التحري الإحيائي عن التأثير المطّفر لبعض مبيدات الآفات المستعملة في مكافحة آفات الخضر

رسالة مقدمة إلى
مجلس كلية التربية في جامعة كربلاء
وهي من متطلبات نيل شهادة الماجستير
في علوم الحياة / الحيوان

من قبل
هدى عبد الرضا عبد الله الهاشمي

إشراف
الدكتور محسن عبد جبار الموسوي
أستاذ مساعد
الدكتور رافد عباس العيسى
مدرس

1430هـ **2009م**

بسم الله الرحمن الرحيم

اقرأ باسم ربك الذي خلق {1} خلق الإنسان من علق { 2} اقرأ وربك الأكرم {3} الذي علم بالقلم {4} علم الإنسان ما لم يعلم {5}

صدق الله العلي العظيم

سورة العلق

الاية (1 - 5)

إقرار الإشراف

نشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة (التحري الإحيائي عن التأثير المطفر لبعض مبيدات الآفات المستعملة في مكافحة آفات الخضر) جرى تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة / كليه التربية / جامعه كربلاء كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة.

المشرف
الدكتور محسن عبد جبار الموسوي
أستاذ مساعد
كلية الطب / جامعة كربلاء
/ / 2009

المشرف
الدكتور رافد عباس العيسى
مدرس
كلية التربية / جامعة كربلاء
/ / 2009

إقرار المقوم اللغوي

أشهد بأن هذه الرسالة الموسومة **"التحري الإحيائي عن التأثير المطفر لبعض مبيدات الآفات المستعملة في مكافحة آفات الخضر "** تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:
الاسم : أ . م . د . عادل نذير بيري
التاريخ: / /2009م

إقرار رئيس القسم

بناءً على التوصيات المقدمة من المشرفين والمقوم اللغوي أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:
الاسم : م . د. قيس حسين السماك

التاريخ: / /2009م

الإهـــــــداء

إلى الشموع التي أنارت طريقي.....
إلى ادفأ وأعذب النسمات ....
إلى الحجور التي لم تعرف التعب يوما"......
فأمست في عيوني أقدس الآيات ....
أبي و أمي

إلى الذي رافقني دربي ......
إلى الذي أعطاني ......
كل الأمل .. كل الصبر .. كل الحنان .....
زوجي

إلى فلذة كبدي .. وروحي التي بين جنبي ...
إلى أغلى ما وهبني الله وأساله أن يحفظها...
ابنتي نور الهدى

هدى

شكــر و تقدير

بعد حمد الله تعالى وشكره ، والصلاة والسلام على خير خلقه محمد وعلى اله الطيبين الأطهار ، يطيب لي وأنا أضع اللمسات الأخيرة لرسالتي أن أتقدم بخالص الشكر والتقدير إلى عمادة كلية التربية الممثلة بالدكتور حسين القطب عميدا" لما قدمه من مساعدة كبيرة في مجال الدراسة ، الشكر والتقدير الخالصين إلى قسم علوم الحياة لإتاحته الفرصة لي بإكمال دراستي ،

وبصدق وإخلاص أقدم شكري وامتناني إلى الأستاذ الفاضل الدكتور محسن عبد جبار الموسوي المشرف على دراستي ، الذي كان بمثابة الأب الموجه للمسيرة العلمية والعملية في إكمال هذه الدراسة اسأل الله تعالى أن يحفظه ويطيل في عمره بالخير والعافية .

ويطيب لي أن أقف بإجلال بين يدي أستاذي وأبي وأخي الدكتور رافد عباس العيسى مشرفي الذي كان بحق الأستاذ المفكر والمثابر والناقد الذي أنار لي طريقي بدعمه المتواصل علميا" ومعنويا" ولم يبخل علي بشيء من معرفته وعلمه ووقته لإخراج هذه الرسالة على أكمل وجه فجزاه الله تعالى عني خير جزاء ووفقه ورزقه الخير و الصحة .

ومن الواجب اللازم أن أتقدم بجزيل الشكر إلى أستاذي الأول الدكتور سعد حمد عبد اللطيف لما قدمه لي من عون ونصيحة طيلة مدة دراستي .

مع شكري الخالص إلى الدكتور قيس السماك رئيس قسم علوم الحياة لما أبداه من مساعدة ، بل وفضل لن أنساه ما حييت في الحصول على مصادر الدراسة .

وعرفانا" بالجميل لابد لي أن أتقدم بالشكر إلى السيد مناف احد منتسبي مركز الحاسبة لما أبداه من مساعدة في مجال الحاسوب .

وأتقدم بشكري وتقديري وامتناني إلى زملائي طلبة الدراسات العليا لتوفيرهم جوا" يسوده الاحترام والتفاهم والمودة واخص منهم بالذكر الأخ علاء عبد الحسين والأخ باسم كاظم وجاسم عبد العباس والأخت العزيزة زهراء عبد الرزاق والأخت الصديقة الحبيبة أسراء

طاهر وإقبال عجمي و أسراء كاظم ، أسال الله تعالى أن يوفقهم ويحفظهم من كل سوء .

ويدعوني الواجب أن اشكر أفراد أسرتي واخص منهم والدي وإخوتي وأخواتي وزوجي الحبيب وابنتي الصغيرة لتحملهم الكثير من العناء والصبر من اجل استمراري في الدراسة .

وأخيرا" التمس عذرا" إلى كل من قدم لي المساعدة والدعم ولم يرد ذكره والله الموفق .

الباحثة

المستخلص

أجريت الدراسة الحالية التحري الإحيائي عن التأثير المطفر لبعض مبيدات الآفات المستعملة في مكافحة آفات الخضر في محافظة كربلاء bifenthrin – EC10% ، PropamocarbHCL- SP10% ،abamectin- EC1.8% باستعمال اختبار الطفرة المنعكسة للبكتريا (Ames test) بواسطة سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* وهي TA100 و TA98 من دون إضافة إنزيم كبد الفأر S9 وبطريقتين هما الأطباق المدمجة The plate incorporation method و طريقة التقليب The fluctuation method لاختبار تأثير المستحضر التجاري (الاختبار المباشر) في نمو سلالات البكتريا بالتراكيز 0.1 ، 1 ، 10 ملغم/ لتر لكل مبيد .

كذلك دراسة تأثير متبقيات المبيدات الثلاثة في محصولي الطماطة و الخيار في نمو السلالات البكتيرية في أثناء سبع مراحل للجني بدا" قبل ساعة من معاملة النبات بالمبيد و انتهاءا" إلى عشرين يوما" بعد المعاملة .

أظهرت نتائج دراسة المستحضر التجاري لمبيدي bifenthrin وPropamocarbHCL تأثيرا" مطفرا" في الخلايا البكتيرية لجميع التراكيز المستعملة وللسلالتين وبطريقتي الاختبار ، أما مبيد abamectin فانه لم يظهر أي تأثير مطفر للبكتريا ولكلا السلالتين وبطريقتي الاختبار .

فيما يخص تلاشي المبيدات الثلاث في محصولي الطماطة و الخيار أشارت النتائج على نحو عام إلى أن كمية المبيد المتبقية في محصول الخيار أكثر منه في الطماطة فعند استعمال طريقة الأطباق المدمجة للتحري عن تأثير متبقيات المبيدات في المحاصيل المذكورة أوضحت النتائج أن متبقيات مبيدي bifenthrin وPropamocarbHCL في محصول الطماطة والخيار لها تأثيرا" مطفرا" عند كافة مراحل الجني وذلك باستعمال السلالة TA100 أما عند إجراء الاختبار باستعمال السلالة TA98 فانه لم يلحظ ظهور التأثير المطفر عند جني المحصول بعد 10 و 20 يوم من معاملة نبات الطماطة وعند معاملة نبات الخيار فان التأثير المطفر لم يلاحظ ظهوره بعد 20 يوم من المعاملة .

وفي طريقة التقليب Fluctuation test أظهرت تراكيز متبقيات المبيدين bifenthrin و PropamocarbHCL التأثير التطفيري في سلالة TA100 في جميع

مراحل الجني لمحصولي الطماطة والخيار، كذلك النتيجة نفسها في سلالة TA98 ما عدا المرحلة الأخيرة من مراحل الجني للمحصولين , إذ لم يظهر أي تأثير تطفيري في تلك المرحلة في سلالة البكتيرية ، ولوحظ أن شدة التأثير المطفر في الخلايا البكتيرية مرتبطة بعلاقة طردية مع تركيز المبيد . أما في ما يخص مبيد abamectin فان متبقيات هذا المبيد لم ُتظهر أي تأثير تطفيري في كلا السلالتين TA100 و TA98 وبطريقتي الاختبار .

تؤكد النتائج المذكورة أهمية استعمال الاختبارات السريعة للتحري عن المواد ذات السمية الجينية في البيئة خصوصا" تلك التي تمتزج مع طعام الإنسان أو شرابه لمحاولة تجنبها كما هو الحال في إثبات أن مبيد abamectin لم يكن له اثر مطفر خلافا" لما هو عليه في المبيدين bifenthrin & propamocarb اللذين يمكن استبدالهما بمبيد آخر تجنبا" للإضرار الصحية التي قد تنتج منها . من الممكن التأكد من نتائج فحص المبيدات أو أي مادة أخرى وذلك باستعمال نظم حياتية أخرى فضلا" على هذا الاختبار مثل استعمال Tissue culture cell أو Eucaryotic cell مثل الخمائر Yeast . وعلى كل حال ففي حالات تزاحم الأعداد الكبيرة من المواد الكيميائية التي تدخل في السلسة الغذائية للإنسان لابد من استعمال طرق سريعة ورخيصة للتقييم الأولي الذي يساعد كثيرا" على اختبار المواد التي قد تعد خطرة على صحة الإنسان .

المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع	التسلسل
II - I	الخلاصة	
V - III	المحتويات	
VII - VI	قائمة الجداول	
VIII	قائمة الأشكال	
3 −1	الفصل الأول	
1	**المقدمة Introduction**	**1**
33−4	**الفصل الثاني**	
4	**مراجعة المصادر Review of Literature**	**2**
4	المبيدات مفهومها واستعمالاتها	**1.2**
5	الفوائد والمضار لمبيدات الآفات	**2.2**
7	مصادر تلوث الغذاء بالمبيدات	**3.2**
8	العوامل المؤثرة في بقاء المبيدات في الغذاء	**4.2**
9	منحنى التلاشي ومتبقيات المبيد بعد المعاملة	**5.2**
9	الطفرات	**6.2**
10	أنواع الطفرات	**7.2**
10	المطفرات الكيميائية	**8.2**
12	التطفير والتشوهات الخلقية	**9.2**
13	العلاقة بين التطفير والتسرطن	**10.2**
15	اختبارات التطفير والسمية الجينية للكيميائيات في حيوانات التجريب والإحياء المجهرية	**11.2**
18	اختبار الطفرة المنعكسة (المرتدة) للبكتريا	**12.2**
20	السلالات البكتيرية المستعملة في لاختبار	**1.12.2**

.2122.	الغرض من اختبار التطفير للبكتريا	21
3.12.2	الطرق المتبعة لإجراء الاختبار	22
4.12.2	طرق تقيم وتفسير نتائج الاختبار	24
5.12.2	تطبيقات أو استعمالات اختبار ايمز	27
	الفصل الثالث	52-34
3	**المواد وطرائق العمل**	34
1.3	الأجهزة والمواد المستعملة	34
1.1.3	الأجهزة المستعملة	35
2.1.3	المواد الكيمائية المستعملة	35
2.3	تحضير الأوساط الزرعية المستعملة	36
1.2.3	وسط الاكار المغذي	36
2.2.3	وسط المرق المغذي	36
3.2.3	الوسط الغذائي الأدنى	36
3.3	تحضير التركيز المثبط الأدنى	38
4.3	المبيدات قيد الدراسة	39
1.4.3	مبيد bifenthrin	39
2.4.3	مبيد propamocarbHCL	40
3.4.3	مبيد abamectin	40
5.3	تحضير تراكيز المبيدات المستعملة في الاختبار	42
6.3	العزلات البكتيرية	42
7.3	تحضير المزرعة البكتيرية الأصلية المستعملة في الاختبار	42
8.3	اختبار ايمز	43
1.8.3	طريقة اختبار المستحضر التجاري (الاختبار المباشر)	43
2.8.3	اختبار مستخلص الثمار الحاوية على المتبقيات	45
1.2.8.3	إعداد الأنفاق البلاستيكية	45
2.2.8.3	النباتات المزروعة	46

3.2.8.3	المبيدات المستعملة	46
4.2.8.3	معاملة النباتات بالمبيد وجمع النماذج	46
5.2.8.3	جمع النماذج	47
6.2.8.3	استخلاص المبيدات	47
7.2.8.3	تقدير بقايا المبيد باستخدام جهاز GLC	49
8.2.8.3	تطبيق اختبار ايمز في اختبار متبقيات المبيدات	51
9.2.8.3	التصميم والتحليل الإحصائي	51
	الفصل الرابع	81-53
4	النتائج والمناقشة Results & Discussion	53
1.4	مبيد bifenthrin	53
1.1.4	الاختبار المباشر لمبيد bifenthrin	53
2.1.4	دراسة تلاشي مبيد bifenthrin في الثمار	57
3.1.4	تأثير متبقيات مبيد bifenthrin في الثمار على نمو البكتريا	58
2.4	مبيد propamocarbHCL	63
1.2.4	الاختبار المباشر لمبيد propamocarbHCL	63
2.2.4	تلاشي مبيد propamocarbHCL في الثمار	65
3.2.4	تأثير متبقيات مبيد propamocarbHCL في الثمار على نمو البكتريا	67
3.4	مبيد abamectin	73
1.3.4	الاختبار المباشر لمبيد **abamectin**	73
2.3.4	تلاشي مبيد abamectin في الثمار	75
3.3.4	تأثير متبقيات مبيد abamectin في الثمار على نمو البكتريا	76
	الفصل الخامس	
5	الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendation	83-81
	المصادر	107-84
	الملاحق	113 - 108

قائمـــة الجداول

الجدول	الموضوع	رقم الصفحة
1	تأثير مبيد bifenthrin في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة الإطباق المدمجة	53
2	تأثير مبيد bifenthrin في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة التقليب	55
3	تأثير متبقي مبيد bifenthrin في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة الأطباق المدمجة	60
4	تأثير متبقي مبيد bifenthrin في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة التقليب	62
5	تأثير مبيدpropamocarbHCL في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة الأطباق المدمجة	63
6	تأثير مبيدpropamocarbHCL في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة التقليب	65
7	تأثير متبقي مبيد propamocarbHCL في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة الأطباق المدمجة	69
8	تأثير متبقي مبيد propamocarbHCL في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة التقليب	72

9	تأثير مبيد abamectin في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة الأطباق المدمجة	73
10	تأثير مبيد abamectin في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة التقليب	74
11	تأثير متبقي مبيد abamectin في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة الأطباق المدمجة	77
12	تأثير متبقي مبيد abamectin في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة التقليب	79

قائمـــة الأشكال

الشكل	الموضوع	رقم الصفحة
1	يوضح نمو المستعمرات البكتيرية لسلالة TA100 بتأثير المبيد	**26**

2	يوضح نمو المستعمرات البكتيرية لسلالة TA100في معاملة السيطرة السالبة	26
3	يوضح نمو المستعمرات البكتيرية لسلالة TA100في معاملة السيطرة الموجبة	26
4	يبين تلاشي مبيد bifenthrin في محصولي الطماطة والخيار	57
5	يبين تلاشي مبيد propamocarbHCL في محصولي الطماطة والخيار	66
6	يبين تلاشي مبيد abamectin في محصولي الطماطة والخيار	75

الفصـل الأول
المقدمـة
Introduction

المبيدات هي مادة كيميائية أو خليط من مواد كيميائية طبيعية أو صناعية تستعمل في قتل الآفات , إذ استعملت طرائق عدّة في مقاومة الآفات (إحيائية ، فيزيائية ، زراعية) , أدى استعمال هذه المواد إلى زيادة الكفاءة الإنتاجية لمختلف المحاصيل الزراعية عن طريق تقليل التلف الذي تسببه الآفات مما وفر المنتجات الزراعية بأسعار مناسبة ، وفي مجال الصحة العامة كان لهذه المواد أثرا" كبير في الحد من انتشار الأوبئة عن طريق مقاومة الحشرات الناقلة للأمراض التي تصيب الإنسان مثل مرض الملاريا الذي يتسبب به البعوض Mosquitoes (العادل و عبد , 1979) . وان لزيادة المساحة السطحية المزروعة في العراق أثرا" كبيرا" في زيادة الأضرار الحاصلة في المحاصيل الاقتصادية المهمة في الحقول والبيوت والأنفاق المحمية من حيث الإصابة الكبيرة بالآفات الزراعية , وتعد الأنفاق المحمية بيئة ملائمة للإصابة بالأمراض والحشرات بسبب ارتفاع درجات الحرارة والرطوبة التي لها الأثر الكبير في نشاط كثير من الحشرات والفطريات لذلك كثرت الإصابة بهذه الآفات داخل الإنفاق المحمية وعليه فقد ازداد استعمال المبيدات في هذه البيئة (العزاوي ، 1988) .

على الرغم من الدور الذي تمثله المبيدات في مكافحة الآفات بأنواعها إلا انه لا يجب إغفال حقيقية أنها مواد سامة خطيرة يؤدي استعمالها من دون إرشاد إلى حدوث تداعيات سلبية خطيرة تنعكس على الإنسان والبيئة (Bolognesi , 2003). ولا تقتصر أضرارها على الصحة العامة للإنسان بل تتعداه إذ نجد متبقياتها تلوث الهواء والتربة والماء وتتراكم في أنسجة الكائنات الحية نتيجة الاستعمالات الخاطئة مما يخل في النظام البيئي المعقد , وتمثلت أضرار المبيدات على صحة الإنسان بحالات التسمم الناتجة عن طريق التعرض لجرعات كبيرة كانت أم منخفضة ولحقب طويلة ويزيد التعرض الدائم لمخلفاتها في المحاصيل الغذائية ولمستحضرات المنازل على المدى الطويل من احتمالات الضرر- غير المباشر لهذه المتبقيات وينجم عن

ذلك أمراض خطيرة منها السرطان Cancer والتشوه الخلقي Teratogenic disorders والأمراض الوراثية (عبد الرحمن , 2005) . ومن الممكن التعرف على حجم التلوث الناجم من استعمال المبيدات في ضوء دراسة منحنى التلاشي Dissipation curve للمبيد الكيميائي والعوامل المختلفة التي تؤثر على المبيد بعد استعماله في المكافحة (العادل , 2006) . فضلا" على إمكانية دراسة تأثيرات هذه المواد بوصفها مستحضرات تجارية commercial formulation إذ تُعد من الأدلة على التلوث البيئي ومشاكل الصحة للإنسان عند التعرض على نحو مباشر لمتبقياتها (Sanborn *et al* , 2007) .

هنالك العديد من التقنيات المطورة لمتابعة التأثيرات التطفيرية والسرطانية وتقييمها فضلا" على حالات التسمم الجيني للمواد الكيميائية , ومراقبة آثارها في ضوء تعرض السكان إلى تلك المواد الخطرة (Hulka *et al*., 1990) . ومن تلك التقنيات اختبار الطفرة المنعكسة (المرتدة) للبكتريا Bacterial reverse salmonella mutagenesis assay أو ما يسمى باختبار ايمز Ames test وهو من الاختبارات البسيطة والسريعة , إذ يُعنى بفحص المواد الكيميائية والملوثات المحتمل أن تكون مسببه للحالات التطفير (التحولات الجينية) Mutation والأمراض الوراثية وحالات التسرطن Carcinogenesis نتيجة تراكمها أثناء مدة التعرض الطويلة الأمد (OECD , 1997) . وبسبب انتشار حالات تشوهات الأجنة في محافظة كربلاء المقدسة وبالاعتماد على النسب التي تم الحصول عليها من إجراء إحصائيات بأعداد الأطفال حديثي الولادة المصابين بحالات التشوه الخلقي في مستشفى النسائية والتوليد العام – كربلاء المقدسة والتي بلغت 2.6 _ 5.19 %) في سنة 2001 _ 2008 وقد يكون احد أسبابها تعرض الأمهات على نحو مباشر للمبيدات أثناء مدة الحمل أو تعرض الآباء إليها إما على نحو مباشر أو على نحو تراكمي لمتبقياتها ونقلت الطفرة وراثيا إلى الأبناء وتزامنت زيادة نسبة الإصابة بهذه الحالات مع التوسع الكبير لاستعمال المبيدات وتداولها في الأسواق من دون أية رقابة حكومية , (علما" أن نسبة الاستهلاك الكلية للمبيدات المختلفة في محافظة كربلاء

ما يقارب 150 – 300 طن سنويا")* لذا فقد استهدفت الدراسة الحالية (التحري الإحيائي عن التأثير المطفرة لأكثر المبيدات استعمالا" في مكافحة آفات الخضر) وعلى النحو الآتي :

الهدف من البحث

1- اختبار التأثير التطفيري على نحو مباشر للمستحضر التجاري للمبيدات abamectin، PropamocarbHCL، bifenthrin المستعملة في مكافحة الآفات الزراعية في محافظة كربلاء .

2- دراسة منحنى التلاشي للمبيدات المذكورة .

3- التحري عن التأثير التطفيري في مستخلص الثمار الحاوية على متبقيات المبيدات في كل مرحلة من مراحل الجني عند دراسة منحنى التلاشي .

الفصــل الثاني
مراجعة المصادر
Review of Literature

2 . 1 _ المبيدات مفهومها واستعمالها

يعرف المبيد pesticide بأنه مادة أو خليط من مواد كيميائية مصنعة أو طبيعية تستعمل لمكافحة الآفات بغية التقليل من الأضرار التي تسببها الحشرات و الفطريات و نباتات الأدغال و الحلم وغيرها من الكائنات الضارة أثناء الزراعة والنقل أو الخزن أو البيع وكذلك قد تستعمل لمكافحة الحشرات الناقلة للأمراض المختلفة للإنسان والحيوان والنبات . (العادل وعبد , 1979)

ويسمى المبيد الذي يستعمل لقتل الآفات الحشرية بالمبيد الحشري insecticide والذي يقضي على القوارض بمبيد القوارض Rodenticide والمبيد الذي يستعمل لمكافحة الفطريات يدعى بالمبيد الفطري Fungicide وهكذا . (Aspelin , 2003) .

استعملت المبيدات لمنع تكاثر الآفات وزيادة أعدادها فضلا" على استعمال المبيدات الكيميائية المصنعة استعملت المبيدات الحيوية لمكافحة الآفات أيضا , وهذه المواد يطلق عليها بالمواد السامة أو السموم التي لها تأثيرات متعددة تتراوح بين أعراض خفيفة أو أعراض شديدة تنتهي بموت الكائن الحي , فإذا كان الضرر الناتج عن التعرض للمادة السامة بجرعة أو جرعتين ولمدة قصيرة فهذا يطلق عليه باصطلاح السمية الحادة Acut toxicity وهذا ما يتعرض إليه غالبية العاملين في مجال مكافحة الآفات وفي معامل تصنيع المبيدات . (WHO , 1992)

أما إذا كان الضرر ناتج عن التعرض لجرعات قليلة من المادة السامة ولمدة طويلة في حياة الكائن الحي فهذا يطلق عليه بالسمية المزمنة Chronic Toxicity وهذا النوع من التسمم يشمل المستهلكين عن طريق تناولهم للخضروات والفواكه التي تحوي على بقايا المادة السامة . (شعبان والملاح , 1993) .

