القابلية التطفيرية والمضادة للتطفير للمستخلص المائي لنبات الخباز *Malva parviflora* باستخدام نظام بكتيري (الجزء الثاني)

علي حافظ عباس* سيناء وليد * فهيمه جبار * علياء وائل*

استلام البحث 10، حزيران، 2010
قبول النشر 26، تشرين الاول، 2010

الخلاصة:

أجريت هذه الدراسة للكشف عن التأثيرات السمية والتطفيرية والمضادة للتطفير للمستخلص المائي لنبات الخباز *Malva parviflora* ومقارنة فعاليته تجاه الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet (UV) باعتباره مطفر فيزيائي بمعاملات متداخلة لكل من المستخلص مع الأشعة فوق البنفسجية UV قبل ومع وبعد المعاملة بالمطفر باستعمال (G-system) والذي يتضمن ثلاث أنواع بكتيرية هي : G_3 *Bacillus spp.*, G_{12} *Arthrobacter spp.* و G_{27} *Brevibacterium spp.* بالاعتماد على معامل البقاء Survival fraction (S_x) لدراسة التأثيرات وحث الطفرات المقاومة للمضاد الحيوي الستربتومايسين والريفامبسين كمؤشرات وراثية Genetic markers .

تم تحضير المستخلص المائي للخباز من الأوراق ، السيقان ، الأزهار والجذور (الطازجة والمجففة) بتركيز امثل يساوي 125 مايكروغرام/مليلتر بإعتباره سيطرة سالبة ، شملت معاملات التداخل ثلاث أنواع هي (قبل ، مع ، بعد) للـ UV كمطفر فيزيائي لتحديد فعالية المستخلص النباتي في منع أو تقليل السمية للمطفر. وأظهرت نتائج تأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلصات والمطفر على معامل البقاء (S_x) ارتفاع قيم معامل بقاء عزلات النظام لتصل إلى قيم مقاربة للطبيعية مقارنة بالسيطرة الموجبة (UV) ، وكما أظهرت نتائج التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلصات والمعاملة بالمطفر في حث طفرات المقاومة للمضادين الستربتومايسين والريفامبسين. أن الأشعة فوق البنفسجية لم يكن لها أي تأثير في حث الطفرات المقاومة للمضادين المذكورين للمعاملات مع وبعد المعاملة بالمطفر وللعزلات الثلاث ولكل المستخلصات وبذلك عمل المستخلصات المائية لنبات الخباز على إخماد أو تصليح الطفرات ووفرت حماية 100% للخلايا البكتيرية ، في حين كانت نسبة المعاملة قبل التعرّض للأشعة فوق البنفسجية (92 – 97.3).

الكلمات المفتاحية:المستخلص المائي ،الخباز ،*Malva parviflora*، التأثير التطفيري،تأثيرالأشعةفوق البنفسجية

المقدمة:

الخباز هو نبات عشبي حولي يتراوح ارتفاعه ما بين 10 – 30 سنتيمتر ، أوراقه مستديرة أو كلوية الشكل ، غائرة في التفصص ، ذات حواف مسننة يعود إلى عائلة Malvaceae واسمه العلمي *Malva parviflora L.* ، وهو من النباتات واسعة الانتشار في مختلف بلدان العالم وفي العراق، و يعرف بعدة أسماء مثل رقمة ، رقمية ، خبازي ، خباز ، خبيز ، خبازة ، حُلَّيبا ، حُلَّب ، مُرّة و الغزالة [1].

استخدم نبات الخباز في الطب الشعبي منذ القدم لمختلف الحالات، حيث استخدمت الأوراق والجذور في علاج حالات الربو ,الاكزيما الجلدية , الجروح والتهابات الفم والممرات التنفسية[2, 3, 4]، وتستعمل الأوراق كمطهر وقاتل للبكتيريا والفطريات ، كما تعتبر طاردة للديدان المعوية التي تعيش في الجهاز الهضمي للإنسان وخاصة ديدان الإسكارس والأنكلستوما وغيرها ، ويعتبر الخباز أيضاً مضاد لالتهابات المجاري البولية [5].

تختلف مكونات نبات الخباز وفقاً للجزء النباتي المستخدم (كالجذور أو الأجزاء الهوائية كالأوراق ، السيقان ، الأزهار والبذور) حيث يمتلك الخباز العديد من المركبات الفعالة كالفلافونات الموجودة في مستخلصاته والتي لها فعالية مضادة للالتهابات ومضادة للبكتريا إذ أن له تأثير قاتل ضد بعض أنواع البكتيريا الموجبة و السالبة لصبغة غرام ، في حين أن له دوراً مثبطاً لنمو باقي الأنواع مثل *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureaus* و *E. coli* و *Klebsiella pneumoniae* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Salmonella typhi* [2،4،6،7] .

تعد أنظمة الأحياء المجهرية من أكثر الأنظمة انتشاراً في تحديد قابلية المواد على إحداث الطفرات أو قابليتها على منع حدوثها وتشمل هذه

*وحدة الأبحاث االبايلوجية للمناطق الحارة / كلية العلوم / جامعة بغداد

الأنظمة البكتريا ,الفطريات والخمائر. صُمّم نظاماً بكتيرياً أُطلق عليه G - System يتضمن ثلاث عزلات بكتيرية تتصف بحساسيتها العالية للمضادين الستربتومايسين والريفامبسين [9،8] واستخدم في الكشف عن قابلية المواد على التطفير وذلك باستعمال مواد مطفرة قياسية مثل المطفر Nitrosoguanidine(NTG) ،-5 Bromouracil (5-BU)، Acridine Orange (AO) و Hydroxylamine (HA) . شُخصت هذه العزلات وهي من الأجناس *Bacillus*، *Arthrobacter* spp.(G3) spp.(G12) و*Brevibacterium* spp.(G27) [10،9] .

