الملخص العربي

تم في هذا البحث تقدير السمية الخلوية الوراثية Cytogenotoxicity لثلاث منتجات منشطة: مشروب الطاقة "بايسن": بالتركيزات ( 50، 80، 90، 100%) ,المنشط الرياضي: "كرياتين مونوهيدرات" بالتركيزات (1,5، 2 ، 2,5 ، 3جم/100مل) والعقار منشط التبويض "كلوميد" بالتركيزات (25، 50، 100، 150 ملجم/100 مل). ودراسة تأثير المواد المختبرة (معاملات مفردة) على الجهاز الوراثي لنبات الفول (جيزة 40) وشملت الدراسة مايلي:-

**1- الدراسات الخلوية:- Cytological Studies:-**

وتضمنت دراسة تأثير المنتجات المنشطة على كل من الانقسامين :الميتوزي والميوزي

* 1. **الانقسام الميتوزي: Mitotic Division**

تمت معاملة القمم النامية لجذور نبات الفول بالأربع تركيزات لكل مادة مختبرة (معاملات مفردة) لثلاث فترات تعريض (6 ,12 , 24ساعة) بالإضافة للعينة الضابطة (الماء) وكانت نتائج الدراسات الميتوزية كما يلي:-

1. **تأثير مشروب الطاقة "بايسن":**
* أظهرت معاملات البايسن التالية إنخفاضاً معنوياً لكفاءة الانقسام الميتوزي : 50% لفترة التعريض 12 ساعة ومعاملتي 80% و 90% بعد فترة التعريض 24 ساعة وتأثرت تلك الصفة بكل من التركيز وفترة التعريض.
* أدت معاملات البايسن لاختلال نسب الأطوار الميتوزية حيث أدت لإنخفاض نسب الأطوار الميتوزية : التمهيدي والانفصالي \_ النهائي بينما كان العكس صحيحا للطور الأستوائي الذي سجل ارتفاعاً في كل المعاملات .
* أظهرت المعاملات المختلفة للبايسن زيادة عالية المعنوية لنسبة الشذوذات الكلية التي تأثرت بكل من التركيز وإطالة فترة التعريض في أغلب المعاملات.
* تراوحت النسبة الكلية للشذوذات ما بين (10,09-90,14%) وشكلت اللزوجة الجزء الاكبر منها حيث بلغت نسبتها ما بين (4,00-81,72%) بينما كان الجزء المتبقي لتلك الشذوذات هو: التشتت الكروموسومي ,الطور الكولشيسيني و التلكؤ الكروموسومي . كما ظهرت شذوذات أخرى في بعض المعاملات بنسب ضئيلة جدا كعديدة الأقطاب ,الجسور,الشكل النجمي , الأنوية الصغيرة وئنائية الانوية.

**ب – تأثير المنشط الرياضي (( كرياتين مونوهيدرات:-**

* أظهرت جميع معاملات الكرياتين إنخفاضاً معنويا لكفاءة الانقسام الميتوزي في جميع المعاملات ما عدا المعاملات التالية : التركيز 2,5جم/100مل بعد فترات التعريض الثلاث (24،12،6) ساعة والتركيز 3جم/100مل لفترتي التعريض (24،12) ساعة.
* أدت أغلب معاملات الكرياتين لإختلال نسب الأطوار الميتوزية حيث تسببت في انخفاض نسب الطور التمهيدي وارتفاع نسب الطور الاستوائي بينما نسب الطور الانفصالي – النهائي تراوحت ما بين الزيادة أو النقصان
* أدت المعاملات المختلفة للكرياتين لزيادة عالية المعنوية لنسبة الشذوذات الكلية وشكلت اللزوجة الجزء الأكبر من تلك الصفة .

حيث تراوحت النسبة الكلية للشذوذات ما بين (5,72-66,46%) وشكلت اللزوجة ما بين (1,21-55,20%) بينما كان الجزء المتبقي من النسبة لتلك الصفة للشذوذات : التشتت الكروموسومي , الطور الكولشيسيني والتلكؤ الكوموسومي, كما ظهرت شذوذات أخرى في بعض المعاملات بنسب ضئيلة جدا ، كعديدة الاقطاب ، الجسور ، الكسور, الشكل النجمي والأنوية الصغيرة.

* تأثر كل من كفاءة الانقسام الميتوزي و النسبة الكلية للشذوذات بكل من التركيز وفترة التعريض.