2 . 2 _ الفوائد والمضار لمبيدات الآفات

ساهمت المبيدات الكيماوية مساهمة فعالة في زيادة إنتاج المحاصيل الزراعية عن طريق وقايتها من الآفات المختلفة , إذ ساعدت على زيادة الكفاءة الإنتاجية المختلفة للمحاصيل الزراعية عن طريق تقليل التلف الذي تسببه الافات مما أدى إلى توفير المنتجات الزراعية بأسعار مناسبة (Bloomquist , 1993) .

وللمبيدات أثرٌ كبيرٌ في مجال الصحة العامة ولاسيما في الحد من انتشار الحشرات والمفصليات الناقلة للأمراض التي تصيب الإنسان والحيوان , ومن الأمثلة الواضحة على ذلك التخلص من مرض Typhus الوبائي في الأربعينيات من القرن الماضي باستعمال مبيد DDT للقضاء على حشرة القمل الناقلة للمرض عن طريق تعفير الملابس والأجسام بمساحيق التعفير الحاوية على المبيد (Ware & Whitere , 2004) .

ولكن سهولة تطبيق المواد الكيماوية في المكافحة وسهولة الحصول عليها ونتائجها السريعة سببت إفراطا في استعمال المبيدات الكيماوية في دول الولايات المتحدة واليابان واقطار الوطن العربي رافقه استعمال خاطئ لهذه المواد مما جعل الرأي العام في تلك البلدان يطالب بالحد من استعمالها وانعكس ذلك على نحو كبير في استعمال هذه المواد حتى في بعض الدول التي ما زالت تعاني من نقص كبير في المواد الغذائية , ويمكن القول إن جانبا مهما من الأضرار الناجمة عن استعمال هذه المواد ناتج من الإهمال وقلة وعي المستعملين لها .(شعبان والمّلاح , 1993) .

فسكان الدول النامية معرضون للخطر الأكبر في التعرض لتلك المبيدات وذلك بسبب ظروف العمل الرديئة وغير المطورة وسوء الاستعمال وقلة الوعي بالأخطار المحتملة أثناء تصنيع وتطبيق أو استعمال المبيدات . (Bhalli *et al*., 2006).

وسوء الاستعمال يمكن أن يؤدي إلى الوصول إلى مستويات عالية من التعرض وذلك عند النقص في التعرف على إجراءات المعالجة الآمنة . (Bull *et al*., 2006) .

ولكن في كل الأحوال فان النتيجة الحتمية للاستعمال المبيدات لابد أن يكون له العديد من الآثار المباشرة وغير المباشرة على البيئة التي بدأت تتضح بصورة أكثر في السنوات الأخيرة كما في حالات التسمم للإنسان الناتج من التغذية على مواد تحوي متبقيات من المبيدات بمستويات عالية أو نتيجة التعرض المباشر لها , إن تلوث المواد الغذائية التي يتناولها الإنسان والحيوان على السواء بدأت آثاره بالظهور على نحو واسع في العقود القليلة الماضية . (Sabbioni & Numann

1990,) .وأكدت تقارير منظمة الصحة العالمية WHO إن للمبيدات أثرا" في ظهور العديد من حالات الإصابة بالأورام السرطانية , تشوه الأجنة , الإجهاض وحالات مرضية تتمثل في حدوث خلل بالأنزيمات والهرمونات المنظمة للنمو والتسمم الحاد الناتج عن تناول الأغذية الملوثة حدوث الامراض الخطيرة (شعبان والمّلاح , 1993) .

أظهرت بيانات علم الأوبئة Epidemiology زيادة في عدد حالات السرطان في الأشخاص الذين يعملون في الإنتاج الزراعي واستعمال المبيدات على نحو مباشر طبقا إلى (IARC, 1991) وان أكثر من 25% من مبيدات الآفات تصنف كمسرطنات (Korunuta *et al*., 1996) . مثل الإصابة بسرطان المثانة والدم (Brown *et al*., 1990 ; Blair & Zahm , 1995) و سرطان الغدد اللمفاوية (Meinert , 2000) وسرطان البنكرياس (Ji *et al*., 2001) .ولأسباب انتشار الأخطار الصحية للإنسان بسبب التعرض للمبيدات فقد أصبح ذلك الموضوع موضع اهتمام خاص من الإنسان للكشف عن أضرارها ومراقبة الجوانب الوراثية للسكان المعرضين للمواد الكيميائية ومراقبة الإصابة المحتملة بالأمراض الخطيرة والتعرف عليها (Kassie *et al*., 2003) . ومنها المخاطر المحتملة للسمية الجينية والتي يكون المسبب الرئيس لها هو التعرض للمبيدات (Zelijezic & Garaj-varhave , 2001 ; Bolognesi *et al*., 2002) مما دعا إلى مراقبة حالات التسمم الوراثية genotoxicity خلال إجراء الاختبارات المستمرة لعمال المزارع التي يمكن أن تعد أداة مهمة في تخمين الخطر الذي قد يحدث على صحتهم (Bolognesi , 2003 ; McCauley *et al*., 2006) . وارتبط التعرض للمبيدات بعدة أمراض مثل الضرر في سلسلة الحامض النووي DNA والتحولات الجينية التي تؤثر في صحة الإنسان . (Muniz *et al*., 2008 ; Bagchi *et al*., 1995) . وقد عدت مبيدات الآفات من المواد الكيميائية المحتملة التطفير Mutagens إذ بينت كثيرٌ من البيانات التجريبية بامتلاكها القدرة على التغيرات الكروموسومية وإحداث الضرر في سلسلة الحامض النووي .(Lucero *et al*., 2000 ; Dulout *et al*., 1985) . فمبيدات pyrethroid الصناعية خضعت لكثير من تجارب السمية الجينية المختلفة ووجد ان البعض منها لها تاثيرات مطفرة محتملة (Gosh *etal*., 1992 ; Amer *et al*., 1993 ; Surralles *et al*., 1995 ; EL-Khatib *et al* ; 2001) . فضلا" على أن المبيدات على نحو عام من المواد الكيمائية النشيطة حيويا" جدا" ، قد تتفاعل مع DNA الحامض

النووي وتتلف السلسلة او تغيير في التركيب (Kornuta **et al**., 1996) . وتشكل روابط تساهمية مع مراكز مختلفة من الخلايا وانويتها التي تتضمن وجود DNA وتتسبب لها بالتغيرات أو كسر لجزيئاتها(Bolognes *et al*., 1997) .

2 . 3 _ مصادر تلوث الغذاء بالمبيدات

إن مصادر تلوث الغذاء بالمبيدات هي في الغالب مصادر تلوث عناصر البيئة الرئيسة نفسها ممثلة بالهواء والتربة والماء وتتمثل تلك المصادر بالاستعمال المباشر للمبيدات في عمليات المكافحة للآفات الزراعية وتعد سببا" في وجود كميات لا يستهان بها من متبقيات للمبيدات في المحاصيل الغذائية المختلفة إذ إن نسبة عالية من المبيدات المستعملة تعد بقايا في البيئة والكائنات الحية التي تتوطن البيئة (Viel & Chalier , 1995) . إذ يصل 10- 15 % من مبيدات الآفات بأنواعها للكائنات الحية المستهدفة بشكل مباشر وما تبقى يتفرق خلال الهواء و التربة والماء (Moses *et al*., 1993) . فضلا" على ما يحتويه الماء من كميات من المبيدات المختلفة ويكون مصدرها قنوات التصريف (Tsui & Chu , 2003) .

وأشارت العديد من الدراسات إلى ظهور هذه المتبقيات في حليب الأبقار التي تتغذى على محاصيل العلف المعاملة بالمبيدات , وهنالك كميات من متبقيات المبيدات المخزونة أو الموجودة في التربة والماء اللذان يعدان الوسط الرئيس لنمو مختلف أنواع النباتات والمحاصيل فضلا" على تلوث الأسماك والحيوانات البحرية التي تشكل هي الأخرى احد مصادر الغذاء المهمة , والتغير الحاصل في أنواع المبيدات أيضا يعد احد أسباب أو مصادر التلوث فالكثير من الدراسات تركزت حول تتبع وقياس مبيدات الكلور العضوية الا أن دخول مبيدات جديدة إلى الاستعمال والتي تنتمي إلى مبيدات الفسفور العضوية قد يظهر لها تأثيرات جانبية غير معروفة علاوة على احتمال عدم كفاءة الطرق المستعملة في قياس وتقدير كميات مبيدات الكلور العضوية لقياس متبقيات المبيدات الجديدة (Gold *et al*., 2001) . إن استعمال تلك المبيدات من الأدلة على التلوث البيئي ومشاكل صحة الإنسان عند استنشاقها أو ابتلاعها , وهذه المشاكل تعتمد على مقدار التعرض

والتأثير إما أن يكون لمدة قصيرة أو على المدى البعيد إذ تتفاوت فيها الأعراض على نحو واسع من صداع إلى سرطان (Sanborn *et al*., 2007).

2 . 4 _ العوامل المؤثرة في بقاء المبيدات في الغذاء .

إن بقاء المبيدات في المواد الغذائية يعتمد على التركيب الكيماوي للمبيد إذ إن مبيدات الكلور العضوية مثلا تبقى في المواد الغذائية فترة طويلة مقارنة بمبيدات الفسفور العضوية وذلك لاختلاف التركيب الكيماوي بين المجموعتين , أما تصنيع الغذاء فيعد احد العوامل المؤثرة في بقاء المبيدات لأن لعمليات التحضير والتصنيع الغذائي المختلفة كالغسل بالماء فقط والغسل بالماء والصابون والتقشير والتخليل والطبخ والتقطيع وغيرها أثرا" كبيرا" في متبقي المبيدات فهي تساعد على إزالة أو تقليل المتبقي في الأجزاء النباتية المستعملة كمواد غذائية فعمليات الطهي بمختلف أنواعها باختلاف الدول لها التأثير العالي في تقليل تركيز المبيد في الغذاء إذ وجد إن طبخ الرز المعامل بمبيد الفنتراثايون في الهند يوصل متبقي المبيد إلى اقل من الحدود العليا المسموح بها , ولقد وجد أن لعملية الغسل بالماء والصابون تأثيرا" اكبر من الماء بمفرده إذ إن مساحيق الغسل المضافة إلى الماء تزيد من الإزالة الميكانيكية للبقايا على الأجزاء النباتية المغسولة ويختلف مقدار الإزالة باختلاف مدة الغسيل ودرجة الحرارة والصابون والحركة في إثناء الغسل ووسائل التنظيف و كل هذه العوامل لها أثر في تقليل تركيز المبيدات في الثمار أو الأجزاء النباتية المأكولة المعاملة بالمبيدات , أما ما يخص عملية التقشير فإنها تزيل كل الملوثات الموجودة على السطح الخارجي تقريبا" ولكن يعاب على هذه العملية عدم إمكانية استخدامها لكل المواد الغذائية , فقد وجد أن تقشير الطماطة المعاملة بمبيد السفن (Savin) والملاثيون (Malathion) تؤدي إلى الإزالة الفعلية لمتبقي هذين المبيدين , كما إن ثمار الخيار المعاملة بمبيد بريموفوس مثل (Pirimiphos methyl) والمزروع في البيوت الزجاجية تحوي قشورها على 60% من تركيز المبيد تقريبا" وعليه فيمكن أن تكون عملية التقشير مجدية لوحدها في تقليل تركيز المبيد إلى الحدود المسموح بها أو اقل من ذلك (شعبان والملاح , 1993) . هناك الكثير من العوامل الأخرى التي تؤثر في بقاء

المبيدات منها معدل الاستعمال و نوع المستحضر و تكنولوجيا المعاملة و عوامل حيوية و ظروف مناخية بالإضافة إلى الخواص فيزيائية (العادل ، 2006) .

2 . 5 _ منحنى التلاشي ومتبقيات المبيد بعد المعاملة

Dissipation Curve and pesticide Residues

مبيدات الفسفور العضوية والمكلورة كثيرة الاستعمال في الزراعة وتختلف مستويات متبقياتها باختلاف المنتوج الزراعي خضروات وفواكه (Lambropoulou & Albanis, 2002) . ويمكن التعرف على متبقيات المبيد الكيميائي الذي استعمل للمحصول الزراعي لمكافحة آفة معينة , عن طريق دراسة منحنى التلاشي للمبيد الكيميائي والذي يمكن تعريفه على انه تعبير خطي لمتبقيات المادة الكيميائية في الأجزاء المعاملة , ويمكن قياسها بواسطة إحدى طرق التحليل الكمي للمبيد مثل طرق الكروموتوغرافي الغاز _ السائل (Gas- Liquid Chromatography GLC أو كروموتوغرافي السائل ذي الكفاءة العالية Hair liquid Chromatography HPLC او كروموتوغرافي الطبقة الرقيقة Thin layer Chromatography TLC فتبدأ كمية المبيد بالتلاشي التدريجي بمرور الزمن وبسبب تأثير عوامل عديدة منها عوامل حيوية وكيميائية وفيزيائية و مناخية تتدرج تحت ما يسمى بعوامل التجوية Weathering (العادل , 2006) .

2 . 6 _ الطفرات Mutation

تعرف الطفرة بأنها عملية تغير في تسلسل أو عدد النيوكلوتيدات للحامض النووي DNA أو عملية اندماج غير صحيح للبيورين أو البريميدين في تسلسل الـ DNA خلال التضاعف يؤدي ذلك إلى تكوين تسلسلات جديدة من النيوكلوتيدات ومنها ما يكون طفرات جينية تعني تغير في زوج نيوكلوتيدي واحد ضمن الكر وموسوم أو طفرات كروموسومية تتمثل بتغير كبير في عدد من الكر وموسومات أو بعض أجزاء الكروموسومات . (جاردنر وسنستاذ ، 1999) .

2 . 7 _ أنواع الطفرات Types of mutation

قسمت الطفرات اعتمادا على سبب الحدوث إلى :

1- **الطفرة التلقائية (الذاتية) Spontaneous mutation** : تحدث تلك الطفرة على مستوى الجين أو الكروموسوم دون تدخل عوامل مطفرة ويمكن معالجتها من خلال أجهزة الإصلاح الطبيعية , تحدث لأسباب عده منها تبدل في طبيعة درجة الحرارة أو تفاعلات بايوكيميائية داخل الجسم .

2- **الطفرة المستحثة Induced mutation** : يحدث ذلك النوع من الطفرات نتيجة المعاملة ببعض المواد الكيميائية أو الفيزيائية والتي تتمثل بالتغيرات النوعية (التركيبية) Structural aberration التي تشمل التغيرات التي تطرأ على الكروموسومات و على موقع الجينات وترتيبها على الكروموسوم وتكون على نوعين :

أ _ **طفرة موضعية (نقطية) Point mutation** تغير أو استبدال أزواج قاعدية مفردة (زوج واحد) base substitution في موضع واحد من السلسة DNA ويستبدل بزوج قاعدي .

ب _ **طفرة إزالة الإطار Frame-sheft mutation** تحدث نتيجة حذف أو إضافة أو استبدال واحدا" أو أكثر من نيوكلوتيدات السلسلة للحامض النووي DNA والتي تتمثل بالتغيرات الكمية (العددية) Quantitative aberration التي تطرأ على العدد الكروموسومي أو جزء واحد منه تحدث أثناء الانقسام الاختزالي .

(Baron , 1996) .

2 . 8 _ المطفرات الكيميائية Chemical Mutagens

المطفرات أو المواد الكيميائية القادرة على إحداث الطفرات هي العوامل التي لها القدرة على تغيير خواص التآصر الهيدروجيني للقاعدة في سلسلة DNA حيث أن خواص التآصر الهيدروجيني هو وظيفة المجاميع الامينية أو الهيدروكسيلية للبيورينات والبريميدينات لذا فمن المتوقع أن أي تحوير في هذه المجاميع سيزيد احتمالية حدوث الطفرات , ولهذا ليس من المستغرب في إن العديد من المركبات الموجودة في البيئة هي عوامل مطفرة , حيث هنالك عدد كبير من المواد الكيميائية البسيطة والشائعة قادرة على تحوير سلسلة الحامض النووي وزيادة تكرار الطفرة الذاتية من عشرة أضعاف لغاية ألف ضعف أو أكثر بالاعتماد على العامل نفسه

وظروف المعاملة , وعلى الرغم من إن العوامل المطفرة تؤثر على البيورين أو البريمدين الا أنها تؤثر أيضا على جميع الجينات الوراثية .(الرجب والقزاز , 1986) وقد تم تقسيم آلالاف المركبات الكيميائية بخصوص مقدرتها على إحداث تلف في الحامض النووي DNA وان العديد من المركبات تمتلك هذه المقدرة بالإضافة إلى ذلك فقد أمكن التمييز والمعرفة بوجود احتمال عالي مفاده إن العديد من المواد السرطانية تكون مطفرة أيضا وفي المقابل العديد وليس جميع المطفرات مواد مسرطنة (عبد الحميد , 2000) . ذكر العديد من الباحثين إن المواد الكيميائية المختلفة والعوامل الفيزيائية لربما يكون لها تأثير تثبيطي في أنظمة الإصلاح لسلسة DNA وبالتالي سوف يؤدي إلى تكرار الطفرة (Hartmann & speit , 1996 ; Hartamann & Hartmg , 1998 ; Shukla *et al*., 2002) . وقد تطور مفهوم الأورام الخبيثة من خلال التلوث البيئي الذي دعت له المواد الكيميائية , فالتغيرات في المادة الوراثية هي مركز هذه العملية لان العديد من الملوثات البيئية هي مسرطنة و مطفرة اعتمادا على قدرتها بالتسبب في ضرر ألـ DNA (Kornuta *et al*., 1996) .

كل شخص الآن في هذه البيئة الحديثة يتعرض إلى الكثير من المواد الكيميائية المختلفة الأدوية , مستحضرات التجميل مثل إضافة صبغات الشعر , المواد الحافظة للأغذية , مبيدات الآفات , المركبات المستخدمة في الصناعة , بالإضافة إلى عمليات احتراق الفحم والرماد الناتج من مصادر مولدات الطاقة الكهربائية وهي من الملوثات الرئيسة للبيئة سواء كان تلوث التربة أو الهواء بالإضافة الى المعادن الثقيلة والمركبات العضوية الناتجة من الاحتراق الغير الكامل فهي تعد نفايات لها تأثيرات سلبية على النظام البيئي وتلحق الضرر في صحة الإنسان وتهدد بمخاطر الإصابة بالأمراض الوراثية وتشوهات الأجنة والإصابة بأمراض السرطان .(Brown *et al*., 1993 ; Anthony , 2000 ; Celik *et al*., 2007) .

2 . 9 _ التطفير والتشوهات الخلقية Tertogenic and mutation

التأثيرات التطفيرية تمثل البداية في التحلل الوراثي الذي يحدث بواسطة الكيميائيات المختلفة او الاشعاعات الفيزيائية , تحدث تلك التأثيرات على المستوى الخلوي (خاصة في DNA

, الكروموسومات وغيرها من المكونات الخلوية والنووية المرتبطة بوظيفة الانقسام الخلوي) , هنالك استثناء يتمثل بالطفرات التي تحدث في مرحلة التطور الجنيني والتي تؤدي إلى تشوهات خلقية Tertogenic changes، التأثيرات الخاصة بالتشوهات الخلقية في الحيوانات الراقية يمكن أن تحدث من خلال الطفرة في الخلايا الجسمية أو من خلال طفرة في الخلية الجنسية (الحيوانات المنوية , البويضات) وإذا كانت خطيرة بما فيه الكفاية تسبب الموت والإجهاض المبكر (عبد الحميد , 2000) . بالإضافة إلى العوامل الوراثية (العوامل الجينية) التي تلعب دورا مهما في حدوث حالات التشوهات من خلال النقص والعجز الجيني فالعوامل البيئية لها دورا" هاما" أيضا في حدوث مثل تلك التشوهات خلال المراحل المبكرة من التطور الجنيني (Cobourne , 2004) . ولقد برزت دراسات عديدة تربط بين المؤثرات البيئية مع العوامل الوراثية التي تجعل من الأجنة متقبلة لحدوث مثل تلك التشوهات حيث أن الجينات و ما فيها من خلل سيهيْ الأرضية المناسبة لحدوث التشوهات الخلقية . (Marray , 1995 ; Wilkia , 2001 ; Murray, 2002) . اجريت دراسات عديدة على التشوهات في الأجنة كما هي الحال في الطيور والفئران والأرانب نتيجة تعريضها لمواد كيميائية مطفرة تتسبب بتغيرات جينية وإصابة الخلايا الجرثومية , ولوحظ بصورة عامة أن بعض التشوهات الخلقية قد تتسبب عن البيئة الغير طبيعية التي تحيط بالأم أثناء الحمل (Take kosh , 1964 ; Landauer , 1965 ; Green , 1967) . وقد تم تأكيد ذلك الرأي بخصوص تأثير العوامل البيئية عن طريق الكثير من الدراسات ومنها التي أثبتت ان العديد من الأصباغ المستعملة في صناعات المنسوجات هي مواد مسرطنة (Anonym , 1982) ومنها مسبب لتشوهات الأجنة (Beck , 1983) . وما لها من تأثيرات ضارة مثل الإصابة بأمراض السرطان الأساسية منها سرطان الكلية والمثانة والكبد (Morikawa , 1997)

وفي دراسة أخرى في الدنيمارك برهنت على العلاقة بين حدوث التشوهات الخلقية في الفئران ومنها شق الحنك والتعرض للملوثات والسموم البيئية (Salvkin , 1995 ; Christensen *et al.*, 1995). وقد أشار Sandy & Brown ، 2002 إن تعرض الفئران لمادة cyclophosphamide قد تتسبب بإصابة الفئران بتشوهات الفك وشق الحنك وقد أثبتت الدراسة ان العوامل البيئية والوراثية من المسببات الرئيسة بإحداث التشوهات الخلقية في الأجنة .

2 . 10 _ العلاقة بين التطفير والتسرطن Relation between mutagens and carcinogens

التسرطن Carcinogenesis سلسلة من العمليات تحدث عند تجمع عدد من الطفرات الوراثية في عدد من الجينات تبدأ منذ نشوء الورم وتكونه في الجسم حتى تحوله إلى ورم خبيث وتتحول الخلية الطبيعية المظهر والوظيفية إلى خلية ورمية (Carins , 1975 ; Russell .1998 ; Hoglund *et al*., 2002) وان تلك المواد المسببة لهذه الحالة تسمى بالمواد المسرطنة carciogens (Mettlin & Michalek , 1996) . بينت الكثير من الدراسات وبالاعتماد على ما يسمى بنظرية التطفير الجسمي The somatic mutation theory إن التطفير والتسرطن ذات علاقة متبادلة واضحة فقد تبين إن 157 من 175 مادة مسرطنة معروفة هي كذلك مواد مطفرة أي ما يقارب 90 % . (Anthony *et al*., 2000) .

