٥-١٠) نجد أن هذه النتائج تتفق مع دراسة

(Okamuraوآخرون١٩٩٨) الذي أتبث أن المستخلص الكحولي لأوراق نبات الدفلة فعالية تثبيطية وذلك بسبب احتوائه علي عدد كبير من المركبات الفعالة الأخرى وأغلبها الكلايكوسيدات.

أما عند تحليل نتائج الطور الاستوائي كانت من أهم هذه الشذوذ عند المعاملة بأعلى تركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة كانت النتائج لكل من استوائي غير منتظم وC–metaphase كالتالي علي التوالي٠.٤٥±٢.٦٧و٠.٠٨± ١.٣٣ وكان أهمها متكتل وغير منتظم كما هو موضح في الصورة (٦–٤) وعند المعاملة بنفس التركيز لمدة٤٨ ساعة كانت كالتالي علي التوالي ٠.٠٠±٠.٠٠و٠.٥١±١.٦٧ حيت نلاحظ انخفاض في القيم مقارنة بالزمن ٢٤ ساعة ومن أهمها C–metaphaseوغير منتظم كما هو موضح في الصور(٦–٨)و(٦–١١)و(٦–١٢) وعند المعاملة بأقل تركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة كانت كالتالي علي التوالي ١.٠٦±٢.٣٣و١.٠٦±٢.٣٣ ومن أهمها استوائي غير منتظم كما هو موضح في الصورة (٦–٢) وعند المعاملة بنفس التركيز لمدة ٤٨ ساعة كانت كالتالي علي التوالي ٠.٠٠±١.٧٦و٠.٠٠±٠.٠٠ حيت نلاحظ انخفاض في القيم مقارنة بالزمن ٢٤ ساعة ومن أهمها استوائي لزج وغير منتظم كما هو موضح في الصور(٦–٦)و(٦–٩) و(٦–١٠) ونجد أن هذه النتائج تتفق مع دراسة (رغد٢٠٠٦)التي أشارت أن المستخلص الكحولي لأوراق نبات الدفلة قادر علي وقف الخلايا في الطور الاستوائي.

وعند تحليل نتائج الطورين الانفصالي–النهائي عند المعاملة بأعلى تركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة كانت من أهم هذه الشذوذ متعدد الأقطاب والمتكتل وشظايا حيت كانت النتائج كالتالي علي التوالي١.١٢±٤.٠٣ و٠.٠٠±٠.٠٠ و٠.٠٠±٠.٠٠ ومن أهمها انفصالي متعدد الأقطاب كما هو موضح في الصور(٧–٤) و(٧–١٠) وعند المعاملة بنفس التركيز لمدة ٤٨ ساعة كانت أهمها انفصالي وبه تأخر كما هو مبين في الصور(٧–٨)و(٧–١١) و(٧–١٢) ونهائي متكتل كما هو موضح في الصورة (٨–٨) وكانت النتائج كالتالي علي التوالي ١.٠٠±٢.٠٦و٠.٠٠±٠.٠٠و٠.٠٠±٠.٠٠ حيت نلاحظ انخفاض في القيم مقارنة بالزمن ٢٤ ساعة عند نفس التركيز.

وعند المعاملة بأقل تركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة كانت النتائج كالتالي علي التوالي ٢.٠٤±٥.٥٦و٢.٣٠±٤.٦٣و٠.٥٢±١.٠٥وكانت أهمها انفصالي لزج ومتعدد الأقطاب كما هو موضح في الصور(٧–٢)و(٧–٩) ونهائي متكتل كما هو موضح في الصور(٨–٢)و(٨–١١) و(٨–١٢) عند المعاملة بنفس التركيز لمدة ٤٨ ساعة كانت أهمها انفصالي متعدد الأقطاب وبه جسور كما

هو موضح في الصورة (٧-٦) ونهائي متكتل كما هو موضح في الصورة (٨-٦) وكانت النتائج كالتالي علي التوالي ١.٣٥±٣.٣٦و٠.٨٥±٢.٠٠و٠.٠٠±٠.٠٠ ونلاحظ انخفاض في القيم عند الزمن ٤٨ ساعة مقارنة بالزمن ٢٤ ساعة عند نفس التركيز ونجد أن هذه النتائج تتفق مع دراسة (عفيفي وعطي٢٠٠٣) كما أشار أن المستخلص الأيتيلي لمكونات أوراق نبات الدفلة تأثير سام جداً علي أسماك الجمبوزيا بعد ساعة و٣ساعات و٢٤ ساعة ، وكما نجد أن أختبار لم يعطي أي فروقات معنوية بين مستخلص الكلوروفورم والأسيتون كما هو موضح في الملحق في الجدول(٨).

**جدول رقم "٢" يوضح متوسطات تكرار معامل الانقسام(MI) ومراحل الانقسام في خلايا القمم النامية لجذور نبات Allium cepa بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من مستخلص الكلورفورم لأزهار نبات الدفلة بتراكيز مختلفة ولأزمنة مختلفة**

| الزمن | التركيز | العدد الكلي للخلايا | عدد الخلايا المنقسمة | Ml | الطور التمهيدي $\bar{x}$ ±s | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Abnr | Nro |
| ٢٤ | ٠.٠ | ٣٤٢.٠٠±٠.٥٧ | ٧٦.٦٦±١.١٥ | ٢٢.٣٩±٤.٣٣ | ٢٥.٦٧±١٠.٩٧ | ٢.٦٧±٠.٥١ |
| | 0.02 mg/ml | ٣٣٢.٠٠±١٦.١٦ | ٦٦.٣٣±٠.٥٧ | ٢٠.١٦±٤.١٢ | ٢٧.٦٧±٢.٧٤ | ١.٠٠±٠.٠٠ |
| | 0.2mg/ml | ٣١٣.٠٠±٠.٠٠ | ٥٧.٦٦±١.١٥ | ١٨.١٠±٣.٢١ | ٣٤.٣٣±٤.٥ | ٥.٣٣±٢.٥٧ |
| | 2mg/ml | ٣١٠.٠٠±٠.٠٠ | ٤٥.٠٠±٠.٠٠ | ١٦.٣٤±٢.١٤ | ٢٦.٣٣±٧.٧٦ | ٤.٣٣±٢.٥٠ |
| ٤٨ | 0.0 | ٤٤٣.٠٠±٣.٠٠ | ١٠٧±٠.٠٠ | ٢٤.٢٠±٦.١٢ | ٢٧.٦٧±٥.٥٠ | ١.٠٠±٠.٠٠ |
| | 0.02mg/ml | ٢٩٦.00±0.00 | ٦١.٠٠±٠.٠٠ | ١٩.٦٦±٣.١٨ | ٢٣.٠٠±٥.٢٤ | ٦.١٣±١.٥٢ |
| | 0.2mg/ml | ٣٢١.٠٠±١.١٥ | ٣٧.٣٣±٠.٥٧ | ١٦.٢٦±٢.٦٠ | ١٣.٧٦±٢.٥٠ | ١.٦٧±٠.٥٢ |
| | 2mg/ml | ٢٨١.٠٠±١.١٥ | ٣٥.٠٠±٠.٠٠ | ١٣.١±١.٧٦ | ١٥.٣٣±٣.٠٢ | ٢.١٥±٠.٢٣ |

