منشور في مجلة جامعة بابل المجلد (18) العدد (5) لسنة 2010 الصفحة 1922-1933

العسل الطبيعي مضاداً للطفرة المحدثة بمبيد البروديفاكوم في الفأر الابيض *Mus musculus*

عباس حسين مغير الربيعي

كلية التربية الاساسية-جامعة بابل

الخلاصة

لقد تم دراسة تأثير العسل الطبيعي Natural Honey في تثبيط الاثر السـمي والتطفيـري للمبيـد بروديفاكوم Brodidacoum على الخلايا الجسمية (خلايا نقي العظم) والخلايا الجنسـية (خلايـا الخصـى للذكور) في الفأر الابيض *Mus Musculus* بالاعتماد على التحليلات الخلوية الوراثية مـن خـلال اختبـار مؤشر الانقسام الخلوي للخلايا الجسمية والجنسية واختبار التغيرات الكروموسومية فـي الخلايـا الجسـمية واختبار تكوين النوى الصغيرة واختبار التشوهات في رؤوس الحيامن.

لقد اظهرت النتائج انعدام التأثيرات السمية والتطفيرية للعسل والتراكيز قيد الدراسة فضلاً عن تأثيره في خفض التردد التلقائي لتكوين النوى الصغيرة ونسبة ظهور التشوهات في رؤوس الحيامن. كما اظهـرت النتائج امتلاك المبيد بروديفاكوم القدرة على خفض مؤشر الانقسام للخلايا الجسمية والجنسية وقدرتـه علـى استحثاث ظهور التغيرات الكروموسومية وزيادة نسبة تكوين النوى الصغيرة وظهور التشوهات فـي رؤوس الحيامن. وقد اظهرت النتائج ايضاً الكفاءة التثبيطية العالية للعسل تجاه التأثيرات السمية والتطفيريـة للمبيـد برديفاكوم عند اعطاءه قبل او بعد المبيد.

Abstract

This study is designed to investigate the antimutation effects of natural honey through the studying of the role of honey in the inhibiting of toxic and genotoxic effect of a rodenticide Brodifacoam on somatic cells and germ cells in mice *Mus musculus* depending on cytogenetically analyzed by determining the mitotic activity, chromosomal aberrations, micronucleus formation and sperm head abnormalities.

The results revealed the following:-

Absence of toxicity and mutagenecity of honey at tested concentrations, the high inhibitory effects Brodifacoum for cell division in addition to induction of chromosomal aberrations, micronucleus formation and sperm head abnormalities and the high inhibitory efficiency of honey against the toxicity and mutagenecity of Brodifacoum when it used before or after the rodenticides.

المقدمة

من الطبيعي ان تزايد استخدام المبيدات يزيد من تلوث البيئة، حيث تلقى سنوياً الى البيئـة كميـات كبيرة من المبيدات لغرض مكافحة الآفات المؤثرة على الانتاج وفي القضاء على الوسائل الناقلـة للامـراض وكذلك المؤثرة في المخازن، لذلك فان تراكم هذه الكميات تعد مشكلة ليست فقط في مناطق استخدامها بل في مناطق اخرى بسب انتقالها وانتقال تأثيرها (شعبان والملاح ، 1993)، وهذا مما تسبب في تعرض الانسـان لها وبالتالي تظهر عليه تأثيراتها التطفيرية والتسرطنية، وتعد فترة التعرض من العوامل الهامة في اظهار هذه التأثيرات حيث قد تظهر مباشرة في حالة التعرض الحاد او قد تحتاج الى فترة زمنية لكـي يظهـر التـأثير (Moutschen , 1985).

ان الاستخدام المفرط لأنواع المبيدات قد اسهم في دخول هذه المواد ضمن السلسلة الغذائية ولم يبقى الانسان في منأى عنها فهو احد المستهلكين وكان لابد ان يناله نصيباً من تأثيراتها الضارة الكثيرة، حيـث ان للمبيدات تأثيرات ضارة كثيرة منها الوراثية في قدرتها في احداث التغيرات فـي المـادة الوراثيـة (DNA) فضلاً عن التأثيرات السمية الاخرى فهي تؤثر في الانقسام الخلوي للخلايا الجسمية والجنسية وتزيد من ظهور الكسور الكروماتيدية والكروموسومية وتساعد في زيادة ظهور التشوهات فـي رؤوس الحيـامن (الحسـيني، 1995 والجنابي، 1997، والربيعي، 1997).

تتباين طريقة ودرجة تأثير مبيد عن اخر ويعد مبيد البروديفاكوم من أكفأ المبيدات المضادة للتخثـر، حيث يعمل على خفض قدرة تخثر الدم لذلك تحصل حالة النزف بعد تناول المبيد بأيام قليلـة (Hadler and Shadboit , 1975). ان التأثير السام لهذا المبيد يعتمد على ازالة فيتامين K من الانزيم Thrombokinase ليحل محله في الانزيم والذي يوجد في الصفائح الدموية مما يؤدي الى فقدان قابليـة الانـزيم فـي تكـوين Prothrombin الضروري لتكوين الخثرة عند اتحاده مع مولد الألياف Fibrinogen. وقد اشار Haupson (1992) ايضاً ان المبيد يعمل على زيادة ضغط الدم فيحدث تمزق الاوعية الدموية وحصول النـزف. كمـا اشار الحسيني (1995) ان للمبيد تأثيرات سمية ووراثية منها قابليته على احداث تشوهات جنينية وخلقية، في حين اشار الجنابي (1997) في دراسة له اجريت باستخدام الفأر الابيض *Mus Musculus* والفأر البيتي أن استخدام المبيد المذكور اعلاه بالتراكيز (15 ، 30 ، 60) ملغم/كغم قد احدث تثبيطاً عالياً في الانقسام الخلوي للخلايا الجسمية والخلايا الجنسية وان استخدام المبيد قد زاد ايضاً من حدوث التغيرات الكروموسـومية وزاد في ظهور التشوهات في رؤوس الحيامن وقد تسبب في حدوث الموت المبكر للأجنة وفي عدم ظهور بيوض مخصبة مما أدى الى العقم.