إن الضرر الوراثي المستحث يعد خطوة حرجة في تطور السرطان و العيوب الولادية وأمراض أخرى ، والسرطان عملية متعددة المراحل وتطوره يبدأ من قبل اغلب المطفرات mutagens الكيمائية ولذا فأن السمية الجينية genotoxice يجب أن تدرس للتقييم بالشكل الصحيح للمساعدة في الكشف عن السرطان ومراحل تطوره (Miyamae *et al*., 1998) . ان تغيير الجينات التي تسببها الطفرات تتوارث بين الأجيال وتستمر إلى أن تؤدي للاصابة بالسرطان بعد مرور مدة من الزمن (Ames , 1992 ; Ribas *et al*., 1996) . العديد من سرطانات الإنسان سببها التعرض للكيميائيات السامة وأنها عادة ما تكون مبدلة للجين حيث يفترض بأن تصدع الـ DNA هو حقيقة أساسية في كل السرطانات والتحول الجيني ومن المهم أن يتم التعرف على هذه المركبات وتأكيد فاعليتها لكي يكون تأثيرها بنسب قليليه عند تعرض الإنسان إليها (سيد احمد , 2000) وكما ذكر سلفا إن المسرطنات تعمل كمطفرات في بداية الامر فقد ميزت الكثير منها على أنها مطفرة في تجارب الحيوانات التجريبية وكذلك عندما عرضت لتحليل تطفير البكتريا البسيط (Alberts *et al*., 2002) . ففي دراسة لتقييم ظاهرة التطفير في مركبات استرات فاثيليت Phathalate esters (dimethy phathalate (DMP) & diethyl phathalate(DEP)] المعروف إنها مواد مسرطنة باستعمال اختبار التطفير للبكتريا Ames test أعطت نتيجة موجبة

مرتبطة بالجرعة , يعني المادة المسرطنة لها تأثير مطفر أيضا" (Kozumbo *et al*., 1982) وفي دراسة أجريت في سويسرا لتقييم السمية الجينية للاثيل كارباميت (ethyl carbamate) من خلال استعمال اختبار ايمز Ames test لبكتريا *Salmonella typhimurium* وخمائر *Saccharomyces cerevisiae* والمعروف إن تلك المادة مسرطنة في الطعام والشراب المتخمر , أعطت نتائج الاختبار للبكتريا والخمائر ايجابية التأثير التطفيري للمادة في الخلايا البكتيرية والخميرة (Hübner *et al*., 1997) . وفي دراسة حول فحص مادة Benzidine المعروفة إنها مادة مسرطنة بالإثبات العلمي للإنسان والحيوانات وعند فحصها باختبار تطفير البكتريا البسيط أعطت نتيجة ايجابية حول تأثيرها المطفر للبكتريا (Light *et al*., 2008) .

لقد تم تقييم العلاقة بين سرطان الأطفال والمبيدات بالاعتماد على الدراسات الوبائية بين 1970– 1996 في الولايات المتحدة الامريكية حيث أنجزت 310 دراسة حول علاقة تعرض الآباء للمبيدات في موضع سكناهم او من خلال التعرض المهني وزيادة مخاطر الإصابة بسرطان الأطفال فقد أظهرت النتائج إن التعرض المستمر للمبيدات من خلال العمل بتوزيعها أو إنتاجها أو استعمالها داخل البيوت له علاقة قوية بالإصابة بسرطان الدماغ والدم (Daniels *et al*., 1997) . وذكر Celik وجماعته (2003) إن أنواعا" من السرطانات ارتبطت مع المدة الطويلة للتعرض إلى الكيميائيات المستعملة في الصناعة والزراعة وحتى المنزلية والتي يمكن تتسبب في تغيير المادة الوراثية في نواة الخلية و تؤدي إلى تغيرات ترسل خلال الانقسامات الخلوية .

2. 11 _ اختبارات التطفير والسمية الجينية في حيوانات التجريب والأحياء المجهرية Genotoxicity and Mutagenesis tests .

إن استعمال الاختبارات الحيوية غاية في الاهمية للكشف عن نشاط السموم الوراثية والكيميائيات المطفرة المنتشرة في المحيط البيئي (Hofnuny & Quillardet , 1986) . فالبيئة التي تحيط بنا مليئة بالملوثات الخطرة على الإنسان وبقية الكائنات الأخرى مثل الأشعة فوق البنفسجية والملوثات الصناعية ومبيدات الآفات وإضافات الأغذية ومنتجات طبيعية مثل التبغ (Wessner *et al*., 2001) .الكثير من الباحثين استخدموا تجارب الوراثة الخلوية Cytogentic

لتقييم السمية الجينية Genotoxicity المحتملة نتيجة التعرض للملوثات الكيميائية سواء كان التعرض مهنيا" في مجال تصنيعها أم بصورة مباشرة عند استعمالها (Bolognesi , 2003 ; Bull *et al*., 2006) . حيث تشكل اختبارات السمية الوراثية والتغيرات الجينية جزء مهم في التعرف على أسباب وتقييم مخاطر المسرطنات والمطفرات المحتملة (Grover *et al*., 2003) . وقد نفذت الكثير من الدراسات في التحري عن تلك التأثيرات باستعمال أنظمة اختبارية مختلفة تستعمل فيها البكتريا و الخلايا اللمفية لكائنات حقيقة النواة و انحرافات او التغيرات الكروموسومية وغيرها الكثير من الأنظمة المستعملة بشكل عام في تقييم تلك الفعاليات الخطرة في البيئة (Kammann *et al*., 2001) . وبعد التقدم الحاصل في علم السموم الوراثي الذي أدى إلى تطوير الاختبارات القصيرة الجرثومية لاكتشاف وتقييم السموم الجينية المطفرة مثل اختبار الطفرة المعاكسة (المنعكسة) للبكتريا أو ما يسمى باختبار ايمز Ames test باستعمال سلالات مختلفة من بكتريا *Salmonella typhimurium & Escherichia coli* ونوع من الخمائر *Sacchoromyces cerevisae* الذي يدرس عبره أنواع الطفرات التي تسببها الملوثات الكيميائية الخطرة في DNA الخلية بالإضافة إلى اختبار SOS chromtest الذي يكون مكمل لاختبار ايمز الذي يتطلب فيه استعمال سلالة واحدة فقط *E. coli* PQ37 يستعمل في كشف المواد المطفرة ذات التأثير السمي التي تعطي نتيجة ضعيفة أو غير حاسمة في اختبار ايمز (Gatehous *et al*., 1999 ; Ruiz & Marzin , 1997) . ففي دراسة لحالات التطفير المحتملة وتشوهات الاجنة في الفئران والجرذان والبكتريا لمادة Methyl amino 2- Abamectin (MA) لم تظهر نتائج الدراسة أي اختلاف في نسبة الخلايا النخاعينية والمنوية مقارنة بالسيطرة , ولم يلحظ أي تأثير مطفر للمادة في سلالات البكتريا المستعملة *S . typh.* في اختبار Ames (Caihong *et al*., 2000) . في دراسة أجريت في البرازيل لتقييم السمية الجينية للمركبات الكيميائية المشتقة من 1,2,4- oxidiazole المستخدم في نشاط المسكنات الدوائية باستعمال اختبار السالمونيلا واختبار SOS فقد تبين أن ليس لتلك المادة تأثيرا في بكتريا السالمونيلا و أعطت نتيجة سالبة في اختبار SOS (Leite *et al*., 2005) . وباستعمال خمائر *Saccharomyces cerevisae* لفحص التأثير المطفر للمواد الكيميائية التي تدخل في صناعة العقاقير 15- deoxygoyazensollide إذ

لوحظ تأثير مطفر في هذا النوع من خلايا الخميرة من خلال زيادة في اعداد الخلايا الطافرة والأضرار الواضحة في DNA الخلية (Vascancellos *et al*., 2007) .

اختبار (MN) Micronucleus test احد أنواع الاختبارات المستخدمة في الكشف عن السمية الجينية للكيميائيات أو الملوثات البيئية يستخدم فيها عمليات تحليل الخلايا الطلائية epithelial cell المستخلصة من التجويف الفمي للكائنات الحية ودراسة الأضرار في سلسلة الـ DNA في أثناء الانقسام في نواة الخلية الناتجة من التعرض لتلك المواد السامة وتمييز المتضررة من السليمة (Majer *et al*., 2001) وكذلك اختبار الكوميت أو الترحيل الكهربائي الهلامي للخلايا المفردة Comet test or The single cell gel electrophoresis assay (SCGE) الذي يستدل به عن الكسور والأضرار في DNA المستخلص من خلايا حقيقية النواة مثل خلايا الكبد , نخاع العظم و الخلايا اللمفية ويمتلك تطبيقات متعددة في الكشف عن مختلف المؤثرات الكيميائية والفيزيائية من جهة قدرتها على إحداث السمية الوراثية (الجينية) والتغيرات في سلسلة الحمض النووي واستخدامها في رصد التلوث البيئي للمواد الخطرة (Collins , 2002 ; Fairbairn *et al*., 1995) . بالإضافة إلى اختبار انحراف الكروموسومات Chromosomal assay (CA) الذي يدرس التغيرات في الكروموسومات المستخلصة من خلايا حقيقية النواة المتضمنة انحرافات وحذف للكروماتيدات , كسر أو تحطيم في الكروموسومات وغيرها من التغيرات الجينية الوراثية (Kammann *et al*., 2001) .

ففي دراسة أجريت في مصر حول تقييم السمية الجينية لمبيد البايرثرويد المصنع (سبيرميثرين) Cypermthrin باستخدام اختبار الكوميت Comet test لخلايا كبد الفئران من خلال معاملة الفئران عن طريق جرع فموية من المستحضر التجاري ثم استخلاص الخلايا المنفردة من الكبد حيث لوحظ أضرارا" بالغة بالحامض النووي DNA مع ملاحظة الفروق الإحصائية التي تتناسب معدلات الأضرار فيها تناسب طردي مع مستويات الجرع المستعملة مقارنة بمعاملة السيطرة (El-khatib , 2005) إن مبيد Cypermthrin من المبيدات المسرطنة المحتملة للإنسان (Gold *et al*., 2001) . وفيما يخص مراقبة حالات التعرض للمبيدات مهنيا" أجريت دراسة في الهند لعمال مصنع إنتاج المبيدات استهدفت الدراسة التحري عن التأثيرات المسببة للضرر الوراثي والتحويرات الجينية التي قد يكون سبب حدوثها التعرض إلى خليط من مركبات الفوسفات العضوية

, كارباميت البايرثرويد باستخدام اختبار MN واختبار CA في الخلايا اللمفية الدموية لعمال المصنع أثناء مدة توظيفهم التي تتراوح 3 – 13 سنة حيث لوحظ زيادة في انحرافات الكروموسومات وأضرار DNA بالإضافة إلى الفروق المعنوية الإحصائية للاختبارين مقارنة بالسيطرة (Sailaga *et al*., 2006) . وفي بولندا أجريت دراسة لفحص 49 عامل يعملون في مزارع البيوت الزجاجية المعرضين مهنيا لخليط من 31 مبيد حشري وفطري باستخدام اختبار الكوميت أو (single cell gel electrophoresis assay (SCGE فلم تظهر القراءات الإحصائية أي اختلاف معنوي بين المجاميع المدروسة من ناحية الضرر في سلاسل DNA عند فحص عينات الخلايا اللمفية الدموية للعمال المزرعة لمدة توظيف تتراوح 1 _ 16 سنة (Piperakiset *et al*., 2009) .وباستخدام اختبار MN في دراسة لتقييم السمية الجينية من خلال فحص الخلايا الطلائية لتجويف الفم لعمال المزارع المعرضين مهنيا للمبيدات في مزارع البرازيل توصلت الدراسة إلى وجود زيادة واضحة في نسبة الضرر الحاصل لسلسة الحامض النوويDNA في الخلايا المدروسة قيد الاختبار (Bortoli *et al*., 2009) . وقد ذكر Dimitrov وجماعته (2006) إن مبيد glyphosat العشبي من المبيدات ذات التأثير السمي على الجينات والمتسبب بتغير للكروموسومات بعد تعريضه لخلايا نخاع العظم في الفئران وفحصها باختبار CA , وفي دراسة أخرى لنفس المبيد لتقييم تأثيراته الخطرة عرض نوع من الأسماك (Carassius auratus) السمك الذهبي لجرعات مختلفة منه واستعمل بعدها اختبار الكوميت Comet test لتحري عن الضرر الذي تسببه المبيد في DNA خلايا كبد الأسماك فأظهرت النتائج مدى الضرر الذي ألحقته جرعة المبيد في سلسلة DNA (Cavas & Könen , 2007) . وفي الأرجنتين تم استخدام اختبار (SCGE) أو الكوميت واختبار MN لتقييم تأثيرات مبيد glyphosat الجينية لبيوض وأجنة التمساح الأمريكي الآسيوي Caiman latirostris) (التي تكون عرضة للتلوث البيئي في كل مراحل حياتها) عندما عرضت المراحل الجنينية المبكرة لجرعات مختلفة وفي وقت التفقيس فحصت عينات الدم والخلايا الطلائية من تجويف الفم وتم تقييم الضرر الوراثي , فتبين أن للمبيد تأثيرا" سميا" وراثيا" على الخلايا بالضرر في DNA عند التركيز 500 مايكرو غرام / بيض فأعلى (Poletta *et al*., 2009) .

2 . 12 _ اختبار الطفرة المنعكسة (المرتدة) للبكتريا Bacterial Reverse Mutation test أو اختبار تطفير السالمونيلا Salmonella Mutagenicity test أو اختبار ايمز Ames test

اختبار ايمز أو اختبار الطفرة المرتدة للبكتريا من الاختبارات البسيطة المستعملة في الكشف عن التأثيرات الجانبية التي تسببها المواد الكيماوية والملوثات الخطرة من تغيرات في سلسلة DNA . تم اكتشاف وتطوير الاختبار عام 1970 من قبل الدكتور Bruse Ames الباحث في جامعة كاليفورنيا حيث استخدم خلايا بكتريا *Salmonella typhimurium* بعد معاملتها جينيا حيث عرضت البكتريا إلى عمليات تغيير في الجينات بواسطة تقنيات جزيئية مختلفة وإحدى تلك التغيرات auxotroph (طفرة ذات عوز غذائي)تعني السلالة الطافرة التي تحتاج إلى بعض المغذيات وهو يعني فقدانها القدرة على تصنيع الحامض الاميني الهستدين histidine الضروري لنموها واستمرارية انقسامها من خلال السيطرة على ألجين المسؤول عن بناء ذلك الحامض الاميني (Ames *et al*., 1975 ; Berg *et al*., 2002) ومن الخصائص الهندسية الجينية التي عوملت بها الخلايا البكترية لتصنيعها على نحو مناسب للكشف عن التحول الجيني (الطفرة) , مثل التغيير أو الطفرة التي تتسبب بتعطيل نظام الإصلاح لكي يتلافى بذلك إعادة إصلاح الطفرة المصنعة excision repeair للسيطرة على الجين UVRB gen المسؤول عن تصنيع الحامض الاميني من قبل البكتريا والتغيير الآخر هو إزالة طبقة Lipopolysacharaide المغطية لسطح البكتريا لتسهيل دخول المواد الكيميائية قيد الاختبار داخل الخلية البكتيرية , وقد ابتكر Ames طريقة لتقليد النظام الايضي في الإنسان في نظام البكتريا بإضافة المصدر الخارجي لتنشيط الايض والمتمثل بمستخلص كبد الفئران لتهيئة ظروفا" قدر الإمكان مشابه لما موجود في النظام الايضي في الإنسان والحيوانات الثديية , ويمكن إجراء الاختبار بإضافة المصدر الخارجي لتنشيط الايض أو عدم إضافته, حيث يمكن لتلك المواد ان تحول المادة الغيرمطفرة الى مطفرة او بالعكس أي تتحول من promutagen الى mutagen بتاثير انزيمات الكبد (Ames *et al*., 1975 ; Anthonny , 2000 ;

Post - Mitochondrial وغالبا ما يستعمل إنزيم كبد الفأر (Wessner , 2001 ; enzyme- المستخلص من كبد القوارض بعد حقنها بمواد محفزة للإنزيمات fraction S9 Ames *et al*., 1975 ; Maron *et al* .,) Aroclor 1254 مثل inducig agents) B – naphthoflavone & Phenobabitone أو المركبات المكونة من (1983 واتخذت . (Matsushima *et al* , 1976 ; Tamura , 1980 ; Elliott *et al*., 1992 طريقة لتنمية السلالات البكترية المستعملة في الاختبار على طبقة من الوسط اكار_ اكار agar-agar حاوية على بعض الأملاح العضوية مع نسبة قليلة من السكريات مثل الكلكوز Glucose مع إضافة نسبة قليلة جدا" من الأحماض الامينية الضرورية للبكتريا مثل Histidin لبكتريا *Salmonella typhimurium* و الحامض الاميني tryptophan لبكتريا *E. coli* فالبكتريا بغياب الحامض الاميني الخارجي والتي تكون بحالة (auxotrophy) سوف تموت ولا تستمر بالانقسام (Green *et al*., 1976 ; Cariello & Piegorsch , 1996 ; . (Mortelmans & Zeiger , 2000

2. 12. 1_ السلالات البكتيرية المستعملة في الاختبار Bacterial strains .

استهدفت التجربة قياس الضرر الوراثي في القواعد الأساسية لسلسلة الحامض النووي DNA باستعمال خمس سلالات رئيسة هي الأكثر استعمالا من بكتريا *S . typh* .& *E . coli* خلقت من قبل نوع معين من التحول الجيني (الطفرات) اما بطفرة Pointe Mutation أو Framesheft Mutation أربع سلالات لبكتريا السالمونيلا هي TA100 و TA98 و TA1535 و (TA97a او TA97 او TA153) وسلالة واحدة هي WP2 لبكتريا *E. coli* تمتلك السلالات الأربعة لبكتريا السالمونيلا الزوج القاعدي G-C كوانين– سايتوسين كموقع العكس الأولي ومن المعروف أن تلك السلالات لا يمكن أن يكشف او يقرأ من خلالها التأثير المطفر الذي تسببه العوامل المؤكسدة Oxidizing agents و Crosslinking

Agents طفرات الناتجة عن فك ارتباط الأواصر الهيدروجينية بين القواعد النتروجينية ومثل هذه المواد يتم الكشف عن تأثيرها باستعمال سلالة *E. coli* أو *S. typh.* من نوع TA102 التي تمتلك الزوج القاعدي A-T أدنين – ثايمين كموقع العكس الأولي , لذلك فالسلالات التي ينصح باستعمالها من تلك المجموعة :

Salmonella typhimurium TA1535

Salmonella typhimurium TA1537 or TA97 or TA97a

Salmonella typhimurium TA98

Salmonella typhimurium TA100

Escherichia coli : *W*P2 uvrA or WP2 uvrA (PKM101) or *S. typh.* TA102

. (Green *et al.*, 1976 ; Wilcox *et al.*, 1990 ; OECD , 1997)

حيث إن كل من سلالة TA1535, TA1537 , TA97a , TA97 , TA98 تكشف عن الطفرة من نوع Framesheft Mutation بينما TA100 تكشف عن طفرة Pointe mutation الطفرة الموضعية وسلالة *E . coli* و TA102 تكشف الطفرة الناتجة عن فك الأواصر الهيدروجينية بين القواعد النتروجينية كما ذكرت آنفا" .

. (Maron *et al.*, 1983 ; Pagano & Zeiger , 1992 ; Wessner *et al.*, 2001)

2. 12. 2_ الغرض من اختبار التطفير للبكتريا Purpose of bacterial Reverse Mutation Test (Ames test)

قبل تطور اختبار الطفرة البسيطة للبكتريا كانت تجرى اختبارات فحص المواد الكيمائية والملوثات الخطرة باستخدام حيوانات التجارب من فئران وأرانب وجرذان وهذا النوع من الاختبارات يحتاج إلى وقت طويل وجهد كبير من المواد والمعدات للحصول على النتائج (Berg *et al.*, 2002) . بعد اكتشاف اختبار ايمز البسيط أصبح من الممكن الكشف عن تلك الكيميائيات باستعماله فهو يعد من الاختبارات البسيطة وسهلة التطبيق وقليلة التكلفة وبأقل وقت ممكن , وبعد الانتشار الواسع والكبير

للملوثات البيئية الحديثة أصبح للاختبار أثر مهم في الكشف عن تلك المركبات وتقييمها قبل أن يتم التعرض إليها من قبل الإنسان (Anthony , 2000) . استعملت تجربة التطفير العكسية (المرتدة) للبكتريا في تقييم السمية الجينية للمواد الكيميائية بالاعتماد على مدى فاعليتها بإحداث التحويرات الجينية وإنتاج طفرات مرتدة في عدة سلالات بكتيرية متعلقة بالاختبار, فالاختبار حساس إلى مجموعة من المطفرات مثل الأدوية والمواد الطبية وإضافات الغذاء والمواد كيمائية الصناعية والمبيدات وغيرها من الملوثات البيئية الخطرة (McCann *et al*., 1975 ; McCcnn & Ames , 1976 ; Maron *et al*., 1983) .

وحسب ما أشارت إليه FDA (Food & Drug Agency) (2000) فكثير من الحالات لا يمكن أن تقيم السمية الجينية الوراثية لها مثل فحص المضادات الحيوية antibiotics والتي ربما تعد من المركبات التي تؤثر بشكل كبير في قسم من البكتريا نفسها . ويمكن الكشف عن الكيميائيات التي تحث على التحول الجيني من خلال عكس التغيير أو الطفرة mutation الموجودة في سلالات الاختبار وتسترد قابليتها الوظيفية على بناء الحامض الاميني المهم لنموها (Gatehouse *et al*., 1994 ; Maron *et al*., 1983) .

طريقة الاختبار لها أثر كبير ليس فقط في مجال تقييم مخاطر السمية الجينية للكيميائيات بل كذلك في دراسة ميكانيكية أو آليات التطفير والتسرطن بما تزودنا به من معلومات أساسية تخص تأثيرات السمية الوراثية لهذه المواد في الكائنات الحية ومن خلال معرفة إن المادة المطفرة للبكتريا من المحتمل ان تكون مسرطنة للحيوانات المختبرية التجريبية وهذا يعد امتدادا" لخطر إصابة الإنسان بالسرطان والأمراض الوراثية وتشوهات الأجنة .(OECD , 1997 Ames *et al*., 1975 ;) . فيما يخص التعرف على آلية حدوث الطفرة وكيفية التحول الجيني أجريت دراسة في بريطانيا باستعمال اختبار Ames test للتعرف على الأضرار الناتجة عن الخطأ في إصلاح DNA ببكتريا *E. coli* & *S . typh* . باستعمال عوامل alkylating (4- Acetoxy-3actoxy methylacetophenon) (AAMAP) والمثبت علميا إنها مطفرة لخلايا بكتريا السالمونيلا لسلالة TA100 و TA98 وبعكس ذلك في , TA1535 و TA1537 إذ تم دراسة الضرر وكيفية حدوث التحولات الجينية في سلسلة DNA للخلايا البكتيرية ولكن لم تظهر تلك المركبات أي تأثير في بكتريا *E. coli* وقد تبين ان السبب في ذلك هو وجود الـ Plasmid في

تلك السلالة الذي ساعد على تعرض الـ DNA للمطفر وزيادة حساسية السلالة إلى المواد المطفرة (Little *et al.*, 1989) .