وقد اختير هذا النظام بالاعتماد على مؤشرات محددة للنظام لعل أهمها صفة المقاومة للمضادات الستربتومايسين والريفامبسين باعتبارها صفات كروموسومية ، إذ أن صفة المقاومة لمضادي الستربتومايسين والريفامبسين محمولة على الكروموسوم [10] وتمتاز الصفات المحمولة على الكروموسومات بثباتيتها في العزلات البكتيرية مقارنة بالصفات المحمولة على البلازميدات التي يمكن أن تفقد تحت ظروف معينة مثل تعرض الخلايا لعمليات الزرع المتكرر أو تعرض العزلات لبعض المواد الكيميائية أو ارتفاع درجات الحرارة ، واختبرت حساسية النماذج الأولية للستربتومايسين والريفامبسين باستعمال طريقة التدرج في الأطباق [9,8] ووجد أن أنسب التراكيز هي 10 مايكروغرام/مليلتر من الستربتومايسين و 20 مايكروغرام/ مليلتر للريفامبسين. ونظرا لوجود هذا النبات بكثرة في العراق واستخدامه كمادة غذائية عند البعض أجرينا هذا البحث لمعرفة تأثيراته على الكائنات الحية.

المواد وطرائق العمل:

1.جمع عينات النبات

جمعت أوراق وسيقان و أزهار و بذور و جذور نبات الخباز *Malva parviflora* من حدائق جامعة بغداد مجمع الجادرية وصنفت من قِبل الدكتور علي الموسوي / قسم علوم الحياة – كلية العلوم / جامعة بغداد.

2.تحضير المستخلص المائي لنبات الخباز

جُففت قسم من النماذج قيد الدراسة بحرارة 40 درجة مئوية، وحُضر المستخلص المائي لأوراق النبات الطازجة و المجففة بوضع 5 غرام من الأوراق في 150 مليلتر من الماء المقطر، وتم مزجها بواسطة خلاط كهربائي لمدة 15 دقيقة ثم ترك الخليط ليوم واحد على جهاز المازج بدرجة حرارة الغرفة. تمت عملية الترشيح بالقماش للتخلص من الألياف الخشنة ثم استعمل ورق الترشيح (Whatman No.1). جُففت المستخلصات ثم دُوِّنت المساحيق الجافة بكمية محددة من الماء المقطر المعقم ووُضعت في قناني معتمة معقمة مسبقاً وعُلّم عليها اسم الجزء النباتي الذي تحويه و حُفظت في الثلاجة بدرجة حرارة (4م) لحين الاستعمال. وأتبعت نفس الطريقة أعلاه مع كل من السيقان، الأزهار، البذور و الجذور (الطازجة والمجففة)[11].

3.العزلات البكتيرية G-system

تم الحصول على عزلات G – System من معهد الهندسة الوراثية والتقانات الإحيائية للدراسات العليا/ جامعة بغداد، و العزلات هي: *Bacillus spp.* (G3)، *Arthrobacter* spp.(G12) و *Brevibacterium* spp. (G27).

4.دراسة تأثير التداخل بين المستخلصات و التطفير باستخدام الأشعة فوق البنفسجية (UV)

عوملت 5 مليلتر من عالق الخلايا البكتيرية 10^{-7} بتراكيز مختلفة من المستخلص المائي (50, 75, 100, 125, 150, 200) مايكروغرام/مليلتر لمدة 15 دقيقة ، ثم دُرس تأثير التداخل ما بين التركيز الأمثل للمستخلص النباتي و التركيز الأمثل للمطفر الفيزيائي UV-light بعد تحديد الجرعة والوقت اللازم للتطفير حسب دراسة سابقة [12] بمعاملة عالق الخلايا بالتركيز الأمثل للمستخلص النباتي المائي في دارئ الفوسفات (pH 5.5) [9،8] مدة 15 دقيقة ومن ثم المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية (UV-light) مدة 15 دقيقة (قبل المعاملة بالمطفر) ، ومعاملة 5 مليلتر من عالق الخلايا بالتركيز الأمثل للمطفر والمستخلص سوية مدة 15 دقيقة (مع المعاملة بالمطفر) ، ومعاملة 5 مليلتر من عالق الخلايا بالتعرض للأشعة فوق البنفسجية لمدة 15 دقيقة ومن ثم معاملتها بالتركيز الأمثل للمستخلص المائي مدة 15 دقيقة (بعد المعاملة بالمطفر). وتم حساب العدد الحي للبكتريا بإستخدام طريقة العد الحي على أطباق وسط أكار أساس الدم وفي اليوم التالي معرفة التعبير الظاهري وحساب عدد الطفرات، ومن ثم جرى تحديد الجزء الحي المتبقي Survival frection (S_x) وفق المعادلة الآتية

$S_x = Ns/N0$ (X : تركيز المطفر ، Ns : عدد الخلايا المتبقية بعد المعاملة مباشرة في الطبق ، N0: عدد الخلايا في نموذج السيطرة السالبة)

وبعد ذلك حدد تردد الطفرات Mutant frequency(Mx) وفق المعادلة الآتية

$Mx = N_m x/N0$ ($N_m x$: عدد الطفرات المستحثة عند التركيزx) [12]

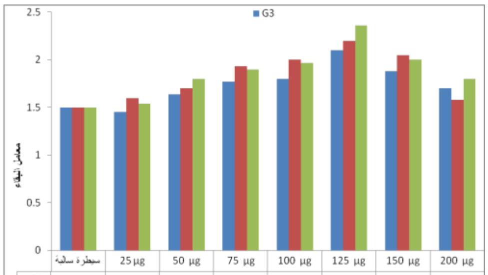
حللت النتائج إحصائياً بإجراء ANOVA Test بتوظيف البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS V.11.5.

النتائج والمناقشة:

درس تأثير الأشعة فوق البنفسجية في حث طفرات المقاومة للمضادين الستربتومايسين والريفامبسين للعزلات البكتيرية G_3 ، G_{12} ، G_{27} واستعمل الطول الموجي 254 نانومتر ومدة تعرض 15 دقائق في حث الطفرات [12] ، ولوحظ تأثر قيمة معامل البقاء S_x للخلايا البكتيرية من خلال التداخل بين الأشعة ومستخلص الخباز حسب نوع التداخل و نوع المستخلص .