**جدول رقم "٣" يوضح متوسطات تكرار الاختلالات الكروموسومية الحادثة في خلايا القمم النامية لنبات Allium cepa بعد المعاملة بتراكيز مختلفة ولأزمنة مختلفة من مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة.**

| الزمن | التركيز | الطور التمهيدي $\bar{x}$ ±s | | | الطور الاستوائي s ± $\bar{x}$ | | الانفصالي +النهائي s ± $\bar{x}$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | متكثل | محبب | غير منتظم | غير منتظم | C-metaphase | متعدد الأقطاب | متكثل | شظايا |
| ٢٤ | 0.02mg/ml | ±٠.٥٠ ٢.٦٧ | ±٠.٣٢ ٢.٣٣ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ | ±٠.٦٤ ٣.٠٠ | ±٣.٠٢ ٦.٢١ | ±٧.٥٧ ١٣.٢٣ | ±٣.٥١ ٧.٦٦ | ±٠.٦٤ ١.٢٤ |
| | 0.2mg/ml | ±٠.١٢ ١.٣٣ | ±٠.٣٩ ٢.٣٣ | ±٠.٣٥ ١.٠٥ | ±٠.٨٨ ٢.٧٦ | ±٠.٨٨ ٢.٦٧ | ±٢.٣٥ ٥.١٣ | ±٠.٨٩ ٣.٠١ | ±٠.٠٨ ١.٧٦ |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2mg/ml | ±١.٣٧ ٤.٥٤ | ±٠.٠٥ ٢.٢٥ | ±١.٣٦ ٣.١٥ | ±١.٨٧ ٢.٠٠ | ±١.٢٨ ٣.٢٨ | ±١.٣١ ٦.٠٦ | ±٠.٤٢ ٣.١٢ | ±٠.٠٠ ٠.١٥ |
| ٤٨ | 0.02mg/ml | ±١.٦١ ٠.٠١ | ±٠.٠١ ١.٠٥ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ | ±١.٠٢ ٢.٣٤ | ±١.٤٠ ٣.٥٢ | ±٠.٠٢ ٢.٣٥ | ±١.٩٥ ٣.٨٦ | ±٠.٣ ٠.٨٩ |
| | 0.2mg/ml | ±٠.٠٠ ٠.٣٥ | ±١.٤٧ ١.٦٦ | ±١.١٠ ٢.٦ | ±٠.٣٢ ١.٤٥ | ±٠.٧٨ ٢.٠٠ | ±٠.٤٥ ١.٠٠ | ±٠.٦٨ ٢.٥٩ | ±٠.١٢ ٠.٩٦ |
| | 2mg/ml | ±٠.٠١ ١.٦١ | ±٠.٠١ ١.٠٥ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ | ±٠.١٦ ١.١٤ | ±١.٩٥ ٢.٠٣ | ±٢.٤٥ ٥.١٧ | ±٠.٥٤ ٢.٥٥ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ |

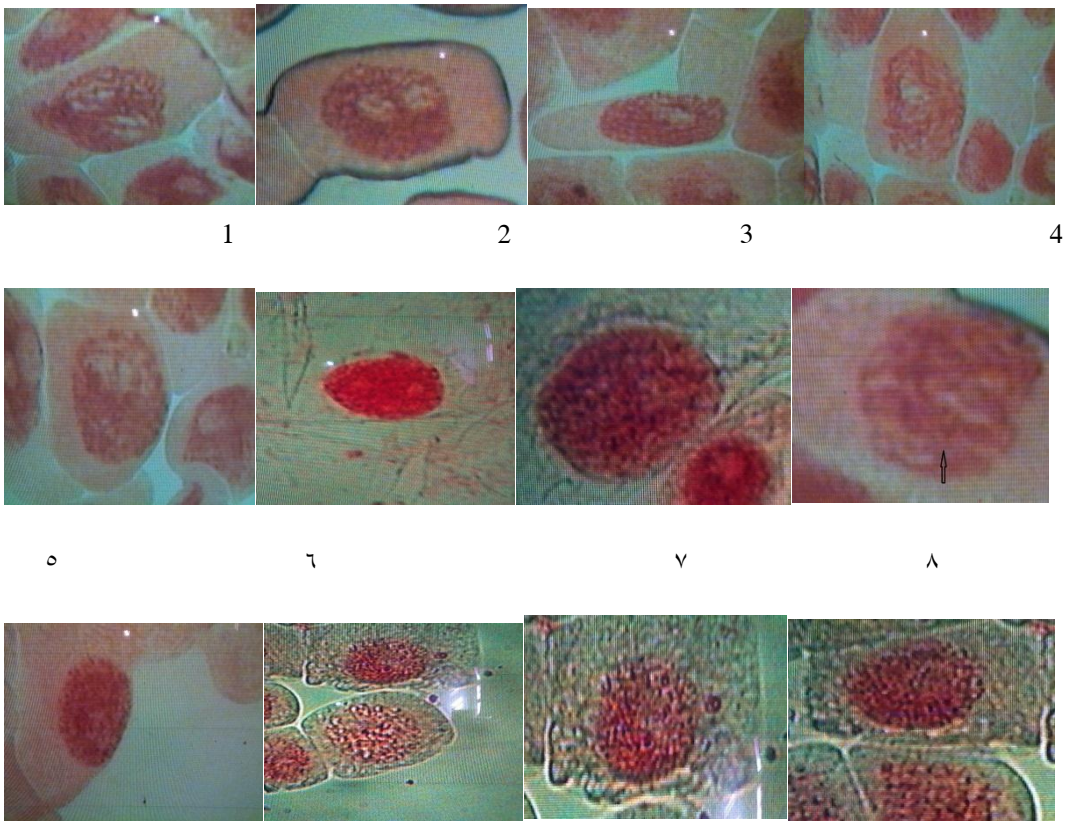
## جدول رقم ٤ يوضح متوسطات تكرار معامل الانقسام(MI) ومراحل الانقسام في خلايا القمم النامية لجذور نبات Allium cepa بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة بتراكيز مختلفة ولأزمنة مختلفة

| الزمن | التركيز | العدد الكلي للخلايا | عدد الخلايا المنقسمة | Ml | الطور التمهيدي $\bar{x}$ ±s | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Abnr | Nro | |
| ٢٤ | ٠.٠ | ٣٤٢.٣٣±٠.٥٧ | ٧٦.٦٦±١.١٥ | ٢٢.٣٩±٤.٣٣ | ٢٥.٦٦±١٠.٩٦ | ٢.٦٦±٠.٥١ | ٥٩ |
| | 0.02 mg/ml | ٣٣٥.٠٠±١١.٢٦ | ٦٦.٣٣±٠.٥٧ | ١٨.٩٠±١.٤٥ | ٢٥.٦٦±٢.١٤ | ٢.٥٣±٠.٢١ | ٧٢ |
| | 0.2mg/ml | ٣٣٣.٦٦±١.١٥ | ٥٧.٧٧±١.١٥ | ١٧.٢٨±٢.١٨ | ٣١.٠٠±٩.٠٦ | ١.٦٦±٠.٦٨ | ٥٠ |
| | 2mg/ml | ٢٨١.٣٣±٥.٧٧ | ٤٥.٠٠±٠.٠٠ | ١٦.١٤±١.١٥ | ٢٥.٠٠±٧.٠٠ | ١.٢٤±٠.٠٠ | ٥٥ |
| ٤٨ | 0.0 | ٤٤٣.٠٠±٣.٠٠ | ١٠٧±٠.٠٠ | ٢٤.٢٠±٦.١٢ | ٢٧.٦٧±٥.٥٠ | ١.٠٠±٠.٠٠ | ٥٠ |
| | 0.02mg/ml | 370.00±3.15 | ٦١.٠٠±٠.٠٠ | ١٦.٤٥±٤.٥٠ | ١٩.٦٦±٣.٥٧ | ٣.٦٧±١.٢٢ | ٠١ |
| | 0.2mg/ml | ٣٩١.٣٣±٠.٥٧ | ٣٧.٣٣±٠.٥٧ | ١٢.٨±٠.٨٨ | ١٣.٠٠±٢٧.٦٧ | ١.٢٩±٠.١٢ | ٠١ |
| | 2mg/ml | ٣٠٠.٠٠±٠.٠٠ | ٣٥.٠٠±٠.٠٠ | ١٠.٤٥±١.٧٦ | ١٧.٣±٦.١١ | ٥.٦٦±١.٦٨ | ٣٨ |