2 . 12. 3_ الطرق المتبعة لأجراء الاختبار

اختبار التطفير البكتيري على نحو عام يتم العمل به من بين اثنتين من الطرق الأساسية والمتمثلة بوجود أو عدم وجود المصدر الخارجي للنشاط الايضي وفي كلاهما تستعمل المزرعة البكتيرية بعد تعريضها للمواد المراد اختبارها (Catehous *et a*l., 1994 ; Ames *at el* ., 1975). وهنالك عدة طرائق لتطبيقه:

1- طريقة التعليق Suspenesion Method

تخلط المادة الكيميائية المراد اختبارها مع المزرعة البكتيرية في وسط دافيز السائل الملحي Davis- mingioli salt solution (D.M) ثم يترك لمدة 24 ساعة قبل عملية توزيعه في صفائح التخفيف أو الأنابيب الزجاجية ومن ثم يحضن بدرجة حرارة 37° لمدة 2-3 يوم (Thomposon & Melampy , 1981) .

2- طريقة التقليب Fluctuation test Method

وهي عملية خلط المادة الكيمائية المراد اختبارها مع المزرعة البكتيرية ثم مع وسط D.M السائل ثم يوزع الخليط مباشرة في حفر الصفائح التخفيف microtitre plate أو أنابيب زجاجية ومن ثم تحضن لمدة 2-3 يوم بدرجة حرارة 37 °C (Hubbard *et al* , 1984 ; Green *et al*., 1976) .

3_ طريقة الأطباق المدمجة The plate incorporation Method

في هذه الطريقة يتم خلط المواد المراد اختبارها مع البكتريا , ونشرها مباشرة على طبقة رقيقة من الاگار minimal agar medium تحضن بدرجة حرارة 37ْ لمدة 2-3 يوم (Kier *et al*., 1986) .

4_طريقة قبل الحضن The preincubation Method

يتم في هذه الطريقة حضن الخليط المعامل (المادة المختبرة مع المزرعة البكتيرية) لمدة 20 دقيقة قبل نشرها على الوسط minimal agar medium ثم تحضن بدرجة حرارة37 ْ لمدة 2-3 يوم . (Gatehouse *et al*., 1990) .

2 . 12. 4_ تقييم و تفسير نتائج تلك الاختبارات Evaluation and Interpretation of results

إن الطرق الشائعة في تقييم أو تحليل البيانات في تجربة البكتريا هو اعتماد (قاعدة الضعف) Two folds rule طبقا إلى مضاعفة نسبة العكس أو الانقلاب التلقائي (الذاتي) Spontaneous mutation في واحد أو اثنين من تراكيز المواد الكيمائية المختبرة التي تحدد الاستجابة الموجبة , حيث تحدد تلك القاعدة نتيجة تعتمد على علاقة الجرعة أو التركيز للمادة الكيمائية والاستجابة والتي تكون على شكل منحنى خطي حيث إذا كان عدد المستعمرات المنعكسة (المرتدة) للبكتريا في تراكيزالمواد المختبرة ضعف أو أكثر من ضعف أعداد المستعمرات المنعكسة تلقائيا هذا يعني إن المركب يعد من المواد المطفرة Mutagenic (Cariello & Piegorsch , 1996 ; Mortelmans & Zeiger , 2000) . مثال على ذلك 0.5 ملغم / لتر من 2- Aminoalnathrasien امينوالنثراسين تعطي 11000 مستعمرة منعكسة (مرتدة) مقارنة مع 30 مستعمرة منعكسة تلقائيا في غياب التحول الجيني (سيد احمد , 2000) .

الطريقة الأخرى المعتمدة في تفسير النتائج هي تحليلها إحصائيا" فإذا ظهرت فروق معنوية للبيانات فهذا يعني وجود استجابة موجبة (تأثير مطفر للمادة) .(Broekhoven *et al*., 1991 ; Edler , 1992) .

هنالك معايير أساسية معتمدة تستعمل لترجمة النتائج لذلك الاختبار وهي :

1- النتائج الموجبة Positive results

تعد المادة المختبرة mutagen مطفرة عندما تتعلق بالجرعة أو التركيز ذات القدرة على زيادة في عدد المستعمرات المنعكسة للبكتريا في واحد أو أكثر من سلالات البكتريا المستعملة .

2- النتائج السلبية Negative results

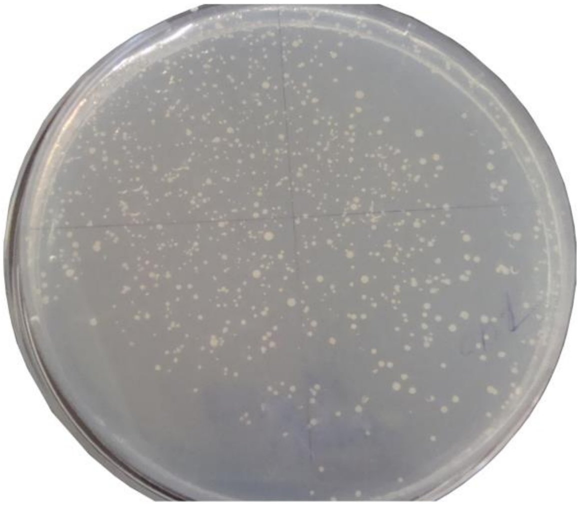
يعتبر المركب الكيميائي المراد اختباره عديم التأثير التطفيري non- mutagen إذا لم تكن هنالك أي زيادة في عدد المستعمرات المنعكسة للبكتريا التي تتسبب بها جرع المواد المختبرة في تجربتين مستقلتين مقارنة بأعداد المستعمرات المنعكسة تلقائيا" .

3- النتائج الغير حاسمة (ضعيفة) Inconclusive results

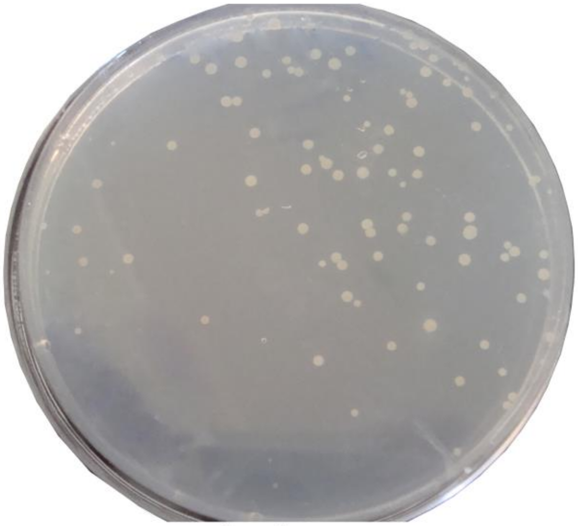
في هذه الحالة لا يمكن تمييز إن كانت المادة أو المركب المختبر يمتلك التأثير التطفيري أو لا يمتلكه أي يوجد تباين في نتائج السلالة الواحدة فعليه يجب أن تخضع لخطوات تجريبية أخرى للتأكد من النتيجة مثل استعمال الخمائر في الاختبار .

ويوضح الشكل (1، 2، 3) أعداد المستعمرات المنعكسة (المطفرة) بفعل تركيز المادة الكيميائية قيد الاختبار والأعداد النامية بفعل المعاملة بمادة السيطرة الموجبة بالإضافة إلى طبق السيطرة السالبة (المنعكسات الذاتية) للتوضيح .

(OECD , 1997 ; Mortelmans & Zeiger , 2000) .



شكل (1) نمو مستعمرات TA100 بتأثير المبيد



صورة رقم -٢-

للسلالة البكتيرية TA100لمعاملة السيطرة السالبة

شكل (2) نمو مستعمرات TA100 في معاملة السيطرة السالبة

2. 12. 5_ تطبيقات أو استعمالات اختبار ايمز

شكل (3) نمو مستعمرات TA100 في معاملة السيطرة الموجبة

في بداية اكتشاف وتطوير الاختبار التي قام بها Bruse Ames انصبت جهوده نحو تقييم المواد المسرطنة المعروفة المثبتة علميا" إنها تمتلك التأثير المسرطن وذلك بالكشف عنها من خلال تطبيق اختباره وقد توصل إلى أن أكثر من 80% من المواد المسرطنة المختبرة لها تأثير مطفرا" في هذا النظام الاختباري , فالكثير من المسرطنات كانت مطفرة في اختبار السالمونيلا ، وقد استعمل الاختبار بكثرة كمؤشر للتطفير والتسرطن (McCann & Ames , 1981 ; Maron *et al*., 1983). وإن ذلك الاختبار من الأنظمة البسيطة قليلة التكلفة سهلة التطبيق فقد أدى إلى أن تتبع الكثير من المختبرات في دول العالم طريقته و تفحص على نحو دوري العديد من المركبات الكيمائية والملوثات البيئية الخطرة التي قد تتسبب بحالات الإصابة بالأمراض الوراثية والسرطانية (FDA , 2000) . وكما ذكر آنفا" فالاختبار حساس لتشكيله من المواد الكيمائية المطفرة مثل الأدوية والمواد طبية وإضافات الأغذية والمواد الصناعية والمبيدات وغيرها , فقد توفرت الكثير من الدراسات حول تلك التطبيقات فيما يخص فحص المواد الغذائية الملوثة حيث أجريت دراسة في إسرائيل استهدفت فحص الحليب ومنتجاته الملوثة ببقايا مواد كيمائية بيئية (مبيدات الفسفور

العضوية التي يتعرض إليها الحيوان) بعد استخلاصها بطرق الكروموتوگرافي الغازي وفحصت باستعمال TA98 & TA100 بطريقة الأطباق المدمجة مع إضافة نظام التنشيط الايضي الخارجي S9 وأعطت نتائج ايجابية متمثله بزيادة أعداد المستعمرات البكتيرية الطافرة ضعف أعداد المستعمرات الطافرة (المنعكسة) تلقائيا" (Green *et al.*,1980) . وفي دراسة لتقييم السمية الجينية Genotoxicity و التطفيرية Mutagenesis في بعض ملوثات المياه الإقليمية في الكويت نتيجة كيميائيات البترول باستخلاص الملوثات من الكائنات البحرية مثل الروبيان والطحالب , استعملت السلالة البكترية السالمونيلا TA98 بطريقة التقليب **Fluctuation test** وطريقة الأطباق المدمجة**The plate incorporation** فقد توصل الباحث الى أن بقايا الملوثات لها تأثير تطفيري في خلايا البكتريا (AL-Mossawi *et al.*, 1983) .وقد نشر في معهد بحوث وتطوير صناعة المواد الغذائية في تايوان The Food Industry Reseach and Devlopment Institute (FIRDI) دراسة لمجموعة من الباحثين لفحص أحد أنواع الأغذية المصنعة بطريقة التخمر التقليدية الطبيعية من النوع المفتوح لعد شهور باستعمال المحلول الملحي وقد تم عزل المحلول الملحي المعتق من عينات الغذاء وفحص باختبار ايمز لسلالة TA98 & TA100 ولم يظهر أي نشاط تطفيري للمادة في البكتريا فكانت أعداد المستعمرات النامية بفعل المادة المختبرة متساوية أو اقل من المنعكسات الذاتية بالسيطرة السالبة (Chang *et al.*, 2001). وقد توافرت دراسات عديدة حول عملية فحص مبيدات الآفات المختلفة , وتبين أن قسما" منها يمتلك فعالية التطفير (القدرة على إحداث التحولات الجينية) كشف عنها بإتباع أنظمة اختبار بيولوجية (Shirasu *et al.*, 1976 ; Celik *et al.*, 2003) . ففي دراسة لاختبار مبيد captan الفطري & folpet الحشري باستعمال سلالة TA100 أظهرت النتائج زيادة في عدد المستعمرات المنعكسة بفعل تأثير المبيد ضعف المنعكسات الذاتية ويعني ذلك أن للمبيدين تأثيرا مطفرا للبكتريا (Barrueco & Pena , 1989) . اختبرت ستة مبيدات بنقاوة (% 98.9 _ 99.9) , captan, chlorpyrifosmethyl ,atrazin, Captafol, molinate , tetrachloruinphos باستعمال سلالات بكتيريا السالمونيلا وهي TA102 (TA100 ، TA1537، TA1535 ، TA98) مع إضافة S9 مرة وعدم إضافته مرة أخرى وتبين من النتائج أن مبيد captafol & captan كانت نتيجة السمية الجينية لكلاهما موجبة عند التراكيز 1.25 _

10 *M*g / plat حيث كان لمبيد captafol الفطري تأثيرا" في السلالة TA102 & TA100مع إضافة S9 وبدون إضافته بينما كانت سالبة في سلالة TA1535 و TA1537 وTA98 بينما أعطى مبيد captan الفطري نتيجة موجبة لجميع السلالات المستعملة بالاختبار مع -S9 & +S9 وكانت نسبة التأثير أعلى عند عدم استعمال S9 والعلاقة بين التركيز أو جرع المبيد طردية مع أعداد المستعمرات النامية (Ruiz & Marzin , 1997). وبنفس اختبار ايمز لكن باستعمال سلالة *E . coli* خضعت مجموعة من المبيدات في نيجيريا Mobile , Mortein , Ttotal and Baygon لدراسة الهدف منها التحري عن التأثير التطفيري لتلك المبيدات مع استخدام S9 ولم تظهر النتائج أي تأثير مطفر للبكتريا المستعملة مقارنة بالمادة القياسية المطفرة Ethidiumbromide والسيطرة السالبة وقد لا تكون تلك المبيدات مطفرة أو مسرطنة للإنسان (Akintonwa *et al*., 2008) .

إن استعمال التحاليل الحيوية تعد من البدائل الجيدة للتقييم الممتاز للمياه والمواقع البسيطة التي تحتاج إلى تقييم حيث بينت الكثير من الدراسات في استعمال اختبار السالمونيلا البسيط التأثير التطفيري للمياه الطبيعية الملوثة (Ohe *et al*., 2004) . والمتضمن المياه الجوفية وبرامج مراقبة سطح الماء (Guzzele *et al*., 2006 ; Umbuzeiro *et al*., 2006) . أجريت دراسة لفحص عينات ماء من نهر Gange في الهند التي وجد أنها ملوثة ببقايا مجموعة من المبيدات DDT , DDD , aldrin , dieldrin بعد تحليل العينات بطريقة الفصل سائل – سائل liquid-liquid extraction بتراكيز أجزاء بالبليون باستعمال اختبار ايمز بطريقة قبل الحضن (التي ستوضح لاحقا") تبين أن لتلك البقايا درجة عالية الفعالية mutagenicity لسلالة البكتريا TA100و TA98 و TA97a بالزيادة فوق الضعف للأعداد المستعمرات الطافرة مقارنة بالسيطرة السالبة (Renhana *et al*., 1995) .

تستعمل وكالة البيئة في البرازيل منذ عام 1979 اختبار السالمونيلا لتقييم نوعية المياه الطبيعية بالاعتماد على برنامج مراقبة المياه , فقد تم فحص ما يقارب 1000 عينة مياه في دراسة واحدة باستعمال سلالات السالمونيلا TA100 , TA98 وأظهرت النتائج إن 137 عينة أعطت نتيجة ايجابية بتأثيرها التطفيري للبكتريا وكانت أعلى نسبة للمنعكسات 30000 مستعمرة وكانت TA98

في هذه الدراسة أكثر حساسية من سلالة TA100 حيث 79% من المطفرات اكتشفت بتلك السلالة (Umbuzeiro *et al*., 2001) .

في برنامج مراقبة السمية الجينية للمياه الصالحة للشرب والغذاء في سلوفينا أجريت دراسة باستعمال طريقة الإطباق المدمجة Ames test سلالة TA97 و TA100 و TA1535 ولم يظهر الاختبار أي تأثير ايجابي على السلالات البكتيرية وذلك بتقارب أعداد المستعمرات المنعكسة بفعل العينات و المنعكسات الذاتية (Lah *et al*., 2005) . وفي فرنسا أجريت دراسة لفحص 71 عينة لمياه الصرف الصحي المحلية من المستشفى والمنطقة الصناعية باستخدام طريقة التقليب Fluctuation test Method. لسلالة السالمونيلا TA100 وTA98 و TA102 مع بدون S9 فتبين من نتائج الدراسة ان ما يقارب 65% من العينات المفحوصة أعطت نتيجة ايجابية عالية وتأثيرات Genotoxicity على البكتريا لكل السلالات المستعملة (Jolibois & Guerbet , 2005) . اعتمد في البرازيل برنامج لمراقبة المياه الجوفية وتقييم حالات التحول الجيني المحتمل وجودها في نوعية المياه فأجريت دراسة لفحص عينات من الماء لسبعة آبار من مناطق مختلفة من الطبقات الجوفية باستعمال سلالة TA100 , TA98 بطريقة قبل الحضن The preincubation method بدون إضافة S9 بعد أن تم تحليل العينات بطريقة الترشيح الغشائي membrane filtrationوطريقة فصل liquid-liquid extraction , لم تظهر العينات التي فصلت بطريقة الترشيح أي تأثير ايجابي ولسلالتين بينما العينات المفصولة بطريقة سائل- سائل liquid-liquid extraction أظهرت تأثيرا" مطفر للخلايا البكتيرية ولسلالتين وكانت نسبة المنعكسات أو المستعمرات المرتدة 1500 – 130 مستعمرة يعني ذلك وجود ملوثات كيميائية خطرة مترسبة في مياه تلك الآبار (Campos *et al*., 2009).

بالإضافة إلى المجالات التي ذكرت في استعمال اختبار ايمز فقد أجريت دراسات في تقييم الكثير من المركبات الكيميائية التي تدخل في صناعات متعددة , مثل 4- Chloro-o-toluidine (4- COT) مادة كيميائية مستعملة في صناعة الأصباغ ومصدر رئيسي في صناعة مبيد Chlordimeforme الحشري إذ ادخل المركب في اختبار السالمونيلا البسيط للتحري عن تأثيراته المطفرة وكانت النتائج ايجابية في تطفير خلايا البكتيرية في السلالة TA100, TA98 بمعدل أعداد للمستعمرات أعلى من ضعفي أعداد السيطرة السالبة وفحصت كذلك باختبار CA للخلايا

اللمفية للإنسان ولكن لم تظهر أي اختلاف أو تغيير جيني للخلايا (Göggelmann *et al.*, 1996). وفي دراسة للتحري عن التأثير التطفيري للمركب الكيميائي glutathione باستعمال اختبار Ames test لسلالة TA100 بطريقة الأطباق المدمجة أشارت النتائج إلى وجود تأثير مطفر للمركب في خلايا البكتريا قد أدى إلى زيادة واضحة في أعداد المستعمرات المنعكسة بفعل التركيز المستعمل مقارنة بالسيطرة السالبة (Glatt *et al.*, 1983) . وقد توصل Chen وجماعته عام 1997 في دراسة أجراها في الولايات المتحدة الأمريكية في فحص مركبات الأمينات العطرية aromatic amines مجموعة النايترو nitro- group إن تلك المركبات لها تأثير مطفر لبكتريا السالمونيلا المستعملة لسلالة TA100 تراوحت أعداد المستعمرات المتأثرة بتراكيز المستعملة 98 – 768 للمركب 2- Nitro-p-phenylenediamine و 89– 692 مستعمرة للمركب 3- Nitro-p-phenylene diamine و 122– 1579 مستعمرة للمركب 4-Nitro-p-phenylene diamine و 141– 577 مستعمرة للمركب 4-4-Dinitro-2biphenylamine مقارنة بـ 102 مستعمرة منعكسة ذاتيا" . وفي دراسة اجريت في بريطانيا لتقييم مركبات Nitrobenzenes و Nitroanilines فيما يقارب 10–14 مركب مختبر من مجموع 18 مركب أي ما يقارب 71% أظهرت تأثيرا تطفيرية ايجابية لسلالات المستعملة TA98, TA100 بطريقة الأطباق المدمجة مع إضافة S9 مرة وعند عدم إضافته مرة أخرى (ABmann *et al.*, 1997). اشار Sarhan ، (2007) في دراسته التي اجراها في السعودية والتي استهدفت تقييمه للفعالية التطفيرية لمركب N – butyl and N-hexylazide مركبات azide العضوية حيث أظهرت نتائج الدراسة التأثيرات المطفرة لسلالة TA100 بطريقة قبل الحضن عند إضافة S9 لكن أظهرت عكس ذلك عند عدم إضافة مصدر الايض الخارجي S9 . أشار Fall وجماعته في دراسة أجراها في فرنسا عام 2007 أن كلوريد البنزيل benzyl chloride المستعمل في إنتاج كحول البنزل benzylalcohol ومركبات البنزل المستعملة في العطارة والأصباغ والمواد الصيدلانية يمتلك تأثيرا" مطفرا" في البكتريا المستعملة في اختبار ايمز بطريقتي الأطباق المدمجة وقبل الحضن لسلالة TA100 مع إضافة S9 ونتيجة ضعيفة عند عدم إضافته فقد تراوحت نسبة المستعمرات المنعكسة 103– 232 مستعمرة بطريقة الأطباق المدمجة و 132–278 مستعمرة بطريقة قبل الحضن وحيث أظهرت المادة تأثيرا" سلبيا" لسلالة TA98 .

وفي دراسة أجريت لفحص مادة NeurotoxinTetrodotoxic TTX المستخدمة كعلاج مسكن للآلام باستخدام اختبار Ames test طريقة قبل الحضن واستعمال سلالة TA100 تبين أن المادة لم تظهر أي نشاط تطفيري في البكتريا وكذلك لم تظهر فروقا" معنوية إحصائية (Guzman *et al*., 2007). تم فحص المركب الكيمائي (Hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine RDX) الذي يعد احد المواد المتفجرة التي تستعمل من قبل الجيش في الولايات المتحدة الأمريكية (والمصنفة من قبل EPA الأمريكية عام 1998 من المواد المسرطنة للإنسان) بعد تحضير تراكيز مختلفة باستعمال TA100، TA97a ، TA98 ، TA102 بطريقة قبل الحضن مع نسبة عالية من إنزيم كبد الفارS9 فتبين أن المركب اظهر نتيجة غير حاسمة (ضعيفة) في جميع السلالات ونتيجة سالبة في TA98 (Pan *et al*., 2007) .

