

الكشف عن السمية الخلوية و الجزيئية للمستخلص الخام لهلام الصبار *Aloe vera L.* في جذور نبات البصل *Allium cepa*

نضال نعمة حسين

غيث منذر فاضل

قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة (أ بن الهيثم)، جامعة بغداد

استلم في: 2 ايلول 2015، قبل في: 12 تشرين الأول 2015

الخلاصة

درست السمية الخلوية و الجزيئية للمستخلص الخام لهلام الصبار في الخلايا المرستيمية لجذور نبات البصل وباستعمال التراكيز 2, 5, 10, 20, و 40% ولثلاث فترات تعريض 24, 48, و 72 ساعة. شملت المعايير الخلوية المدروسة حساب عدد التشوهات الكروموسومية وأنواعها، ومعامل الانقسام الخيطي، فضلاً عن دراسة التأثيرات الوراثية باستخدام تقانة التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة (RAPD) Randomly Amplified Polymorphic DNA المعتمدة على تقانة (PCR) Polymerase Chain Reaction وباستعمال عشرة بادئات. وجد ان تأثير مستخلص الخام لهلام الصبار واضحاً في تثبيط نمو جذور البصل كلما زاد التركيز وحصل على التركيز نصف المؤثر EC50 في نمو الجذور اذ كان (10%). اوضحت دراسة السمية الوراثية لهذا المستخلص من خلال حساب معامل الانقسام الخيطي وعدد التشوهات الكروموسومية وأنواعها , بان جميع تراكيز المستخلص أدت الى انخفاض معنوي في عدد الخلايا المنقسمة ومعامل الاطوار وقد أدى التركيز 20% الى انخفاض معامل الانقسام الى دون 50% بمقارنة مع معاملة السيطرة مما يدل على تأثيره السمي وشبه المميت. اوضحت النتائج كذلك ظهور العديد من التشوهات الكروموسومية لخلايا البصل المعرضة للمستخلص وبمختلف التراكيز ومدد التعريض , وكانت أكثر التشوهات الكروموسومية تكراراً اللزوجة, الجسور الكروموسومية, الكروموسومات المتأخرة, والاستوائى الكولشيسينى. بينت نتائج التحليل الوراثي بتقانة RAPD اختلافاً واضحاً في عدد حزم ال DNA المتضاعفة واوزنها الجزيئية بين العينات المعاملة بالمستخلص لاسيما عند التركيز نصف المؤثر والتراكيز الاعلى منه مقارنة بمعاملة السيطرة , وبينت نتائج نسبة الاستقرار الجيني % GTS بان مستخلص هلام الصبار الخام ساماً وراثياً عند التركيز 40% والمستعمل في هذه الدراسة.

الكلمات المفتاحية: RAPD , *Aloe vera* , genotoxicity, *Allium cepa*:

المقدمة

ينتمي نبات الصبار (*Aloe vera* L. (*Aloe barbadensis* Miller) الى عائلة *Asphodelaceae*. وهو أحد أنواع جنس *Aloe*، ويعد هذا النبات من نباتات المناطق الجافة وشبه الجافة، أما الموطن الاصلي له فهو السواحل الشمالية والغربية لقارة افريقيا ومنحدراتها. استعمل نبات الصبار على مدى القرون لعلاج الكثير من الامراض ومواد التجميل وفي الطب الشعبي [1]. يحتوي الصبار على مدى واسع من المركبات تتضمن الفيتامينات، المعادن، والانزيمات، السكريات المتعددة، المركبات الفينولية والاحماض العضوية [2] مما جعله ذو خصائص علاجية واسعة فاستعمل كمضاد بكتيري [3]، وفطري [4]، كمضاد للالتهابات [5]، وفي علاج الجروح الجلدية والحروق [6]، وفي علاج امراض القلب [7]، كمحفز للاستجابة المناعية، كمضاد للاكسدة وكمضاد للاورام [8]. يدخل هلام الصبار بكثرة في تركيب العديد من المستحضرات التجميلية فوجد في اغلب مرطبات اليد والوجه، الصابون وصابون الحلاقة والشامبو وفي العطور وفي اغلب انواع مضادات الشمس [9]Sunblock.

استعمل نظام القمم النامية لنبات البصل *Allium cepa* في تقييم السمية الوراثية للعديد من الملوثات البيئية ويعتمد على هذا النظام بسبب بعض المميزات المهمة منها حساسيته العالية للاختلافات الوراثية، التشابه الكبير للخلايا المنقسمة في جذور نبات البصل، الحجم المنتظم لكروموسومات البصل وسهولة العمل معه مختبرياً وحقلياً من حيث سرعة النمو وتكوين عدد كبير من الجذور في وقت قصير [10, 11, 12, 13]. استعمل نظام القمم النامية لنبات البصل *Allium cepa* في تقييم السمية الوراثية للعديد من الملوثات البيئية كاستعمله في دراسة السمية الوراثية للمعادن الثقيلة [14] والمعادن المشعة [15]، وبعض ملوثات الماء [16] والمبيدات الحشرية [17].

تعد تقانة التضاعف العشوائي RAPD من التقانات الحديثة التي استعملت في مجال الكشف عن التأثيرات المفطرة للمواد مثل المواد الثقيلة والمبيدات الحشرية والاشعة فوق البنفسجية UV [18]. اذ تعد هذه التقنية اكثر الطرائق الموثوقة والعالية الحساسية والقابلة للتكرار، التي لها القدرة على الكشف عن تلف الحمض النووي DNA (كسر في الحامض النووي) او الطفرات (مثل الطفرات النقطية) لهذا فهي مهمة جداً في مجال الكشف عن السمية الوراثية [19]، اذ يمكن أن تستعمل هذه التقنية بشكل عالمي وفعال للكشف عن السمية الوراثية التي تسببها بعض المواد على جين محدد [20]. تهدف هذه الدراسة الى تقييم السمية الخلوية والجزيئية التي يسببها مستخلص الهلام الخام الصبار وبتراكيز مختلفة على القمم النامية لجذور نبات البصل.

المواد وطرائق العمل

مصادر الصبار *Aloe vera* L.: جمعت اوراق الصبار بأطوال تتراوح بين 30-60 سم من الحديقة النباتية لكلية التربية ابن الهيثم للعلوم الصرفة / جامعة بغداد .

مصادر نبات البصل *Allium cepa* L.: تم استعمال البصل الابيض *Allium cepa* L وباحجام متوسطة لغرض استعمالها في تقييم السمية الخلوية والوراثية لمستخلص الهلام الخام الصبار . و حصل عليها من هيئة فحص وتصديق البذور التابعة لوزارة الزراعة

تحضير المستخلص الخام لهلام الصبار: تم الحصول على المستخلص الخام لهلام الصبار من الاوراق وحسب طريقة Ilbas وجماعته [21] وعلى النحو الآتي

جمعت اوراق الصبار وغسلت بوساطة الماء المقطر و جففت و قطعت بشكل طولي على نصفين متساويين و بعدها استخراج الهلام بوساطة ملعقة طعام ومن ثم وضع الهلام في خلاط كهربائي لمدة دقيقة و رشح بوساطة ثماني طبقات من الشاش . حضرت التراكيز المطلوبة بخلطه مباشرة مع الماء المقطر وحسب التركيز المطلوب.