ولغرض الحد من مخاطر المبيدات ومنها البروديفاكوم والتي لابد من استخدامها كان من الضروري البحث في المواد الغذائية واجراء الدراسات حولها كونها تحتوي العديد من المواد المثبطة للتطفير والتسرطن (Kada *et al.*, 1978) ومن المواد الغذائية العسل الذي يمتلك العديد من الخصائص الطبية الشافية حيث ورد في القرآن الكريم في سورة النحل الآية 69 انه بسم الله الرحمن الرحيم ((ثم كلي من كل الثمرات فاسلكي سبل ربك ذللاً يخرج من بطونها شراب مختلف الوانه فيه شفاء للناس أن في ذلك لأية لقوم يتفكرون)) صـدق الله العلي العظيم. وانطلاقاً من فوائد العسل الكثيرة ولقلة الدراسات المعمولة في القطر حول دوره في الوقاية من المواد المطفرة والمسرطنة جاءت الدراسة الحالية لبيان تأثير تراكيز من العسل الطبيعي فـي تثبـيط الاثـر التطفيري لمبيد البروديفاكوم والذي اثبتت الدراسات امتلاكه التأثيرات السمية الخلوية والتـأثيرات المطفـرة والمسرطنة (الحسيني، 1995، والجنابي، 1997).

المواد وطرق العمل

استخدم العسل الطبيعي الخالص ومنه تم تحضير اربعة تراكيز على اساس وزن الجسـم للفئـران، وهذه التراكيز هي (150 ، 300 ، 450 ، 600) ملغم/كغم وزن الجسم واما مبيد البروديفاوم فقد تـم تعفيـر الحنطة واستخدم بجرعة واحدة هي 60 ملغم/كغم وزن الجسم . كما استخدمت الفئران السويسـرية البيضـاء *Mus Musculus* وبعمر (8-12) اسبوع ووزن (27-32)غم. ولغرض تحضير كروموسومات خلايا نقـي العظم فقد تم اتباع طريقة (Allen *et al.*, 1977) واستخدمت طريقة Evans واخرون (1964) للحصـول على كروموسومات الخلايا الجنسية للذكور. اما لحساب النسبة المئوية للتغيرات الكروموسومية فقد استخدمت

طريقة Au واخرون (1978) في (100) خلية في الطور الاستوائي ولغرض اجراء اختبار تكـوين النـوى الصغيرة فقد تم اتباع طريقة Schmid (1975) من خلال استخدام خلايا نقي العظم حيث تحسب من خـلال فحص (1000) خلية من الخلايا الحمراء متعددة الكروماتين لبعض الفئران حيث تحسب الخلايا الحاوية على نوى صغيرة لكل (1000) خلية ثم تحول الى النسبة المئوية. اما لغرض حساب مؤشر الانقسام فقد استخدمت طريقة Stick و San (1981) من خلال المعادلة التالية:-

$$\text{(مؤشر الانقسام) Mitotic Index} = \frac{\text{عدد الخلايا المنقسمة}}{\text{عدد الخلايا الكلي}} \times 100$$

اما ما يتعلق بالحيامن وحساب النسبة المئوية للتشوهات في رؤوس الحيامن فقد تـم اتبـاع طبقـة Wyrobeck و Bruce (1975) مع بعض التحويرات وفي هذه الطريقة تستخرج الحيامن من البـربخ ثـم تصبغ بالأيوسين وتفحص تحت المجهر وبواقع (100) ضمن كل شريحة بعدها تقارن الاشكال الموجودة مـع الشكل الطبيعي لرأس الحيمن ثم تؤخذ النسبة المئوية للتشوهات. اما لحساب نسبة الحماية التي يقوم بها العسل فقد استخدمت طريقة Rawat واخرون (1977) وحسب المعادلة التالية:

$$\text{نسبة الحماية\%} = \frac{\text{أ-ج}}{\text{أ-ب}} \times 100$$

حيث ان (أ) يمثل السيطرة الموجبة و (ب) يمثل السيطرة السالبة و (ج) يمثل قيمة التداخل.

لقد تضمنت الدراسة ثلاثة اجزاء: ففي الجزء الاول هيأت (5) مجموعات ضمت كل مجموعـة (7) فئران، جرعت 4 مجموعات تراكيز العسل (150 ، 300 ، 450 ، 600) ملغم/كغم وزن الجسم ولمـدة (7) ايام وشرحت في اليوم الثامن (4) فئران من كل مجموعة لاجراء التحليلات الوراثية الخلوية للكشـف عـن تأثيرات العسل ولم تجرع حيوانات السيطرة السالبة. اما (3) فئران المتبقية من كل مجموعة فقد تركت تتناول العليقة الاعتيادية لمدة (7) ايام وفي اليوم الثامن شرحت لاجراء اختبار التشوهات في رؤوس الحيامن.

اما في الجزء الثاني (دراسة التداخل). فقد هيأت (6) مجموعات ضمن كل مجموعـة (7) فئـران جرعت منها (4) مجموعات تراكيز العسل المذكورة ولمدة (7) ايام ولم تجرع حيوانات السـيطرة السـالبة وحيوانات السيطرة الموجبة، وفي اليوم الثامن جرعت الحيوانات عدا مجموعة السـيطرة السـالبة الحنطـة المعفرة بمبيد البروديفاكوم (جرعة مقدارها 60 ملغم/كغم وزن الجسم) وفي اليوم التالي شرحت (4) فئـران من كل مجموعة لاجراء التحليلات الوراثية الخلوية. اما (3) فئران المتبقية من كل مجموعة فقد تركت تتناول العليقة الاعتيادية لمدة (7) ايام اخرى وفي اليوم الثامن شرحت لاجراء اختبار التشوهات في رؤوس الحيامن.

اما في الجزء الثالث (دراسة التداخل) فقد هيأت (6) مجموعات ضمن كل مجموعـة (7) فئـران، جرعت الحيوانات عدا حيوانات السيطرة السالبة الحنطة المعفرة بالمبيد ثم جرعت العسـل عـدا السـيطرة الموجبة وحسب التراكيز المعدة وفي اليوم التالي شرحت (4) فئران من كل مجموعـة لأجـراء التحلـيلات الوراثية لا الخلوية، اما (3) فئران المتبقية من كل مجموعة فقد تركت تتناول العليقة الاعتيادية لمدة (7) ايام وفي اليوم الثامن شرحت لاجراء اختبار التشوهات في رؤوس الحيامن.

كررت التجارب لمرتين ثم حللت النتائج احصائياً لايجاد اقل فرق معنوي (L.S.D.) بين معـدلات المعاملات.