في مجال التحري عن تأثيرات التطفير للأصباغ المستعملة بصناعات النسيج , أجريت دراسة بتطبيق اختبار ايمز في ألمانيا لفحص 53 عينة صبغ باستعمال خمسة سلالات من بكتريا السالمونيلا , فقط في TA100, TA98 ظهرت نتائج ايجابية في حوالي 28% (15 عينة) كانت ايجابية في سلالة TA98 وعينتان ايجابية في سلالة TA100 (Jäger *et al*., 2004). و تم فحص سبعة أصباغ مستعملة في صناعة النسيج في الهند باستعمال سلالة TA100 بطريقة الأطباق المدمجة فتبين إن صبغة Violet فقط أظهرت نتيجة سلبية والستة الباقية Congo red , Brown GR , Orange 3R , BlueS1,Bordeaux, Royal blue أظهرت التأثير المطفر للبكتريا حيث تراوحت أعداد المرتدات بتأثير الأصباغ 600– 1500 مرتدة (Mathur *et al*., 2005) . Potassium bromate برومات البوتاسيوم من المواد المضافة أي الأغذية لحفظها , في نيجيريا أجريت دراسة لتقييم تأثير تلك المادة باستعمال سلالة E . coli *W*P2 uvrA مع إضافة S9 وبدون إضافته مرة أخرى فوجد أن تلك المادة تسببت بتحول جيني للخلايا البكتيرية ومن المحتمل إنها تمتلك تأثيرا" مسرطنا" (Akintonwa *et al*., 2007) .

وفي مجال اختبار التأثيرات الخطرة الناجمة عن استعمال السكائر و التبوغ أجريت دراسة لتقييم فعالية التطفير المتسبب من دخان السكائر المكثف Cigarette smoke condensates CSC قبل وبعد إزالة البروتين التبغ و الببتايد Peptid باستعمال سلالة TA100 و TA98 بطريقة الأطباق المدمجة وتم الحصول على نتائج انخفاض الفعالية التطفيرية للدخان المكثف بنسبة 80%

في TA98 و 50% في سلالة TA100 بعد إزالة بروتين التبغTobacco protin فهو مساهم رئيسي للإحداث التسمم الجيني genotoxicity (Clapp *et al* ., 1999) . في فرنسا أجريت دراسة باستعمال TA98 لبكتريا السالمونيلا طريقة قبل الحضن لفحص سبعة مركبات عطرية مستخلصة من إدرار المدخنين للتبغ الأشقر والتبغ الأسود وكانت لتلك المركبات تأثيرات تطفيرية ايجابية مع فروقات معنوية إحصائية بين تأثير العينات وأعداد المنعكسات حيث تراوحت 37 – 1512 مستعمرة منعكسة (Migeot *et al*., 1997) . أجريت عملية الفحص لعينات إدرار من 40 تقني يعملون في مختبرات الإمراض السريرية في إيران لتقييم تأثير المواد الكيميائية المستعملة من قبلهم في أغراض المختبر مثل Formalin , Hematoxylin , eosin , xylin , xylole , Formaldehyde بعد إجراء عمليات استخلاص للعينات تم فحصها باستعمال سلالة TA100 بطريقة الأطباق المدمجة وأظهرت النتائج إن 20% من العينات المختبرة امتلكت تأثيرا مطفرا" للبكتريا (Basiri *et al*., 2008) .

أم في مجال التحري عن تأثير الملوثات المحمولة مع جزيئات الغبار فقد استخدم الاختبار في كندا لفحص 150 عينة من غبار المنازل المستقر Settled houe dust (SHD) بعد عمليات استخلاص وتحليل للعينات اختيرت باستعمال طريقة الأطباق المدمجة في سلالة TA100 , TA98 and TA102 وتبين من نتائج الدراسة أن كل العينات المفحوصة ايجابية في تأثيرها التطفيري على الأقل في واحدة من السلالات المستعملة وكان أكثر أعداد المستخلصات استجابة موجبة في TA98 مقابل TA100 ولم تظهر أي تأثيرات في سلالة TA102 (Maertens *et al*., 2008) .

هذه المراجعة لتلك المصادر المختلفة تعكس اهتمام العالم بهذه الطريقة للكشف عن المواد المطفرة / المسرطنة التي تتواجد في بيئة الإنسان وتدل على ضرورة تطوير هذا الأسلوب للحفاظ على صحة الإنسان .

الفصـل الثالـث
المـواد وطرائـق العمـل
Materials and Methods

3. 1_الأجهزة والمواد المستعملة Equipments and Materials

3. 1.1_ الأجهزة المستعملـة

ت	الجهـاز	اسم الشركة (المنشأ)
1.	Autoclave مؤصدة	ALAMERICAN (USA)
2.	Cool incubator حاضنة مبردة	Lab – Teach (Korea)
3.	Centrifuge جهاز الطرد المركزي	HERMLE z2000 A (Germany)
4.	water bath حمام مائي	Lab – Teach (Korea
5.	Sensitive Electric ميزان كهربائي حساس Bath	Sartorius (Germany)
6.	كابينة النسيج الخلوي Limner flow	Lab- Teach(Korea)
7.	Filtrations system جهاز الترشيح	KNF Neubeger 78 Freiburg
8.	جهاز الفصل الكروموتوغرافي الغازي Gas-Liquid Partition Chromatography GLC	Bakerd - Holland
9.	Blender خلاط كهربائي	TJL ASSCO -India
10.	المبخر الفراغي الدوار Rotary evaporater	Orem Scientific Ltd – Swiss.

3. 1. 2_ المواد الكيميائية المستعملة Chemistry Material

ت	اسم المادة
1	Chlorophorm كلوروفورم
2	كبريتات الصوديوم المائية $(Na2)SO4$
3	Glucose كلوكوز
4	Histidin هستدين
5	Methyl methan sulphonate مثيل ميثان سولفنيت
6	Ethanol %75 ايثانول
7	Sodium thiosulphate صوديوم ثايوسولفيت
8	Sodium chloride كلوريد الصوديوم
9	ثنائي di- potassium hydrogen phosphate anhydrous K2HPO4 فوسفات البوتاسيوم الحامضية
10	فوسفات البوتاسيوم ثنائية Potassium dihydrogen phosphate KH2PO4 الهيدروجين
11	كبريتات المغنيسيوم المائية MgSO4-7H2O
12	سترات الصوديوم المائية Na3-citrate-3H2O
13	كبريتات الامونيوم (NH4)2SO4
14	Acetone أسيتون
15	Acetonitrial اسيتونايتريل
16	Activated charcole الكاربون المنشط
17	methylen alchohal كحول مثيلي
18	Ethyle astate خلات الاثيل
19	Celite السيلايت

3 . 2 _ تحضير الأوساط الزرعية المستعملة Culture media preparation

3 . 2. 1− وسط الاگار المغذي (Nutrient agar medium (N.A. .

استعمل هذا الوسط لتنشيط العزلة البكتيرية المستعملة بالاختبار ، حيث حضر بإذابة 29 غم من الوسط في 1 لتر من الماء المقطر حسب تعليمات الشركة المصنعة (Fluke company- Germany) وبعد التحضير عقم بجهاز الموصدة Autoclive بدرجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15 دقيقة ثم صب في أطباق بتري أو أنابيب زجاجية على شكل مائل وحسب الحاجة .

3. 2. 2− وسط المرق المغذي (Nutrient Broth (N. B. .

استعمل الوسط لغرض تنشيط العزلات البكتيرية وتحضير المزرعة الأصلية stock culture الخاصة بالاختبار وتحضير التركيز المثبط الأدنى للمبيدات Minimal inhibition concentration MIC حيث حضر بإذابة 13 غم من الوسط في 1 لتر من الماء المقطر حسب تعليمات الشركة المصنعة (Hi Media Laboratories – India) وصب في أنابيب زجاجية ذات غطاء معدني محكم الغلق Secrocup tube عقم بجهاز الموصدة Autoclive بدرجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15 دقيقة وحفظ في الثلاجة بعد أن يبرد لحين استعماله .

3. 2. 3− الوسط الغذائي الأدنى (Bacterial Minimal (BMM Medium .

اتبعت طريقة Ames وآخرون (1975) بتحضير هذا الوسط على النحو الآتي :

1– محلول دافيز الملحي Davis- Mingioli Salt Solution D.M .

حضرت جميع التراكيز من المواد الكيميائية المدرجة بـ غم / لتر من الماء المقطر وكالاتي :

K_2HPO_4	14	gm\ L
KH_2PO_4	6	gm\ L
Na_3- Citrate-$3H_2O$	0.89	gm\ L
$MgSO_4$-$7H_2O$	0.2	gm\ L
$(NH_4)_2SO_4$	2	gm\ L

2– محلول الكلكوز المركز Glucose Solution 40% w\v .

حضر المحلول بإذابة 40 غم كلوكوز في 100 مل من الماء المقطر عقم بجهاز الموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15 دقيقة وحفظ في الثلاجة بعد أن يبرد لحين استعماله .

3– وسط اكار–اكار Agar – agar .

حضر بإذابة 12 غم من الوسط في 1 لتر من الماء المقطر.

– لتحضير الوسط الغذائي الأدنى minimal medium في الحالة الصلبة يمزج المحلول رقم 1 مع المحلول رقم 3 ويعقم بجهاز الموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15 دقيقة ومن ثم يضاف لكل 400 مل من الخليط 1 مل من محلول الكلكوز المركز 40% و 0.1 مل من محلول الهستدين المحضر بتركيز 10 مايكروغرام / مل ثم يصب في أطباق بتري .

أما في حالة الحصول على الوسط الغذائي الأدنى بالهيئة السائلة فيتم تحضيره بدون إضافة وسط Agar- agar بل بإضافة محلول D.M مع إضافة محلول الكلكوز والهستدين بعد أن يعقم بجهاز الموصدة Autoclive بدرجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند / انج² لمدة 15 دقيقة .

4- وسط BMM شبه الصلب (Top agar (Semisolid

يتم تحضيره بإضافة 0.6 غم من وسط Agar-agar إلى محلول D.M المحضر بـ 100 مل ماء مقطر يعقم بجهاز الموصدة Autoclive بدرجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند / انج² لمدة 15 دقيقة ثم يطب في أنابيب معقمة ومحكمة الغلق 2 مل لكل أنبوبة ويحفظ في الثلاجة لحين استعماله في إجراء الاختبار .

3 . 3 _تحضير التركيز المثبط الأدنى للمبيدات Minimal Inhibition Concentration preparation MIC .

حضرت سلسلة من التخافيف لكل مادة كيميائية (مبيد) قيد الدراسة ما يقارب 6 – 7 تخفيف , أضيفت التراكيز إلى أنابيب معقمة حاوية على 9 مل من وسط المرق المغذي N.B المعقم مع إضافة ما يقارب 10^5 من الخلايا البكتيرية لكل مل واحد ثم حضنت في درجة حرارة °37 ولمدة 24 ساعة بعد ذلك اخذ من كل أنبوبة اختبار 0.1 مل ووزع على أطباق بتري حاوية على N. agar وحضنت بدرجة حرارة °37 ولمدة 24 ساعة للتأكد من نمو البكتريا , فتم بعد ذلك تحديد اقل تركيز من المادة الكيميائية الذي لم يسمح بنمو البكتريا أطلق عليه بالتركيز المثبط الأدنى (Batzing , 2002) .

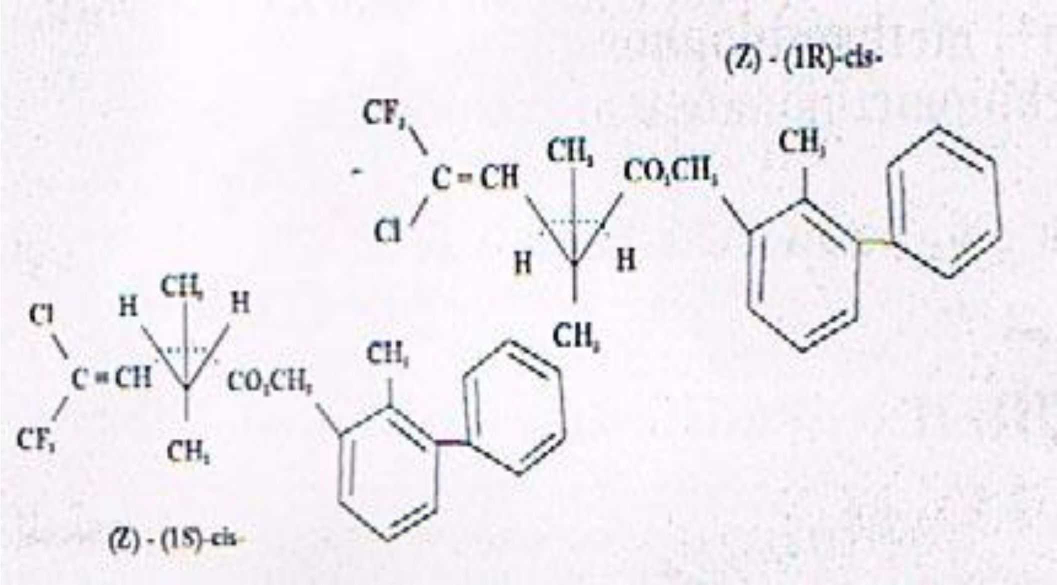
3 . 4– المبيدات قيد الدراسة The pesticides

3. 4. 1_ مبيد bifenthrin

1– الاسم الكيمائي :

(2-methyl {1,1-biphenyl}-3-yl) methyl3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

2– التركيب الكيمائي :



3– الاسم الشائع : bifenthrin

4– الاسم التجاري : Talstar, Biflex

5– الصيغة الجزيئية : $C_{23}H_{22}ClF_3O_2$

6– المجموعة الكيميائية : Pyrethroid

7– السمية : الجرعة النصف قاتلة LD50 للجرذان عن طريق الفم 375 ملغم / كغم

8– معدل الاستعمال : 0.3 _ 0.5 مل / لتر ماء (EC) .

9- الآفات المستعمل لمكافحتها : الحلم على الخضروات , الأرضة والسونة على الحنطة والشعير.

10- التركيز المسموح أخذه يوميا" : 0.02 ملغم / كغم من وزن الجسم .

3. 4. 2_ مبيد PopamocarbHCL

1 - الاسم الكيمائي :

Propyl 3-(dimethylamino) propylcarbamate hydrochloride

2- التركيب الكيمائي: $(CH_3)_2N(CH_2)_3NHCO_2(CH_2)_2CH_3.H_2O$

3- الاسم الشائع : Propamocarb hydrochloride

4- الاسم التجاري : PrevicurN , Proplant

5- الصيغة الجزيئية : $C_9H_{21}ClN_2O_2$

6- المجموعة الكيميائية : Carbamate

7- السمية : الجرعة النصف قاتلة LD50 للجرذان عن طريق الفم 2900 ملغم/ كغم

8- معدل الاستعمال : 1 مل / لتر ماء .

9- الآفات المستعمل لمكافحتها : البياض ألزغبي على الخيار

10- التركيز المسموح أخذه يوميا" : 0.1 ملغم / كغم من وزن الجسم .

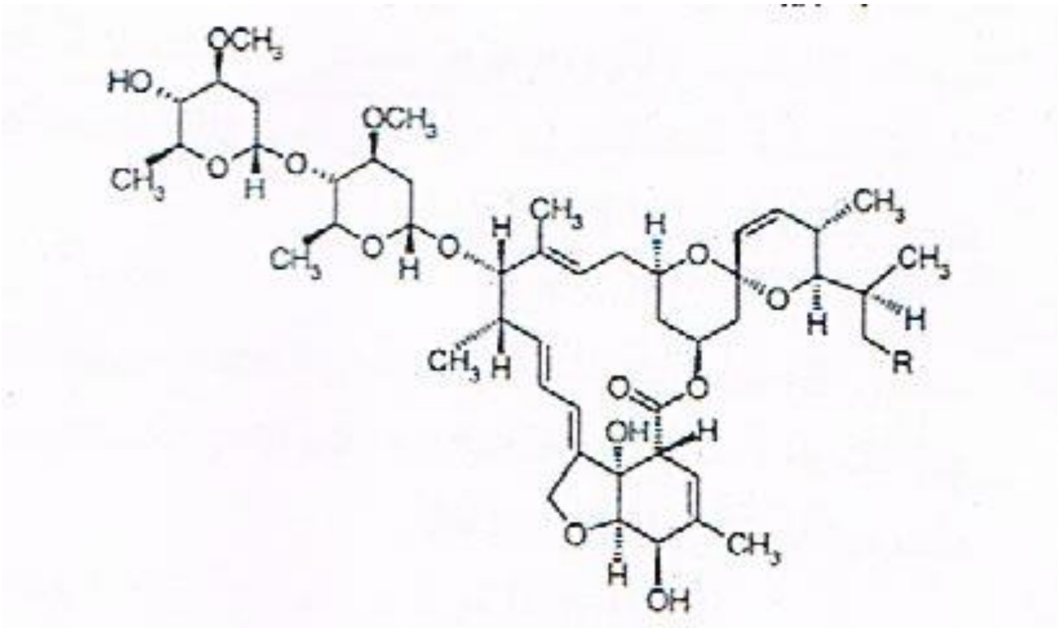
3. 4. 3_ مبيد abamectin

1- الاسم الكيمائي :

5-O- demethylaver mectin A1a(i) mixture with 5-O-demethyl-25-de(1-methylpropyl)-25-(1-methylethyl) avermectin A1a(ii)

.

2- التركيب الكيمائي :



3- الاسم الشائع : abamectin

4- الاسم التجاري : Vertimec ,Vapcomic, abamectin, medamec

5- الصيغة الجزيئية :

$C_{48}H_{72}O_{14}$(avermectin B1a),$C_{47}H_{70}O_{14}$ (avermectin B1b)

6- المجموعة الكيميائية : Avermectin

7- السمية : الجرعة النصف قاتلة LD50 للجرذان عن طريق الفم 300 ملغم / كغم

8- معدل الاستعمال : 0.25 _ 0.5 مل / لتر ماء .

9- الآفات المستعمل لمكافحتها : حفار أوراق الحمضيات , حفار أوراق الطماطة و الحلم الاريوقي على الباذنجان .

10- التركيز المسموح أخذه يوميا" : 0.0001 ملغم / كغم من وزن الجسم .

وهذا ما جاءت به اللجنة الوطنية لتسجيل واعتماد المبيدات The National Committee For Pesrticides Registration & Approval . Iraq. (2002) .

3. 5_ تحضير تراكيز المبيدات المستعملة في الاختبار Pesticides Concentration preparation

بعد تحديد التركيز المثبط الأدنى لكل مبيد والتي كانت كالأتي :

Abamectin	10 مايكروليتر / مل
Bifenthrin	1 مايكروليتر / مل
PropamocarbHCL	1 مايكروليتر / مل

حضرت التراكيز التالية ملغم / لتر ماء مقطر معقم للمبيدات الثلاثة قيد الدراسة 10 ملغم/ لتر , 1 ملغم / لتر و 0.1 ملغم / لتر وبإتباع طريقة التخفيف (Batzing , 2002) .

3. 6_ العزلات البكتيرية

تم الحصول على سلالات بكتريا *Salmonella typhimurium* TA100, TA98 المعدلة جينيا" من قبل :
Professor C. Ioannides
Depart. of food protection . Surray Univirsity . Surray – UK
C.Ioannides@Surrey.ac.uk

3. 7_ تحضير المزرعة البكتيرية الأصلية المستعملة بالاختبار Stock Culture .

اتبعت طريقة Maron وآخرين (1983) لتحضير المزرعة البكتيرية الأصلية وذلك بتنشيط العزلات البكتيرية TA100, TA98 على أطباق بتري من N. agar حضنت بدرجة حرارة 37° ولمدة 24 ساعة , بعد ذلك تم تنشيطها في أنبوبة حاوية على 10 مل من N. broth بحضنها لمدة ثلاث ساعات بدرجة حرارة 37° للحصول على الخلايا البكتيرية في مراحل نشاطها الانقسامي بنهاية الطور اللوغارتمي Log phase أي ما يعادل (10^9 خلية بكتيرية / مل) (ونهاية الطور الثابت يجب أن لا يستعمل في الاختبار) , بعد ذلك تمت عملية نبذ المزرعة البكتيرية بجهاز النبذ المركزي بـ 3000 دورة / دقيقة لمدة ثلاث دقائق بعدها غسلت الخلايا البكتيرية الراكدة في أنبوبة النبذ بعد التخلص من N. broth

بإضافة 5 مل من محلول Normal saline or saline solution المحضر بتركيز 85% (8.5 غم NaCl / لتر ماء مقطر) والمعقم ومن ثم حركت المزرعة لضمان غسل الخلايا ومزجها مع المحلول .

3. 8_ اختبار ايمز Ames test

تم اعتماد مجالين للاختبار التأثير المطفر للمبيدات وهما :

1- الاختبار المباشر للمبيدات (مستحضر تجاري) .

2- اختبار مستخلص الثمار الحاوي على متبقيات المبيدات بمراحل الجني المختلفة .

3. 8. 1 _ طريقة الاختبار المباشر للمبيدات .

تم استعمال طريقتين للاختبار هي :

أ- طريقة الأطباق المدمجة The plate incorporation method

وصفت الطريقة من قبل Ames وآخرون (1975) من دون استعمال إنزيم كبد الفأر S9 للاختبار المواد الكيميائية وتمت خطواتها كالأتي :

1- حضرت المزرعة البكتيرية ذات ثلاث ساعات حضانة لسلالتين TA100 ,TA98

2- ذوبت أنابيب Top agar شبه الصلب بدرجة حرارة 120 م° ووضعت في حمام مائي بدرجة حرارة 50 م° أثناء الاستعمال .

3- حضرت تراكيز المبيد باستعمال المحلول المغذي او الماء المقطر المعقم .

4- أضيف 0.2 مل من كل تركيز من تراكيز المبيد المحضرة مع إضافة 0.2 مل من المزرعة البكتيرية ولسلالتين TA100 و TA98 إلى أنبوبة الاگار شبه الصلب Top agar وبمعدل تكرارين لكل تركيز ولكل سلالة مع تحريك المزيج وصب محتويات الأنبوبة بعد المزج على طبقة من الوسط BMM Bacterial Minimal Medium في الحالة الصلبة في أطباق بتري مع المحافظة على بقاء Top agar ذائبا" قبل الصب في الأطباق بالسيطرة على درجة الحرارة بمعدل 50 C° .

5- حضر طبق المقارنة الموجب Positive control بإضافة 0.2 مل من مادة Methyl methan sulphonate MMS والمحضر بتركيز 0.1 مل / 10 مل من محلول Normal saline مع إضافة 0.2 مل من المزرعة البكتيرية المحضرة للسلالتين TA100 و TA98 إلى أنبوبة الاگار شبه الصلب Top agar وبمعدل تكرارين وحرك المزيج ثم صب في إطباق حاوية على وسط BMM الصلب .

6- حضر طبق المقارنة السالب Negative control بإضافة فقط 0.2 مل من المزرعة البكتيرية إلى أنبوبة Top agar وبمعدل تكرارين ولسلالتين وحرك المزج ثم صب في أطباق BMM الصلب .

7- علّمت الأطباق حسب نوع السلالة وتركيز المبيد المختبر ثم حضنت بدرجة حرارة 37° ولمدة 2-3 يوم لتقرأ النتائج .

ب _ طريقة التقليب The fluctuation test method

وصف الطريقة Gatehouse (1978) التي استعمل فيها صفائح التخفيف المجهرية Microtitre plate هي عبارة عن صفيحة بلاستيكية معقمة ذات غطاء و 96 حفرة wells وتمت الطريقة بالخطوات الآتية :

1- حضرت المزرعة البكتيرية ذي ثلاث ساعات حضانة / 37° .

2- حضرت نفس التراكيز التي استعملت في الطريقة الأولى .