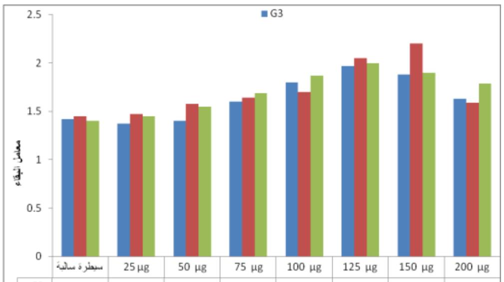
يوضح الشكل (1أ) تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات الخباز الطازجة والمجففة في الجزء المتبقي من الخلايا (S_x) بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من المستخلص ويلاحظ من الشكل أن أقل تأثير للمستخلص كان عند التركيز 25 مايكروغرام / مليلتر إذ بلغت قيم معامل البقاء (1.45 ، 1.6 ، 1.54) للعزلات G_3 و G_{12} و G_{27} على التوالي ، وكان أعلى تأثير ملحوظ عند التركيز 125 مايكروغرام / مليلتر إذ بلغت قيم معامل البقاء (2.1 ، 2.2 ، 2.36) للعزلات G_3 و G_{12} و G_{27} على التوالي ، في حين حصل انخفاض لقيمة هذا العامل عند التركيزين 150 و200 مايكروغرام/ مليلتر ليصل إلى (1.88 ، 2.05 ، 2.0) و (1.7 ، 1.58 ،1.8) للعزلات G_3 و G_{12} و G_{27} على التوالي ، ولم تظهر أي طفرة مقاومة للمضادين الستربتومايسين والريفامبسين مما يدل على أن المستخلص المائي لأوراق نبات الخباز الطازجة مادة غير مطفرة . وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود إنخفاض معنوي ($P\leq$ 0.05) في قيم معامل بقاء السيطرة السالبة مقارنة مع قيم بقاء المعاملة بالتراكيز (200,150,125,100,75,50) مايكروغرام / مليلتر ، بينما ظهر ارتفاع معنوي ($P\leq$ 0.05) في قيم معامل بقاء المعاملة بالتركيز 125 مايكروغرام / مليلتر مقارنة مع قيم معامل بقاء باقي المعاملات ، في حين لوحظ إنخفاض معنوي ($P\leq$ 0.05) في قيم معامل البقاء للمعاملة بالتركيز 200 مايكروغرام / مليلتر مقارنة مع قيم معامل بقاء المعاملة بالتركيزين 125 و 150 مايكروغرام / مليلتر. وقد تطابقت هذه النتائج عند المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق نبات الخباز المجففة (الشكل 1ب).

يوضح الشكل (2 أ) تأثير المستخلص المائي لسيقان نبات الخباز الطازجة في الجزء المتبقي من الخلايا (S_x) بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من المستخلص ويلاحظ من الشكل أن أقل تأثير للمستخلص كان عند التركيز 25 مايكروغرام / مليلتر إذ بلغت قيم معامل البقاء (1.45 ، 1.52 ، 1.52) للعزلات G_3 و G_{12} و G_{27} على التوالي ، وكان أعلى تأثير ملحوظ عند التركيز 125 مايكروغرام / مليلتر إذ بلغت قيم معامل البقاء (2.31 ، 2.28 ، 2.3) للعزلات G_3 و G_{12} و G_{27} على التوالي ، في حين حصل انخفاض لقيمة هذا العامل عند التركيزين 150 و200 مايكروغرام/ مليلتر ليصل إلى (2.0 ، 2.01 ، 2.04) و (1.7 ، 1.68 ،1.88) للعزلات G_3 و G_{12} و G_{27} على التوالي ، ولم تظهر أي طفرة مقاومة للمضادين الستربتومايسين والريفامبسين مما يدل على أن المستخلص المائي لسيقان نبات الخباز الطازجة مادة غير مطفرة. وأثبتت نتائج التحليل الإحصائي وجود إنخفاض معنوي ($P\leq$ 0.05) في قيم معامل بقاء السيطرة السالبة مقارنة مع قيم بقاء المعاملة بالتراكيز (200,150,125,100,75,50) مايكروغرام / مليلتر ، بينما ظهر إرتفاع معنوي ($P\leq$ 0.05) في قيم معامل بقاء المعاملة بالتركيز 125 مايكروغرام / مليلتر مقارنة مع قيم معامل بقاء باقي المعاملات ، في حين لوحظ إنخفاض معنوي ($P\leq$ 0.05) في قيم معامل البقاء للمعاملة بالتركيزين 150 و 200 مايكروغرام / مليلتر مقارنة مع قيم معامل بقاء المعاملة بالتركيز 125 مايكروغرام / مليلتر. وحصل هنا أيضا تطابق مابين نتائج المستخلص الطازج و المستخلص الجاف للسيقان (الشكل2 ب).



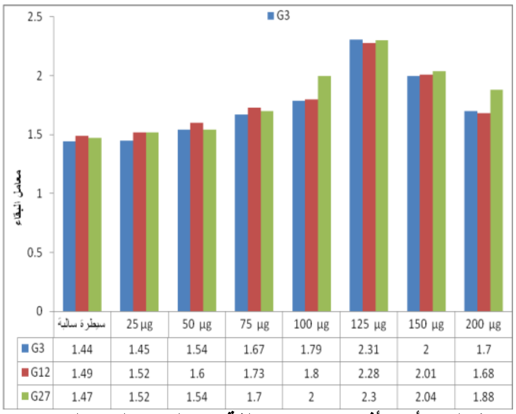
	سيطرة سالبة	25 µg	50 µg	75 µg	100 µg	125 µg	150 µg	200 µg
G3	1.5	1.45	1.64	1.77	1.8	2.1	1.88	1.7
G12	1.5	1.6	1.7	1.93	2	2.2	2.05	1.58
G27	1.5	1.54	1.8	1.9	1.97	2.36	2	1.8

شكل (1أ): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لأوراق نبات الخباز الطازجة في معامل البقاء لعزلات النظام

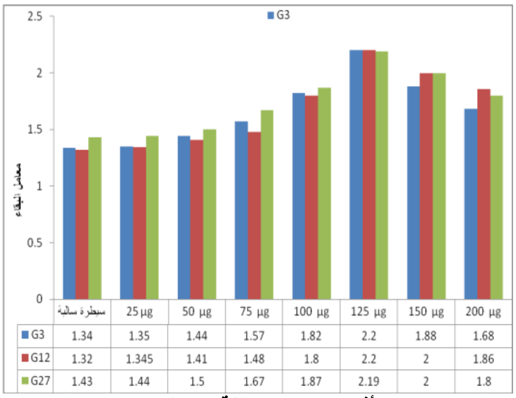


	سيطرة سالبة	25 µg	50 µg	75 µg	100 µg	125 µg	150 µg	200 µg
G3	1.42	1.37	1.4	1.6	1.8	1.97	1.88	1.63
G12	1.45	1.47	1.58	1.64	1.7	2.05	2.2	1.59
G27	1.4	1.45	1.55	1.69	1.87	2	1.9	1.79