النتائج

1- تأثير العسل

أ- اختبار مؤشر الانقسام الخيطي

يلاحظ في الشكل رقم (1) ان قيم مؤشر الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم قد ازدادت عند المعاملة بالعسل الطبيعي وبالتراكيز كافة وكانت الزيادة معنوية ($P<0.05$) حيث يلاحظ ان قيمـة مؤشـر الانقسـام لمعاملة السيطرة كانت (15.06)% وقد اصبحت (19.60 ، 19.16 ، 17.93 ، 20.37)% عنـد المعاملـة بالتراكيز (150 ، 300 ، 450 ، 600) ملغم/كغم على التوالي وكانت المعاملة بالتركيز (600) ملغم/كغم هي افضل المعاملات. وكذا الحال بالنسبة لمؤشر الانقسام الخيطي للخلايا الجنسية حيث يلاحظ في الشـكل رقـم (1) ان قيمه قد ازدادت معنوياً ($P<0.05$) عند تجريع تراكيز العسل حيث اصبحت قيمة مؤشـر الانقسـام الخيطي (13.75 ، 14.33 ، 13.60 ، 13.60)% عند المعاملـة بـالتراكيز (150 ، 300 ، 450 ، 600) ملغم/كغم على التوالي في حين كانت قيمة مؤشر الانقسام لمعاملة السـيطرة (9.88)% ويلاحـظ ايضـاً ان المعاملة بالتركيز (300) ملغم/كغم هي الافضل من بين المعاملات الاخرى.

ب- اختبار التغيرات الكروموسومية:

يلاحظ في الشكل رقم (1) ان تجريع الفئران تراكيز العسل لم يظهر اية فروق معنوية فـي نسـب التغيرات الكروموسومية (كسر كروماتيدي وكسر كروموسومي) وان جميع القيم كانت مقاربة لقيم التغيـرات الكروموسومية لحيوانات السيطرة.

ج- اختبار تكوين النوى الصغيرة:

يلاحظ في الشكل رقم (1) ان تجريع الفئران تراكيز الفئران (150، 300، 450، 600) ملغم/كغـم قد ادى الى خفض التردد التلقائي لظهور النوى الصغيرة معنوياً ($P<0.05$) باستثناء المعاملة بالتركيز (600) ملغم/كغم حيث كان مستوى الانخفاض غير معنوي ($P>0.05$) ويلاحظ ان التردد التلقـائي لتكـوين النـوى الصغيرة لمعاملة السيطرة كان (3.00)% وعند المعاملـة بـالتراكيز (150، 300، 450، 600) ملغم/كغـم اصبح (2.55، 2.01، 2.35، 2.89)% على التوالي وكانت المعاملة بالتركيز (300) ملغم/كغم هي افضـل المعاملات.

د- اختبار التشوهات في رؤوس الحيامن:

يلاحظ في الشكل رقم (1) ان تجريع الفئران تراكيز الفئران قد احـدث انخفاضـاً غيـر معنـوي ($P>0.05$) عدا المعاملة بالتركيز (300) ملغم/كغم حيث احدثت انخفاضاً معنويـاً ($P<0.05$) فـي نسـب التشوهات في رؤوس الحيامن ويلاحظ ان نسبة التشوهات في رؤوس الحيامن قـد اصـبحت (2.90، 2.36، 2.78، 2.90)% عند المعاملة بالتراكيز (150، 300، 450، 600) ملغم/كغم على التوالي في حـين كانـت لمعاملة السيطرة (2.92)%.

2- تأثير استعمال العسل قبل مبيد البروديفاكوم [تداخل]

أ- اختبار مؤشر الانقسام

ان مؤشر الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم للفئران البيض وكما يلاحظ في الشكل رقم (2) قد انخفض معنوياً عند تجريع الفئران العليقة المعفرة بمبيد البروديفاكوم (60) ملغم/كغم وزن الجسم مقارنة بحيوانات السيطرة السالبة (غير المجرعة) حيث يلاحظ ان قيمة مؤشر الانقسام لمعاملة السيطرة السالبة كانت (15.06)% وعند تجريع الفئران المبيد قد اصبحت (5.39)%. واما عند تجريع الفئران تراكيز العسل لمدة (7) ايام قبل تجريعها المبيد فقد ادى الى زيادة قيمة مؤشر الانقسام معنوياً ($P<0.05$) ولجميع التراكيز مقارنة بقيمة مؤشر الانقسام عند تجريع الفئران المبيد لوحده. أي ان العسل قد احدث حماية من تأثير المبيد في خفض مؤشر الانقسام واما نسبة الحماية وكما يلاحظ في الجدول رقم (1) كانت (20، 53، 53، 51) للتراكيز (150، 300، 450، 600) ملغم/كغم. وكانت المعاملة بالتركيزين (300، 450) ملغم/كغم افضل المعاملات.

واما ما يتعلق بمؤشر الانقسام الخيطي للخلايا الجنسية فيلاحظ في الشكل رقم (2) ان قيمته قد انخفضت نتيجة تجريع الفئران المبيد حيث اصبحت (4.27)% مقارنة بمعاملة السيطرة السالبة التي كانت (9.88)% وان الانخفاض معنوياً ($P<0.05$). واما عند تجريع الفئران تراكيز العسل لمدة (7) أيام قبل اعطاء المبيد فقد اصبحت قيمة مؤشر الانقسام (5.77، 6.82، 8.32، 7.30)% عند تجريع تراكيز العسل (150، 300، 450، 600) ملغم/كغم على التوالي وان نسبة الحماية التي احدثها تجريع هذه التراكيز من العسل كانت (27، 46، 73، 54)% على التوالي وكانت المعاملة بالتركيز (450) ملغم/كغم هي افضل المعاملات.

ب- اختبار التغيرات الكروموسومية

ان النسبة المئوية للتغيرات الكروموسومية (كسر كروماتيدي وكسر كروموسومي) قد ازدادت معنوياً ($P<0.05$) نتيجة تجريع الفئران مبيد البروديفاكوم مقارنة بحيوانات السيطرة السالبة (غير المجرعة) حيث يلاحظ في الشكل رقم (2) ان نسبة التغيرات الكروموسومية لمعاملة السيطرة السالبة كانت (0.22)% وقد اصبحت عند تجريع الفئران المبيد (18.52)%.وعند تجريع الفئران تراكيز العسل لمدة (7) ايام قبل اعطائها المبيد فقد ادى ذلك الى خفض نسبة التغيرات الكروموسومية معنوياً ($P<0.05$) اذا ما قورنت بالتغيرات الكروموسومية الحاصلة بفعل تجريع الفئران المبيد لوحده (السيطرة الموجبة) ويلاحظ من الجدول رقم (2) مدى الحماية التي احدثها تجريع تراكيز العسل في خفض تأثير المبيد في احداث التغيرات الكروموسومية وكانت نسبة الحماية (66، 72، 74، 74)% عند تجريع تراكيز العسل (150، 300، 450، 600) ملغم/كغم على التوالي وكانت المعاملة بالتركيزين (450 ، 600) افضل المعاملات.