3- أضيف 0.5 مل من كل تركيز محضر إلى 20 مل من وسط BMM بالهيئة السائلة المعقم مع إضافة 0.5 مل من المزرعة البكتيرية المحضرة ثم ترك الخليط ومن ثم أخذ 150 مايكروليتر من كلّ تركيز لملئ كل حفرة من 96 حفرة للصفيحة وغطيت الصفيحة , وعلّمت وبمعدل تكرارين وللسلالتين TA100 و TA98 .

4- حضرت صفيحة المقارنة الموجبة وذلك بإضافة 0.5 مل من مادة MMS مع 0.5 مل من المزرعة البكتيرية إلى أنبوبة حاوية على 20 مل من وسط BMM السائل

المعقم ثم تم اخذ 125 مايكروليتر من الأنبوبة لملئ كل حفرة من الصفيحة وبمعدل تكرارين وللسلالتين .

5- حضرت صفيحة المقارنة السالبة وذلك بإضافة 0.5 مل من المزرعة البكتيرية إلى أنبوبة حاوية على 20 مل من وسط BMM السائل المعقم ومن ثم اخذ 150 مايكروليتر من الأنبوبة لملئ كل حفرة من الصفيحة وبمعدل تكرارين وللسلالتين .

6- حضنت الصفائح بدرجة حرارة 37^{o} ولمدة ثلاث أيام ثم قرأت النتائج .

3. 8. 2_ اختبار مستخلص الثمار الحاوي على متبقيات المبيدات في مراحل الجني المختلفة .

3. 8. 2. 1. إعداد الأنفاق البلاستيكية .

تم التعاون مع مزرعة الرشيد في محافظة كربلاء قرب معمل الثرمستون لإجراء التجارب المتعلقة بالبحث وعلى النحو الآتي :

أجريت عملية تنعيم التربة ثم سقيت جيدا بالماء وتركت مدة أسبوع لكي تجف بعدها نثر مبيد البازاميد بمعدل 40 غم / $م^{2}$ ثم رويت رية خفيفة لغرض السماح لدقائق المبيد بالتغلغل والنفاذ بسهولة للأعماق التربة , ثم غطيت التربة لمدة 2 أسبوع بغطاء بلاستيكي polyethylene لغرض حصر الغازات المتكونة والمعقمة للتربة لكي يتم تطهيرها كليا" من الآفات والبكتريا و الديدان الثعبانية , بعد ذلك تم رفع الغطاء البلاستيكي وتركت لمدة 3 أيام لتجفّ , وقد تم التأكد من خلو التربة من بقايا هذا المبيد بواسطة تجربة الإنبات البسيط باستعمال نبات الرشاد , وقد وجدت التربة صالحة للبدء بعملية الزراعة , بعدها أجريت حراثة سطحية ثم تسوية الحقل وإعداد خطوط الزراعة حيث كان طول الخط 25 م وبعرض 40 سم إذ أنشئت عليه الأنفاق البلاستيكية بأقواس من سعف النخيل بارتفاع 80 سم وعرض 120 سم وغطيت بالغطاء الشفاف polyethylene سمك 150 مايكرون مع ملاحظة فتح الأغطية

صباحا" عندما تكون درجة الحرارة مناسبة لغرض التهوية وخفض نسبة الرطوبة النسبية داخل النفق ثم يعاد عصرا". (العزاوي , 1988) .

3. 8. 2. 2. النباتات المزروعة

تم زراعة محصولي الخيار و الطماطة بتاريخ 2009/2/1 , وفي ما يخص الأصناف المزروعة فقد استعمل الصنف بيتا – ألفا في نبات الخيار و الصنف علا في نبات الطماطة وبمسافة بين النباتات بلغت 35 سم .

3. 8. 2. 3. المبيدات المستعملة .

تم استعمال ثلاثة أنواع من المبيدات كل على انفراد حيث استعمل مبيد bifenthrin EC %10 المنتج من شركة FMC بمعدل 0.5 مل / لتر وكذلك استعمل propamocarb HCL SP%10 المنتج من شركة Agriphar وبمعدل استعمال 1مل /لتر . واستعمل مبيد abamectin 1.8 % EC المنتج في شركة king tech corporation- Chine - KTC بمعدل استعمال 0.25–0.5 مل /لتر .

3. 8. 2. 4. معاملة النباتات بالمبيد وجمع النماذج .

تم معاملة النبات رشا" باستعمال مرشة ظهرية سعة 10 لتر بحيث تمت معاملة النباتات بالمبيد بالكامل وصولا" إلى حالة تساقط القطرات من النبات , المعاملة الأولى للنبات أجريت بعد ملاحظة شدة الإصابة الحشرية داخل النفق البلاستيكي وعندها كان عمر النبات حوالي 15 يوما" بعد البزوغ أما المعاملة الثانية فقد أجريت عند بداية ظهور الثمار وعند هذه المعاملة تم جمع نماذج الثمار وعلى النحو الآتي :

1- قبل ساعة من الرش
2- بعد ساعة من الرش

3- بعد 1 يوم من الرش

4- بعد 3 يوم من الرش

5- بعد 5 يوم من الرش

6- بعد 10يوم من الرش

7- بعد 20 يوم من الرش

3. 8. 2. 5. جمع العينات Specimens collection

جمعت عينات الثمار بطريقة النموذج العشوائي المركب وكان ما يجمع من الثمار بمقدار 500 غم وزنا , توضع العينة في أكياس polyethylene ويحفظ في المجمدة في درجة حرارة 20° تحت الصفر لحين إجراء باقي عملية استخلاص المبيد .

3. 8. 2. 6. أستخلاص المبيدات Extration

أولا" _ مبيد bifenthrin

1 _ يجمع من النماذج المراد اختبارها عينة بمقدار30 غم وتوضع في الخلاط مع (30 غم من كبريتات الصوديوم اللامائية + 50 مل اسيتونايتريل) مدة ثلاث دقائق على السرعة العالية .

2 _ يرشح المزيج باستعمال جهاز الترشيح Filtrations system ويستقبل الراشح عن طريق قمع فصل يحوي 500 مل من 2.5 % كبريتات الصوديوم اللامائية (محلول) .

3 _ تغسل البقايا النباتية بـ 50 مل من اسيتونايتريل ويضاف إلى قمع الفصل .

4 _ يضاف 50 مل كلوروفورم إلى قمع الفصل وترج المحتويات لمدة دقيقة بعدها تفصل طبقة الكلوروفوم وتنقل إلى دورق حجم 500 مل .

5_ يجفف المزيج باستعمال عمود كروموتوغرافي زجاجي طول 30 سم مملوء بكبريتات الصوديوم اللامائية لارتفاع 15 سم يضاف في البداية مستخلص الكلوروفوم الحاوي على

المتبقي من الأعلى ويجمع الناتج من أسفل العمود في دورق حجم 500 مل ويغسل بـ 10 مل من كلوروفورم أخرى ويضاف إلى المستخلص .

6_ تتم عملية التنظيف باستعمال الكاربون النشط (3 غم) لمدة 24 ساعة ويرشح المستخلص بجهاز الترشيح .

7_ يركز الراشح باستعمال Rotary evaporator إذ يتم تبخر الكلوروفورم على درجة 27.5 م وبعد الجفاف الكامل يضاف له 10 مل أسيتون وينقل إلى أنبوبة اختبار أو عبوة صغيرة تحفظ في المجمدة بعيدا عن الضوء (Harwood , 2001) .

* باستعمال طريقة الفصل بالصفائح الرقيقة This Lyaer Chrowatography – TLC بلغت نسبة الاسترجاع بهذه الطريقة 76 % .

ثانيا" : مبيد Propamocarb HCL

1_ يجمع من النماذج المراد اختبارها عينة بمقدار50 غم وتوضع في الخلاط مع 250 مل كحول مثيلي , وعلى السرعة المتوسطة ولمدة 10 دقائق .

2_ يرشح في جهاز الترشيح .

3_ يغسل الخلاط بـ 30 مل كحول مثيلي ولثلاث مرات تضاف إلى الكمية السابقة للترشيح .

4_ يبخر المذيب باستعمال Rotary evaporator .

5_ يضاف 100مل من خلات الاثيل بعد إضافة 2.5 غم من السيلايت في دورق الغليان ويستمر التبخير حتى الجفاف .

6 _ تعاد الخطوة السابقة مرتين .

7_ يذاب ما تبقى في 20 مل من خلات الاثيل ويعاد ذلك ثلاث مرات ويمرر المستخلص على ورق الترشيح موضوع في قمع بخنر يحوي على 5 غم من السيلايت.

8_ يركز الراشح إلى 2–3 مل باستعمال Rotary evaporator ويوضع في عبوة صغيرة في المجمدة لحين أجراء التحليل (Walker & Jam , 1996) .

* باستعمال طريقة الفصل بالصفائح الرقيقة This Lyaer Chrowatography- TLC
بلغت نسبة الاسترجاع بهذه الطريقة 68 % .

ثالثا" : مبيد abamectin

1_: يجمع من النماذج المراد اختبارها عينة بمقدار 25 غم وتوضع في الخلاط مع 25 غم من كبريتات الصوديوم اللامائية مع 50 مل من مذيب اسيتونايتريل مدة ثلاث دقائق على السرعة العالية .

2_ يرشح في جهاز الترشيح ويستقبل الراشح عن قمع فصل الجهاز يحوي على 500 مل من كبريتات الصوديوم اللامائية بتركيز 2.5 % .

3_ تغسل البقايا النباتية بـ 50 مل من اسيتونايتريل ويضاف إلى قمع الترشيح .

4_ يكون التجفيف باستعمال عمود كروموتوغرافي طول 30 سم مملوء بكبريتات الصوديوم اللامائية ويمرر ناتج الاستخلاص على هذا العمود ويتم استقبال الناتج في دورق (لسحب الماء المحتمل وجوده في النماذج بعد الاستخلاص) .

5 – يتم التنظيف (التخلص من الشوائب) باستعمال الكاربون المنشط (3 غم) لمدة 24 ساعة ثم يرشح خلال جهاز الترشيح .

6_ التركيز باستعمال Rotary evaporiter إلى حد الجفاف ثم يغسل الدورق الجاف بـ 15 مل من الأسيتون ويستقبل في أنبوبة اختبار .

7_ يركز حجم المستخلص إلى 5 مل ويوضع في المجمدة لحين إجراء التحليل .
(AL-Samurraei , 2002) .

* باستعمال طريقة الفصل بالصفائح الرقيقة This Lyaer Chrowatography-TLC
بلغت نسبة الاسترجاع بهذه الطريقة 72 % .

3. 8. 2. 7. تقدير بقايا المبيد باستخدام جهاز GLC .

تمت عملية تقدير متبقيات المبيدات بالمساعدة مع مختبرات كلية الزراعة – جامعة بغداد عبر جهاز الكروماتوغراف الغازي السائل Pyeunicum 304 (Gas Liquid Chromatography) بكاشف الطيف أللهيبي (Flame Photometeric detector) (FPD وباستعمال الفلتر الفسفوري (Phosphorus Filter) وقد تم استعمال عمود الفصل الزجاجي (glass colum) بطول 3 متر وبقطر 4 mmid * A 300 cm ، ويعبأ بمادة 3% SE on Gaschrom Q ودقائقها بقطر 800- 100 mesh ويستعمل غاز النتروجين العالي النقاوة 99.99% كغاز حامل Carrier gas بسرعة جريان 40 مل لكل دقيقة و اعتمدت الظروف الآتية في التشخيص :

درجة حرارة العمود (Colum temperature) 215 C^o

درجة حرارة المحقن (Injector temperature) 235 C^o

درجة حرارة الكاشف (Detector temperature) 240 C^o

وقد استعمل المسجل Recorder لحساب جميع التراكيز بحساسية مقدارها 0.5 فولت وسرعة حركة ورق التسجيل في كل العينات 10 سم / دقيقة وقد كانت حساسية جهاز الكروماتوغراف الغازي هي (16 * 10) وقد تم حساب تراكيز المبيد في الثمار من خلال معدل ثلاث حقنات لكل عينة ، وقد اعتمدت المعادلة الآتية لحساب تراكيز المبيد في مختلف العينات للثمار.

$$\text{تركيز المبيد في العينة} = \frac{Y * \overline{V} * C * \Delta}{W * V * \overline{\Delta}}$$

إذ :

Δ : مساحة المثلث أو الذروة (Peak) في العينة .

$\overline{\Delta}$: مساحة المثلث أو الذروة (Peak) للمبيد في المحلول القياسي Standard

C: تركيز المحلول المستعمل في التحليل بوحدة جزء بالمليون ppm (**مايكروغرام/مل**)

$\overline{V}$: حجم المحقون من المحلول المحضر للمبيد وبوحدة مايكروليتر .

Y: الحجم النهائي للعينات (مل) .

V: حجم المحقون من العينة بوحدة مايكروليتر .

W: وزن النموذج المستخدم في الاستخلاص بوحدة كغم .

إن تركيز المبيد المحسوب في العينات بوساطة هذه المعادلة يكون مقدّر بوحدة جزء بالمليون ppm أو ملغم / كغم (APHA , 1980) .

3. 8. 2. 8. تطبيق اختبار ايمز Ames test في اختبار متبقيات المبيدات .

تم إتباع طريقتين لتطبيق الاختبار طريقة الأطباق المدمجة The plate incorporation method وطريقة التقليب The fluctuation method باستعمال سلالتين لبكتريا السالمونيلا وهي TA100 و TA98 وذلك بإتباع الخطوات نفسها في طريقة اختبار المستحضر التجاري لكل مرحلة من مراحل الجني في المحصولين (الطماطة والخيار) ولكل مبيد من المبيدات الثلاث قيد الدراسة وبمعدل تكرارين لكل معاملة .

3. 8. 2. 9.التصميم والتحليل الإحصائي Statistical Analysis

1- في ما يخص اختبار طريقة الأطباق المدمجة The plat incorporation فقد تم تحليل النتائج بعد تصميم التجربة كتجربة عامليه لعامل واحد هو تركيز المبيد المستعمل بالاعتماد على اختبار تحليل التباين ANOVA tabal وبمكررين ثم قورنت المتوسطات باستعمال اقل فرق معنوي .L.S.D وعلى مستوى احتمالية 0.05 .

2- ما يخص الاختبار بطريقة التقليب Fluctuation test تم تحليل النتائج باختبار X^2 equation التي وصفها Libbell عام (1976) وبالاعتماد على المعادلة الآتية :

$$X^2 = \frac{2n\,(t-c-\tfrac{1}{2})}{}$$

$$(t+c)(2n-t-c)$$

إذ إن:

n = العدد الكلي للحفر الصفيحة الواحدة .

t = العدد الكلي للحفر العكرة (نمو البكتريا) للصفيحة المعاملة .

c = العدد الكلي للحفر العكرة لمعاملة السيطرة السالبة .

ثم تقارن النتائج بقيمة X^2 الجدولية تحت مستوى احتمالية 0.05 .

3− حساب الانحراف القياسي Standrard deviation لكل معاملة في الاختبار.

الفصـــل الرابــع
النتائـــــــج والمناقشة
Results and Discussion

1.4 مبيد bifenthrin

1.1.4 الاختبار المباشر للمبيد .

أ _ طريقة الأطباق المدمجة The plate incorporation method

أشارت النتائج الواردة في جدول (1) الى أن هناك تأثيرا" مطفرا" لمبيد bifenthrin في بكتريا السالمونيلا *Salmonella typhimurium* لسلالة TA100 عند التراكيز المستعملة كافة إذ يلحظ إن معدل أعداد المستعمرات المنعكسة يزداد بزيادة التراكيز ألمستعمله حيث بلغ ±28.3 780 مستعمرة منعكسة عند استعمال التركيز 0.1 ملغم / لتر وازدادت هذه الأعداد بزيادة التركيز لتصل إلى28.3 ±1000 مستعمرة عند التركيز 10 ملغم/ لتر بالمقارنة مع 5.7 ±64 مستعمرة منعكسة ذاتيا" في معاملة المقارنة السالبة و 141.4±1500 مستعمرة لمعاملة المقارنة الموجبة ,

جدول (1) تأثير مبيد bifenthrin في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة الأطباق المدمجة The plate incoporation.

LSD	المقارنة الموجبة MMS	10ملغم/لتر	1ملغم/لتر	0.1ملغم/لتر	المقارنة السالبة	التركيز / عدد المستعمرات
81.02	1500 ± 141.4	1000 ± 28.3	890 ± 42.4	780 ± 28.3	64 ± 5.7	السلالة TA100
7.1	72 ± 2.8	72 ± 2.8	63 ± 2.8	53 ± 1.4	18 ± 2.8	السلالة TA98

تحت مستوى احتمالية 0.05

عند إجراء الاختبار باستعمال السلالة TA98 لوحظ كذلك زيادة أعداد المستعمرات البكتيرية المنعكسة بزيادة التراكيز المستعملة إذ بلغ معدل أعدادها 53±1.4 , 72±2.8 مستعمرة منعكسة عند استعمال التركيز 0.1 , 10 ملغم /لتر على التوالي في حين بلغ معدل أعداد المستعمرات المنعكسة في معاملة المقارنة السالبة 18±2.8 مستعمرة و72±2.8 مستعمرة لمعاملة السيطرة الموجبة , ومن هذه النتيجة نستدل على شدة تأثير المبيد عند استعماله بتركيز 10 ملغم/لتر , فعند المعاملة بهذا التركيز أعطى نتائج أعداد المستعمرات نفسها التي تم الحصول عليها من معاملة السيطرة الموجبة . إن الاختلاف في التأثير المطفر في السلالتين ناتج عن اختلاف ميكانيكية حدوث التأثير المطفر لكل منهما ففي سلالة TA100 نوع الطفرة فيها ناتج عن استبدال قاعدة نايتروجينية واحدة بدل الاخرى (الطفرة الموضعية) Point mutation أما في السلالة TA98 الطفرة من نوع frameshifet mutation وهو استبدال أو حذف أو إضافة نيوكلوتيدة واحدة أو أكثر ما قد يؤدي إلى موت البكتريا التي حدثت فيها الطفرة , وان السلالة TA100 هي أكثر حساسية في الكشف عن التأثيرات المطفرة للمطفرات والمسرطنات يلحظ ذلك من نسبة الأعداد لمستعمرات المنعكسة التي يتم الحصول عليها عند استعمالها في الاختبار (Pagano *et al*., 1992 ; Maron *et al*., 1983) .

وأشارت نتائج التحليل الإحصائي إن هنالك فروق معنوية إحصائية بين التراكيز المستعملة كافة ومعاملة السيطرة السالبة في كلا سلالتي البكتريا المستعملة .

ب- طريقة التقليب The fluctuation method

من النتائج المبينة في جدول (2) يتضح أن لمبيد bifenthrin تأثيرا" مطفرا" في سلالتي من بكتريا *S. typh.* موضوع الاختبار وهي TA100 & TA98 إذ بلغ معدل أعداد الحفر الغير رائقة – العكرة (التي يستدل منها على تأثير المادة في تطفير البكتريا ونموها) 28±1.4 حفرة عكرة في معاملة السيطرة السالبة و 94±5.7 حفرة عكرة في معاملة السيطرة الموجبة من اصل 96 حفرة في صفيحة التخفيف المستعملة في الاختبار هذا فيما يخص السلالة TA100 , التي بلغ معدل أعداد الحفر العكرة عندها 72±1.4

حفرة باستعمال التركيز الواطئ0.1 ملغم/لتر وأزداد ليصل إلى 91±4.2 حفرة باستعمال التركيز 10 ملغم/ لتر .

جدول (2) تأثير مبيد bifenthrin في نمو سلالتين من بكتريا *Salmonella typhimurium* بطريقة التقليب The fluctuation method.

التركيز / عدد الحفرالعكرة	المقارنة السالبة	0.1ملغم/لتر	1ملغم/لتر	10ملغم/لتر	المقارنة الموجبة MMS
السلالة TA100	28 ± 1.4	72* ± 1.4	81* ± 1.4	91* ± 4.2	94 ± 5.7
السلالة TA98	22 ± 1.4	59* ± 1.4	72* ± 1.4	81* ± 1.4	88 ± 2.8

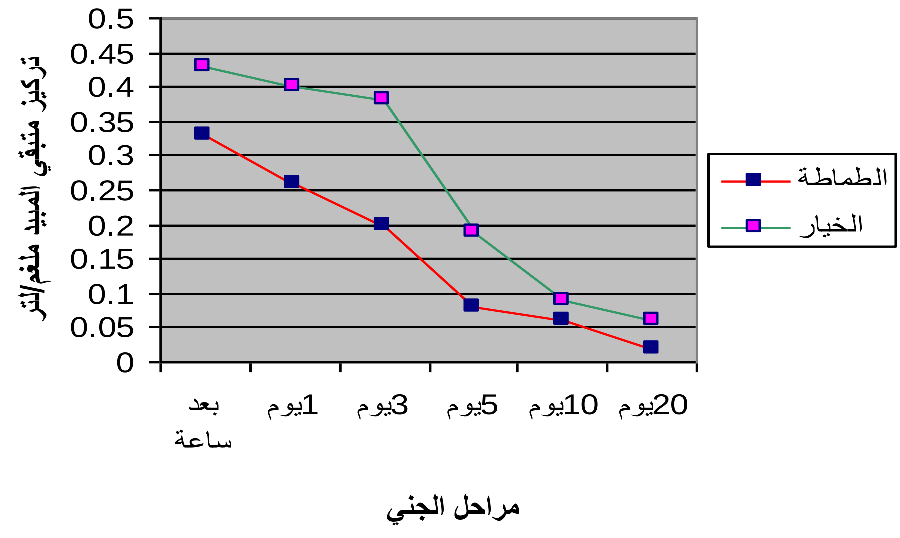
* فروق معنوية تحت مستوى 0.05 .