شكل (1ب): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لأوراق نبات الخباز المجففة في معامل البقاء لعزلات النظام

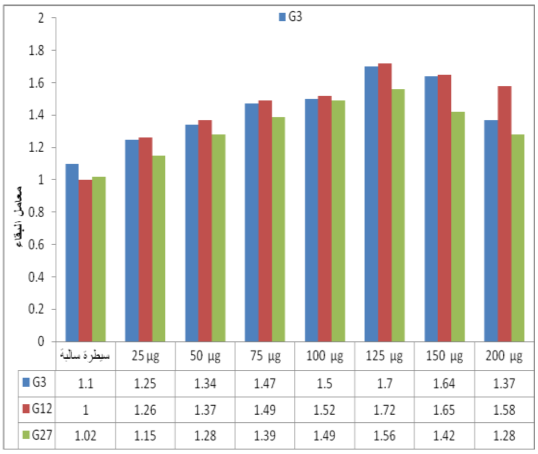


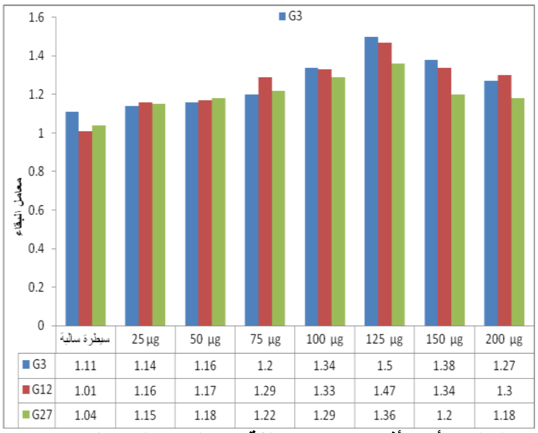
شكل (2أ): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لسيقان نبات الخباز الطازجة في معامل البقاء لعزلات النظام



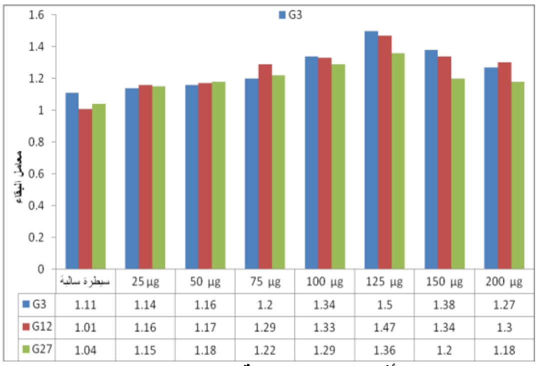
شكل (2ب): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لسيقان نبات الخباز المجففة في معامل البقاء لعزلات النظام

يوضح الشكل (3 أ) تأثير المستخلص المائي لجذور نبات الخباز الطازجة في الجزء المتبقي من الخلايا (S_X) بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من المستخلص ويلاحظ من الشكل أن أقل تأثير للمستخلص كان عند التركيز 25 مايكروغرام / مليلتر إذ بلغت قيم معامل البقاء (1.25 ، 1.26 ، 1.15) للعزلات G_3 و G_{12} و G_{27} على التوالي ، وكان أعلى تأثير ملحوظ عند التركيز 125 مايكروغرام / مليلتر إذ بلغت قيم معامل البقاء (1.7 ، 1.72 ، 1.56) للعزلات G_3 و G_{12} و G_{27} على التوالي ، في حين حصل انخفاض لقيمة هذا العامل عند التركيزين 150 و200 مايكروغرام/ مليلتر ليصل إلى (1.64 ، 1.65 ، 1.42) و (1.37 ، 1.58 ،1.28) للعزلات G_3 و G_{12} و G_{27} على التوالي ، ولم تظهر أي طفرة مقاومة للمضادين الستربتومايسين والريفامبسين مما يدل على أن المستخلص المائي لجذور نبات الخباز الطازجة مادة غير مطفرة. وأثبتت نتائج التحليل الإحصائي وجود إنخفاض معنوي $(P\leq 0.05)$ في قيم معامل بقاء السيطرة السالبة مقارنة مع قيم بقاء المعاملة بالتراكيز (200,150,125,100,75,50) مايكروغرام / مليلتر ، بينما ظهر إرتفاع معنوي $(P\leq 0.05)$ في قيم معامل بقاء المعاملة بالتركيز 125 مايكروغرام / مليلتر مقارنة مع قيم معامل بقاء باقي المعاملات ، في حين لوحظ إنخفاض معنوي $(P\leq 0.05)$ في قيم معامل البقاء المعاملة بالتركيزين 150 و 200 مايكروغرام / مليلتر مقارنة مع قيم معامل بقاء المعاملة بالتركيز 125 مايكروغرام / مليلتر. وقد سلك المستخلص المائي للجذور المجففة نفس المنوال (الشكل3 ب).