ج- اختبار تكوين النوى الصغيرة

يلاحظ في الشكل رقم (2) ان التردد التلقائي لتكوين النوى الصغيرة قد ازداد معنوياً ($P<0.05$) نتيجة تجريع الفئران المبيد (السيطرة الموجبة) اذا ما قورنت مع نسبة تكوين النوى الصغيرة في معاملة السيطرة السالبة (غير المجرعة) حيث كانت النسبة لحيوانات السيطرة السالبة (3.00)% ولحيوانات السيطرة الموجبة (17.00)%. واما ما يتعلق بتأثير تجريع الفئران تراكيز العسل لمدة (7) أيام قبل اعطائها المبيد فقد ادى الى خفض نسبة تكوين النوى الصغيرة معنوياً ($P<0.05$) مقارنة بحيوانات السيطرة الموجبة (عند

تجريع المبيد لوحده). حيث يلاحظ ان نسبة تكوين النوى الصـغيرة كانـت (10.8، 8.75، 9.00، 9.85)% عند تجريع تراكيز العسل (150، 300، 450، 600) ملغم/كغم على التوالي وان نسب الحماية التي احـدثها تجريع هذه التراكيز كانت على التوالي (45، 59، 58، 51)% وكانت المعاملة بالتركيز (300) ملغم/كغم هي افضل المعاملات.

د- اختبار التشوهات في رؤوس الحيامن

يلاحظ في الشكل رقم (2) ان تجريع الفئران مبيد البروديفاكوم قد ادى الى زيادة ظهور التشـوهات في رؤوس الحيامن معنوياً ($P<0.05$) عند المقارنة بمعاملة السيطرة السالبة (غير المجرعة) حيـث يلاحـظ انها اصبحت (8.52)% بعدما كانت لمعاملة السيطرة السالبة (2.92)%. واما ما يتعلق5 بالتداخل فقد لـوحظ ان تجريع تراكيز العسل لمدة (7) ايام قبل تجريعها المبيد فقد ادى الى رفع نسـبة التشـوهات فـي رؤوس الحيامن الا انها اقل معنوياً ($P<0.05$) عن الزيادة الحاصلة بفعل تجريع المبيد لوحده (السـيطرة الموجبـة) ويلاحظ في الجدول رقم (1) مدى الحماية التي احدثها تجريع العسل قبل تجريع المبيد حيث كانت (81، 83، 85، 93)% للتراكيز (150، 300، 450، 600) ملغم/كغم على التـوالي. وان المعاملـة بـالتركيز (600) ملغم/كغم كانت افضل المعاملات.

3- تأثير استعمال العسل بعد تجريع المبيد بروديفاكوم

أ- اختبار مؤشر الانقسام

ان مؤشر الانقسام لخلايا نقي العظم وكما يلاحظ في الشكل رقم (3) وبعد تجريع الفئـران المبيـد بروديفاكوم يلاحظ انه قد انخفض معنوياً ($P<0.05$) بالمقارنة مع معاملة السـيطرة السـالبة وان تجريـع الفئران تراكيز العسل بعد تجريعها المبيد قد احدث زيادة معنوية ($P<0.05$) في مؤشر الانقسام الخيطي عـدا المعاملة بالتركيز (150) ملغم/كغم فان الزيادة الحاصلة غير معنوية ($P>0.05$) وكانت نسبة الحمايـة التـي احدثها تراكيز العسل (150، 300، 450، 600) كانت على التوالي (06، 38، 42، 46)% وكانت المعاملـة بالتركيز (600) ملغم/كغم هي افضل المعاملات.

اما ما يتعلق بمؤشر الانقسام الخيطي للخلايا الجنسية فكذا الحال حيث انخفض مؤشر الانقسام عنـد تجريع الفئران المبيد وذي دلالة معنوية ($P<0.05$) بالمقارنة مع معاملة السيطرة السالبة (غير المجرعة) وان استعمال تراكيز العسل (300، 450، 600) (ملغم/كغم بعد تجريع المبيد قد زاد من مؤشر الانقسـام معنويـاً ($P<0.05$) عن قيمة مؤشر الانقسام للسيطرة الموجبة في حين كانت الزيادة الحاصلة بفعل تجريـع العسـل تركيز (150) ملغم/كغم غير ذات دلالة معنوية ($P>0.05$). وان نسب الحماية التي احدثها استعمال العسـل كانت (13، 44، 54، 58)% للتراكيز (150، 300، 450، 600) ملغم/كغم على التوالي كما يلاحـظ فـي الجدول رقم (1) وان المعاملة بالتركيز (600) ملغم/كغم كانت افضل المعاملات.

ب- اختبار التغيرات الكروموسومية

ان تجريع الفئران المبيد بروديفاكوم قد زاد من نسبة ظهور التغيرات الكروموسومية في خلايا نقـي العظم بالمقارنة مع معاملة السيطرة السالبة حيث كانت لمعاملة السيطرة السالبة (0.22)% واصـبحت عنـد تجريع الفئران المبيد لوحده (18.52)% وعند تجريع الفئران تراكيز العسل بعد تجريعها المبيد قد ادى الـى

ظهور التغيرات الكروموسومية ولكنها اقل معنوياً (P<0.05) من نسبة التغيرات الكروموسومية في الفئـران المعاملة بالمبيد لوحدهِ حيث اصبحت (8.35، 8.28، 7.02، 6.20)% عند المعاملة بـالتراكيز (150، 300، 450، 600) ملغم/كغم وان نسب الحماية التي احدثها استعمال تراكيز العسل كانت على التـوالي (56، 56، 63، 68)% كما يلاحظ في الشكل رقم (1) وان المعاملة بالتركيز (600) ملغم/كغم كانت افضل المعاملات.