عند إجراء الاختبار باستعمال السلالة TA98 يلاحظ إن المفهوم العام للنتائج جاء مشابها لما ورد في السلالة الأولى من حيث العلاقة الطردية بين التراكيز المستعملة وأعداد الحفر العكرة فبلغ 22±1.4 حفرة عكرة عند الاختبار السالب و 59±1.4 72±1.4, 81±1.4 حفرة عكرة عند التراكيز 0.1 , 1 , 10 ملغم/لتر على التوالي في حين بلغ2.8± 88 حفرة عكرة عند الاختبار الموجب, وعند مقارنة هذه النتائج مع ما ورد في طريقة الأطباق المدمجة التي ورد ذكرها في 4-1-1-أ يلحظ وجود تشابه ما في نتائج السلالتين بالمقارنة مع الطريقة السابقة من جهة التأثير المطفر للمبيد في البكتريا عدا كون إن اختلاف التأثير بين السلالتين كان أكثر وضوحا في الاختبار الأول بالمقارنة مع الاختبار الثاني ، وقد أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى فروق معنوية بين التراكيز المستعملة ومعاملة السيطرة السالبة وفي كلا السلالتين . لم تتفق هذه النتائج مع ما ذكره Kennelly وآخرون (1988) في بحثه الذي أجراه حول التحري عن التأثير المطفر لمبيد bifenthrin بفعالية (88.4%) باستعمال اختبار ايمز لبكتريا السالمونيلا فذكر أن نتيجة الاختبار سالبة , فلا

وجود لتأثير المبيد في الخلايا البكتيرية , ولم يتم الحصول على معلومات أكثر في ما يخص نوع المادة فيما إذا كانت قياسية أم مستحضر تجاري ونوع المستحضر والمنشأ وغيرها , وقد يعود ذلك الاختلاف إلى استعمال المركب التجاري الذي ربما يحتوي على شوائب أخرى قد تكون هي بحد ذاتها مطفرة أو ربما تتفاعل مع المادة الفعالة للمبيد ما يؤدي الى تأثيرات خطرة . ومما تجدر الإشارة إليه هنا أن هذه النتائج قد تتفق مع نتائج البحث الذي اجري باستعمال اختبار mouse lymphoma cells للتحري عن التأثير المطفر للمبيد في الخلايا اللمفية للفئران بتركيز 0.24 – 0.018 مايكروليتر / مل للمبيد بفعالية 88.3% إذ تم الحصول على نتائج موجبة من ناحية تأثير تركيز المبيد في ترتيب سلسلة DNA للخلايا اللمفية (Kirby , 1983) . فضلا" على ما أشير إليه في EPA عام 1985 يكون المبيد يمتلك تأثيرا" مطفرا" في استعمال الخلايا اللمفية للجرذان من خلال دراسة تأثيراته على الخلايا في استعمال eukaryotic mouse lymphoma appoint mutation test إذ لوحظ الزيادة المعنوية بأعداد المطفرات الموضعية بمستوى 20 مايكرو غرام / مل . وقد تتفق النتائج مع ما ذكر في EPA (2002) من دراسات أجريت لتحري عن التأثير المسرطن للمبيد في الفئران بعد معاملتها بجرع 7 ، 29 ، 71 ، 86 ملغم / كغم فقد أظهرت نتائج البحث حدوث الإصابة بأورام متزايدة في المثانة وازدادت عند التركيز 86 ملغم/كغم . وربما جاءت النتائج متفقة مع ما ذكر في دراسة للتحري عن تأثيرات السمية الجينية للمبيد bifenthrin فقد عوملت الفئران لمدة 20 شهرا" في جرع 0 ، 500 ، 600 ppm فتبين من الدراسة النسب العالية في حالات الإصابة بأورام المثانة للفئران (Butlere *et al.*, 1991) . وأشار Geiger وآخرون (1986) الى أن مبيد bifenthrin تسبب بنسبة إصابة بالسرطان عند الجرع العالية المعامل بها الفئران 50 ، 200 ، 500 ، 600 ppm . وقد أشير إلى عدم توفر معلومات كافية عن التأثير المطفر المحتمل لمبيد bifenthrin لكن له تأثيرات مسرطنة محتملة للإنسان (EPA , 2002) .

4. 1. 2. دراسة تلاشي مبيد bifenthrin في الثمار .

يوضح الشكل (4) ارتفاع تركيز المبيد بعد المعاملة مباشرة بعد مرور ساعة واحدة إذ بلغ 0.33 ملغم/ لتر في محصول الطماطة وانخفض هذا التركيز بعد يوم من المعاملة إلى 0.26 ملغم/لتر واستمر بالانخفاض مع مرور الزمن ولكن بنسب مختلفة حيث بعد ثلاثة أيام من المعاملة وصل التركيز إلى 0.2 ملغم/لتر وعند الوصول إلى اليوم الخامس بعد المعاملة انخفض التركيز بدرجة كبيرة ليصل إلى 0.08 ملغم/لتر وبعبارة أخرى فقد ما يقرب من 60% من كمية المبيد التي كانت في اليوم الثالث وذلك عند الوصول إلى اليوم الخامس واستمر انخفاض تركيز المبيد في الثمار ليصل التركيز إلى 0.02 ملغم/لتر بعد عشرين يوم من عملية الرش .



شكل (4) تلاشي مبيد bifenthrin في محصولي الطماطة والخيار

أما في محصول الخيار فقد جاءت النتائج متشابهة نوعا ما من جهة كون أعلى تركيز للمبيد كان في الساعة الأولى بعد الرش إذ بلغ التركيز 0.43 ملغم/لتر وبدأ بالانخفاض حتى وصل إلى أوطأ مستوى بعد عشرين يوم من المعاملة إذ بلغ 0.06

ملغم/لتر ولوحظ انه مثل ما حصل في محصول الطماطة حصل هنا فأكثر المراحل تأثيرا في تقليل متبقيات المبيد هي المدة المحصورة بين اليوم الثالث والخامس وعند مقارنة كمية المبيد خلال المرحلة الواحدة بين المحصولين وجد أن كمية المبيد في محصول الخيار أكثر منه في الطماطة أي عند حساب كمية المبيد في عشرين يوم من المعاملة فانه يلحظ أن في محصول الطماطة تم فقدان ما يقرب من 94% من كمية المبيد المحسوبة بعد ساعة من المعاملة أما في محصول الخيار فان كمية الفقد بلغت 86% وهذا يكون ناتج من خشونة قشرة الثمرة في الخيار بالمقارنة مع الطماطة مما يؤدي إلى احتفاظه بكمية اكبر من المبيد عند الرش (العزاوي , 1988) . أو قد يعزى ذلك إلى أسباب فسلجية تتعلق بالقابلية على الامتصاص والخزن في أنسجة النبات .

3.1.4 _ تأثير متبقيات مبيد bifenthrin في البكتريا .

أ- طريقة الأطباق المدمجة The plate incoporation method

بينت النتائج في جدول (3) أن عدد المستعمرات المنعكسة تناسبت مع مدة ما قبل الجني وذلك عند اختبار مستخلص الثمار بعد ساعة من عملية الرش لنبات الطماطة بلغ معدل أعداد المستعمرات المنعكسة 35.4±675 مستعمرة في سلالة TA100 وبلغ 35.4±755 مستعمرة في محصول الخيار ويلحظ انخفاض هذه الأعداد بعد يوم من المعاملة حيث بلغ56.7± 560 و 21.2±715 مستعمرة للمحصولين على التوالي واستمر الانخفاض في معدل المستعمرات لغاية اليوم العشرين بعد الرش إذ بلغت7.07± 255 مستعمرة في الطماطة و 21.2±365 مستعمرة في الخيار مقارنة بمعدل المستعمرات المنعكسة ذاتيا" في معاملة المقارنة السالبة التي بلغت في محصول الطماطة1.4± 64 مستعمرة و 2.8±68 مستعمرة لمحصول الخيار , أما فيما يخص السلالة TA98 فقد جاءت النتائج مشابهة لما في السلالة TA100 من ناحية العلاقة بين عدد المستعمرات ومدة ما قبل الجني بلغ إذ أعلى عدد للمستعمرات عند إجراء عملية الاستخلاص بعد مدة وجيزة من عملية الرش إذ بلغت 1.4±59 مستعمرة منعكسة عند التركيز 0.33 ملغم /لتر وانخفضت الأعداد بزيادة هذه المدة حتى بلغت إلى اقل أعدادها عند إجراء الجني بعد عشرين يوما" بعد عملية الرش

حيث كـان تركيـز المبيـد 0.02 ملغم/لتـر حيـث بلـغ معـدل أعـداد المسـتعمرات 20±2.8 مسـتعمرة , هـذا مـا يخـص محصـول الطماطـة أمـا فـي محصـول الخيـار فـان أعلـى عـدد للمستعمرات كان 62±2.8 مستعمرة منعكسة وهي التي تم الحصول عليها عند إجراء جني المحصول بعد ساعة من عملية الرش وبلغ عندها تركيز المبيد في المستخلص 0.43 ملغم / لتر واستمرت الأعداد بالانخفاض لتصل إلى مرحلة الجني الأخيرة والتي كانت كمية المبيد فيها قد انخفضت وصولا" إلى تركيز 0.06 ملغم /لتر حيث بلغ المعدل 20±2.8 مستعمرة هذا مقارنة بمعاملة المقارنة السالبة اذ بلغ المعدل 18±2.8 و19±1.4 مستعمرة لمحصولي الطماطة والخيار على التوالي . ويلحظ من ناحية أخرى أن أعداد المستعمرات عند إجراء الاختبار بهذه السلالة كان اقل من السلالة TA100 ولمراحل الجني كافة , وكذلك الحال في اختبار معاملة المقارنة السالبة والسبب يعود إلى الاختلاف بين الطفرة التي تكشفها كل من السلالتين وكما وضح سابقا" في 4. 1.1 .أ .

وقد أوضحت نتائج التحليل الإحصائي أن هنالك فروقا" معنوية تحت مستوى احتمالية 0.05 بين جميع مراحل الجني ومعاملة المقارنة السالبة لسلالة TA100 وهذا يعني أن للمبيد تأثيرا"مطفرا"عند جني الثمار بعد عشرين يوما" من المعاملة ، أما ما يخص السلالة TA98 لم يلحظ فروق معنوية إحصائية في المرحلتين الأخيرتين في محصول الطماطة وهي الجني بعد 10 , 20 يوما" بعد المعاملة بالمقارنة مع معاملة المقارنة السالبة وكذلك عند الجني بعد 20 يوم في محصول الخيار إذ لم يلحظ أيضا" وجود الفروق المعنوية الإحصائية بين اختبار المقارنة السالبة ومستخلص الثمار في هذه المرحلة, يعني ان المبيد قد تلاشى تأثيره التطفيري على البكتريا والسبب قد يعود إلى الانخفاض الكبير في الكمية المتبقية من المبيد في الثمرة إذ لم تظهر عندها علاقة التركيز وتأثير المبيد على نمو المستعمرات البكتيرية .

جدول (3) تأثير متبقي مبيد **bifenthrin** في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا ***S. typh.*** بطريقة الأطباق المدمجة .

النبات	محصول الطماطة									محصول الخيار							
مراحل الجني	المقارنة الموجبة MMS	بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة	L.S.D. 0.05	بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة	L.S.D. 0.05
التركيز ملغم/لتر / عدد المستعمرات		0.33	0.26	0.2	0.08	0.06	0.02	المقارنة السالبة		0.43	0.4	0.38	0.19	0.09	0.06	المقارنة السالبة	
السلالة TA100	1400 ± 45.4	675 ± 35.4	560 ± 56.7	550 ± 42.4	465 ± 21.2	355 ± 7.07	255 ± 7.07	64 ± 1.4	23.4	755 ± 35.4	715 ± 21.2	640 ± 28.3	510 ± 14.1	430 ± 28.3	365 ± 21.2	68 ± 2.8	27.7
السلالة TA98	74 ± 2.8	59 ± 1.4	47 ± 4.2	45 ± 1.4	36 ± 2.8	22 ± 2.8	20 ± 2.8	18 ± 2.8	6.2	62 ± 2.8	59 ± 1.4	51 ± 1.4	45 ± 1.4	38 ± 2.8	20 ± 2.8	19 ± 1.4	5.1

ب – طريقة التقليب The fluctuation method

عند اختلاف استعمال طريقة الاختبار لتقييم تأثير المبيد أظهرت النتائج في جدول (4) اختلاف التأثير في مراحل الجني إذ بينت نتائج التحليل الإحصائي إن هنالك فروقا معنوية إحصائية بين معاملة السيطرة السالبة ومراحل الجني المختلفة لمحصول الطماطة وذلك عند استعمال السلالة TA100 إذ بلغ عدد الحفر في معاملة السيطرة 1.4±29 حفرة بينما بلغ العدد بعد ساعة من عملية الرش 1.4±73 حفرة واستمر العدد بالانخفاض ليصل إلى 2.8±43 حفرة بعد 20 يوم من عملية الرش وهذا يشير إلى وجود تأثير للمبيد حتى بعد عشرين يوم من الرش في بكتريا السالمونيلا لتلك السلالة في حين لم تظهر السلالة TA98 التأثير التطفيري للمبيد بعد عشرين يوما" من المعاملة حيث بلغ عدد الحفر في معاملة المقارنة السالبة 1.4±23 حفرة بينما بلغ1.4± 31 حفرة في المرحلة الأخيرة من مراحل الجني حيث أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى عدم معنوية الفروق بين هاتين المعاملتين ، أما في محصول الخيار فقد أوضحت نتائج في الجدول ذاته التأثير التطفيري للمبيد عند معاملة النبات وجني المحصول بعد فترات زمنية مختلفة وأظهرت نتائج الاختبارين في كلا السلالتين التأثير التطفيري للمبيد في متبقيات الثمار مقارنة مع معاملة المقارنة السالبة ما عدا في حالة واحدة وهي عند الجني بعد عشرين يوما" وإجراء الاختبار باستعمال السلالة TA98 إذ لم تظهر النتائج اختلافا" إحصائيا" عن معاملة المقارنة السالبة ، عند مقارنة نتائج الطريقتين لاختبار Ames فقد تبين وجود اختلاف في تأثير المبيد في نمو البكتريا عند اختبار المستخلص الحاوي على متبقيات المبيد للمحصول الطماطة في سلالة TA98 والسبب يعود إلى أن طريقة التقليب fluctuation test هي من أكثر طرق Ames test حساسية في كشف التأثير المطفر للمواد الكيمائية من الطرق الأخرى . (Gatehous,1994) .

جدول (4) تأثير متبقي مبيد bifenthrin في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا *S. typh*. بطريقة التقليب .

النبات	محصول الطماطة								محصول الخيار						
مراحل الجني		بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة	بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة
التركيز ملغم/لتر / أعداد الحفر العكرة	المقارنة الموجبة MMS	0.33	0.26	0.2	0.08	0.06	0.02	المقارنة السالبة	0.43	0.4	0.38	0.19	0.09	0.06	المقارنة السالبة
السلالة TA100	94 ± 2.8	*73 ± 1.4	*64 ± 1.4	*61 ± 1.4	*51 ± 1.4	*46 ± 2.8	*43 ± 2.8	29 ± 1.4	*76 ± 2.4	*71 ± 1.4	*67 ± 1.4	61* ± 1.4	*52 ± 1.4	*44 ± 2.8	29 ± 2.8
السلالة TA98	90 ± 1.4	*62 ± 2.8	*57 ± 1.4	*51 ± 1.4	*42 ± 2.8	*39 ± 1.4	31 ± 1.4	23 ± 1.4	*67 ± 1.4	*64 ± 1.4	*59 ± 1.4	*46 ± 1.4	*41 ± 1.4	37 ± 2.8	24 ± 2.8

* فروق معنوية تحت مستوى 0.05 .

2.4_ مبيد propamocarb HCL

1.2.4 – الاختبار المباشر للمبيد .

أ _ طريقة الأطباق المدمجة The plate incoporation.

تم التحري عن التأثير المطفر لمبيد propamocarbHCL في بكتريا السالمونيلا وللسلالتين TA98 , TA100 وذلك عند اختبار المستحضر التجاري إذ أشارت النتائج في جدول (5) إلى علاقة طردية بين التراكيز المستعملة والتأثير التطفيري للمبيد الذي يستدل عليه من نمو المستعمرات البكتيرية اذ وجد ان زيادة اعداد المستعمرات المنعكسة تزداد بزيادة تركيز المبيد فقد بلغ أعلى معدل لإعداد المستعمرات المنعكسة 1005±7.07 مستعمرة عند التركيز 10 ملغم/ لتر وتناقص ليصل إلى 925±35.3 مستعمرة عند التركيز 1 ملغم/لتر وكان أوطأ معدل عند التركيز 0.1 ملغم /لتر إذ بلغ 730±42.4 مستعمرة منعكسة مقارنة بـ 63±1.4 مستعمرة لمعاملة المقارنة السالبة و 1575±35.5 مستعمرة لمعاملة المقارنة الموجبة ،

جدول (5) تأثير مبيد propamocarb HCL في نمو سلالتين من بكتريا *S. Typh.* بطريقة الأطباق المدمجة

التركيز / عدد المستعمرات	المقارنة السالبة	0.1ملغم/لتر	1ملغم/لتر	10ملغم/لتر	المقارنة الموجبة MMS	LSD 0.05
السلالة TA100	63 ± 1.4	730 ± 42.4	925 ± 35.3	1005 ± 7.07	1575 ± 35.5	77.3
السلالة TA98	21 ± 1.4	44 ± 1.4	54 ± 1.4	63 ± 2.8	65 ± 1.4	6.2

وعند اختبار المبيد باستعمال السلالة TA98 كان أوطأ معدل للأعداد المستعمرات المنعكسة عند التركيز 0.1 ملغم / لتر فقد كانت 44±1.4 مستعمرة منعكسة وازدادت لتصل 54±1.4، 2.8 ±63 مستعمرة عند التراكيز 1 ، 10 ملغم / لتر على التوالي مقارنة بـ 1.4

21± مستعمرة لمعاملة المقارنة السالبة و 1.4±65 مستعمرة لمعاملة السيطرة الموجبة والتي عندها لا يوجد اختلاف معنوي بينها وبين التركيز 10 ملغم / لتر ويستدل من ذلك مدى شدة تأثير المبيد في تطفير للبكتريا عند أعلى تركيز مستعمل إذ تقاربت كثيرا مع قيمة معاملة السيطرة الموجبة . وقد أشارت نتائج التحليل الإحصائي الى أن هنالك فروقا" معنوية تحت مستوى احتمالية 0.05 بين جميع التراكيز المستعملة ولسلالتين ومعاملة السيطرة السالبة . جاءت هذه النتائج مخالفة لنتائج الدراسة التي أجراها Fenne & Jones (1987) إذ حصل الباحثان على نتائج سلبية عند اختبار مبيد propamocarbHCL (68.6 %) باستعمال اختبار ايمز لبكتريا السالمونيلا TA100, TA98, TA1535 بتركيز 15−5000 مايكرو غرام/ الطبق ولم يتم الحصول على معلومات كافية عن نوع المستحضر المستعمل أو المنشأ أو إن كانت المادة تحت الاختبار قياسية أو مستحضرا" تجاريا" .

وعلى وفق ما أشارت إليه EPA (2002) انه لم تتوفر دراسات كافية تكشف عن حالات التسرطن لمبيد PropamocarbHCL . وقد يعزى سبب التعارض هذا إلى وجود شوائب كيميائية مع المستحضر التجاري الذي تم اختباره لذا يجب التأكيد على دراسة تحليلية للمركب التجاري وتحديد الشوائب إن وجدت للتعرف على الطبيعة السمية للجينات في هذا المركب .

ب- طريقة التقليب The fluctuation method .

أشارت نتائج طريقة التقليب في بيان الأثر التطفيري لمبيد propamocarbHCL في بكتريا السالمونيلا ولسلالة TA100 , TA98 المبينة في جدول (6) إن هذا التأثير يعتمد على التركيز المستعمل في الاختبار أي كلما زاد تركيز المبيد المستعمل ازدادت فعاليته المطفرة للبكتريا وذلك واضح" من الزيادة في أعداد الحفر العكرة الدالة على نمو البكتريا بعد تعريضها للمبيد , حيث بلغ معدل أعداد الحفر العكرة في سلالة TA100 عند تركيز 0.1 ملغم / لتر2.8± 70 حفرة , في حين ازدادت لتصل إلى 1.4±89 حفرة عند تركيز 10 ملغم /لتر مقارنة بمعاملة السيطرة الموجبة التي بلغ فيها معدل الحفر 1.4±94 من أصل 96 حفرة في صفيحة التخفيف المستعملة في الاختبار و 1.4±27 حفرة لمعاملة المقارنة السالبة , عند اختبار المبيد بسلالة TA98 كان معدل أعداد الحفر ذات العكورة عند أعلى تركيز 2.8±68 حفرة وتناقص العدد ليصل إلى 1.4±51 حفرة بتركيز 0.1 ملغم

/لتر ووصل إلى2.8± 58 حفرة عند اقل تركيز مستعمل مقارنة بـ 91±1.4 حفرة لمعاملة السيطرة الموجبة و21±1.4 حفرة لمعاملة السيطرة السالبة إذ يلحظ العلاقة الطردية بين فعالية ،

جدول (6) تأثير مبيد propamocarb HCL في نمو سلالتين من بكتريا *S. Typh.* بطريقة التقليب The fluctuation test

التركيز / أعداد الحفر العكرة	المقارنة السالبة	0.1ملغم/لتر	1ملغم/لتر	10ملغم/لتر	المقارنة الموجبة MMS
السلالة TA100	27 ± 1.4	70 ± 2.8*	79 ± 1.4*	89 ± 1.4*	94 ± 1.4
السلالة TA98	21 ± 1.4	51 ± 1.4*	58 ± 2.8*	68 ± 2.8*	91 ± 1.4

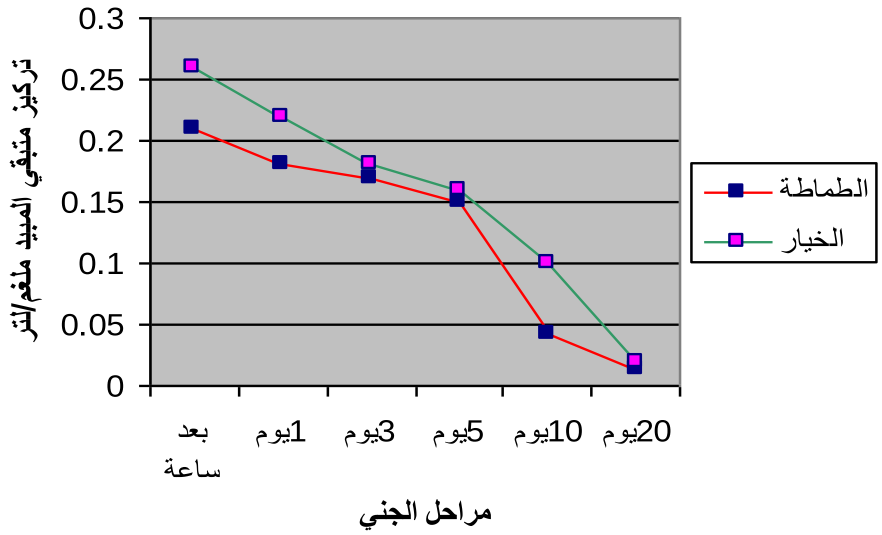
* فروق معنوية تحت مستوى 0.05 .

التطفير للمبيد وأعداد الحفر العكرة . وقد أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى فروق معنوية تحت مستوى احتمالية 0.05 ولجميع التراكيز المستعملة وللسلالتين .

4. 2. 2. تلاشي مبيد propamocaeb HCL في الثمار .