**جدول رقم "٥" يوضح متوسطات تكرار الاختلالات الكروموسومية الحادثة في خلايا القمم النامية لنبات** Allium cepa **بعد المعاملة بتراكيز مختلفة ولأزمنة مختلفة من مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة.**

| الزمن | التركيز | الطور التمهيدي $\bar{x}$ ±s | | | الطور الاستوائي $\bar{x}$ ± s | | الانفصالي +النهائي $\bar{x}$ ± s | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | متكثل | محبب | غير منتظم | غير منتظم | C-metaphase | متعدد الأقطاب | متكثل | شظايا |
| ٢٤ | 0.02mg/ml | ±٠.٠٣ ١.٤ | ±١.٢١ ٣.٦٨ | ±٠.٠٠ ١.٠٦ | ١.٠٦ ±٢.٣٣ | ±١.٠٦ ٢.٣٣ | ±٢.٠٤ ٥.٥٦ | ٢.٣٠ ±٤.٦٣ | ±٠.٥٢ ١.٠٠ |
| | 0.2mg/ml | ±٠.٥٠ ٢.٣٣ | ±١.١٧ ٢.٥٠ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ | ١.٥١ ±٦٥. | ±١.٥٤ ٣.٠١ | ±٠.٢٥ ١.٤٥ | ١.٤٥ ±٢.٣٣ | ±٠.٠٠ ٠.٣٣ |
| | 2mg/ml | ±٠.٠٠ ٠.٣٣ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ | ±٠.١٦ ١.٣٣ | ٠.٤٥ ±٢.٨٧ | ±٠.٠٨ ١.٣٣ | ±١.١٢ ٤.٠٣ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ |
| ٤٨ | 0.02mg/ml | ±٠.٠٢ ١.٠٧ | ±٠.٤٠ ٢.٧٦ | ±٠.٠٠ ١.٠٠ | ٠.٠٠ ±١.٧٦ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ | ±١.٣٥ ٣.٣٦ | ٠.٥٨ ±٢.٠٠ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ |
| | 0.2mg/ml | ±٠.٠٥ ٠.٦٧ | ±٠.٢٢ ٢.٠٥ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ | ٠.١٢ ±١.٤٩ | ±٠.٦٥ ١.١٢ | ±٠.٠٠ ٠.٤٥ | ٠.١١ ±١.٠٦ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ |
| | 2mg/ml | ±٠.١٤ ١.٤٥ | ±٠.٠١ ١.٠٠ | ±٠.٠٠ ٠.٣٣ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ | ±٠.٥١ ١.٦٧ | ±١.٠٥ ٢.٠٦ | ٠.٠٠ ±٠.٠٠ | ±٠.٠٠ ٠.٠٠ |

صورة (١)توضح الأختلالات الحادثه في الطور التمهيدي بالتراكيز المختلفة0.02,0.2,2mg\ml ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الكلورفورم لأزهار نبات الدفلة.



1 2 3 4

٥ ٦ ٧ ٨

٩ ١٠ ١١ ١٢

١-تمهيدي طبيعي عند زمن ٢٤ ساعة.

٢- تمهيدي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة. ٣- تمهيدي محبب عند المعاملة بالتركيز0.2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

٤- تمهيدي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة ٥- تمهيدي طبيعي عند زمن ٤٨ ساعة .

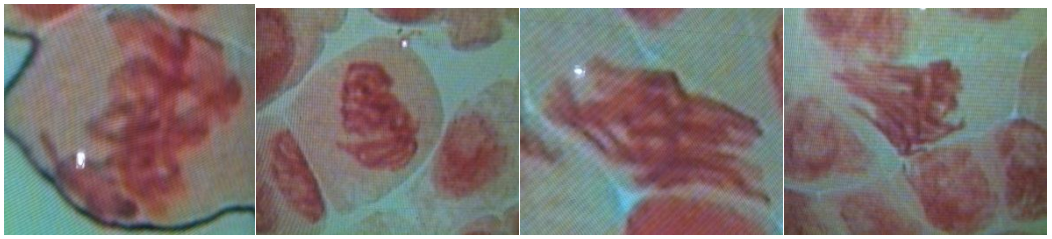
٦- تمهيدي محبب عند المعاملة بالتركيز0.02mg\ml لمدة ٤٨ ساعة ٧- تمهيدي محبب عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة.

٨- تمهيدي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة ٩- تمهيدي محبب عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة.

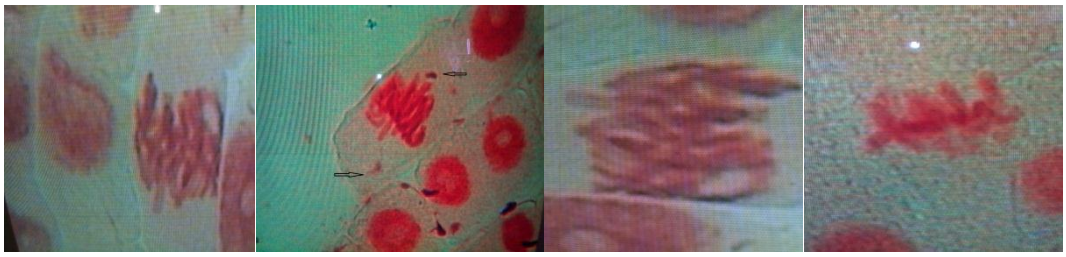
١٠- تمهيدي محبب عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة ١١- تمهيدي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

١٢- تمهيدي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

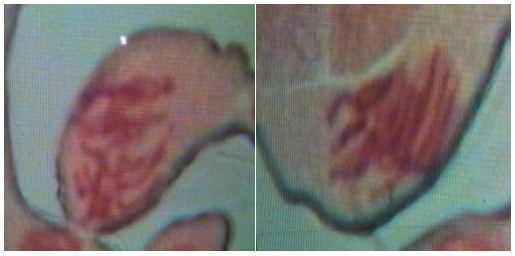
(٢)توضح الأختلالات الحادثه في الطور الاستوائي بالتراكيز المختلفةmg\ml0.02,0.2,2 ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الكلورفورم لأزهار نبات الدفلة.



١ ٢ ٣ ٤



٥ ٦ ٧ ٨



١٠

٩

١استوائي طبيعي عند زمن ٢٤ ساعة.

٢- استوائي غير منتظم عند المعاملة بالتركيزml\mg0.02 لمدة ٢٤ ساعة ٣و٤ استوائي غير منتظم عند المعاملة بالتركيزml\mg0.2 لمدة ٢٤ ساعة.

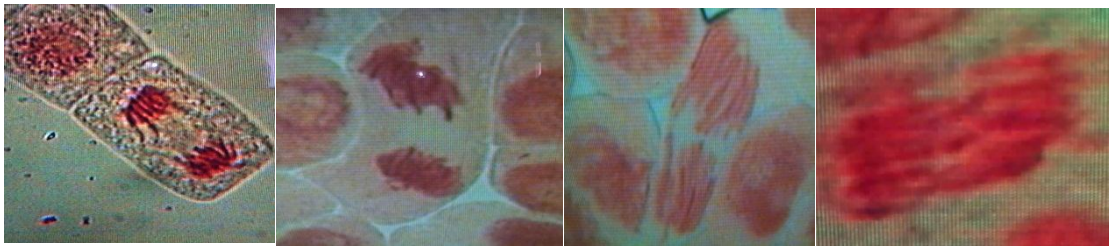
٥-استوائي طبيعي عند زمن ٤٨ ساعة.