أختبار EC50: يعرف التركيز نصف المؤثر Effective concentration (EC50%) بالتركيز الذي يؤدي الى تثبيط متوسط النمو الى 50% [13]. و عمل الاختبار اعتماداً على Rank (13).

نميت البصلات في الماء المقطر بدرجة حرارة الغرفة ± 25 °م لمدة 24 ساعة وبواقع 15 ساعة ضوء و 9 ساعات في الظلام . نقلت البصلات النامية بشكل جيد وباطوال جذور متجانسة الى قناني تحتوي على تراكيز مختلفة من المستخلص الخام لهلام الصبار 5%, 10%, 20%, 30%, 40% مليلتر/مليلتر وبواقع ست بصلات لكل معاملة فضلاً عن ست بصلات نامية في الماء المقطر كمعاملة سيطرة . تركت العينات لمدة 96 ساعة مع مراعاة تبديل المحاليل لكل معاملة بمحاليل محضرة حديثاً كل 24 ساعة . بعد انتهاء مدة الحضان اختبرت افضل 25 جذراً نامي من كل بصلة لكل معاملة و قيس متوسط طول الجذور لكل معاملة [13].

اعتماداً على نتائج التركيز نصف المؤثر EC50% اختبرت التراكيز الاتية من المستخلص الخام لهلام الصبار 2%, 5%, 10%, 20% و 40% لغرض دراسة تأثيرها الخلوي والوراثي في جذور نبات البصل *Allium cepa* .

معاملة جذور نبات البصل بمستخلص الهلام الخام الصبار: اختيرت بصلات باحجام متماثلة وازيلت الجذور الميتة من القاعدة و وضعت في قناني تحتوي على الماء المقطر مع مراعاة تغطية قاعدة البصلة بالماء بشكل جيد وتركت لمدة 24 ساعة وعند درجة حرارة 20-22 م. نقلت البصلات النامية بشكل جيد ذات الجذور المتجانسة وبطول 1-1.5 سم تقريباً الى قناني حاوية على تراكيز مختلفة من مستخلص الهلام الخام 2%, 5%, 10%, 20%, 40% وتركت لمدة 24, 48, و72 ساعة وبواقع 3 بصلات لكل تركيز ولكل مدة تعريض فضلاً عن ست بصلات كعامل سيطرة مع مراعاة وجود معاملة سيطرة لكل مدة تعريض. جمع 30 جذراً من كل معاملة بعد 24, 48, 72 ساعة لاجل فحصها خلويًا.

التثبيت والحفظ: نقلت الجذور المعاملة بالمستخلص وبالمدد الزمنية المختلفة الى المحلول المثبت (ثلاثة احجام من كحول الايثانول المطلق الى حجم واحد من حامض الخليك الثلجي) وتركت لمدة 24 ساعة ثم غسلت الجذور في 70% كحول ايثيلي مرتين بواقع ساعة لكل مرة ثم غسلت بالماء المقطر لعدة دقائق قبيل التصيبغ [13].

الفحص الخلوي: غمست الجذور قبل الفحص بمحلول حامض الهيدروكلوريك (HCL(1N ووضع في الحمام المائي تحت درجة حرارة 60 م° لمدة 15 دقائق وذلك لتطرية الجذور, وبعد المعاملة بحامض الهيدروكلوريك وضعت الجذور تحت شريحة زجاجية نظيفة وتخلص من الاجزاء الزائدة من الجذر وأقيت القمة النامية Root tip فقط (2 mm ملتر تقريباً). وضعت بضع قطرات من صبغة الاورسين Aceto orcien stain المحضره مسبقاً بحسب طريقة Chandraker وجماعته [25] فوق القمة النامية وتركت لمدة دقيقتين ووضع غطاء الشريحة و ضغط بخفه بوساطة الايهام لكي يتم التخلص من الصبغة الزائدة وفرشت الخلايا باستعمال مؤخرة قلم الرصاص وفحصت مباشرة بوساطة المجهر الضوئي نوع Olympus Compound microscope [13].

فحص 1000خلية تقريباً لكل شريحة ومن مواقع مختلفة في الشريحة, وكان مجموع الخلايا التي فحصت لكل تركيز وبالمدة الزمنية الواحدة 5000 خلية. تسجلت أعداد الخلايا المنقسمة وغير المنقسمة والقيم النسبية لاطوار الانقسام المختلفة والخلايا المحتوية على اختلالات كروموسومية وشواذ ميتوزية و صورت باستعمال Omaxa camera. **الدراسة الوراثية**

استخلاص DNA وقياس نقاوته: استخلص الدنا DNA من جذور البصل النامية لمدة أسبوع في تراكيز مختلفة من المستخلص الخام لهلام الصبار وبحسب طريقة الاستخلاص المعتمدة على استعمال مادة CTAB وذلك وفقاً لطريقة Hassan and Yassein [22]. قيس تركيز الدنا DNA من خلال قياس الكثافة الضوئية للعينات بوساطة جهاز الـ Nano drope وتتراوح نقاوة الدنا DNA 1.7-1.9. وبتراكيز 500-2000 نانوغرام/مايكروليتر. قدرت نوعية الدنا DNA من خلال ترحيل عينه منه على هلام الاكاروز بتركيز 1% وذلك بالتوازي مع مؤشر الحجم الجزيئي Ladder.

تفاعلات التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا DNA: أعد هذا التفاعل حسب ما ورد في طريقة [22] وتوصيات الشركات المجهزة لمواد التفاعل مع بعض التحويرات واستعملت البادئات العشوائية Primers المجهزة من شركة Alpha الكندية والموضحة في الجدول (1) التي تم اختيارها اعتماداً على Hassan and Yassein [22]. ونفذ البرنامج الآتي :- دورة واحدة بدرجة حرارة 94 لمدة خمسة دقائق, 40 دورة بدرجة حرارة 94م° لمدة دقيقة, 36 م° لمدة دقيقة, 72 م° لمدة دقيقتين و اخيراً Final extension دوره واحدة بدرجة حرارة 72 م° [22].

تحليل النتائج

استعمل اختبار On Way Anova باستعمال برنامج SPSS v.15. وحسب دليل الانقسام الميتوزي Mitotic Index حسب Becker (23) وكالاتي:

دليل الانقسام الميتوزي = (عدد الخلايا المنقسمة / العدد الكلي للخلايا المنقسمة وغير المنقسمة) * 100

وحسبت نسبة الاطوار الانقسامية (Frequency of mitotic phases) بحسب Becker (23) وكالاتي

نسبة الاطوار الانقسامية = (عدد الخلايا ل احد الاطوار / العدد الكلي للخلايا المنقسمة) * 100

وحسبت نسبة الشذوذ الكروموسومي حسب Becker [23] وكالاتي:

نسبة الشذوذ الكروموسومي = (عدد الخلايا الشاذة لجميع انواع الشذوذ الكروموسومي / عدد الخلايا المنقسمة الكلي) * 100

أحصيت البيانات الناتجة من مضاعفة مواقع الـ RAPD بإعطاء الرمز I بوجود الحزمة و 0 بعدم وجودها وبناءً على ذلك حسب التشابه الوراثي ورسمت شجرة القرابة بين العينات المدروسة لمؤشرات الـ RAPD وفق معامل Jaccard للتشابه الوراثي و باستعمال برنامج Past ver.1.91 [24], ورسمت شجرة القرابة الوراثية اعتماداً على طريقة UPGMA.