ج- اختبار تكوين النوى الصغيرة:

يلاحظ في الشكل رقم (3) ان تجريع الفئران المبيد بروديفاكوم قد زاد مـن نسـبة تكـوين النـوى الصغيرة مقارنة بمعاملة السيطرة السالبة وان تجريع الفئران تراكيز العسل بعد تجريعها المبيد قد ادى ايضـاً الى زيادة نسبة تكوين النوى الصغيرة الا ان الزيادة الحاصلة هي اقل معنوياً (P<0.05) عن الزيادة الحاصلة بفعل تجريع الفئران العقار لوحده حيث يلاحظ ان نسبة ظهور النوى الصغيرة لمعاملة السيطرة السالبة كانـت (3.00)% وعند تجريع الفئران المبيد لوحده فقد اصبحت (17.0)% وعند تجريع الفئـران تراكيـز العسـل (150، 300، 450 ، 600) ملغم/كغم فقد كانت نسبة تكـوين النـوى الصـغيرة (12.28، 10.79، 10.0، 9.98)% على التوالي وان نسب الحماية وكما يلاحظ في الجدول رقم (1) التي احـدثها اسـتعمال تراكيـز العسل (150، 300، 450، 600) ملغم/كغم كانـت (34، 45، 50، 51)% علـى التـوالي وان المعاملـة بالتركيزين (450 ، 600) ملغم/كغم كانت افضل المعاملات.

د- اختبار التشوهات في رؤوس الحيامن

ان تجريع الفئران المبيد بروديفاكوم قد زاد من نسبة ظهور التشوهات في رؤوس الحيامن بالمقارنة مع السيطرة السالبة (غير المجرعة) وان الزيادة كانت ذات دلالة معنوية (P<0.05). واما ما يتعلق بتجريع الفئران تراكيز العسل بعد تجريعها المبيد (تداخل) فقد ادى الى ارتفاع نسبة ظهور التشـوهات ولكنهـا اقـل معنوياً (P<0.05) عن الزيادة الحاصلة بفعل تجريع الفئران المبيد لوحده (السـيطرة الموجبـة). وان نسـب الحماية التي احدثها استعمال العسل من تأثيرات المبيد في زيادة نسبة ظهور التشوهات في رؤوس الحيـامن وكما يلاحظ في الجدول رقم (1) فقـد كانـت (30، 42، 46، 63)% للتراكيـز (150، 300، 450، 600) ملغم/كغم على التوالي وان المعاملة بالتركيز (600) ملغم/كغم كانت الافضل من بين المعاملات.

المناقشة

لقد اظهرت التحليلات الاحصائية لنتائج انعدام التأثيرات السمية والتطفيرية للعسل الطبيعي وللتراكيز قيد الدراسة حيث يلاحظ ان استخدام تراكيز العسل لم يقلل من قيم مؤشر الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظـم والخلايا الجنسية (شكل رقم 1) وليس له تأثيراً معنوياً في استحثاث التغيرات الكروموسومية (كسر كرماتيدي وكسر كروموسومي) او في زيادة نسبة تكوين النوى الصغيرة او في زيادة ظهـور التشـوهات فـي رؤوس الحيامن، وهذه النتائج تتفق مع ما وجدهُ البديري (2002) والربيعي (2006) حيث ان العسل ليس من المـواد ذات الفعل المطفر او المسرطن ويلاحظ ان تراكيز العسل كافة قد زادت قيم مؤشر الانقسام الخيطي لخلايـا نقي العظم والخلايا الجنسية وقد ادى الى خفض التردد التلقائي لتكوين النوى الصغيرة معنوياً (شكل رقـم 1) فضلاً عن انها قد ادت الى خفض نسبة ظهور التشوهات في رؤوس الحيامن وكان الانخفاض معنوياً لـبعض التراكيز. وقد يعزى السبب في ذلك الى ان العسل يحتوي مواد محفزة للانقسام الخلـوي او الـى ان العسـل

يحتوي على مستخلصات الرحيق الزهري (White , 1993) والتي ربما يعزى لها السبب في خفض نسبة تكوين النوى الصغيرة وخفض نسبة التشوهات في رؤوس الحيامن، حيث وجدت البديري (2002) وحسن (2002) ان للتمر الزهدي ولنبات حبة البركة تأثيراً مشابهاً في خفض نسبة تكوين النوى الصغيرة وخفض نسبة ظهور التشوهات في رؤوس الحيامن.

اما ما يتعلق بتأثير تجريع الفئران مبيد البروديفاكوم فقد اظهرت النتائج (شكل رقم 2) و (شكل رقم 3) ان تجريع الفئران المبيد قد ادى الى خفض قيم مؤشر الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم والخلايا الجنسية معنوياً كما ادى الى زيادة ظهور التغيرات الكروموسومة وزيادة نسبة تكوين النوى الصغيرة وفي زيادة نسبة ظهور التشوهات في رؤوس الحيامن وهذه النتائج تتفق مع وما وجدهُ الحسيني (1995) والجنابي (1997) وقد يعزى سبب تأثير المبيد في خفض مؤشر الانقسام الخيطي وفي زيادة نسبة ظهور التغيرات الكروموسومية وزيادة تكوين النوى الصغيرة إستحثاث ظهور التشوهات في رؤوس الحيامن الى وجود مادة الكومارين (Cumarin) في تركيبتهِ والتي تعد من المواد ذات التأثيرات السمية والمثبطة للانقسام وذات الفعل المطفر والمسرطن (Sarma , 1968).