٦- استوائي غير منتظم وبه شظايا وكروموسوم تائه عند المعاملة بالتركيز ml\mg0.02 لمدة ٤٨ ساعة ٧- Cmetaphase عند المعاملة بالتركيز ml\mg0.2 لمدة ٤٨ ساعة ٨- استوائي لزج عند المعاملة بالتركيز ml\mg2 لمدة ٤٨ ساعة.

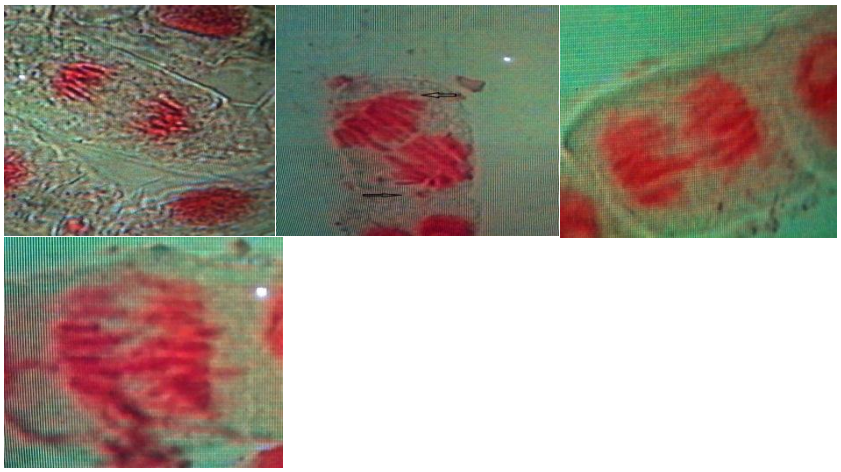
٩- استوائي غير منتظم عند المعاملة بالتركيزml\mg2 لمدة ٢٤ ساعة.

١٠-استوائي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز ml\mg0.02 لمدة ٢٤ ساعة .

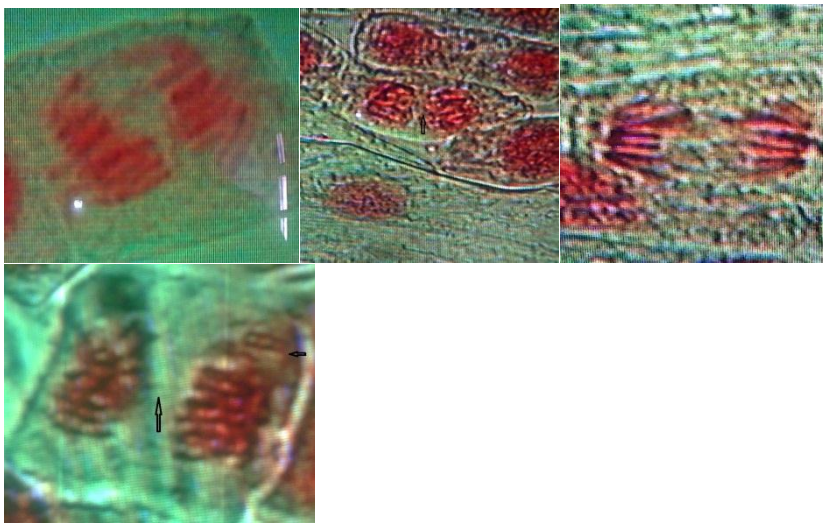
صورة (٣)توضح الأختلالات الحادثه في الطور الانفصالي بالتراكيز المختلفة0.02,0.2,2mg\ml ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الكلورفورم لأزهار نبات الدفلة.



١ ٢ ٣ ٤



٥ ٦ ٧ ٨



١٠ ١١ ١٢

٩

١- أنفصالي طبيعي عند زمن ٢٤ ساعة.

٢- انفصالي متعدد الأقطاب عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة ٣- أنفصالي متعدد الأقطاب وبه جسر مفرد عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

٤- انفصالي متعدد الأقطاب عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

٥-أنفصالي طبيعي عند زمن ٤٨ ساعة.

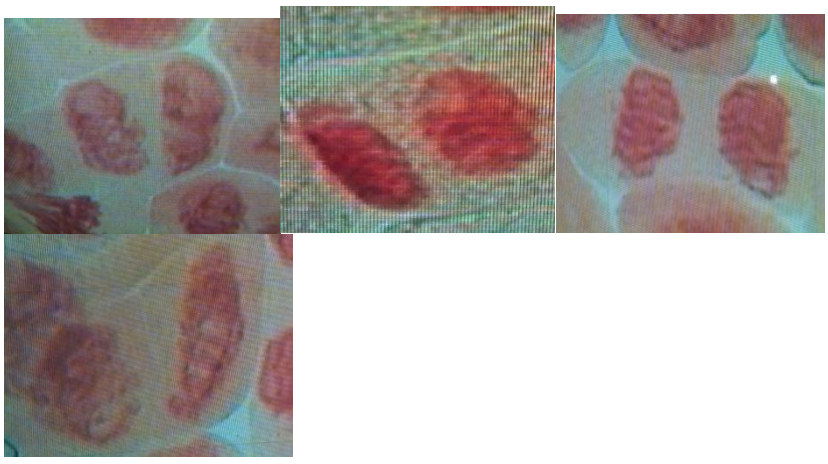
٦- أنفصالي غير منتظم ومتعدد الأقطاب وبه كسور وشظايا عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\mlلمدة ٤٨ ساعة.

٧- أنفصالي متعدد الأقطاب وبه جسر مفرد عند المعاملة بالتركيز0.2mg\mlلمدة٤٨ ساعة.

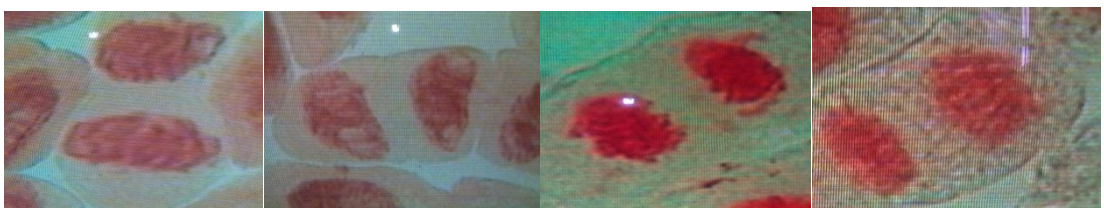
٨-أنفصالي متعدد الأقطاب عند المعاملة بالتركيز 2mg\mg لمدة ٤٨ ساعة ٩- أنفصالي متعدد الأقطاب وبه جسر مفرد عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة.

١٠- أنفصالي متكتل عند المعاملة بالتركيز 02mg\ml.لمدة ٢٤ ساعة،١١و١٢-انفصالي متعدد الأقطاب عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

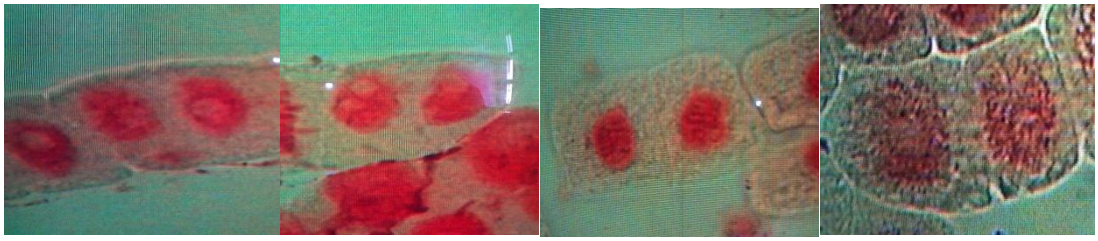
صورة (٤)توضح الأختلالات الحادثه في الطور النهائي بالتراكيز المختلفة0.02,0.2,2mg\ml ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الكلورفورم لأزهار نبات الدفلة.