قيست نسبة الاستقرار الجيني % genomic template stability (GTS) بالقانون الاتي [19] :

$$GTS \% = (1 - a / n) \times 100$$

a = عدد الحزم المتعددة الأشكال Polymorphic للبادئ

n = عدد الحزم الكلي البادئ السيطرة نفسه

النتائج والمناقشة

تأثير مستخلص الصبار في متوسط طول جذور نبات البصل: يعد استعمال النظام النباتي من الطرائق البيولوجية المهمة لدراسة اثار السمية للعديد المركبات والمستخلصات النباتية وعلى المستويين الخلوي والجزيئي [11] اذ تقدر السمية الوراثية بنظام القمم النامية لنبات البصل من خلال متابعة التأثيرات في نمو ومورفولوجية الجذور فضلاً عن متابعتها خلويًا او على مستوى الجينات , وأن وجود تأثير لهذه المركبات على النظم النباتية يشير الى وجود مخاطر مباشرة او غير مباشرة على الكائنات الحية [26].

اتضح من النتائج بان المستخلص الخام لهلام الصبار قد ادى الى تثبيط نمو جذور نبات البصل مقارنة مع عينة السيطرة (ماء المقطر), وقد ادت الزيادة في تركيز المستخلص الى زيادة في تثبيط النمو . كان متوسط التأثير نصف المؤثرة EC 50 في نمو جذور البصل للمستخلص الخام 10% (شكل 1). يتضح من النتائج كذلك بأن مستخلص الهلام الخام في التركيز 40% ادى الى توقف كامل في نمو الجذور وقد يعود السبب الى ان هذا التركيز من المستخلص ادى الى حدوث تلف تام للنسيج وموت ميرمج للخلايا Apoptosis [27]. تتشابه هذه النتيجة مع الدراسة التي توصل اليها Olusegun وجماعته [28] اذ وجد بأن معاملة جذور البصل بـ30% من مادة Textile effluent ادى الى موت تام للخلايا.

تأثير المستخلص الخام لهلام الصبار في دليل الانقسام: يعد دليل الانقسام المايوتوزي مقياساً يسمح بتقدير تكرار الانقسام الخلوي في القمم النامية لجذور البصل [28]. وغالباً ما يتم الاعتماد على دليل الانقسام للكشف عن السمية الوراثية لجميع الكائنات الحية [30].

يتضح من نتائج هذه الدراسة بأن مستخلص الخام لهلام الصبار ادى الى انخفاض معنوي ($p < 0.05$) في نسبة دليل الانقسام MI مقارنة بمعاملة السيطرة ولجميع التراكيز المستعملة وضمن المدد الزمنية , وكانت العلاقة عكسية بين تركيز المستخلص ودليل الانقسام (جدول 2). تتفق هذه النتائج مع دراسات سابقة عن الصبار [21] ومع العديد من المستخلصات النباتية الاخرى كمستخلص اوراق نبات الحرمل [31], والمستخلص المائي لنبات *Bauhinia canolican* [32], *Maytenu ilicifolia* , [32], المستخلص القلويدي الخام لنبات المديد *Convolvulus arvensis* (33) و نبات زنايق المطر البيضاء *Zephyranthes candida* [34]

اوضحت النتائج كذلك بان نسبة دليل الانقسام لم يتأثر معنوياً بمدد التعريض المختلفة 24, 48, و72 ساعة وقد يعود ذلك الى قصر مرحلة الانقسام المايوتوزي (Mitotic phase), اذ يتضح من جدول (1) انخفاض دليل الانقسام الى 4.65 عند تركيز 10% بعد مدة تعريض 48 ساعة اي بنسبة انخفاض 39.37% مقارنة بمعاملة السيطرة اذ كانت 7.67 وانخفضت الى 4.37 بعد 72 ساعة عند التركيز نفسه اية بنسبة انخفاض تعادل 42.65% مقارنة بمعاملة السيطرة اذ كانت 7.62. تتفق هذه النتيجة مع دراسة Marcano وجماعته [29] الذي استعمل مادة Maleic hydrazide وبتراكيز ومدد تعريض مختلفة على جذور نبات البصل , بينما Palanikumar وجماعته [35] اوضح ان مادة Aloin , المادة الفعالة في هلام الصبار , تعتمد مدى سميتها الخلوية على تركيز المادة ومدة التعريض ايضاً .

اشار Antonsie-wiez [36] بأن انخفاض دليل الانقسام الخلوي MI الى 22% او دون ذلك مقارنة بمعاملة السيطرة فانه يسبب تأثيرات مميتة lethal effect في الكائن الحي . اما Sharma [37] فقد اوضح بأن انخفاض دليل الانقسام الخلوي MI الى 50% او دون ذلك فانه ذات تأثير شبه مميت (وتدعى هذه النسبة حد السمية الخلوية Cytotoxic threshold) , لذا فان مستخلص هلام الصبار الخام يعد مادة سامة عند التركيز 40% وذلك لخفضه دليل الانقسام بشكل معنوي ولاكثر من 22%. اوضحت النتائج بأن هلام الصبار الخام كان شبه مميت عند التركيز 10% وذلك لان هذه التراكيز ادت الى خفض نسبة دليل الانقسام MI الى دون 50%. ان التراكيز العالية من مستخلص الهلام الخام 40% كان مميتاً بشكل كامل للخلايا وادى الى موت Apoptosis وهذه النتيجة مشابهة لدراسة Olusegun وجماعته [28] اذ وجد ان معاملة جذور البصل بـ30% من مادة Textile effluent ادى الى موت تام للخلايا .

يعود سبب انخفاض نسبة دليل الانقسام في جذور البصل المعرضة لمستخلص هلام الصبار الى ان مستخلص الصبار قد سبب تثبيطاً في تكاثر الخلايا , او قد يعود الى تثبيط تخليق الدنا DNA / البروتين في الانظمة البيولوجية [38] ,

واوضح El-Ghamery وجماعته [39] الى ان سبب الانخفاض قد يعود الى حصول تأخير في مرحلة النمو الاولى من دور الخلية مما يؤدي الى تقليل تصنيع الحامض النووي , او قد يعزى سبب هذا الانخفاض الى ان مستخلص الصبار الخام يتداخل مع تطور الانقسام المايوتوزي لذا يمنع عددا من الخلايا من دخول الى طور التمهيدي ويعطل دورة الانقسام خلال طور البيئي او يعود الى زيادة في زمن طوري البناء S ومرحلة النمو الثانية G2 .