اما ما يتعلق بالتداخل بين تراكيز العسل ومبيد البروديفاكوم (شكل رقم 2) و (شكل رقم 3) ومن خلال ملاحظة قيم مؤشر الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم والخلايا الجنسية فيلاحظ ان فروقاً معنوية ظهرت بين تجريع المبيد لوحده وبين تجريع الفئران تراكيز العسل قبل او بعد تجريع المبيد. وكما يلاحظ في الجدول رقم (1) مقدار ما يوفر استعمال العسل من حماية للخلايا من حدوث التغيرات الكروموسومية ومن تكوين النوى الصغيرة ويظهر ايضاً ان لتراكيز العسل دوراً فعالاً في تثبيط فعالية البروديفاكوم في استحثاث ظهور التشوهات في رؤوس الحيامن. ويمكن ان يعزى تأثير العسل هذا الى انه يساعد في زيادة افراز مادة الكلوتاثيون Glutathione (الباشا ، 1983) وهذا المركب عبارة عن ببتيد ثلاثي يعد من المكونات الخلوية المهمة والتي تؤدي دوراً هاماً في الدفاع عن الخلية ضد المواد السامة ويكون فعلها عن طريق تكوين ارتباطات مع المركبات السامة و (Hayatsu *et al*, 1988). كما ان هذا المركب قد يكون عمله من خلال قيامه بدور المواد المحبة للنواة Nacleophils وهذه المواد تتنافس مع الـ DNA في الارتباط مع المواد المحبة للالكترونات Electrophils (Deftora and Ramel , 1988). وان احتواء العسل على العديد من المركبات السكرية والبروتينية والفيتامينات والمعادن يكون السبب في دور العسل هذا حيث اوضح White (1979) ان هذه المواد تلعب دوراً فعالاً في تثبيط الطفرة الوراثية. وقد يكون احتواء العسل على الفيتامينات ومنها فيتامين (C) السبب الذي يعزى له فعل العسل حيث اظهرت الدراسات ان لهذا الفتامين القدرة في تثبيط فعل عدد كبير من المطفرات الفيزيائية والكيميائية (Deflor and Ramel , 1988). وقد بين Alekperov (1982) ان فيتامين (C) يعد مثبطاً عاماً للمطفرات حيث اشار Mita واخرون (1982) ان فيتامين (C) يقوم بغلق المواقع الحساسة في الـ DNA من خلال الارتباط بها ومنع المطفر من الوصول اليها، ويمكن ان يعزى تأثيراً العسل الى تأثيره في زيادة فعالية الانزيم Glutathione Reductase (الربيعي ، 2008) المسؤول عن تكوين الكلوتاثيون بشكله الفعال ليقوم بوظيفته التي اشرنا اليها سلفاً ويمكن ان يعزى السبب الى احتواء العسل على الفلافونيد Flavonoides وهذا المركب يمتلك خاصة تثبيطية تجاه بعض المطفرات الكيميائية وللفلافونيد الفعالية في زيادة فعالية الانزيم GST وهذا الانزيم يعد من الانزيمات ذات القدرة التثبيطية للفعل المطفر والمسرطن لبعض المواد (Miski *et al.*, 1983).

ومن ملاحظة النتائج في الشكل رقم (2) والشكل رقم (3) ان تأثير العسل يختلف في حالة اعطـاءه قبل المبيد عن حالة اعطاءه بعد المبيد وان تجريع العسل قبل المبيد يكون ذو كفاءة تثبيطيـة اعلـى مقارنـة بالحالة التي يكون تجريعه بعد اعطاء المبيد وان تأثيره لا يرتبط بزيادة التركيز وهذا يعزى الـى ان عمـل المواد المثبطة للطفرات يعتمد على المرحلة التـي تـؤدي مـن خلالهـا هـذه المـواد عملهـا او فعلهـا (Alekperov , 1984 ; Alekperov , 1982) ولهذا فالعسل يعد بأنه عاملاً مضاداً للتطفير خارج الخليـة Desmutagen بالمرتبة الاولى وعاملاً مضاداً للتطفير داخل الخلية Bioantimutagen بالمرتبـة الثانيـة وهذا يتفق مع ما وجدهُ البديري (2002) والربيعـي (2006) وقـد اشـار Ramel واخـرون (1986) ان المستخلصات النباتية تكون عوامل مضادة للتطفير خارج الخلية بالدرجة الاولى ثم كعوامل مضادة للتطفيـر داخل الخلية بالمرتبة الثانية ولذلك يمكن ان يكون العسل كالمواد الواقية من التأثيرات السمية التطفيرية لهـذا المبيد.

الاستنتاجات

1- ليس لتراكيز العسل قيد الدراسة اية تأثيرات سمية او تطفيرية وفعالية العسل غير مرتبطـة بزيـادة التركيز حيث ان كل ميكانيكية تحتاج الى تركيز معين.
2- يمتلك مبيد البروديفاكوم القدرة على تثبيط الانقسام الخلوي في كل من خلايا نقي العظـم والخلايـا الجنسية وله القدرة في استحثاث ظهور التغيرات الكروموسومية وتكوين النوى الصـغيرة وظهـور التشوهات في رؤوس الحيامن.
3- تمتلك تراكيز العسل خصائص مضادة للتطفير من خلال تثبيط الفعل التطفيري لمبيد البروديفـاكوم عند استعمالها قبل او بعد المبيد.
4- يعد العسل من المثبطات التي تعمل خارج الخلية بالدرجة الاولى وبالدرجة الثانية داخل الخلية.

المصادر

الباشا، محمد خليل (1983). موسوعة في علم النحل. مطبعة الدار العربية للموسوعات.

البديري، نضال عبد الحسين (2002). دراسة قابلية العسل ومستخلصات التمر الزهدي في تثبيط التـأثيرات الوراثية الخلوية والدموية لأشعة كاما في الفئران البيض. رسالة ماجستير جامعة الكوفة.

الجنابي، عباس عبد الله محمد (1997). تأثير مبيدي القوارض فوسفيد الخارصين والبروديفاكوم على الهيئة الكروموسومية ومؤشر الانقسام والنطف في الفئران المختبرية والحقلية *Mus Musculus*. اطروحـة دكتوراه. جامعة بغداد.

حسن، مفيد قائد احمد (2002). تثبيط الاثر السمي الـوراثي لـبعض المسـرطنات الكميائيـة باسـتعمال مستخلصات نباتية. اطروحة دكتوراه. جامعة بابل.

الحسيني، وجدان عبد الهادي عبد علي (1995). التأثيرات الوراثية الخلوية لمبيد القوارض فوسفيد الزنـك والبروديفاكوم على الفأر الابيض. رسالة ماجستير. جامعة بغداد.

الربيعي، عباس حسين مغير (1997). تأثير مستخلصات الثوم في تثبيط الفعل التطفيري لفوسفيد الخارصين واشعة كاما في الفئران البيضاء. اطروحة دكتوراه. جامعة بابل.

الربيعي، عباس حسين مغير (2006). تأثير العسل الطبيعي في تثبيط الاثر التطفيري لعقار المايتومايسين-سي- في الفئران البيضاء. مجلة جامعة بابل المجلد (13) العدد (3): 500-510.