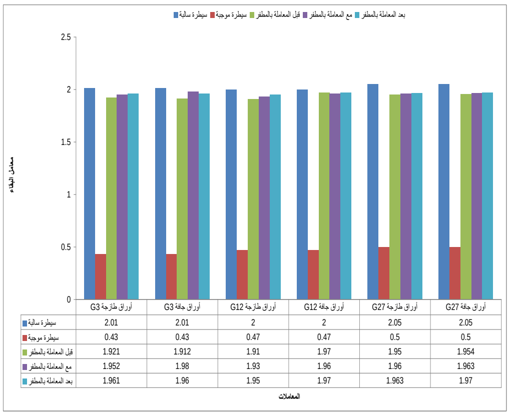
شكل (3أ): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لجذور نبات الخباز الطازجة في معامل البقاء لعزلات النظام



شكل (3ب): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لجذور نبات الخباز المجففة في معامل البقاء لعزلات النظام

يوضح الشكل (4) تأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي لأوراق نبات الخباز

الطازجة والجافة والوقت الأمثل للتعرّض للـ UV-light في الجزء المتبقي من الخلايا (S_x) . ويلاحظ من الشكل أن المستخلص المائي لأوراق الخباز الطازجة قد رفع من قيم معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للسيطرة السالبة ولجميع العزلات البكتيرية المكونة للنظام . إذ بلغت قيم معامل البقاء للمعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الخباز الطازجة قبل التعرُّض للمطفر (1.95 , 1.91 , 1.921) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، بينما بلغت قيم معامل البقاء للمعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الخباز الطازجة مع المطفر(1.921 , 1.91 , 1.95) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، في حين كانت قيم معامل البقاء للمعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الخباز الطازجة بعد التعرُّض للمطفر (1.63 , 1.961 , 1.95) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي. وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي لتأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي للأوراق الطازجة و الوقت الأمثل للتعرّض للـ UV-light في قيم معامل بقاء العزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} وجود إنخفاضاً معنوياً ($P\leq 0.05$) في قيم معامل بقاء السيطرة الموجبة (التعرُّض للمطفر فقط) مقارنة مع قيم بقاء باقي المعاملات عند المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الخباز الطازجة قبل ومع وبعد التعرُّض لل UV - light ، فقد لوحظ أن المستخلص المائي قد رفع من قيمة معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للحالة الطبيعية ولجميع العزلات البكتيرية المكونة للنظام .
ويلاحظ تأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي لأوراق نبات الخباز المجففة والوقت الأمثل للتعرّض للـ UV-light في الجزء المتبقي من الخلايا (S_x) في الشكل (4) ، إذ أن المستخلص المائي لأوراق الخباز المجففة قد رفع من قيم معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للسيطرة السالبة ولجميع العزلات البكتيرية المكونة للنظام إذ بلغت قيم معامل البقاء قبل المعاملة بالمطفر (1.912 , 1.97 , 1.954) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، بينما بلغت قيم معامل البقاء للمعاملة مع المطفر (1.98 , 1.96 , 1.63) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، في حين كانت قيم معامل البقاء للمعاملة بـعد التعرُّض للـ UV - light (1.96 , 1.97 , 1.97) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي. وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي لتأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي للأوراق المجففة والوقت الأمثل للتعرّض للـ UV في قيم معامل بقاء العزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} وجود إنخفاضاً معنوياً ($P\leq 0.05$) في قيم معامل بقاء السيطرة الموجبة (التعرُّض للمطفر فقط) مقارنة مع قيم بقاء باقي المعاملات عند المعاملة بالمستخلص المائي قبل ومع وبعد التعرُّض للمطفر ، إذ لوحظ أن المستخلص المائي لأوراق نبات الخباز المجففة قد رفع من قيمة معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للحالة الطبيعية ولجميع العزلات البكتيرية المكونة للنظام ، وبذلك أظهر المستخلص المائي للأوراق الطازجة والمجففة كفاءة عالية في وقاية الخلايا البكتيرية من التأثيرات السمية للمطفر .
يوضح الشكل (5) تأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي لسيقان نبات الخباز الطازجة والمجففة والوقت الأمثل للتعرُّض للـ UV-light في الجزء المتبقي من الخلايا (S_X) . ويلاحظ من الشكل أن المستخلص المائي لسيقان نبات الخباز الطازجة قد رفع من قيم معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للسيطرة السالبة ولجميع العزلات البكتيرية المكونة للنظام . إذ بلغت قيم معامل البقاء قبل الالتعرُّض للـ UV (1.95 , 2 1.99 ,) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، بينما بلغت قيم معامل البقاء للمعاملة مع التعرُّض للـ UV (1.98 , 1.96 , 1.99) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، في حين كانت قيم معامل البقاء للمعاملة بـعد التعرُّض للـ UV (2.01 , 1.97 , 1.92) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي.



	أوراق طازجة G3	أوراق جافة G3	أوراق طازجة G12	أوراق جافة G12	أوراق طازجة G27	أوراق جافة G27
سيطرة سالبة	2.01	2.01	2	2	2.05	2.05
سيطرة موجبة	0.43	0.43	0.47	0.47	0.5	0.5
قبل المعاملة بالمطفر	1.921	1.912	1.91	1.97	1.95	1.954
مع المعاملة بالمطفر	1.952	1.98	1.93	1.96	1.96	1.963
بعد المعاملة بالمطفر	1.961	1.96	1.95	1.97	1.963	1.97

شكل(4): تأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي لأوراق الخباز الطازجة والتعرُّض للمطفر (UV-light) على معامل البقاء للعزلات G3, G12, G27

وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي لتأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي للسيقان الطازجة و الوقت الأمثل للتعرُّض للـ UV-light في قيم معامل بقاء العزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} وجود إنخفاضاً معنوياً ($P\leq 0.05$) في قيم معامل بقاء السيطرة الموجبة (التعرُّض للمطفر فقط) مقارنة مع قيم بقاء باقي المعاملات عند المعاملة بالمستخلص المائي لسيقان الخباز الطازجة قبل ومع وبعد التعرُّض للمطفر ، إذ لوحظ أن المستخلص المائي للسيقان الطازجة قد رفع من قيمة معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للحالة الطبيعية ولجميع العزلات البكتيرية المكونة