تأثير مستخلص الهلام الخام الصبار في دليل الاطوار: يتضح من الجدول (2) بأن مستخلص الهلام الخام الصبار قد سبب تغييراً في دليل الطور لعينات جذور البصل المعرضة لهذا المستخلص . يتضح من النتائج بأن الطور التمهيدي قد انخفض بشكل معنوي في جذور نبات البصل المعرضة لجميع تراكيز مستخلص الهلام الخام و ولمدد التعريض كافة مقارنة بمعاملة السيطرة وكان اعلى انخفاض لدليل الطور التمهيدي للهلام الخام عند تركيز 40% اذ انخفض الى صفر عند مدد التعريض كافة, اي ان تركيز 40% من الهلام الخام قد اوقف انقسام خلايا جذور نبات البصل . يتضح من الجدول (2) كذلك بأن دليل الطور الاستوائي قد ارتفع معنويًا مقارنة بالسيطرة عينات جذور البصل كافة المعرضة لمستخلص الخام لهلام الصبار وبجميع التراكيز ولكل مدد التعريض , ماعدا التركيز 40% من الهلام الخام والذي أدى الى قتل كامل للخلايا اذ انخفض فيها دليل الطور الاستوائي الى الصفر لمدد التعريض كافة, وكان اعلى ارتفاع لدليل الطور الاستوائي عند تعريض الجذور للهلام الخام بتركيز 20% عند مدة تعريض 48 ساعة اذ اصبحت 38.90 مقارنة بالسيطرة 19.78 اي بنسبة ارتفاع 196.66% . لقد تحققت العلاقة العكسية المتوقعة بين دليل الطور التمهيدي والطور الاستوائي, اذ الزيادة في نسبة أحدهما تكون على حساب الطور الآخر [39] . وقد يرجع ذلك الى دخول الخلايا في الطور التمهيدي, وتباطؤ إنتقالها الى الطور الاستوائي, وفشل إنتقال الخلايا من الطور الاستوائي الى الطور الانفصالي مما أدى الى زيادة نسبة الخلايا في الطور الاستوائي بسبب تأثير المستخلص في خيوط المغزل وتركيب الكروموسوم وزيادة عدد الخلايا المشوهة في الطور الاستوائي . اما دليل الطور الانفصالي لخلايا جذور نبات البصل المعرضة للهلام الخام فقد انخفضت معنويًا عند تركيز 20% ومدة 48 ساعة وعند التركيز 10% ومدة تعريض 72 ساعة مقارنة بعينة السيطرة التي كانت 14.69, 14.75 , على التوالي , ويعود هذا الانخفاض الى قدرة الخلايا من الانتقال من الطور الانفصالي الى الطور النهائي . اوضحت نتائج جدول (2) بأن دليل الطور النهائي لجذور نبات البصل المعرضة للهلام الخام قد انخفض معنويًا عند التركيز 10% ولمدة 24 ساعة و 48 ساعة فاصبحت 10.46 , 10.40 على التوالي مقارنة بعينة السيطرة التي كانت 12.44, 13.44 , على التوالي , وهذا الانخفاض قد يعود الى قدرة الخلايا من الانتقال من هذا الطور الى الطور البيئي.

التشوهات الكروموسومية: يعد الشذوذ الكروموسومي الذي تسببه بعض المواد الكيميائية المتوسط الحقيقي للتسمم الجيني لتلك المركبات [11] , اذ يمثل اختبار الشذوذ الكروموسومي في الانظمة النباتية تقنية بسيطة وواقعية لتحديد السمية الوراثية للمواد [40].

يتضح من نتائج هذه الدراسة ان مستخلص الخام لهلام الصبار أدت الى احداث تشوهات كروموسومية لجميع التراكيز المستعملة ولجميع مدد التعريض , وجد كذلك ايضاً بأن زيادة تركيز المستخلص ومدة التعريض تؤدي الى زيادة في نسبة التشوهات الكروموسومية في خلايا جذور نبات البصل . تتفق هذه النتيجة مع العديد من الدراسات التي وجدت تشوهات كروموسومية عديدة في جذور نبات البصل المعرضة للمستخلصات النباتية كمستخلص نبات زنباق المطر البيضاء *Zephyranthes candida* [34] والمستخلص المائي لجذور نبات الفجل *Raphanus sativus L.* [33]. وجدت في هذه الدراسة انواع عديدة من التشوهات الكروموسومية نتيجة تعريض جذور نبات البصل الى تراكيز مختلفة من مستخلص هلام الصبار كظهور لزوجه الكروموسوم Stickiness, تشتت الكروموسوم Disturbed , الجسور الكروموسومية Bridge, كروموسومات الطور الاستوائي الكولشيسين c-mitosis , كروموسومات متأخر Vagrant فضلاً عن تشوهات كروموسومية اقل تكراراً كالشكل النجمي للطور النهائي Star telophase (جدول 3 , شكل 2) , وقد كان ظهور الكروموسومات الملتصقة اكثر التشوهات تكراراً وقد يعود سبب ظهور هذا النوع من التشوهات الى اسباب عديدة فقد اعتقد Li and Liu [41] بأن ظهور الكروموسومات الملتصقة تعكس سمية عالية للمواد المستعملة وعادة ما تكون هذه السمية ذو تأثير غير رجعي ومن المحتمل أنها تؤدي الى موت الخلية , اما ظهور الجسور الكروموسومية فقد يعود الى كسور الكروماتيدات او الكروموسوم وقد يكون الكسر في الكروماتيد للكروموسوم لنفسه ثم اعادة ارتباط بشكل صحيح من نهاية اللزجة . الطور الاستوائي الكولشيسيني C.mitosis وفيه تنتشر الكروموسومات خلال السايكلوبلازم ومن ثم تفقد قدرتها على التحرك الى الاقطاب وهذا الخلل الكروموسومي يعود سببه تعطيل جهاز الياف المغزل الذي يؤدي الى تأخر انقسام السنتروميير [40].

أدى استعمال مستخلص الهلام الخام الصبار الى ظهور كروموسومات متشتتة Disturbances ويعود سبب ظهورها الى ضعف جهاز المغزل الذي يسبب انتشار الكروموسومات بشكل غير منتظم في الخلية [41]. فضلاً عن ذلك فقد

ظهرت تشوهات كروموسومية اقل تكراراً مثل Star telophase او ظهور شظايا كروموسومية في قمم جذور نبات البصل المعرضة لمستخلص الخام لهلام الصبار وقد يعود سبب ظهورها هو لزوجة الكروموسومات او انقلاب اجزاء الكروموسومات [39] او بسبب اضطراب في جهاز المغزل الذي يسمح بأن تنتشر الكروموسومات بشكل غير منتظم داخل الخلية [40].

تفاعلات التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الدنا (RAPD): استعملت عشر بادئات في تفاعلات التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال, للكشف عن السمية الوراثية للمستخلص الخام لهلام الصبار. اظهرت سبع البادئات فقط حزاماً متعدد OPA-1, OPA-2, OPA-3, OPA-4, OPA-7, OPA-8, OPA-9, OPA-10 اما البادئات OPA-3, OPA-6 و OPA-1 فلم تظهر اي مواقع متممة لتسلسلات هذه البادئات على شريط الدنا DNA القالب لذلك قد تم اهمالها. اوضحت نتائج RAPD وجود اختلافات بين العينات المعاملة بالمستخلص مقارنة بمعاملة السيطرة وظهرت هذه الاختلافات على شكل فقدان لبعض الحزم او اضافة لحزم جديدة موضحة بالجدول (4). يبين الجدول (4) والشكل (3) نتائج التضاعف العشوائي للعينات المعرضة لمستخلص الهلام الخام. يتضح من النتائج بأن البادئات السبعة اعطت 44 حزمة مع معاملة السيطرة وبأوزان جزيئية تراوحت بين 200-1600 زوج قاعدة, ووضحت النتائج ايضاً بأن العينات المعاملة بالتركيز 2% (اقل من التركيز نصف المؤثر) قد فقدت ما مجموعه حزمتان بأوزان جزيئية 860 و 1025 زوج قاعدة عند البادئ OPA-2 ولم يلاحظ اية اضافة لحزم جديدة مع جميع البادئات. اما استعمال التركيز 5% (الاقل من نصف المؤثر) من المستخلص الهلام الخام فلو حظ فقدان حزمة واحدة بوزن جزيئي 860 زوج قاعدة مع البادئ OPA-2 ولم يلاحظ ظهور اي حزمة جديدة, عند استعمال التركيز 10% (التركيز نصف المؤثر) من مستخلص الهلام الخام لم يلاحظ تأثير للمستخلص في DNA جذور نبات البصل اذ لم يلاحظ اي اختفاء او ظهور لاي حزمة جديدة مقارنة بمعاملة السيطرة و لجميع البادئات.