الربيعي، عباس حسين مغير (2008). تأثير العسل الطبيعي والمايتومايسين-سـي- علـى فعاليـة انـزيم الكلوتاثيون المختزل Glutathione Reductase في الفئـران البيضـاء *Mus Musculus*. مجلـة جامعة بابل المجلد (15) العدد (4): 1385-1391.

شعبان، عواد والملاح، نزار مصطفى (1993). المبيدات، وزارة التعليم العالي والبحـث العلمـي جامعـة الموصل.

Alekperov, V. (1982) . Antimutagens and the Problem of Controlling the action of environmental mutagens In: Sugimura, T. Kondo, S. and Takebe, H. (Eds). Environmental mutagens and Carcinogens. Liss, New York: 361-368.

Alekperov, V. (1984). Antimutagens: theoretical and Praetical aspects. Nauka , Noscov PP. 128.

Allen, J.; Shuler, C. and Latt, S.A. (1977). A simplified technique for in vivo analysis of SCE using 5-Brde tables Cytogent. Cell Genet. 18: 231-239.

Au, W.; Pathak , S.; Collie, C. and Hsu, T. (1978) Cytogenetic toxicity of gentian violet and Ceystal violet on mammalian cell in vitro Mutat. Res. 58: 269-276.

Deflora, S. and Ramel, G. (1988). Mechanism of inhibitor of mutagenesis and carcinogenesis. Classification and overview. Mutat. Res. 202: 285-306.

Evans, E.P.; Breckon, G. and Ford, C.E. (1964). An air drying method fom meotic Prepartion from mammalian testes. Cytogenetic. 3: 284-294.

Hadler, M.R. and Shadboit, R.S. (1975). Novel 4- hydroxy- Coumarin anticoagulants active against Vesistant rats. Nature. 253: 275-277.

Haupson, S. (1992). Significance of the insecticides and klerat for the protection of stored products Mutat. Res. 29: 131-135.

Hayatsu, H.; Arimoto, S. and Negishi, T. (1988). Dietary inhibitors of mutagenesis and Carcinogenesis. Matat. Res. 202: 429-446.

Kada, T.; Sadaie, Y. and Hara, M. (1978). Analysis of mutagen-antimutagen reactions in food and Food additives by rec-assay and reversion assay procedures. Mutut. Res. 53: 206-207.

Miski, M. ; Ulubele, A. and Mabry, T. (1983) G-Hydroxy flavones from *Thymbra spicata*. Phytochemistry. 22: 2093-2094.

Mita, S.; Yamazo, Y. Kamataki , T. and Kato, R. (1982) Effect of ascorbic acid and non-enzymatic binding to DNA and the mutagenecity of N-hydroxylaed Metabolite of tryptophan Phrolysis Product. Biochem. Biophys. Res. Commun. 105: 1396-1401.

Moutschem, J. (1985). Introduction to genetic toxiclogy John Wiley and sons. Chichester.

Ramel, C.; Alekperov, V.; Ames, B.; Koda, T. and Wattenberg, L. (1986). Inhibitors of mutagensis and their relevance to carcinogenesis. Report by antimutagens and desmutagen. ICPFMC expert group on antimutagens and desmutagen ICPMC Publ No. 12. Mutat. Res. 168: 47-65.

Rawat, A.; Mehrotra, S.; Tripothi, S. and Shome, V. (1997). Hepato Protective activity of *Boer haavia diffusa* . roots. Apopular. Indian ethnomedicine. J. Ethno. 56: 61-66.

Sarma, C.B. (1968). Coumarin induced Chromosome breakages in the root tip of Ephedia. Fohata Bolss Var Ciliata Cytol. 33 (1): 94-96.

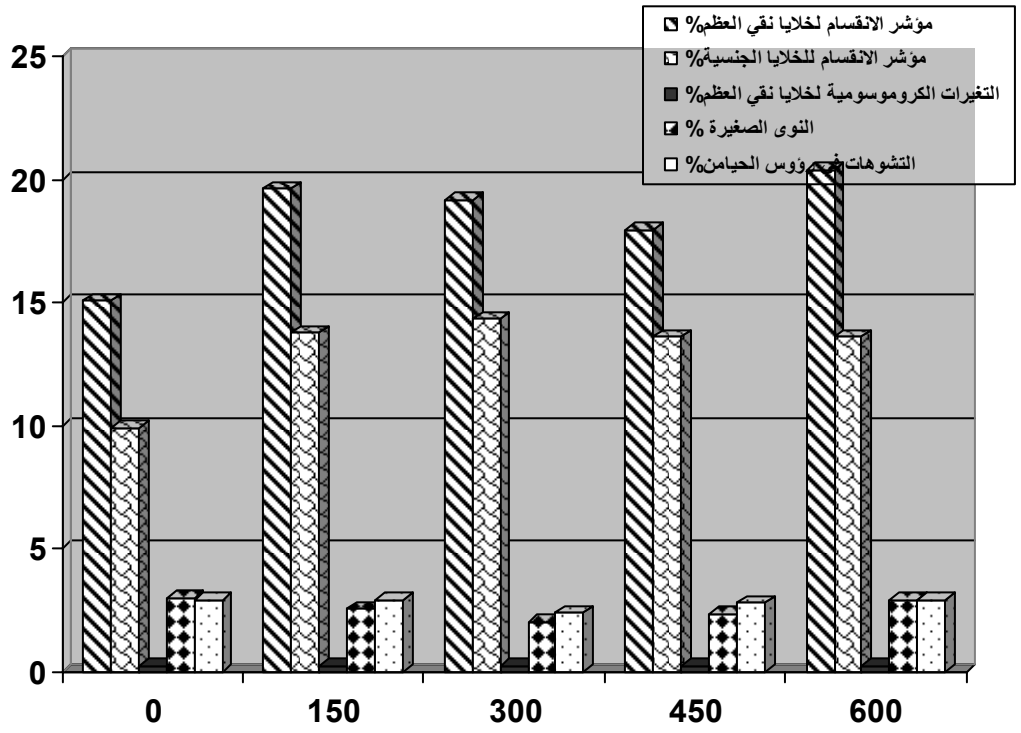
Schmid, W. (1975). The Micronucleus test. Mutat. Res. 31: 9-15.

Stick, H. and San, C. (1981). Topics environmental physiology and medicine in (Short-term- test for Chemical Carcinogen). Springer Veriag. New York.