**ج- تأثير العقار المنشط للتبويض " كلوميد":**

* أظهرت معاملات الكلوميد انخفاض معنوي لكفاءة الانفسام الميتوزي في المعاملات 25ملجم/100مل لفترات التعريض الثرث (24،12،6) ساعة بينما ظهر ارتفاع معنوي لتلك الصفة في المعاملة 150ملجم/100مل بعد فترة التعريض 24 ساعة),
* أظهرت أغلب معاملات الكلوميد اختلال نسب الأطوار الميتوزية حيث انخفضت نسب الأطوار التمهيدي والانفصالي – النهائي بينما ارتفعت نسب الطور الاستوائي.
* أدت معاملات الكلوميد المختلفة لزيادة عالية المعنوية لنسبة الشذوذات الكلية حيث تراوحت النسبة الكلية للشذوذات ما بين (22,78-83,52%) و شكلت اللزوجة النسبة الأكبر من تلك الصفة ما بين (15,63-62,63%) بينما كان الجزء المتبقي من تلك الصفة للشذوذات: الطور الكولشيسيني ,التشتت الكرموسومي و التلكؤ الكروموسومي .كما ظهرت شذوذات أخرى بنسب ضئيلة في بعض المعاملات كالشكل النجمي ، الجسور ، عديدة الأقطاب والكسور الكروموسومية.
* تأثرت النسبة الكلية للشذوذات بكل من التركيز وفترة التعريض.

**1-2- الانقسام الميوزي : : Meiotic Divislon**

تم رش نباتات الفول في مرحلة الازهار (حوالي 45 يوم) بالأربع تركيزات للمواد المختبرة والمذكور سابقا ( معاملات مفردة ) بالإضافة للعينة الضابطة ( الماء ) وأخذت البراعم الزهرية بعد ثلاث فترات تعريض (48،24) ساعة و15يوم من الرش لدارسة السلوك الانقسام الميوزي وكانت النتائج كالتالي :-

1. **تأثير مشروب الطاقة "بايسن" :-**
* أدت جميع معاملات البايسن لزيادة عالية المعنوية في أحداث الشذوذات الميوزية وازدادت نسبة تلك الصفة بزيادة كل من التركيز وإطالة فترة التعريض في معظم المعاملات
* سُجلت أقل نسبة للشذوذات الكلية في المعاملة 50% بعد 24ساعة من الرش (17%) بينما كانت أعلى قيمة لتلك الصفة في المعاملة 90% بعد 48ساعة من الرش (54.34%) .
* وعلى الجانب الآخر ، اظهر التركيزان 90% ، 100% انخفاضا لنسبة الشذوذات الكلية بعد 15يوم من الرش مقارنة بالفترة 48ساعة مما يدل على حدوث استشفاء في تلك المرحلة.
* انخفضت نسبة الشذوذات بالانقسام الميوزي الثاني عن مثيلتها بالانقسام الميوزي الأول في المعاملات بعد فترات التعريض من الرش :24ساعة للتركيز 100% ، 48ساعة للتركيزات (100،90،80 %) و15 يوم للتركيز 80% مما يدل على حدوث استشفاء للخلية في ذلك العمر.
* تركزت النسبة الأكبر من الشذوذات بالانقسامين الميوزي الأول والثاني في الطورين الاستوائي والانفصالي
* اغلب الشذوذات ظهوراً هي : اللزوجة والتبعثرالكروموسومي التي ظهرت في مختلف الأطوار الميوزية . وعلى الجانب الآخر ، ظهرت الكروموسومات المتلكئة ، عديدة الأقطاب ,الجسور الكروموسومية و النواة الصغيرة في بعض المعاملات وبنسب قليلة.