اظهرت العينات المعرضة لتركيز اعلى من التركيز نصف المؤثر 20% ($2X EC_{50}$) اختفاء ما مجموعه اربعة حزم ثلاث منها مع البادئ OPA-2 وبوزن جزيئي 415, 498 و 580 زوج قاعدة وواحدة مع البادئ OPA-8 وبوزن جزيئي (341) زوج قاعدة فضلاً عن ظهور حزمة جديدة بوزن جزيئي 1077 زوج قاعدة مع البادئ OPA-4, اما العينات المعرضة الى اعلى تركيز 40% ($4X EC_{50}$) فكان مجموع الحزم المفقودة ست حزم خمس منها بأوزان جزيئية 324, 373, 415, 860 و 1025 زوج قاعدة مع البادئ OPA-2 وواحدة بوزن جزيئي 431 زوج قاعدة مع البادئ OPA-3 وحزمة واحدة بوزن جزيئي 1077 زوج قاعدة مع البادئ OPA-4.

يتضح من النتائج بأن التراكيز العالية من المستخلص الخام كان لها تأثير واضح في دنا DNA جذور نبات البصل مقارنة بالتراكيز الواطئة. حصل على شجرة القرابة الوراثية اعتماداً على النتائج التي تم التوصل اليها من استعمال البادئات العشوائية لتقانة الـ RAPD على عينات البصل المعرضة لمستخلصات هلام الصبار وكذلك على عينات السيطرة (ماء مقطر) و باستعمال مقياس Jaccard للتشابه الوراثي. يتضح من الشكل (4) بأن العينات أدرجت ضمن التحليل العقودي في مجموعتين مجموعه ضمت السيطرة وجميع التراكيز ماعدا 40% ومجموعة الثانية ضمت تركيز 40% فقط حددت قيمة نسبة الاستقرار الجيني % Genomic template stability (GTS) , يبين جدول (5) قيمة الـ %GTS لدنا DNA جذور نبات البصل المعرضة للمستخلص الخام الصبار. يتبين من الجدول ان قيمة %GTS تنخفض بزيادة تراكيز المستخلص. اذ سجل اعلى انخفاض لمتوسط الـ %GTS عند تركيز 20%, 40% (التراكيز الاعلى من نصف المؤثر) اذ بلغت 91.16% و 85.12% على التوالي وقد سجل اقل انخفاض عند تركيز 2%, 5% (التراكيز الاقل من التركيز نصف المؤثر) اذ بلغت 96.83, 98.41% على التوالي. يتضح مما سبق ان زيادة تركيز المستخلص تؤدي الى زيادة انخفاض متوسط قيمة %GTS.

تشير نتائج هذه الدراسة بأن تقانة RAPD قد نجحت في الكشف عن التباينات الوراثية الناتجة من تأثير مستخلص هلام الصبار. اظهرت نتائج الدراسة الوراثية بأن التراكيز العالية لمستخلص الهلام الخام الصبار أدى الى حصول تغيير في تشكيلات الـ RAPD (RAPD profiles) من خلال اختفاء او ظهور بعض الحزم مقارنة بمعاملة السيطرة. قد يعود اختفاء الحزم الى تلف الـ DNA (DNA damage) مثل كسر في الشريط المفرد او المزوج لحمض النووي [18], او بسبب تغيرات بمواقع النيوكليوتيدات الفتية Oligonucleotide priming التي نشأت بسبب من اعادة الترتيب Rearrangements [27]. ان ظهور حزم جديد قد يعود الى تغير في مواقع الـ Oligonucleotide priming بسبب الطفرات كحذوث اتحادات جديدة, حدوث حذف كبير Large deletions, اعادة اتحادات متماثلة Homologous recombinations [19], وهذه النتائج مشابهة الى ما توصل اليه كل من Baeshin وجماعته [31] الذي درس السمية الوراثية للمستخلص المائي لاوراق نبات الحرمل (*Rhazya stricta* (Decne) على جذور نبات البصل, كذلك Olorunfemi وجماعته [42] الذي درس السمية الوراثية لمياه الحنفية في جذور نبات البصل.

يتضح من هذه الدراسة بأن المستخلص الخام لهلام الصبار يعد مادة ساماعند التركيز 10% وله تأثير مميت عند التركيز 40% . وان التراكيز العاليه قد سببت تغيرات فى اشكال حزم ال RAPD اكثر من التراكيز الواطئه فضلاً عن ان قيمة الاستقرار الجينى %GTS تنخفض بزيادة تراكيز المستخلص الخام .

المصادر

- 1-Talmadge, J. C. ; Jacobs, L. ; Munger ,C. ; Chinnah ,T. ; Chow, J.T. ; Williamson, D. and Yates, K. (2004). Fractionation of *Aloe vera* L. inner gel purification and molecular profiling of activity. International Immunopharmacology .4: 1757-1773.
- 2- Boudreau, M.D. and Beland, F.A. (2006). An evaluation of the biological and toxicological properties of *Aloe Barbadensis* (Miller). *Aloe vera*. J. Environ. Sci. Health C. 24: 103-154
- 3-Alves, D.S.; Perez-Fons, L.; Estepa, A. and Micol, V. (2004). Membrane-related effects underlying the biological activity of the anthraquinones emodin and barbaloin. Bioch. Pharm. 68(3): 549-561
- 4-Sumbul, S. ; Waseemuddin, A.S. and Iqbal , A. (2004). Antifungal activity of *Allium*, *Aloe*, and *Solanum* species. Pharm Biol . 42: 491–498.
- 5-Reuter, J. ; Jocher , A.; Stump, J.; Grossjohann, B.; Franke, G. and Schempp, C.M. (2008). Investigation of the anti-inflammatory potential of *Aloe vera* Gel (97.5%) in the ultraviolet erythema test . Skin Pharmacol. and Physiolo. 21: 106-110.
- 6-Feily, A. and Namazi, M.R. (2009). *Aloe vera* in dermatology: a brief review. J. Italian Dermatol Venereol. 144: 85-91.
- 7-Choi, S.; Kim , K.W.; Choi, J.S.; Han,S.T.; Park,Y.I.; Lee,S.K.; Kim, J.S. and Chung, M.H.(2002). Angiogenic activity of beta-sitosterol in the ischaemia/ reperfusion-damaged brain of Mongolian gerbil. Department of pharmacology, Seoul National University college of medicine, Seoul, Korea. Planta Medica . 68: 330-5.
- 8-Yu, C.S.; Yu, F.S.; Chan, J.K.; Li, T.M.; Lin, S.S.; Chen, S.C.; Hsia, T.C.; Chang, Y.H. and Chung, J.G. (2006). Aloe-emodin affects the levels of cytokines and functions of leucocytes from Sprague-Dawley rats . In vivo . 20: 505-509.
- 9-Stepanova, O.S.; Prudnick, N.Z.; Soloviera V.P.; Golovchenko, G.A.; Svischchuk, A.A. and Dubkova , O.M. (2007). Chemical composition and biological activity of dry *Aloe* leaves. Fiziologicheski Aktivnye Veshchestva . 9: 94-97.
- 10-Fiskesj, G. (1988). The *Allium* test-an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. Mutation Res. 197 pp.
- 11-Grant, W.F. (1992). Cytogenetic studies of agricultural chemicals in plants in: genetic toxicology an agricultural perspective. Plenum Pres, New york. 335-378.
- 12-Saxena, P.N. ; Chauhan, L.K.S. and Gupta, S.K.(2005). Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: spectroscopic basis of chromosome damage. Toxicology . 216: 244-252.
- 13-Rank, J. (2003). The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assay. Ekologiia. 1: 38-42
- 14-Seth, C.S.; Misra, V. ; Chauhan, L.K.S. and Singh, R.R. (2008). Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of *Allium cepa*: cytogenetic and Comet assay approach. Ecotoxicol Environ Safe. 71:711–716.
- 15-Kovalchuk, O. ; Arkhipov, I.; Telyuk, A.; Hohn, P. and Kovalchuk, L.(1998). The *Allium cepa* chromosome aberration test reliably measures genotoxicity of soils of inhabited areas in the ukraine contaminated by the Chernobyl accident. Mutat. Res .415:47–57.
- 16-Leme, D.M. and Marin-Morales, M.A. (2008). Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water—a case study. Mutat. Res- Fund Mol. Mech. 650:80–86
- 17-El-Khodary ,S.; Habib, A. and Haliem, A. (1990). Effect of herbicide tribunal on root mitosis of *Allium cepa*.Cytologia . 55:209-215.