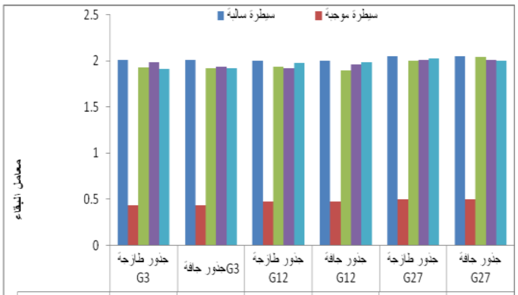
للنظام . وبذلك أظهر المستخلص المائي للسيقان الطازجة والمجففة كفاءة عالية في وقاية الخلايا البكتيرية من التأثيرات السمية للمطفر .
وكذلك يوضح الشكل(5) تأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي لسيقان نبات الخباز المجففة والوقت الأمثل للتعرُّض لـ UV في الجزء المتبقي من الخلايا (S_x) . ويلاحظ من الشكل أن المستخلص المائي للسيقان المجففة قد رفع من قيم معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للسيطرة السالبة ولجميع العزلات البكتيرية المكونة للنظام . إذ بلغت قيم معامل البقاء قبل المعاملة بالمطفر (1.96 , 1.97 , 1.98) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، بينما بلغت قيم معامل البقاء للمعاملة مع المطفر (1.965 , 1.95 , 1.99) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، في حين كانت قيم معامل البقاء للمعاملة بعد التعرُّض للمطفر (1.98 , 1.971 , 1.97) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي. وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي لتأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي للسيقان المجففة و المطفر في قيم معامل بقاء العزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} وجود إنخفاضاً معنوياً ($P\leq 0.05$) في قيم معامل بقاء السيطرة الموجبة (التعرُّض للمطفر فقط) مقارنة مع قيم بقاء باقي المعاملات عند المعاملة بالمستخلص المائي قبل ومع وبعد التعرُّض للمطفر ، إذ لوحظ أن المستخلص المائي للسيقان المجففة قد رفع من قيمة معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للحالة الطبيعية ولجميع العزلات البكتيرية المكونة للنظام .

	سيقان طازجة G3	سيقان جافة G3	سيقان طازجة G12	سيقان جافة G12	سيقان طازجة G27	سيقان جافة G27
سيطرة سالبة	2.01	2.01	2	2	2.05	2.05
سيطرة موجبة	0.43	0.43	0.47	0.47	0.5	0.5
قبل المعاملة بالمطفر	1.99	1.96	1.95	1.97	2	1.98
مع المعاملة بالمطفر	1.98	1.965	1.96	1.95	1.99	1.99
بعد المعاملة بالمطفر	1.97	1.98	1.92	1.971	2.01	1.97

شكل(5): تأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي لسيقان الخباز الطازجة والجافة والوقت الأمثل للتعرُّض للـ UV-light على معامل البقاء للعزلات G3, G12, G27

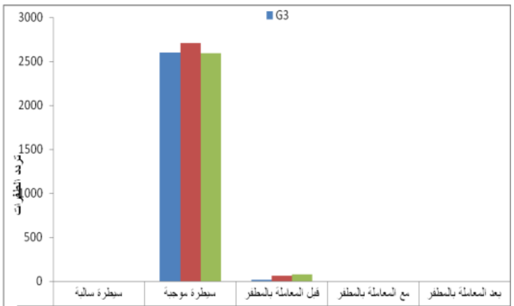
يوضح الشكل (6) تأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي لجذور نبات الخباز الطازجة والمجففة والوقت الأمثل للتعرُّض للـ UV في الجزء المتبقي من الخلايا (S_x) . ويلاحظ من الشكل أن المستخلص المائي للجذور الطازجة قد رفع من قيم معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للسيطرة السالبة ولجميع العزلات البكتيرية المكونة للنظام . إذ بلغت قيم معامل البقاء قبل التعرُّض للمطفر (1.93 , 1.94 , 2) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، بينما بلغت قيم معامل البقاء للمعاملة مع المطفر (1.985 , 1.92 , 2.01) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، في حين كانت قيم معامل البقاء للمعاملة بعد المعاملة بالمطفر (1.91 , 1.98 , 2.03) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي . وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي لتأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي للجذور الطازجة و المطفر في قيم معامل بقاء العزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} وجود إنخفاضاً معنوياً ($P\leq 0.05$) في قيم معامل بقاء السيطرة الموجبة (التعرُّض للمطفر فقط) مقارنة مع قيم بقاء باقي المعاملات عند المعاملة بالمستخلص المائي قبل ومع وبعد التعرُّض للمطفر ، إذ لوحظ أن المستخلص المائي للجذور الطازجة قد رفع من قيمة معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للحالة الطبيعية ولجميع العزلات البكتيرية المكونة للنظام . وبذلك أظهر المستخلص المائي للجذور الطازجة والمجففة كفاءة عالية في وقاية الخلايا البكتيرية من التأثيرات السمية للمطفر .
كذلك يوضح الشكل (6) تأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي لجذور نبات الخباز المجففة والوقت الأمثل للتعرُّض للمطفر في الجزء المتبقي من الخلايا (S_x) . ويلاحظ من الشكل أن المستخلص المائي للجذور المجففة قد رفع من قيم معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للسيطرة السالبة ولجميع العزلات البكتيرية المكونة للنظام . إذ بلغت قيم معامل البقاء قبل التعرُّض للمطفر (1.92 , 1.9 , 2.04) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، بينما بلغت قيم معامل البقاء للمعاملة مع المطفر (1.94 , 1.69 , 2.01) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي ، في حين كانت قيم معامل البقاء للمعاملة بعد التعرُّض للمطفر (2 , 1.921 , 1.99) للعزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} على التوالي . وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي لتأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي للجذور المجففة و المطفر في قيم معامل بقاء العزلات G_3 ، G_{12} ، G_{27} وجود إنخفاضاً معنوياً ($P\leq 0.05$) في قيم معامل بقاء السيطرة الموجبة (التعرُّض للمطفر فقط) مقارنة مع قيم بقاء باقي المعاملات عند المعاملة بالمستخلص المائي للجذور المجففة قبل ومع وبعد التعرُّض للمطفر ، اذ لوحظ أن المستخلص المائي قد رفع من قيمة معامل البقاء لتصل قيمته إلى قيمة مقاربة للحالة الطبيعية ولجميع العزلات البكتيرية المكونة للنظام ، ونتائج هذه الدراسة مشابهة لنتائج دراسة مشابهة للمستخلصات المائية والكحولية لنبات الميرمية *Salvia officinalis* حيث وفرت مستخلصات الميرمية الحماية الكافية لخلايا النظام من التأثيرات