**ب – تأثير المنشط الرياضي (( كرياتين مونوهيدرات )) :-**

* أظهرت جميع معاملات الكرياتين زيادة عالية المعنوية لنسبة الشذوذات الكلية ما عدا المعاملة 1.5جم/100مل بعد الرش بـ 15يوم التي اظهرت معنوية فقط لتلك الصفة.
* زادت النسبة الكلية للشذوذات بعد فترة الرش 48ساعة مقارنة بالفترة 24ساعة في كل تركيزات الكرياتين لكن تلك النسبة انخفضت بعد الرش بـ 15يوم في كل تركيزات الكرياتين ما عدا التركيز 3جم/100مل.مما يدل على حدوث استشفاء في تلك المرحلة.
* سُجلت أقل قيمة لنسبة الشذوذات الكلية لـ 20,09% عند التركيز 1,5جم/100مل بعد الرش بـ 15 يوم بينما سُجلت أعلى قيمة لتلك الصفة عند التركيز 2,5جم/100مل بعد 48ساعة من الرش 55,92%
* انخفضت نسبة الشذوذات بالميوزي الثاني عن مثيلتها بالميوزي الأول في جميع المعاملات ما عدا : التركيز 1,5جم/100مللى بعد فترتي (48،24) ساعة من الرش والتركيز 3جم/100مل بعد 15يوم من الرش مما يدل على حدوث استشفاء للخلية في ذلك العمر.
* تركزت الشذوذات المختلفة بالطورين : الاستوائي والانفصالي في كلا الانقسامين الميوزي الأول والثاني.
* اللزوجة والتبعثر الكروموسومي هي الصورة السائدة للشذوذات في جميع الأطوار الميوزية بالانقسامين الميوزي الأول والثاني . كما وجدت الكوموسومات المتلكئة ، الجسور الكروموسومية ،عديدة الأقطاب و النواة الصغيرة في بعض معاملات الكرياتين بنسب قليلة.

**ج – تأثير العقار المنشط للتبويض ((كلوميد)) :-**

* أدت معظم معاملات الكلوميد لزيادة عالية المعنوية لنسبة الشذوذات الكلية والتي تأثرت بكل من التركيز وفترة التعريض.
* انخفضت النسبة الكلية للشذوذات بعد 15 يوم من الرش مقارنة بالفترة 48 ساعة لكل المعاملات ماعدا التركيز150 ملجم/100مل مما يدل على حدوث استشفاء في تلك المرحلة.
* سُجلت أقل قيمة للشذوذات الكلية بعد المعاملة بالتركيز25ملليجم/100مل بعد 24 ساعة من الرش (26,22%) بينما سُجلت أعلى قيمة لتلك الصفة بعد المعاملة بـ 150ملجم/100مل بعد 15 يوم من الرش (55,12%) .
* انخفضت نسبة الشذوذات في الانقسام الميوزي الثاني عن مثيلتها بالانقسام الميوزي الاول في جميع المعاملات ماعدا المعاملتين (25 , 100) ملجم/100مل بعد 24 ساعة من الرش مما يدل على حدوث استشفاء للخلية في ذلك العمر .
* تركزت الشذوذات الميوزية في الطورين : الاستوائي والانفصالي بكل من الانقسامين الميوزي الأول والثاني .
* اللزوجة والتبعثر الكروموسومي هي الصورة السائدة للشذوذات والأكثر انتشاراً في كل الأطوار الميوزية. بالإضافة لذلك ظهرت الكروموسومات المتلكئة , الجسور الكروموسومية والنواة الصغيرة بنسب ضئيلة في بعض المعاملات .
1. **الدراسات البيوكيميائية و الجزيئية :Biochemical and Molecular Studies**
	1. **تقدير محتوى الاحماض النووية : Nucleic Acids Contents**

 تم تقدير محتوى الحمضين النوويين DNA , RNA لجذور نباتات الفول المعاملة بالتركيزات المذكورة سابقا بالمنتجات المنشطة لثلاث فترات تعريض (6 , 12 , 24) ساعة بالإضافة للعينة الضابطة (الماء) وكانت النتائج كالتالي :

1. تأثير مشروب الطاقة "بايسن " :
* أظهرت اغلب معاملات البايسن ارتفاعاً في محتوى كلا الحمضين النوويين DNA , RNA,بينما أدت إطالة فترة التعريض داخل كل تركيز للبايسن لانخفاض محتوى الـ DNA , RNA في أغلب المعاملات .

حيث سُجلت أقل قيمة لمحتوى الـ DNA , RNA عند فترة التعريض 24 ساعة (100% بايسن ), بينما سُجلت أعلى قيمة لتلك الصفتين عند تركيز 50% بعد فترتي التعريض ( 6 , 24 ) ساعة على التوالي.

1. تأثير المنشط الرياضي "كرياتين مونوهيدرات " :
* أظهرت معظم معاملات الكرياتين زيادة في محتوى الـ DNA للجذور بزيادة تركيز الكرياتين وأيضاً بإطالة فترة التعريض من 6 ساعات إلى 12 ساعة لكنها تنخفض عند فترة التعريض 24 ساعة . وعلى الجانب الاخر, اوضحت أغلب المعاملات انخفاضاً في قيم محتوى الـ RNA للجذور بزيادة تركيز الكرياتين وإطالة فترة التعريض .

حيث سُجلت أقل قيمة للـ DNA عند فترة التعريض 24 ساعة بالتركيز 1,5 , 3جم/100مل,بينما سُجلت أعلى قيم لتلك الصفة عند التركيز 2جم / 100مل وفترة التعريض 12 ساعة .