- 18-Cenkci, S. ; Cigerci, H. ; Yildiz, M. ; Gzay, C. Bozdog, A. and Terzi, H.(2010a). Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brosssica rapa* L. Environ .Exp .Bot. 67:467-473.
- 19-Atienzar, F.A. and Jha, A.N. (2006). The random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay and related techniques applied to genotoxicity and carcinogenesis studies: acritical review. Mutat Res. 613:76–102.
- 20-Al-Qurainy ,F. ; Alameri, A.A.; Khan, S. (2010)..RAPD profile for the assessment of genotoxicity on a medicinal plant ; *Eruca sativa*. Journal of Medicinal Plants Research. 4(7): 579-586.
- 21- İlbas, A. İ. ; Gonen , U. ; Yilmaz, S. and Dadandi, Me. Y. (2012). Cytotoxicity of *Aloe vera* gel extracts on *Allium cepa* root tip cells . Turk J Bot. 36(1): 263-268
- 22-Hassan , G. M. and Yassein, A. A. M. (2014). Cytogenotoxicity evaluation of water contami-nated with some textile azo dyes using RAPD MARK-ERS and chromosomal aberrations of onion (*Allium cepa*) root cells. Egypt. J. Genet. Cytol. 43: 39-57
- 23-Becker, W.M. (1986). The World of the Cell. Benjamin Cummings Publishing Company, Inc. New York .398 pp .
- 24-Hammer, Ø.; Harper,D.A.T and Ryan,P.D.(2001). PAST: palaeontological statistics software package for education and data analysis. Paleontologia Eletronica. 4(1):1-9.
- 25-Chandraker, S. K. ; Singh , P. and Pandey, B. (2014). Clastogenic effect of soft drink on root tip of *Allium cepa* . Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci . 3(5): 200-206
- 26-Fiskesjo, G. (1993).The *Allium cepa* in waste water monitoring. Environ.Toxicology Water. 8: 291-298.
- 27- Cenkci , S. ; Cigerci, H. ; Yildiz, M. ; Gzay, C. Bozdog, A. and Terzi, H.(2010b). Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brosssica rapa* L. Environ .Exp .Bot. 67:467-473.
- 28-Olusegun, B. S. ; Fidelia, I. O. and Peter, G. O. (2010). Cytogenotoxicity evaluation of tow industrial effluents using *Allium cepa* assay . African J. of Environmental science and technology. 4(1) 021-027.
- 29- Marcano ,L.; Carruuyo, I. Del ;Campo ,A. and Monttel , X. (2004) .Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. Environmental Research . 334: 185-195.
- 30- Linnainmaa, K.; Meretoja, T. ; Sorsa, M. and Vainto, H. (1978). Cytogenetic effects of styrene oxide. Mutation Research . 58: 277-286.
- 31-Baeshin, N.A.; Sabir ,J.S.M.; Qari, S.H.(2009). Cytogenetic and molecular evaluations of genetic effects of leaf extract of *Rhazya stricta* (Decne) on *Allium cepa* root tip meristems. Egyptian Journal of Genetics and Cytology. 38: 73-83.
- 32-Marjori, L.C.;Teixeria,R.O.; Mantovani,M.S.and Vicentini,V.E.P.(2002). Effects of maytenus ilicifolia mart. and bauhinia candi cans benth infusions on onion tip and rat bonemarrow cells. Genetics and Molecular Biology.25(1):85-89.
- 33-السعدي , رشا عبد الكريم . (2013) . التأثير الخلوي الوراثي للمستخلص الخام لجذور نبات الفجل *Raphanus sativus* L. على خلايا القمم النامية جذور نبات البصل . مجلة جامعة النهريين العلوم . 16(1): 12 - 19 .
- 34-الانصاري , عبد المجيد , ياسين ,ناهي يوسف و مهدي , شيماء صباح . (2010) . تأثير المستخلص المائي لنبات زنايق المطر البيضاء *Zephyranthes candida* في انقسام خلايا القمة النامية في جذور البصل *Allium cepa* والخلايا المغاوية في الدم البشري المحيطي في الزجاج . Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics. 13(1): 70-76 .
- 35-Palanikumar, L. and Panneerselvam, N. (2010). Aloin: Medicinal properties and future perspectives. J. of Pharmacy Research .3: 2682-2685.
- 36-Antonsie-wiez ,D .(1990). Analysis of the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* under infl uence of Leda krin. Folia Histochemica Cytobiologica . 26: 79-96.
- 37-Sharma, C.B.S.R. (1983). Plant meristems as monitors of genetic toxicity of environmental chemicals. Current Science. 52: 1000-1002.