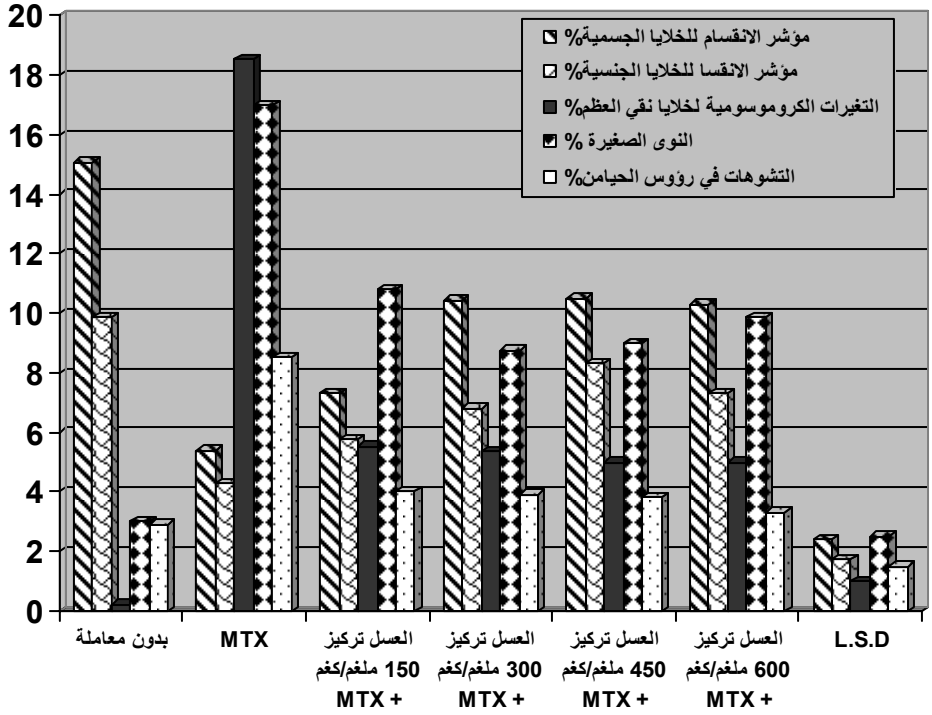
Whilte, J.W. (1979). Composition of honey in (honey) Acomprehensive Surey. Heinemann. London. U.K. PP: 157-206.
White, J.W. (1993). Honey. In the nive and hone bee Danat and Sosinc. Hamilton. U.S.A. PP: 869-925.
Wyrobek, A. and Bruce, W. (1975). Chemical induction of Sperm head abnormalities in mice. Proc. Nat. Acad. Sei. 72: 4425-4429.

جدول رقم (1) يبين نسب الحماية التي يحدثها العسل عند استخدامه قبل او بعد مبيد البروديفاكوم

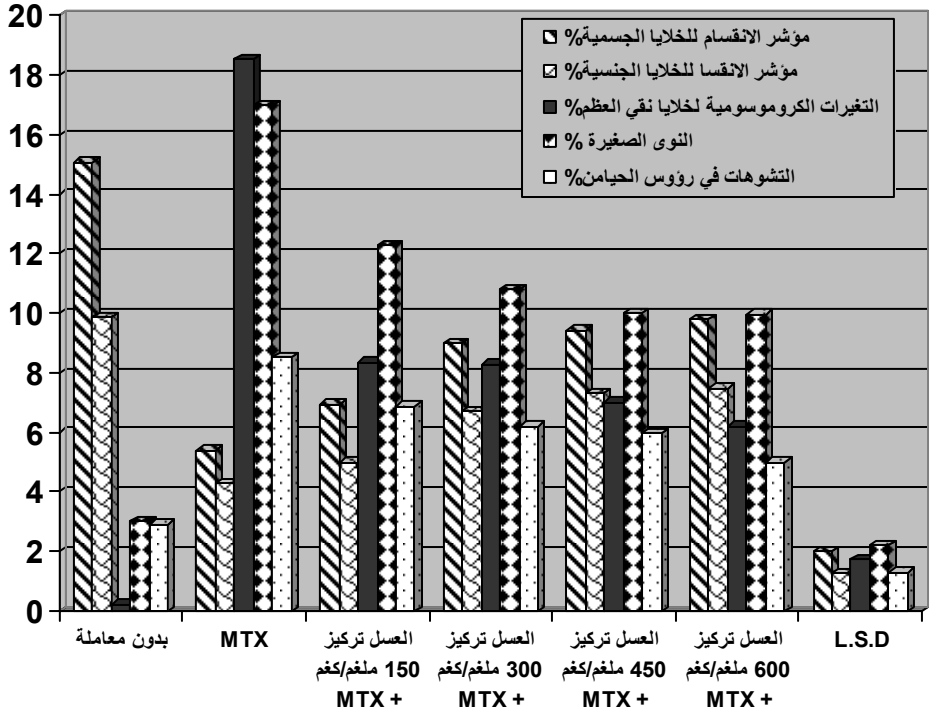
الاختبار / المعاملة ملغم/كغم وزن الجسم		نسبة الحماية%				
		مؤشر الانقسام لخلايا نقي العظم	مؤشر الانقسام للخلايا الجنسية	التغيرات الكروموسومية	تكوين النوى الصغيرة	التشوهات في رؤوس الحيامن
العسل قبل مبيد البروديفاكوم	150	20	27	66	45	81
	300	53	46	72	59	83
	450	53	73	74	58	85
	600	51	54	74	51	93
العسل بعد مبيد البروديفاكوم	150	06	13	56	43	30
	300	38	44	56	45	42
	450	42	54	63	50	46
	600	46	58	68	51	63



شكل رقم (1) تأثير العسل الطبيعي على مؤشر الانقسام الخيطي والتغيرات الكروموسومية واستحثاث تكوين النوى الصغيرة والتشوهات في رؤوس الحيامن للفئران البيض



شكل رقم (2) تأثير استعمال العسل الطبيعي قبل مبيد البروديفاكوم على مؤشر الانقسام الخيطي والتغيرات الكروموسومية واستحثاث تكوين النوى الصغيرة والتشوهات في رؤوس الحيامن للفئران البيض.



شكل رقم (3) تأثير استعمال العسل الطبيعي بعد مبيد البروديفاكوم على مؤشر الانقسام الخيطي والتغيرات الكروموسومية واستحثاث تكوين النوى الصغيرة والتشوهات في رؤوس الحيامن للفئران البيض.