١ ٢ ٣ ٤



٥ ٦ ٧ ٨



١٠ ١١ ١٢

٩

١- نهائي طبيعي عند زمن ٢٤ ساعة.

٢- نهائي متكتل عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة ٣- نهائي متكتل عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\mlمدة ٢٤ ساعة ٤- نهائي متكتل عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة

٥- نهائي طبيعي عند زمن ٤٨ ساعة.

٦- نهائي متكتل عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٤٨ ساعة ٧- نهائي متكتل وبه تأخر عند المعاملة باللتركيز 0.2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة.

٨- نهائي متكتل ومتأخر عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة.

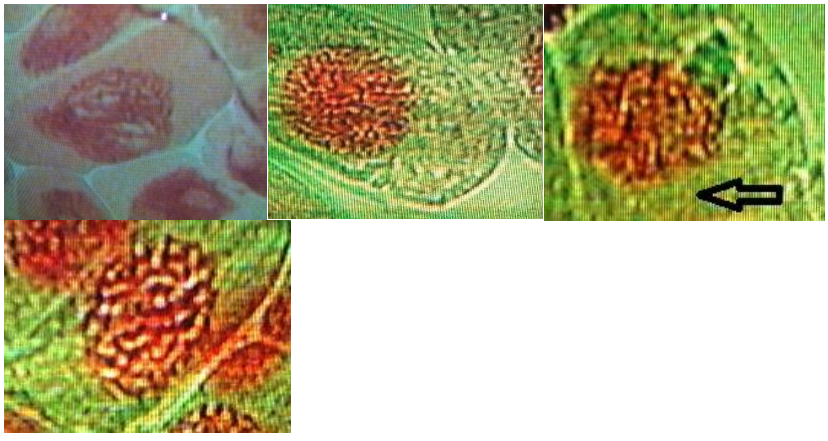
٩- نهائي متكتل ومتأخر عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

١٠- نهائي متكتل المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

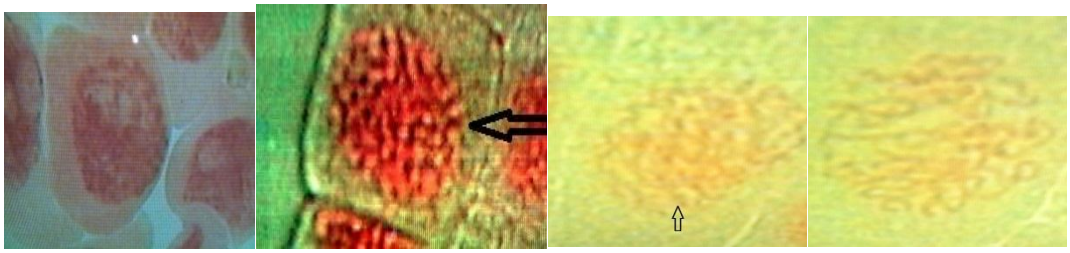
١١نهائي متكتل المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة

١٢- نهائي متكتل عند المعاملة بالتركيز0.2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

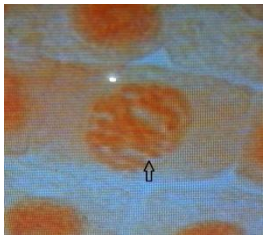
صورة (٥)توضح الأختلالات الحادثه في الطور التمهيدي بالتراكيز المختلفة0.02,0.2,2mg\ml ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة.



١ ٢ ٣ ٤



٥ ٦ ٧ ٨



٩ ١٠ ١١ ١٢

١-تمهيدي طبيعي عند زمن ٢٤ ساعة.

٢-تمهيدي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة ٣- تمهيدي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

٤- تمهيدي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

٥- تمهيدي طبيعي عند زمن ٤٨ ساعة.

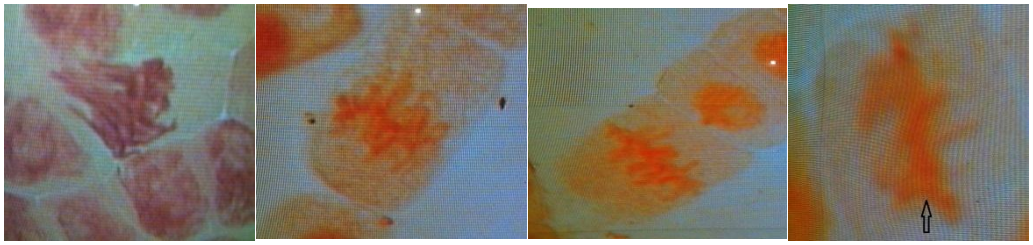
٦-تمهيدي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٤٨ ساعة.

٧-تمهيدي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة.

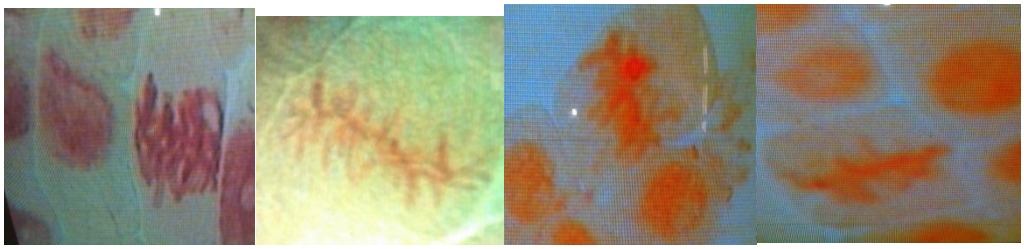
٨-تمهيدي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة. ٩-تمهيدي غير منتظم المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة

١٠- تمهيدي محبب عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.١١-تمهيدي محبب عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

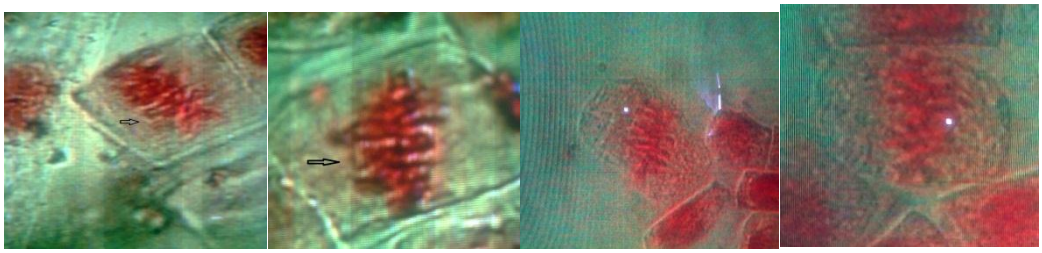
صورة (٦)توضح الأختلالات الحادثه في الطورالاستوائي بالتراكيز المختلفة0.02,0.2,2mg\ml ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة.



١ ٢ ٣ ٤



٥ ٦ ٧ ٨



١٠ ١١ ١٢

٩

١استوائي طبيعي عند زمن ٢٤ ساعة.

٢–استوائي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة ٣– استوائي غير منتظم عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

٤–استوائي غير منتظم ومتكتل عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

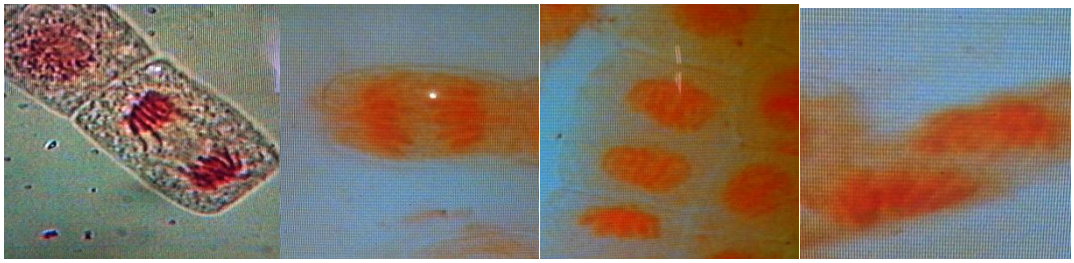
٥– استوائيطبيعي عند زمن ٤٨ ساعة.