- 38-Avila, H.; Rivero, J.; Herrera, F. and Fraile, G. (1997). Cytotoxicity of a low molecular weight fraction from *Aloe vera* (*Aloe Barbadensis* Miller) gel. *Toxicon* . 35: 1423-1430
- 39-El-Ghamery, A.A.; El-Nahas, A.I. and Mansour ,M.M. (2000). The action of atrazine herbicide as an inhibitor of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia* . 55: 209-215.
- 40-Amer, S. M. and Ali, E. M.(1974).Cytological effects of pesticides vs effects of some herbicides on *Vicia faba*. *Cytologia*.. 39, 633-643.
- 41-Liu, W.; Yang, Y.S.; Li ,P.J.; Zhou, Q.X.; Xie, L.J. and Han Y.P. (2009). Risk assessment of cadmium-contaminated soil on plant DNA damage using RAPD and physiological indices. *J. of Hazardous Materials*. 161:878-883.
- 42-Olorunfemi , D. I. ; Okieimen, E. A. and Ovwemuvwose, J. (2014).DNA Integrity of onion (*Allium cepa* L.) root cells exposed to ballast water. *Vasile Goldis University Press*. 24(3): 305-309

جدول (1) : البادئات المستخدمة

1	OPA-01	5' - CAGGCCCTTC-3'
2	OPA-02	5' -TGCCGAGCTG-3'
3	OPA-03	5' -AGTCAGCCAC-3'
4	OPA-04	5' -AATCGGGCTC-3'
5	OPA-05	5' -GCTCCCTGAC-3'
6	OPA-06	5' -GAAACGGGTG-3'
7	OPA-07	5' -GAAACGGGTG-3'
8	OPA-08	5' -GTGACGTAGG-3'
9	OPA-09	5' -GGGTAACGCC-3'
10	OPA-10	5' -GTGATCGCAG-3'

جدول (2) متوسط دليل الانقسام ومتوسط دليل اطوار الانقسام ونسبة التشوهات الكروموسومية في القمم النامية لجذور

دليل الانقسام MI% ± SE	تشوهات الكروموسومية % ± SE	دليل اطوار الانقسام				التركيز (%)	مدة التعريض (ساعة)
		الطور النهائي ± SE	الطور الانفصالي ± SE	الطور الاستوائي ± SE	الطور التمهيدي ± SE		
1.71±10.59	0.00±0.00	1.61±13.44	1.61±14.99	1.73±18.96*	3.38 ± 52.57	0	24
0.48±7.45*	3.71±21.62*	1.00±12.12	1.61±13.02	3.42±27.25*	3.36±47.60*	2	
0.14±6.03*	1.44±38.21*	1.12±12.25	1.99±13.70	3.30±29.51*	2.53±43.44*	5	
0.23±5.49*	6.35±40.88*	1.13±10.46*	2.47±14.22	1.96±33.18*	4.00±42.01*	10	
0.16±4.15*	3.44±43.75*	1.24±10.92	2.42±12.75	3.07±35.56*	3.76±40.74*	20	
0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	40	
0.82±7.67	0.00±0.00	0.90±12.44	2.43±14.75	1.91±19.78	3.69±53.01	0	48
0.24±6.51*	1.25±22.84*	1.19±10.35	1.23±11.65	4.04±30.35*	5.10±46.62*	2	
0.27±5.33*	3.72±43.82*	1.58±10.40	1.47±11.87	5.33±32.62*	6.48±45.01*	5	
0.21±4.65*	2.20±53.65*	1.17±9.65*	1.61±10.74	3.39±41.57*	1.39±38.01*	10	
0.16±3.54*	4.56±60.45*	1.03±10.69	1.03±7.85*	2.37±38.90*	2.85±42.53*	20	
0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	40	
1.75±7.62	0.00±0.00	1.74±13.21	1.59±14.69	2.14±21.41	1.79±50.58*	0	72
1.30±5.74*	1.64±25.90*	1.67±12.82	2.52±13.27	2.80±28.09*	4.74±45.82*	2	
1.07±4.77*	3.72±49.15*	1.05±13.78	0.85±9.31	2.37±31.63*	3.48±45.26*	5	
0.96±4.37*	4.70±60.37*	1.17±10.38	1.69±11.96*	4.01±37.81*	4.20±35.82*	10	
1.00±3.14*	1.73±75.80*	2.19±9.14	3.65±16.10	4.07±35.85*	5.46±44.84*	20	
0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	0.00±0.00*	40	

(*) p<0.05 معنوية عند

SE الخطاء القياسي

جدول (3) أنواع التشوهات الكروموسومية في القمم النامية لجذور نبات البصل المعاملة بمستخلص الهلام الخام الصبار

نسبة التشوهات الكلية %	التشوهات الكروموسومية						عدد الخلايا المنقسمة	تركيز المعاملة (%)	مدة التعريض
	التصاق كروموسومي	تشقت كروموسومي	جسور كروموسومية	الطور الاستوائي الكوليشين	كروموسومات متأخر	نهائي نجمي			
23.68	48	23	9	0	0	-	370	2	24
38.98	48	33	22	1	11	0	301	5	
42.39	91	7	7	0	7	0	274	10	
50.80	70	7	8	0	5	1	208	20	
0	0	0	0	0	0	0	0	40	
24.50	45	19	10	0	0	0	324	2	48
40.90	52	26	17	10	12	0	267	5	
46.81	112	10	3	0	0	0	233	10	
57.21	60	20	10	12	5	0	177	20	
0	0	0	0	0	0	0	0	40	
25.4	53	3	15	0	1	0	278	2	72
42.79	53	28	6	0	8	0	234	5	
62.98	109	8	11		3		217	10	
67.23	62	20	10	20	7	0	157	20	
0	0	0	0	0	0	0	0	40	
	803	402	128	43	59	1		المجموع	

جدول (4) الحزم المفقودة والمكتسبة وقيمة لجذور نبات البصل المعرضة لمستخلص الهلام الخام الصبار

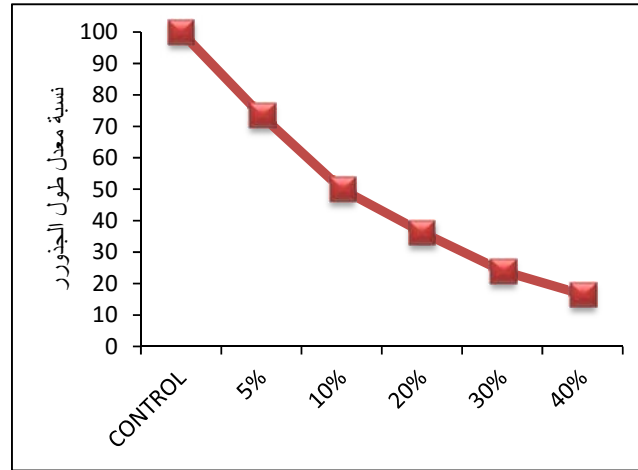
البادئ	عدد حزم معاملة السيطرة		التراكيز (%)				
			2	5	10	20	40
OPA02	9	a	0	0	0	0	0
		b	860 , 1025	860,	0	415, 498, 580	415 , 860, 1025 324, 373,
OPA-3	5	a	0	0	0	0	431
		b	0	0	0	0	0
OPA-4	7	a	0	0	0	1077	1077
		b	0	0	0	0	0
OPA-7	6	a	0	0	0	0	0
		b	0	0	0	0	0
OPA-8	7	a	0	0	0	0	0
		b	0	0	0	341	341
OPA-9	4	a	0	0	0	0	0
		b	0	0	0	0	0
OPA-10	6	a	0	0	0	0	0
		b	0	0	0	0	0
المجموع			2	1	0	5	8