السمية والوراثية التطفيرية للأشعة فوق البنفسجية ولكل المعاملات (قبل ومع وبعد التعرُّض للأشعة) [12] .
يوضح الشكل (7) أن المطفر لم يكن له أي تأثير في حث الطفرات المقاومة للمضادين الستربتومايسين والريفامبسين للمعاملات مع وبعد التعرُّض للمطفر و للعزلات الثلاث ولكل المستخلصات وبذلك عملت المستخلصات المائية لأوراق وسيقان وجذور نبات الخباز الطازجة والمجففة على إخماد أو تصليح الطفرات ووفرت حماية 100% للخلايا البكتيرية . وهذه الفعالية التي تظهرها المستخلصات تعود للصفة المضادة للأكسدة ومنع تحول المطفر الأولي (Promutagen) إلى الشكل الفعال ومن ثم منع خطوة البدء للطفرة كذلك تعمل على منع تأكسد الأحماض الدهنية للأغشية الحية Lipid (peroxidation)[14،15] .
كما أن إحتواء الأجزاء الهوائية(الأوراق والسيقان) والأرضية (الجذور) على مركبات كالفينولات والتربينات المتعددة والثنائية والثلاثية و الفلافونات وكذلك إحتوائها على الزيوت الطيارة والأساسية والدهون غير المشبعة والسكريات البسيطة والمتعددة وبعض الكحولات والقلويدات والصابونيات والستيرولات التي نعمل مجتمعة على وقاية خلايا النظام من الأكسدة التي تعد من أهم مسببات الطفرات والسرطانات في الأنظمة الحيوية [16،17،18،19،20،21].
كما أن وجود الكلوروفيل في كل من الأوراق والسيقان الطازجة والمجففة الذي يعمل بوصفه مادة مضادة من النوع المباشر تجاه كثير من المطفرات والتي منها (Trp- p- 2) 3amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido(4,3-b)indole وذلك عند معاملة الخلايا البكتيرية *S. typhimurium* قبل تعريضها للمطفر [22]. فضلا عن تنشيط عمل الإصلاح للطفرات عند معاملة الخلايا البكتيرية بالمستخلصات بعد المطفر .
في حين ظهرت أعداداً من الطفرات في المعاملات قبل التعرُّض للمطفر للمستخلصات المائية للأوراق وسيقان وجذور نبات الخباز الطازجة والمجففة ، إذ كانت (17 , 58 , 79) طفرة للمستخلص المائي للأوراق والسيقان والجذور الطازجة والمجففة ، والتي قد تكون بسبب عدم تمكن تلك الخلايا من إصلاح كل مادتها الوراثية التي قد أصابها العطب والكسر جراء معاملتها بالأشعة فوق البنفسجية بعد معاملتها بالمستخلصات المائية المذكورة ، في حين أن النتائج في دراسة التأثيرات الوراثية التطفيرية لمستخلصات الميرمية لم تظهر أي فعالية تطفيرية لكل المعاملات [12] . ونظراً لهذه النتائج التي إستحصل عليها من هذه الدراسة ، نوصي بإجراء دراسة لمعرفة تأثير مستخلصات الخباز و مكوناتها على أحياء ممرضة كالبكتريا والفطريات والفيروسات . وكذلك إجراء دراسات تبين تأثير مستخلصات الخباز و مكوناتها على خطوط الخلايا الحقيقية النواة ، وأخيراً إجراء بحوث تبين أهمية تناول نبات الخباز في تقليل أثر المطفرات الموجودة في البيئة التي يتعرض لها الإنسان والحيوان يومياً.



	جذور طازجة G3	جذور جافةG3	جذور طازجة G12	جذور جافة G12	جذور طازجة G27	جذور جافة G27
سيطرة سالبة	2.01	2.01	2	2	2.05	2.05
سيطرة موجبة	0.43	0.43	0.47	0.47	0.5	0.5
قبل المعاملة بالمطفر	1.93	1.92	1.94	1.9	2	2.04
مع المعاملة بالمطفر	1.985	1.94	1.92	1.96	2.01	2.01
بعد المعاملة بالمطفر	1.91	1.921	1.98	1.99	2.03	2

شكل(6): تأثير التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي لسيقان الخباز الطازجة والمجففة والوقت الأمثل للتعرُّض لل UV على معامل البقاء للعزلات G3, G12, G27



	سيطرة سالبة	سيطرة موجبة	قبل المعاملة بالمطفر	مع المعاملة بالمطفر	بعد المعاملة بالمطفر
G3	0	2601	17	0	0
G12	0	2704	58	0	0
G27	0	2589	79	0	0

شكل(7): التداخل بين التركيز الأمثل للمستخلصات المائية لأوراق وسيقان وجذور نبات الخبازوالوقت الأمثل للتعرُّض لل UV في حث الطفرات للعزلات G3 , G12 , G27

المصادر:

1.Beer , L. and Howiem , J.1985 Growing Hibiscus. Kangaroo Press, Hong Kong , PP. : 25 – 36 .

2.Shale,T.L.; Stirk,W.A. and Van Staden , J.1999. Screening of medicinal plants used in Lesotho fo r anti-bacterial and anti-inflammatory activity. Ethnopharmacol. J., 67:347-354.

3.Hailu, T., Endres, M., Kaleab, M. and Tsige, G.M., 2005. Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the

treatment of skin disorders. J. Ethnopharmacol., 100: 168-175.

4.Afolayan, A.J.; Aboyade, O.M. and Sofidiya, M.O.2008. Total phenolic content and free radical scavenging activity of *Malva parviflora* L. (Malvaceae), J. Biolo. Scien., 8(5):945-949.

5.Spira, T.P. and Wagner, L.K. 1983. Viability of seeds up to 211 years old extracted from adobe brick buildings of California and northern Mexico. Amer. J. Bot., 70(2):303 – 307.

6.Shale, T.L.; Stirk, W.A. and Van Staden, J.2005. Variation in antibacterial and anti-inflammatory activity of different growth of *Malva parviflora* and evidence for synergism of the anti-inflammatory compounds. Ethnopharmacol. J., 96:325-330.

7.Seyyednejad , S. M. ; Koochak , H. ; Darabpour , E. and Motamedi , H. 2010 . A survey on *Hibiscus rosa* L. and *Malva neglecta* wallr as antibacterial agents . Asian Pacific J. Tropical Med. , 3 (5) : 351 – 355 .

8.Drozdova, I.L. and Bubenchikov, R.A.2005. Composition and anti-inflammatory activity of polysaccharide complexes extracted from sweet violet and low mallow, Pharmaceutical Chem. J., 39(4):197-200.