٦–استوائي لزج عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٤٨ ساعة.

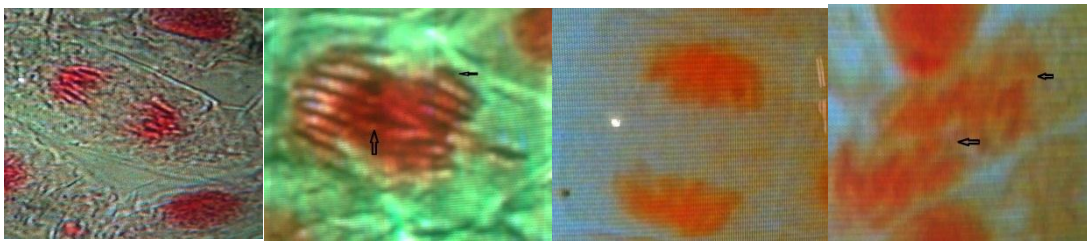
٧–استوائي غير منتظم ومتكتل عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة،٨–استوائي غير منتظم ومتكتل عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة

٩و١٠ –استوائي غير منتظم ومتكتل عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٤٨ ساعة،١١و١٢– استوائي C–metaphase عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة.

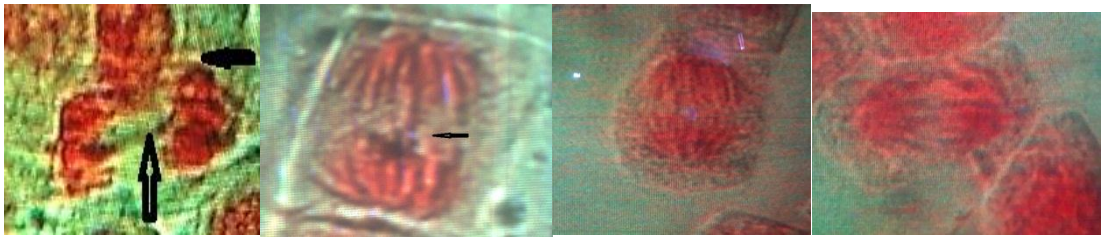
صورة (٧)توضح الأختلالات الحادثه في الطورالانفصالي بالتراكيز المختلفة0.02,0.2,2mg\ml ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة.



١ ٢ ٣ ٤



٥ ٦ ٧ ٨



١٠ ١١ ١٢ ٩

١- أنفصالي طبيعي عند زمن ٢٤ ساعة.

٢- انفصالي متعدد الأقطاب عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة،٣- انفصالي متكتل عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

٤- انفصالي متعدد الأقطاب عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

٥- أنفصالي طبيعي عند زمن ٤٨ ساعة.

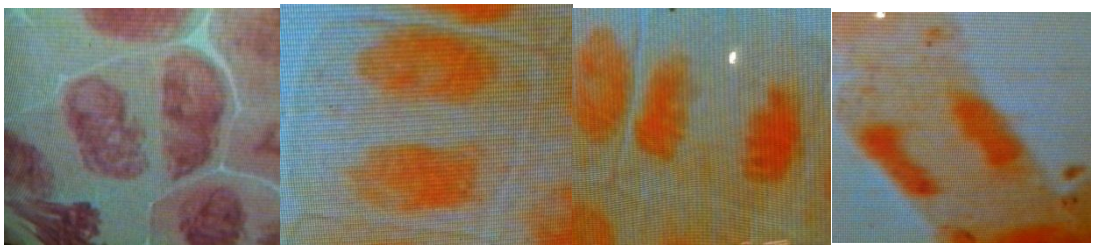
٦- انفصالي متعدد الأقطاب عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة٤٨ساعة

٧-انفصالي متكتل عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة٤٨ساعة،٨-انفصالي متعدد الأقطاب وبه جسور وتأخر عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٤٨ساعة.

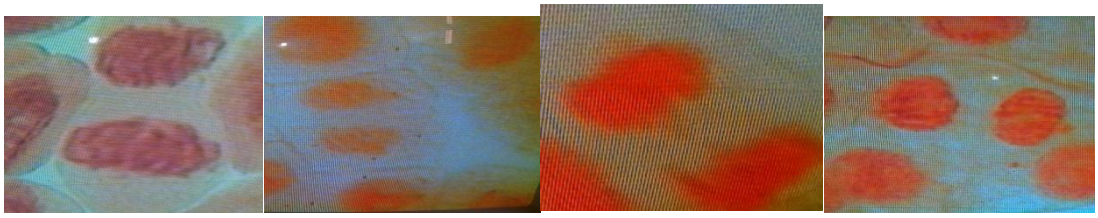
٩- انفصالي لزج عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة١٠-انفصالي متعدد الأقطاب وبه كروموسوم تائه عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة

١١و١٢-انفصالي متعدد الأقطاب وبه جسور عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٤٨ساعة.

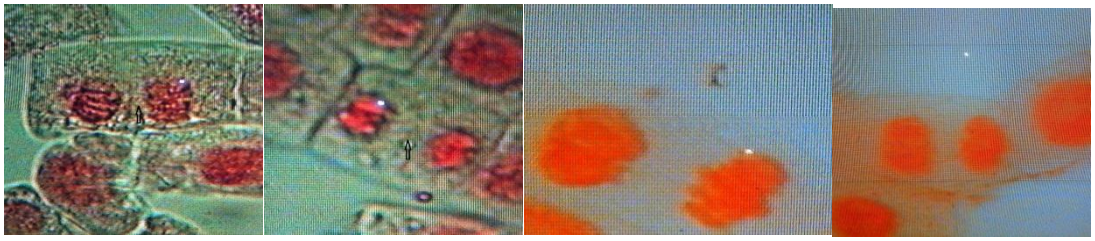
صورة (٨)توضح الأختلالات الحادثه في الطورالنهائي بالتراكيز المختلفة0.02,0.2,2mg\ml ولمدة ٢٤ و٤٨ ساعة لمستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة.



١ ٢ ٣ ٤



٥ ٦ ٧ ٨



٩ ١٠ ١١ ١٢

١- نهائي طبيعي عند زمن ٢٤ ساعة.

٢- نهائي متكتل عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

٣ -نهائي لزج عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة،٤- نهائي لزج عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

٥-- نهائي طبيعي عند زمن ٤٨ ساعة.

٦- نهائي متكتل عند المعاملة بالتركيز 0.02mg\ml لمدة ٤٨ ساعة.

٧-نهائي لزج عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة.

٨- نهائي متكتل عند المعاملة بالتركيز 2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة،٩و١٠- نهائي متكتل عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

٩ نهائي متكتل عند المعاملة بالتركيز 0.2mg\ml لمدة٤٨ ساعة.

١٠- نهائي متكتل بالتركيز 0.2mg\ml لمدة ٤٨ ساعة، ١١و١٢- نهائي متكتل عند المعاملة بالتركيز ٠.٠2mg\ml لمدة ٢٤ ساعة.