a- اظهر حزم جديدة

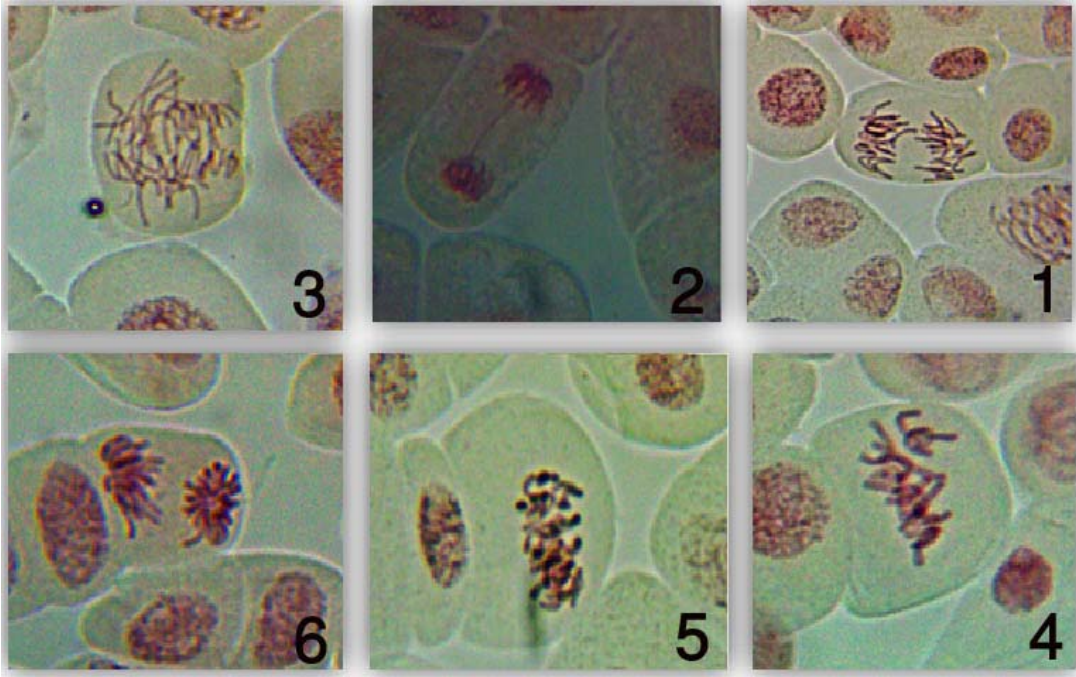
b- اختفاء حزم

جدول (5) قيمة الـGTS% للقمم النامية لجذور البصل المعرضة لمستخلص الهلام الخام للصابون.

المعاملات	البيانات							المتوسط
	OPA-02	OPA-03	OPA-04	OPA-07	OPA-08	OPA-09	OPA-010	
عدد الحزم	9	5	7	6	7	4	6	
السيطرة	100	100	100	100	100	100	100	100
%2	77.78	100	100	100	100	100	100	96.83
%5	88.89	100	100	100	100	100	100	98.41
%10	100	100	100	100	100	100	100	100
%20	66.67	100	85.71	100	85.71	100	100	91.16
%40	44.44	100	85.71	100	85.71	100	100	85.12

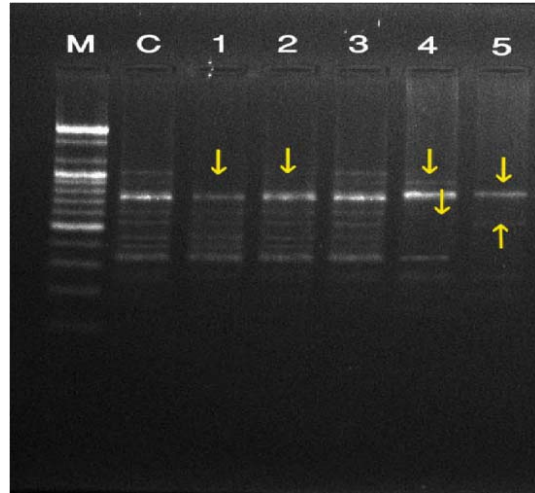


شكل (1) تثبيط نمو جذور البصل المعرضة لمستخلص الهلام الخام للصابون

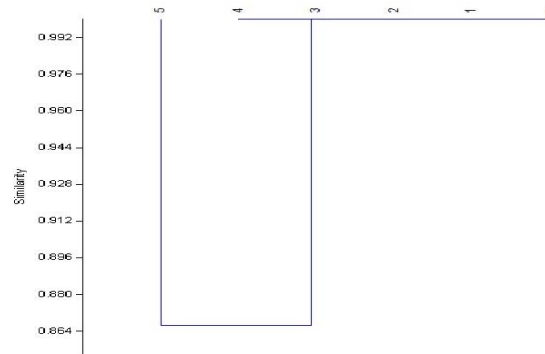


شكل (2) انواع التشوهات التي ظهرت في القمم النامية لجذور نبات البصل المعرضة لتراكيز مختلفة من مستخلص هلام الخام الصبار وباوقات مختلفة

- 1- الطور الانفصالي المتشنت 2 - جسر في الطور النهائي 3 - جسر في الطور الانفصالي 4 - قطعة كروموسومية متاخره في الطور الاستوائي 5 - الطور الاستوائي اللزج 6- الطور النهائي النجمي .



شكل (3) نواتج تضاعف البادئ OPA-3 المرحلة على هلام الأكاروز 1.5% مع الدليل الحجمي DNA Ladder .M الدليل الحجمي
 C- عينة السيطرة , 2% هلام الخام , 2- 5% هلام الخام , 3- 10% هلام الخام , 4- 20% هلام الخام , 5- 40% هلام الخام .
 الخام . يشير الاسهم الى فقدان حزم .



شكل (4) شجرة قرابة الوراثية لعينات البصل المعرضة لتراكيز مختلفة من هلام الخام الصبار
 السيطرة , 1- 2% هلام الخام , 2- 5% هلام الخام , 3- 10% هلام الخام , 4- 20% هلام الخام , 5- 40% هلام الخام
 C



Detection of Cellular and Molecular Toxicity of *Aloe vera* Gel Crude Extract on the Roots of the *Allium cepa*

Nidhal N. Hussain

Ghaith M. Fadhil

Dept. of Biology , College of Education for Pure Sciences(Ibn al-Haitham) ,
University of Baghdad

Received in :2September 2015, Accepted in :12October 2015

Abstract

The cellular and molecular toxicity effect of *Aloe Vera* crude extract on meristem cells of onion (*Allium cepa*) roots were studied . Different concentrations of this crude extract (%2 , %5 ,%10, %20and 40%) were used at different periods ; 24 ,48 and 72 hour . Number of chromosomal aberrations and the mitotic index was calculated . In addition, the genetic effects were observed by using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) technique . The results showed that the gel crud extract of *Aloe vera* had inhibition effects on the growth of the onion roots with 10% EC_{50} value. Significant effects of this gel crud extract were also observed on the chromosomal aberration and mitotic index by decreasing of divided cell rates. The toxic effect of 20% concentration of gel crud extract was decreased the mitotic index under 50% , in the comparison with control sample . Chromosomal aberration were also observed in divided cells of onion roots, which exposed to different concentrations at different periods . The higher frequent type of this chromosomal aberrations , which observed are stickiness , disturbed , bridge , c-mitosis , vagrant and star telophase . The result of RAPD technique reveled differences in number of DNA bands and their molecular weights of the treated samples , which exposed to high concentration of crud extract in comparison with the control sample . The result of the genetic stability ratio (% GTS), also showed that *Aloe vera* crud extract have genetic toxicity at 40% concentration.

Key word: RAPD , *Aloe vera*,genotoxicity, *Allium cepa*