* وعلى الجانب الأخر , أدت معظم معاملات الكرياتين لانخفاض محتوى الـRNA بزيادة التركيز أوفترة التعريض حيث سُجلت أعلى قيمة لتلك الصفة عندالتركيز 1,5جم /100مل بعد 6 ساعات ,لكن أقل قيمة سجلت عند التركيز 3جم /100مل بعد 24 ساعة.

ج- تأثير العقار المنشط للتبويض " كلوميد" :

* أدت معاملات الكلوميد لتغير قيم محتوى الـ DNA , RNA وتأثرت تلك الصفتين بكل من التركيز وفترة التعريض .
* وعلى الجانب الأخر, أدت أغلب معاملات الكلوميد لانخفاض محتوى الـRNA بزيادة التركيز أو فترة التعريض حيث سجلت أعلى قيمة لتلك الصفة بالتركيز 1,5جم/ 100مل عند 6 ساعات لكن سجلت أعلى قيمة لتلك الصفة بالتركيز 3جم/100مل بعد 6 ساعات.

**2-2 التفريد الكهربي للبروتين :** SDS-Protein Electrophoresis

قدرت بروتينات أوراق نباتات الفول المعاملة (في مرحلة الإزهار )بعد 15 يوم من الرش بالأربع تركيزات للثلاث المنتجات المنشطة معاملات مفردة بطريقة التفريد الكهربي SDS-Protein Electrophoresis ,وبدراسة التباين في شرائط التفريد الكهربي لبروتين المعاملات المختلفة ومقارنتها بالعينة الضابطة وُجد أن المعاملات الأربع لكل من البايسن أو الكلوميد قد أدت لزيادة كثافة الحزم البروتينيه ذات الأوزان الجزيئية ( 40 , 80 , 100 , 150 ) كيلودالتون ,بينما تسببت جميع معاملات الكرياتين لاختفاء حزمتين بروتينية ذات وزن جزيئي ( 60 ,90 ) كيلودالتون.

* 1. **تفاعل البلمرة المتسلسل : RAPD-PCR Reaction**

تم إجراء تفاعل البلمرة المتسلسل (RAPD-PCR) على أوراق نباتات الجيل الثاني للفول والناتجة من الرش بأعلى تركيز لكل مادة مختبرة ( بايسن 100% , كرياتين مونوهيدرات 3جم/100مل , كلوميد 150ملجم/100مل).

* شوهدت التغيرات في حزم الـ DNA في جميع المعاملات :

حيث أظهرت المعاملة بالكلوميد التغير في 21 حزمة DNA (17 حزمة فقدت وظهور 4 حزم جديدة ) بينما أوضحت معاملة البايسن تغير في 10 حزم DNA (8 حزم فُقدت وظهور حزمتين جديدتين ) أما معاملة الكرياتين مونوهيدرات أدت لتغير 9 حزم DNA (5 حزم فُقدت وظهور 4حزم جديدة).

* أظهر البادئ B12 اختفاء حزمتين للـ DNA ذاتا وزن جزيئي ( 448 , 378 ) زوج نيوكليتيدي في كل المعاملات ( بايسن , كرياتين مونوهيدرات , كلوميد ) بينما أظهر البادئ C11 اختفاء الحزمة ذات الوزن الجزيئي 1012 زوج نيوكليتيدي في جمــيع المعاملات (بايسن , كريـــاتين وكلوميد) .

ومن النتائج , يعتبر تفاعل البلمرة المتسلسل (RAPD-PCR) أكثر الاختبارات حساسية لتعيين التغيرات الوراثية عن التفريد الكهربي للبروتين وبالتالي يمكن استخدامه كأداة بحثية لتقدير التأثيرات السمية الوراثية للملوثات ,كما يعتبر البادئان العشوائيان C11 , B12 كدليل لتقدير الاختلافات الوراثية المحددة والحادثة من المنتجات المنشطة (البايسن , الكرياتين , الكلوميد ) لذلك يمكن استخدام هذان البادئان لتعيين آثار السمية الوراثية لأي ملوثات اخرى.

* أظهرت النتائج المتحصل عليها من دراستنا السمية الخلوية الوراثية للمنتجات المنشطة ( البايسن , الكرياتين , الكلوميد ) على الخلية النباتية ,و حيث أن الأساس الوراثي متشابه في جميع الكائنات الحية فإن تلك المنتجات المنشطة ضارة على صحة الإنسان ويجب الحذر منها .