# الخـــلاصـــــــــة:-

نستنتج من هذا البحث أن مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة كان له تأثير مثبط علي معامل الانقسام الميتوزي لخلايا الجذور النامية لنبات البصل كما وجد نسبة عالية من الشذوذ الكروموسومية ومن أهم أنواع الشذوذ الكروموسومي السائدة في الطور التمهيدي محبب وغير منتظم والمتكتل والشذوذ في الطور الاستوائي متكتل و c–metaphase وفي الطور الانفصالي– النهائي متأخر والمتكتل وشظايا،ومن خلال الدراسة نستنتج أن مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة كان تأثيره مثبط علي معامل الانقسام أكفأ من تأثير مستخلص الأسيتون كما هو موضح في الجدول ٢و٤ علي التوالي وكذلك من خلال الأزمنة نجد أن العينات المعاملة خلال الزمن ٢٤ساعة أفضل من العينات المعاملة خلال الزمن ٤٨ ساعة،وكذلك تأثيره علي الشذوذ الكروموسومية كانت النتائج المتحصل عليها بواسطة مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة أكفأ من النتائج المتحصل عليها بواسطة مستخلص الأسيتون لأزهار الدفلة كما هو موضح بالجدول ٣و٥ علي التوالي،وكذلك من خلال الأزمنة نجد أن النتائج المتحصل عليها خلال الزمن ٢٤ ساعة أكفأ من النتائج المتحصل عليها خلال الزمن ٤٨ ساعة،حيت نستنتج من هذه الدراسة أن مستخلص الكلوروفورم لأزهار نبات الدفلة أكفأ من مستخلص الأسيتون لأزهار نبات الدفلة.

# التوصيات:-

من خلال هذا البحث نوصي بما يلي:

١- إجراء هذه الدراسة بأكثر دقة وحذر.

٢- إجراء الدراسة أكثر عمقا يتم من خلالها وبشكل دقيق تحديد الفاعلية البيولوجية لهذا النبات وتحديد طبيعة المكونات المؤدية إلي ذلك.

٣- عدم استخدام مستخلصات نبات الدفلة للإغراض العلاجية قبل دراسة تأثيرها البيولوجي .

٤- فصل المكونات الفعالة جزئيا لمستخلصات نبات الدفلة والوصول إلي التعرف علي مجاميعها الكيميائية وأيها أكثر فاعلية ذو تأثير بيولوجي.

٥- عدم استخدام المستخلصات النباتية بطريقة عشوائية وبدون تحديد تركيز وبصورة مباشرة أو غير مباشرة علي الكائنات.

٦- الحذر عند تحضير المستخلصات في المعمل؛ وذلك بعدم لمس النبات مباشرة.

٧- يجب أخذ الحيطة والحذر عند التعامل معها وخاصة الأطفال.

٨- عدم تحضير مستخلصات نبات الدفلة في المنازل والأماكن العامة.

٩-عدم استنشاق رذاذ المسحوق؛وذلك لتأثير المواد الفعالة به عن طريق التنفس.

## المـراجــع العربيـــة:_


١-القاضي؛ عبد الله عبد الحكيم، حسين، أبو البشر محمد عنايت/ (1986)النباتات السامة في ليبيا/ الهيئة القومية للبحث العلمي/ طرابلس_ليبيا.

٢-الربيعي؛إبراهيم هادي محمد.2009.تأثير المستخلص المائي والقلويدي الخام للمديد Convolvus arvensisL في تثبيط الخلايا السرطانية داخل وخارج الجسم،اطروحة دكتوراه،كلية العلوم للبنات،جامعة بغداد.

٣-الدجوي؛ علي (١٩٩٦) موسوعة النباتات الطبية والعطرية مكتب مديولي.

٤- البنهاوي؛ محمود أحمد ودميان ، إميل شنودة و شلبي ، عبد العظيم عبد الله ورشدي ،محمود أمين وسعود فتحي عبد الفتاح \(١٩٩٥) علم الحيوان\ الطبعة السادسة\ دار المعارف- النيل-القاهرة.

٥-الفيصل؛ عبد الحسين مويت (١٩٩٩) الوراثة العامة الأهلية للنشر والتوزيع -عمان- المملكة الأردنية الهاشمية.

٦-الفيصل؛عبد الحسين مويت (٢٠٠٠).الوراثة الجزئية الأهلية للنشر والتوزيع -عمان -المملكة الأردنية الهاشمية.

٧- الأنصاري؛ عثمان عبد الرحمن، سلامة ؛ ناصر محمد (١٩٩٩) تقنيات الخلايا وكيمياء الأنسجة الحيوية \ منشورات ELGAفاليتا- مالطا.

٨-حسن؛ أحمد عبد المنعم/(1988) البصل والثوم/(سلسلة العلم والممارسة في المحاصيل الزراعية)الطبعة الأولي/الدار للنشر و التوزيع.

٩-خليل ؛ السيد رضا- السيد ؛ مصطفي أحمد (١٩٨٥) التقنيات البيولوجيا المنهجية واللامنهجية \ الطبعة الأولي \ دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع.

١٠-رغد؛ الشيباني.2006.دراسة تأثير مستخلصات أوراق نبات الدفلة Nerium oleander الخام والنقية في الخلايا الطبيعية وخطوط الخلايا السرطانية النامية في الزجاج وفي الفئران البيضاء.الجامعة المستنصرية،اطروحة دكتوراه.

١١-زغير؛ زينب رزاق.٢٠٠٩.دراسة تأثير مستخلصات الخام لنبات المري onchus olevaceu اطروحة دكتوراه ،كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

١٢- سالم، محمد سالم(١٩٩٩) الخلية بناؤها وفسيولوجيتها \الطبعة الأولي\الدار العربية للنشر والتوزيع\القاهرة-نيقوسيا.-عبد التواب؛ فتحي محمد/(1991) بيولوجيا ووراثة الخلية/الطبعة الأولي/الدار العربية للنشر والتوزيع/القاهرة_نيقوسيا.

١٣-عفيفي؛ فتحي عبد العزيز،عطي، محمود السيد(2003)المستخلصات النباتية والفاعلية البيولوجية/الطبعة الأولي/دار الثقافة الدينية للنشر والتصدير/القاهرة_مصر.

١٤- عبد التواب؛ فتحي محمد/(١٩٩١) بيولوجيا ووراثة الخليةِ/الطبعة الأولي/الدار العربية للنشر والتوزيع/القاهرة- نيقوسيا.

## المراجع باللغة الإنجليزية:-


1-Ahmed,Seed-Yasmin ,Robin a\(1992)Effects of methyl parathion and tri –Miltox no the Mtitosis of Allium –cepa Cytologia 57:155-160tokyo.

2-Chakravarty, H.L.1976. Plant wealth of Iraq (A dictionary of economic plants),1, Botany Directorate, Ministry of Agriculture and Agrarian reform, Baghdad, Iraq.

3-Ful,L.,S.Zhang,N.Li,M.Ando.2005.three new triterpenes from Nerium oleander and biological activity of the isolated compounds.J.NAT.Prod.,68:198-206.

4-Fiskesj,G.(1989) allium test protocol no 8 , invit tox on line.

5-F.Geant .William \(1982)\chromosome aberration assay . in Allium Areport of the U.S Environ mental protection Agency Geane-Tox program –mutation Res-99-(1982):273-291,Risevier Biomedical press.

6-Grant ,W.F.(1982b) Chromosome aberration assays in allium. Areport of the U.S. Environmental protection Agency Gene-tox program mutation Research,(99)pp:273-291.

7-Gihan.\(1992) Cylogical Effects of Certain Active Constituents of peganum harmala L.1,Effect of Harmol and Harmin Alkaloids on mitosis of Allium cepa .\King saud univ (1)(4)pp –(37-45).

8s-Inchem (2005)- Nerium oleander 1.(DIM366)IDCS Inchem- Retrieved on 2005-10-23.