9.العزاوي،غيث لطفي 2004.الكشف عن المطفرات في الأغذية والبيئة باستعمال نظام بكتيري. تقرير دبلوم عالي ,معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية,جامعة بغداد.

10. العزاوي،غيث لطفي;الخفاجي،زهرة محمود;المشهداني,ورقاء يحيى والحسن،أثير احمد مجيد2005. تطوير نظام بكتيري لتحديد الطفرات في البيئه والاغذية .اولا:التطفير بالمطفر القياسيNitrosoguanidine , مجلة أم سلمة للعلوم. المجلد 2 (3):355-362 .

11. العبادي، اسامة علي محسن 2003. دراسة مكونات اوراق الحناء المحلية *Lawsonia inermis* L. (Lythraceae) و تأثير مستخلصاتها ومركب اللوسون المعزول منها على بعض الفطريات الجلدية، رسالة ماجستير، معهد الهندسة الوراثية و التقنيات الاحيائية للدراسات العليا- جامعة بغداد.

12. الزبيدي، علي حافظ عباس 2007. دراسة القابلية التطفيرية للمستخلصات المائية و الكحولية لنبات المرمية *Salvia officinalis* باستعمال نظام بكتيري، رسالة ماجستير، معهد الهندسة الوراثية و التقنيات الإحيائية للدراسات العليا- جامعة بغداد.

13. Al-Bakri , G. H. ;Umran , M. A. 1994. Mutagenesis of a novel Halotolerant bacteria (Micrococcus spp.) using Ultaviolef light and N – Methyl – N – Nitro – N - Nitroso Guanidine. Iraqi Journal of Microbiology, 6(2):55 – 64.

14. Lee, I. M.1999. Antioxidant vitamins in the prevention of cancer. Proc. Assoc. Am. Physicians; 111:10-15.

15. Rauscher, R.; Edenhaeder, R. and Platt, K. L.1998.*In vitro* antimutagenic and *In vivo* anticlastogenic effects of carotenoids and solvent extracts from fruits and vegetables rich in carotenoids. Mut. Res. 413:129-142.

16. Capek , P. ; Toman , R. ; Kardosova , A. and Rosik , J. 1983 . Polysacchrides from the marsh mallow (*Althaea officinalis* L.) : structure of an arabinan .Carbohydrate Res. ,117 : 133 – 140.

17. Cutillo , F. ; D'Abrosca , B. ; DellaGreca , M. ; Fiorentio , A. and Zarrelli , A. 2006 . Terpenoides and phenol derivatives from *Malva silvestris* . Phytochem. ,67: 481 – 485 .

18. Mojab , F. ; Kamalinejad , M. ; Ghaderi , N. and Vahidipour , H. R. 2003 . Phytochemical screening of some species of Iraninan plants . Iranian J. Pharmaceutical Res. , PP: 77 – 82.

19. Farina , A. ; Doldo , A. ; Cotichini , V. ; Rajevic , M. ; Quaglia , M. G. ; Mulinacci , N. and Vincieri , F. F. 1995 . HPTLC and reflectance mode densitometry of anthocyanins in *Malva silvestris* L. : a comparison with gradient – elution reversed – phase

(Malvaceae) . J. Biological Sci. , 8 (5) : 945 – 949 .
22. Kada, T.; Inoue, T.; Morita, K. and Namiki, M. 1986. Dietary Desmutagens .*In* : “ Genetic Toxicology of The Diet ” Ed.Knudsen,I. Alan, R. Liss Inc.: new York , PP. : 245 – 253 .
23. Kada, T.; Inoue, T.; Morita, K. and Namiki, M. 1986. Dietary Desmutagens .*In* : “ Genetic Toxicology of The Diet ” Ed.Knudsen,I. Alan, R. Liss Inc.: new York , PP. : 245 – 253 .
HPLC . J. Pharmaceutical Biomed. Ana. , 14 : 203 – 211 .
20. Barros , L. ; Carvalho , A. M. and Ferreira , I. C. F. R. 2010 . Leaves , flowers , immature fruits anf leafy flowered stems of *Malva sylvestris* : a comparative study of the nutraceutical potential and composition . Food Chem. Toxicol. , 48 : 1446 – 1472 .
21. Afolayan , A. J. ; Aboyade , O. M. and Sofidiya , M. O. 2008 . Total phenolic content and free radical scaving activity of *Malva parviflora* L.

The Mutagenic Effect of water Extracts of Malva parviflora by Bacterial System *(part II)*

Ali Hafedh Abbas* ***Sinai Waleed Mohammed****
Faheema Jabbar Abu – Alur* ***Alyaa Waeal Sadii****

*Biological Tropical Research Unit \ College of Sciences \ University of Baghdad

Abstract:

This study was carried out in order to determine the toxic, mutagenic and antimutagenic effects for Mallow (Malva parviflora) in comparison to its mutagenic effect of Ultraviolet (UV) because it is consider physical mutagen by using parameters for the extract pri , with , post UV exposure by using bacterial system (G-system). The used system consisted of three isolates G_3 Bacillus spp., G_{12} Arthrobacter spp. and G_{27} Brevibacterium spp..

The study depended on recording survival fraction (S_x) for studying the effects and induction of Streptomycin and Refampicin resistance mutants as a genetic markers.Water Extract was prepared from fresh and dry mallow leaves, stems, flowers and roots, in optimum concentration equal to (125µg/ml) which is considered a negative control.The interactions included three types of treatments (pre, with and post –UV exposure) as a physical mutagen in order to determine the activity of this plant extracts in preventing or reducing the toxicity of the mutagen.

The results of interaction effect between the optimum concentration of water extract and the mutagen on survival fraction (S_x) showed increasing in the value of the survival fraction of G-system isolates to reach normal value in comparison with positive control (UV).

The results of the interaction between optimum concentration of extracts and the treatment with mutagen to induce resistance mutant for streptomycin and refampicin showed that the UV had no effect to induce resistance mutant for these two antibiotics, for the two types of treatment (with, post- UV) for all extracts, the water extract suppress or repair mutant and give protection 100% for bacterial cells, while the percentage of pre-UV treatment was (92- 97.3%).