9-Joratni, saeed A,R,Allen H elm and Roland Valdes ,Jr-(1996)\Inhibition of Na-KATpas by oleandrin and oleandrin ,and theiv detextion by Digoxin immunoassay-O Clinical Chemistry .1996 Oct;429(10) :1654-8.

10-Jordan, M.A. 2002. Mechanism of anti tumor drugs that interact with microtubules and, Curr.Med.Chem.Anti-Canc.Agents,2:1-17.

11-Lopus,M.,D.panda.2006.The enzophenanthridine alkaloid sanguinarine perturbs microtubule assembly dynamic through tubulin binding .Apossible mechanism for its antiproliferative activity.J.FEBS.273(10):2139-50.

12-Langford S.D& Boor p.j(1996) oleander toxicity;an examination of human and animal toxic exposures Toxicologylog(1);1-13

13-Mukherjee,A.B.Sourar.Nabainta,S.andC.Anil,2001.Advance in canser therapy with plant basednatural product.curent medicinal chem..1467-1486.

14-Meng, X.L. ,N.H. Riordan, J.J. Casciari, Y. Zhu, Zhong, J. Gonzales, M.J. Miranda-Massari,J.R.and H.D. Riordan.2002. Effect of a high molecular Mass Convolvulus arvensis extract on tumor growth and angiogensesis,PRHS.J,;21:323-328.

15-Mansour,M.M.A(1993) Comparative Cytological Studies On The Effects Of Some Herbicides On The Mitotic And Metotic Divisions Of Certain Plants .Al-Azhar University .Cairo.

16-Okamura,H. S. Kashiwamura, Tsutsui, H.T. Yoshimoto, and K. Nakanishi 1998. Regulation of interferon-y production by IL-12 and IL -18. Curr IMMUNOL., 10:259-64.

17-Pathake, S., A.S. Multani, S. Narayan, V.Kumar ,R.A. Newman. 2000. Anvirzel tm, an extract of Nerium oleander, induced cell death in human and mouse cancer cells . Anticancer drug 11:455-463

18-Rank,J(2003) The method of Allium anaphase-telophase chromosome aberration assay.Ekologija(Vilnius).Nr.1

19-Schmidt, M. and H.Bastians.2007. Mitotic drug target and development of novel anti-mitotic anticancer drugs. Drug Resistance Updates. 10:162-181.

20-Sakthivadivel,M.Daniel,T.(2008) Evaluation of certain insecticidal plants for the control of vector mosquitoes viz. Culex quinquefasciatus, Anopheles stephensi and Aedes aegypti.Appl.Entomol.Zool.43(1)pp:57-63.

21-Sharma.A.K&Sharma .A.(1980) Chromosome Techniques theory and practice . Butter Worths.3th .london. Boston. Abo.El-khier, A.Zakia.And Abo-El-khier,M.

22-Toshio,N.,K. Akiko, M. Yuasa, and O. David.2008. Mechanism of growth of inhibitory effect of blame. Biochem. 772(5)1183-1189.

23-Wastone, William A.,et al(2003)'2002 Annual Report of the American Associtation JOUNAL of Emergency medicine.

24-Wasfi,\.A,O.Zorob,N.A.ALKatheeri&A.M.ALAWadhi(2008).A Fatal Case OF oleandrin poisoning.forensic Scince International 179(2-3);31-36

**جدول(٦) يبين قيمة t الجداولية والمحسوبة لمستخلص الكلوروفورم والأسيتون**

**أولا: بشكل عام**

| المحور | العدد | المتوسط | الانحراف المعياري | قيمة تي | قيمة P | القرار |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **تشوهات كلوروفورم** | ١٤٤ | ٢.٤٩ | ٢.٢٧٥ | ٤.٤٨٠ | ٠.٠٠٠ | **توجد فروق** |
| **تشوهات الأسيتون** | ١٤٤ | ١.٤٩ | ١.٤١٤ | | | |

**جدول(٧) يبين قيمة t الجداولية والمحسوبة لمستخلص الكلوروفورم والأسيتون**

**ثانيا :على حسب الأطوار**

| المحور | النوع | العدد | المتوسط | الانحراف المعياري | قيمة تي | قيمة P | القرار |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **التمهيدي** | **تشوهات كلوروفورم** | ٥٤ | ١.٥٦ | ١.٠٧٦ | ١.١٠٩ | ٠.٢٧٠ | **لا توجد فروق** |
| | **تشوهات الأسيتون** | ٥٤ | ١.٣١ | ١.١٧٩ | | | |
| **الاستوائي** | **تشوهات كلوروفورم** | ٣٦ | ٢.٨٣ | ١.٣٢٠ | ٣.١٣٢ | ٠.٠٠٣ | **توجد فروق** |
| | **تشوهات الأسيتون** | ٣٦ | ١.٨٩ | ١.٢٣٧ | | | |
| **الانفصالي** | **تشوهات كلوروفورم** | ٥٤ | ٣.٢٠ | ٣.١٨٨ | ٣.٦٥٩ | ٠.٠٠٠ | **توجد فروق** |
| | **تشوهات الأسيتون** | ٥٤ | ١.٤١ | ١.٦٨٨ | | | |

**جدول(٨) يبين قيمة t الجداولية والمحسوبة لمستخلص الكلوروفورم والأسيتون**

**ثالثا: حسب الأطوار الطبيعي والغير طبيعي**

| المحور | | النوع | العدد | المتوسط | الانحراف | قيمة تي | قيمة P | القرار |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **التمهيدي** | **متكتل** | **تشوهات كلوروفورم** | ١٨ | ١.٦٧ | ١.٢٣٧ | ١.٠٣٠ | ٠.٣١٠ | **لا توجد فروق** |
| | | **تشوهات الأسيتون** | ١٨ | ١.٢٨ | ١.٠١٨ | | | |
| | **محبب** | **تشوهات كلوروفورم** | ١٨ | ١.٧٢ | ٠.٦٦٩ | -٠.٧٧٢ | ٠.٤٤٥ | **لا توجد فروق** |
| | | **تشوهات الأسيتون** | ١٨ | ٢.٠٠ | ١.٣٧٢ | | | |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | غير منتظم | تشوهات كلوروفورم | ١٨ | ١.٢٨ | ١.٢٢٧ | 1.844 | 0.076 | لا توجد فروق |
| | | تشوهات الأسيتون | ١٨ | ٠.٦٧ | ٠.٦٨٦ | | | |
| الاستوائي | غير منتظم | تشوهات كلوروفورم | ١٨ | ٢.١١ | ٠.٨٣٢ | ٠.٧٣٠ | ٠.٤٧١ | لا توجد فروق |
| | | تشوهات الأسيتون | ١٨ | ١.٨٣ | ١.٣٨٣ | | | |
| | C-metaphase | تشوهات كلوروفورم | ١٨ | ٣.٥٦ | ١.٣٣٨ | | | |
| | | تشوهات الأسيتون | ١٨ | ١.٩٤ | ١.١١٠ | 3.93 | 0.000 | توجد فروق |
| الانفصالي | متكتل | تشوهات كلوروفورم | ١٨ | ٣.٧٢ | ١.٩٦٥ | ٤.٠٩ | ٠.٠٠٠ | توجد فروق |
| | | تشوهات الأسيتون | ١٨ | ١.٢٨ | ١.٦٠٢ | | | |
| | غير منتظم | تشوهات كلوروفورم | ١٨ | ٥.٤٤ | ٣.٦٩٨ | 2.85 | 0.007 | توجد فروق |
| | | تشوهات الأسيتون | ١٨ | ٢.٧٢ | ١.٦٧٤ | | | |
| | شظايا | تشوهات كلوروفورم | ١٨ | ٠.٤٤ | ٠.٧٠٥ | 1.144 | 0.262 | لا توجد فروق |
| | | تشوهات الأسيتون | ١٨ | ٠.٢٢ | ٠.٤٢٨ | | | |