يوضح الشكل (5) نسب الاختلاف الواضحة بين تراكيز المبيد في مراحل الجني المختلفة في محصول الطماطة إذ كان أعلى تركيز للمبيد عند المرحلة الأولى 0.21 ملغم/لتر وانخفض التركيز ليصل إلى 0.18 ملغم/لتر في المرحلة الثانية بعد يوم من الرش ثم استمر تركيز المبيد بالانخفاض حتى وصل إلى 0.013 ملغم/لتر عند المرحلة الأخيرة من الجني (بعد عشرين يوم من المعاملة) ومن الملاحظ أيضا أن اختلاف تراكيز المراحل كان بنسب متفاوتة فبعد خمسة أيام من المعاملة وصل التركيز 0.15 ملغم/لتر , وفي اليوم

العاشر من المعاملة , أي في المرحلة ما قبل الأخيرة وصل التركيز إلى 0.013 ملغم / لتر , أي انخفض بشكل كبير وفقد ما يقارب حوالي (65 %) من كمية المبيد التي كانت في اليوم الخامس ، وكذلك الحال في محصول الخيار أيضا" بلغ أعلى تركيز لمتبقي المبيد بعد ساعة من الرش , واستمر بالانخفاض ليصل إلى أدنى تركيز بعد عشرين يوم من الرش في المرحلة الأخيرة من مراحل الجني كذلك الاختلاف الواضح في نسب التلاشي بين المراحل إذ لوحظ أن أكثرها اختلافا مقارنة بالمراحل الأخرى هي المدة المحصورة بين المرحلة الخامسة والسادسة 10 و 20 يوما" بعد الرش إذ كان التركيز في المرحلة الخامسة 0.1 ملغم/لتر وانخفض ليصل إلى 0.02 ملغم/لتر بعد عشرين يوما" من الرش فقد كانت نسبة الانخفاض تقريبا (80%) من كمية المبيد الموجودة في المرحلة الخامسة ، لمقارنة كمية ما تبقى من المبيد في المحصولين لكل مرحلة من مراحل الجني تبين أن النتائج كانت مشابهة لما وجد في دراسة تلاشي مبيد bifenthrin من حيث الزيادة الواضحة في كمية متبقي المبيد في محصول الخيار عنه في الطماطة ويعود السبب كما ذكر إلى الاختلاف في خشونة القشرة الخارجية للمحصولين أو إلى الاختلاف في ميكانيكية النظام الايضي للثمرة وقدرتها بالاحتفاظ بكمية اكبر من المبيد .(العزاوي ، 1988) .



شكل (5) تلاشي مبيد propamocarbHCL في محصولي الطماطة والخيار

وجدير بال... فأن انخفاض تركيز المبيد في هذه المراحل يختلف عما في المراحل الأولى إذ استلمت الثمار

حينها المبيد مباشرة بينما في المراحل الأخيرة فأن المبيد وصل إلى الثمرة عن طريق النقل خلال الأنسجة لاسيما وان المعروف عن هذا المبيد كونه جهازي النقل (Farm chemical , 2000) .

عند حساب كمية المتبقي من المبيد في المرحلة الأخيرة من الجني وللمحصولين قد لوحظ إن محصول الطماطة فقد ما يقرب (94 %) من كمية المبيد المحسوبة في المرحلة الأولى وفي محصول الخيار فقد بلغت نسبة الفقد (92 %) .

3.2.4_ تأثير متبقيات مبيد propamocarbHCL في الثمار .

أ_ طريقة الأطباق المدمجة The plate incoporation.

أشارت نتائج جدول (7) إلى تفوق تراكيز متبقيات المبيد في المراحل الأولى من جني محصول الطماطة في تأثيرها التطفيري في البكتريا على تراكيز المراحل الأخيرة ولسلالتين حيث بلغ أعداد المستعمرات المنعكسة عند التركيز 0.21 ملغم/لتر المتمثل بالمرحلة الأولى (بعد ساعة من الرش)14.1± 800 مستعمرة للسلالة TA100 و 53±1.4 مستعمرة لسلالة TA98 مع ملاحظة تناقص أعداد المستعمرات عند التتدرج في مراحل الجني لتصل إلى أوطأ معدل للمستعمرات بعد عشرين يوما" من المعاملة عند التركيز0.013 ملغم/لتر إذ بلغت 12.7±345 مستعمرة لسلالة TA100 و2.8± 20 مستعمرة لسلالة TA98 مقارنة بمعاملة المقارنة السالبة والتي بلغت 2.8±72 مستعمرة منعكسة ذاتيا لسلالة TA100 و 4.2±19 مستعمرة للسلالة TA98 ، و أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود فروق معنوية إحصائية لجميع مراحل الجني للسلالة TA100 ومعاملة المقارنة السالبة بينما للسلالة TA98 لم تظهر فرقا" معنويا" بالمرحلتين الأخيرتين بتركيز 0.043 , 0.013 ملغم/لتر على التوالي بينما كانت هنالك فروقا معنوية إحصائية بمستوى احتمالية 0.05 للتراكيز 0.2 , 0.18 , 0.17 , 0.15 ملغم/لتر ومعاملة المقارنة السالبة . أما فيما يخص محصول الخيار فقد اتضح أن للمبيد تأثيرا" مطفرا" في السلالتين المستعملة إذ لوحظ أن معدل أعداد المستعمرات المنعكسة للمعاملة المقارنة السالبة 2.8±70 مستعمرة لسلالة TA100 وازداد المعدل ليصل إلى 12.7±874 , 805±7.07 , 774 ±11.3 , 715 ±21.2 , 685±14.6 , 549±26.9 مستعمرة للمراحل

الجني عند التراكيز 0.26 , 0.22 , 0,18 , 0.16 , 0.1 , 0.02 ملغم /لتر على التوالي أما عند استعمال السلالة TA98 فان عدد المستعمرات في معاملة المقارنة السالبة بلغ 21±1.4 مستعمرة في حين بلغ 59±1.4 ، 53±1.4 ، 46 ±2.8 ، 44±2.8 ،42± 2.8 ، 2.8± 22 عند التراكيز 0.26 ، 0.22 ، 0.18 ، 0.16 ، 0.1 ، 0.02 ملغم / لتر على التوالي إذ يلحظ العلاقة الطردية بين تأثير تراكيز المتبقيات في فعالية المبيد التطفيرية في البكتريا حيث بزيادة التركيز تزداد فعاليته المطفرة في البكتريا وللسلالتين .

جدول (7) تأثير متبقي مبيد propamocaeb HCL في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا *S. typh.* بطريقة الأطباق المدمجة .

النبات	محصول الطماطة									محصول الخيار							
مراحل الجني	المقارنة الموجبة MMS	بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة	L.S.D. 0.05	بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة	L.S.D. 0.05
التركيز ملغم/لتر / عدد المستعمرات		0.21	0.18	0.17	0.15	0.043	0.013	المقارنة السالبة		0.26	0.22	0.18	0.16	0.1	0.02	المقارنة السالبة	
السلالة TA100	1500 ± 34.6	800 ± 14.1	745 ± 49.5	695 ± 7.07	625 ± 7.07	450 ± 14.1	345 ± 12.7	72 ± 2.8	11.56	874 ± 12.7	805 ± 7.07	774 ± 11.3	715 ± 21.2	685 ± 14.6	549 ± 26.9	70 ± 2.8	37.1
السلالة TA98	71 ± 4.2	53 ± 1.4	47 ± 1.4	43 ± 1.4	39 ± 1.4	22 ± 2.8	20 ± 2.8	19 ± 4.2	5.8	59 ± 1.4	53 ± 1.4	46 ± 2.8	44 ± 2.8	42 ± 2.8	22 ± 2.8	21 ± 1.4	5.5

وقد أشارت نتائج التحليل الإحصائي الى وجود فروق معنوية إحصائية لجميع المراحل عند السلالة TA100 ومعاملة السيطرة السالبة بينما في مرحلة 20 يوم بعد الرش المتمثلة بالمرحلة الأخيرة لم يظهر أي فرق معنوي لسلالة TA98 ومعاملة السيطرة السالبة يعني ذلك عدم وجود تأثير مطفر للمبيد عند الجني بعد عشرين يوما" من المعاملة في بكتريا السالمونيلا .

ب- طريقة التقليب The fluctuation method .

أشارت النتائج الواردة في جدول (8) إلى وجود تأثيرا مطفرا لمبيد propamocarb HCL في بكتريا السالمونيلا عند جني محصول الطماطة في مدد مختلفة وللسلالتين TA100 و TA98 و تبين التأثير عبر الاختلافات الواضحة بين معدل أعداد الحفر العكرة (لصفائح التخفيف المستعملة بالاختبار) بتأثير تركيز متبقي المبيد في مراحل الجني للسلالتين فقد كان أعلى معدل لأعداد الحفر1.4± 79 حفرة بعد ساعة من الرش بتركيز 0.21 ملغم /لتر وتناقص ليصل1.4± 42 حفرة بالمرحلة الأخيرة بتركيز 0.013 ملغم /لتر لسلالة TA100 وذلك يشير إلى العلاقة الطردية بين التراكيز والتأثير المطفر في البكتريا , أما نتائج الاختبار باستعمال السلالة TA98 فقد جاءت مشابهة من ناحية العلاقة الطردية بين عدد الحفر العكرة لسلالة TA100 ومدة ما قبل الجني حيث ازداد أعداد الحفر عند الجني بعد ساعة من المعاملة (المرحلة الأولى) وانخفض بعد يوم من الرش (المرحلة الثانية) واستمر بالانخفاض وبلغت اقل أعدادها عند مرحلة 20 يوما" بعد الرش . وأشارت نتائج التحليل الإحصائي الى وجود فروق معنوية لجميع مراحل الجني ومعاملة المقارنة السالبة لسلالة TA100 ولم تظهر فروق معنوية عند المرحلة الأخيرة في محصول الطماطة ومعاملة السيطرة السالبة في السلالة TA98 , إما في محصول الخيار فقد أعطت نتائج جدول (8) فروقا معنوية بين جميع مراحل الجني ومعاملة المقارنة السالبة ولسلالتين حيث بلغ أعلى معدل لأعداد الحفرة العكرة 2.8± 82 حفرة عند التركيز 0.26 ملغم/لتر لسلالة TA100 و 1.4±61 حفرة عكرة لسلالة TA98 بينما تناقص المعدل ليصل إلى4.2± 47 حفرة لسلالة TA100 و 1.4± 39 حفرة لسلالة TA98 عند تركيز 0.021 ملغم/لتر

مقارنة بـ 1.4±29 حفرة و4.2± 25 حفرة لسلالة TA100 و TA98 على التوالي لمعاملة المقارنـــــــــــــــــــــــــــــــــــــة الســــــــــــــــــــــــــــــــــــالبة .

جدول (8) تأثير متبقي مبيد propamocaeb HCL في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا ***S. typh.*** بطريقة التقليب .

النبات	محصول الطماطة								محصول الخيار						
مراحل الجني	المقارنة الموجبة MMS	بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة	بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة
التركيز ملغم/لتر / أعداد الحفر العكرة		0.21	0.18	0.17	0.15	0.043	0.013	المقارنة السالبة	0.26	0.22	0.18	0.16	0.1	0.02	المقارنة السالبة
السلالة TA100	92 ± 5.7	*79 ± 1.4	*69 ± 1.4	*65 ± 1.4	*56 ± 1.4	*44 ± 1.4	*42 ± 1.4	28 ± 1.4	*82 ± 2.8	*78 ± 2.8	*72 ± 1.4	*66 ± 1.4	*58 ± 1.4	*47 ± 4.2	29 ± 1.4
السلالة TA98	88 ± 2.8	59* ± 1.4	*51 ± 1.4	*47 ± 2.8	*43 ± 1.4	*36 ± 1.4	29 ± 1.4	21 ± 1.4	*61 ± 1.4	*59 ± 1.4	*52 ± 2.8	*47 ± 1.4	*42 ± 2.8	39* ± 1.4	25 ± 4.2

* فروق معنوية تحت مستوى 0.05 .

3 – مبيد abamectin

3.4 . 1 – الاختبار المباشر للمبيد .

أ_ طريقة الأطباق المدمجة The plate incoporation.

يلحظ من النتائج الواردة في جدول (9) انه لا يوجد أي تأثير مطفر للمبيد abamectin في بكتريا السالمونيلا ولسلالتين TA100, TA98 ففي نتائج تراكيز المبيد المستعملة لحظ أن معدل أعداد المستعمرات المنعكسة كانت متقاربة ومعاملة المقارنة السالبة , بلغ معدل أعداد المستعمرات الأدنى2.8± 60 مستعمرة لتركيز 0.1 ملغم/ لتر بينما بلغ المعدل 1.4±61 مستعمرة عند أعلى تركيز للمبيد 10 ملغم/ لتر مقارنة ب 1.4± 59 مستعمرة لمعاملة المقارنة السالبة (المنعكسات ذاتيا") و 49.5± 985 مستعمرة للمقارنة الموجبة هذا بالنسبة لسلالة TA100 عند استعمال TA98 بلغ معدل المستعمرات 1.4±19 مستعمرة عند أعلى تركيز للمبيد مقارنة ب 1.4± 19 مستعمرة منعكسة ذاتيا و 2.8±63 مستعمرة للمعاملة المقارنة الموجبة .

جدول (9) تأثير مبيد abamectin في نمو سلالتين من بكتريا *S. typh.* بطريقة الأطباق المدمجة.

التركيز / عدد المستعمرات	المقارنة السالبة	0.1ملغم/لتر	1ملغم/لتر	10ملغم/لتر	المقارنة الموجبة	LSD 0.05
السلالة TA100	59 ± 1.4	60 ± 2.8	62 ± 2.8	61 ± 1.4	985 ± 49.5	0
السلالة TA98	19 ± 1.4	19 ± 1.4	18 ± 2.8	20 ± 1.4	63 ± 2.8	0

و أشارت نتائج التحليل الإحصائي أيضا إلى عدم وجود فروق معنوية لجميع التراكيز المستعملة ولسلالتين ومعاملة السيطرة السالبة , ويعني ذلك أن المبيد لا يمتلك تأثيرا تطفيري لبكتريا السالمونيلا .

ب- طريقة التقليب The fluctuation method .

من الملاحظ أيضا في جدول (10) عدم وجود تأثير تطفيري للمبيد بتلك الطريقة في بكتريا السالمونيلا ولسلالتين فبلغ معدل أعداد الحفر العكرة عند أعلى تركيز مستعمل 31±1.4 حفرة وعند أوطا تركيز 1.4± 25 حفرة مقارنة ب 29±1.4 حفرة لمعاملة السيطرة السالبة و1.4± 94 حفرة لمعاملة السيطرة الموجبة لسلالة TA100 .

جدول (10) تاثير مبيد abamactin في نمو سلالتين من بكتريا *S. typh.* بطريقة التقليب The fluctuation test

التركيز / أعداد الحفر العكرة	المقارنة السالبة	0.1ملغم/لتر	1ملغم/لتر	10ملغم/لتر	المقارنة الموجبة
السلالة TA100	29 ± 1.4	25 ± 1.4	29 ± 1.4	31 ± 1.4	94 ± 1.4
السلالة TA98	22 ± 1.4	19 ± 1.4	22 ± 1.4	27 ± 1.4	89 ± 4.2

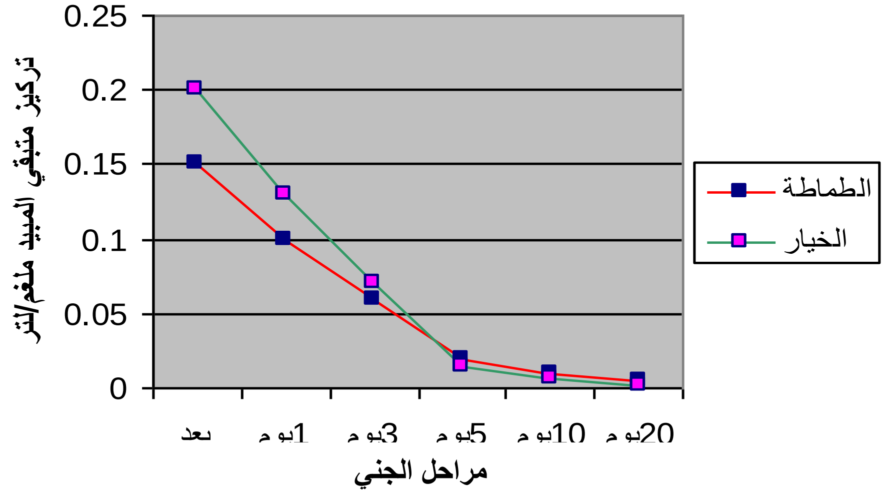
* فروق معنوية تحت مستوى احتمالية 0.05

بينما لسلالة TA98 أعطت معدل 19±1.4 حفرة عند أوطأ تركيز و1.4± 27 حفرة عند التركيز الأعلى مقارنة ب 89±4.2 حفرة لسيطرة الموجبة و 22±1.4 حفرة لسيطر السالبة , وقد أشارت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية إحصائية بين التراكيز المستعملة ولسلالتين ومعاملة السيطرة السالبة . وجاءت النتائج متفقة مع ما ذكر في دراسة حول التحري عن التأثير التطفيري للمبيد Abamectin باستعمال اختبار ايمز لبكتريا السالمونيلا حيث أعطت الدراسة نتائج سلبية من ناحية التأثير المطفر في البكتريا (Kidd & James , 1991) . واتفقت النتائج مع ما ذكره Gordone وآخرون (1982) إن مبيد abamectin ليس له تأثيرا" مطفرا" في بكتريا السالمونيلا وذلك بالاعتماد على الدراسة التي أجريت بفحص المبيد باختبار ايمز باستعمال تراكيز 100-10000 مايكرو غرام/ للطبق مع إضافة مصدر الايض الخارجي S9 وكانت النتائج سلبية . وقد تتفق نتائج

الدراسة مع الدراسات الأخرى حول تقييم تأثيرات السمية الجينية من تشوهات الأجنة Teratogenic حيث لم تظهر نتائج الدراسات أي تأثير على حيوانات الاختبار (الفئران والأرانب) ما عدا الجرع السامة العالية للأمهات الحيوانات بالإضافة إلى عدم ظهور أي تأثير مسرطن لحيوانات الاختبار (Lankas & Gordon , 1989) . ولم يظهر المبيد أي تأثيرات تطفيرية أو سمية جينية عند اختباره باستعمال الجرذان والفئران ولكن الجرع العالية تسبب الموت نتيجة الفشل التنفسي (Ray, 1991 ; EPA , 1990) .

4. 3. 2_دراسة تلاشي مبيد abamectin في الثمار : Dissipation carve

يلحظ في الشكل (6) وجود تقارب في تراكيز متبقيات المبيد في مراحل الجني للمحصولين فبلغ أعلى تركيز للمبيد في محصول الطماطة 0.15 ملغم/لتر وذلك بعد ساعة من الرش بينما في محصول الخيار بلغ أعلى تركيز 0.2 ملغم/ لتر بعد ساعة من الرش أيضا و تدرجت كمية المبيد بالانخفاض ليصل إلى 0.002 ملغم/لتر لمحصول الخيار و 0.005 ملغم/لتر لمحصول الطماطة وذلك بعد مرور عشرين يوما" من المعاملة بالمبيد على المحصولين , وقد أظهرت النتائج أن كمية المبيد في محصول الخيار كانت اكبر منه في الطماطة وقد تعود الأسباب كما ذكرت سابقا" من ناحية خشونة قشرة الثمرة وكيمياء النبات .



شكل (6) تلاشي مبيد abamectin في محصولي الطماطة والخيار

شكل (5) تلاشي مبيد abamectin في محصولي الطماطة والخيار

ولكن على العموم فأن هذه المتبقيات هي اقل مما تم الحصول عليه في مبيدي bifenthrin و propamocarbHCL وهذا يعود إلى صفات المجموعة الكيميائية التي ينتمي لها المبيد من ناحية التأثير التلامسي و سرعة التحلل وعدم وجود تأثير تراكمي له رغم كونه حشري وعناكبي في آن واحد . (عواد وآخرون , 2002) .

3.2.4_ تأثير متبقيات مبيد abamectin في الثمار .

أ_ طريقة الأطباق المدمجة The plate incoporation.

أشارت النتائج الواردة في جدول (11) الى عدم وجود أي تأثير مطفر للمبيد في جميع مراحل الجني لمحصول الطماطة في البكتريا وللسلالتين حيث كان معدل أعداد المستعمرات متقارب بينها وبين معاملة السيطرة السالبة (قبل ساعة من الرش) فبلغ المعدل للأعداد المستعمرات المنعكسة ذاتيا" 2.8± 66 مستعمرة مقارنة بأعلى تركيز بعد ساعة من الرش 1.4±61 مستعمرة وعند المرحلة الأخيرة بتركيز 0.005 ملغم /لتر 5.7±56 مستعمرة هذا في سلالة TA100 ومن الملاحظ أيضا في سلالة TA98 لم تظهر أيضا" أية علاقة تربط بين أعداد المستعمرات و تركيز متبقي المبيد في مراحل الجني لكلا المحصولين فالملاحظ أن الأعداد كانت متقاربة جدا مع مرحلة قبل ساعة من المعاملة (السيطرة السالبة) ، في محصول الخيار كانت النتائج أيضا متقاربة مع النتائج التي ظهرت في محصول الطماطة من جهة عدم وجود تأثير في السلالات البكتيرية , وقد أشارت نتائج التحليل الإحصائي انه لا توجد أي فروق معنوية بين جميع مراحل الجني ومعاملة السيطرة السالبة للسلالتين وللمحصولين .

جدول (11) تأثير متبقي مبيد abamactin في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا *S. typh.* بطريقة الأطباق المدمجة .

النبات	محصول الطماطة									محصول الخيار							
مراحل الجني		بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة	L.S.D 0.05	بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة	L.S.D . 0.05
التركيز ملغم/لتر / عدد المستعمرات	المقارنة الموجبة	0.15	0.1	0.06	0.02	0.009	0.005	المقارنة السالبة		0.2	0.13	0.07	0.015	0.006	0.002	المقارنة السالبة	
السلالة TA100	1200 ± 24.2	61 ± 1.4	56 ± 5.7	59 ± 1.4	53 ± 1.4	53 ± 4.2	56 ± 5.7	66 ± 5.7	0	64 ± 1.4	56 ± 8.5	59 ± 1.4	53 ± 2.8	54 ± 5.7	61 ± 1.4	66 ± 2.8	0
السلالة TA98	78 ± 1.4	21 ± 1.4	21 ± 1.4	22 ± 8.5	22 ± 2.8	22 ± 8.5	22 ± 1.4	21 ± 1.4	0	26 ± 2.8	23 ± 2.8	22 ± 1.4	23 ± 5.7	20 ± 1.4	23 ± 5.7	24 ± 1.4	0

ب- طريقة التقليب The fluctuation method .

حسب ما تبين من نتائج جدول (12) إنه لا توجد أي علاقة تربط بين تأثير تراكيز متبقيات المبيد و معدل أعداد الحفر العكرة لسلالات البكتيرية المستعملة في الاختبار فكانت الأعداد متقاربة جدا من معدل أعداد الحفر العكرة التي ظهر في مرحلة قبل ساعة من الرش (السيطرة السالبة) و للمحصولي الطماطة والخيار حيث أعطت السلالة TA100 عند أعلى قيمة للمتبقي المبيد بعد ساعة من المعاملة1.4± 21 حفرة و5.7± 25 حفرة عند القيمة الأوطأ للمتبقي المبيد مقارنة ب1.4±30 حفرة للسيطرة السالبة والسلالة TA98 أعطت 5.7± 24 حفرة في المرحلة الأولى و 2.8± 20 حفرة للمرحلة الأخيرة مقارنة ب 1.4±26 حفرة للسيطرة السالبة , وفي محصول الخيار أيضا لم يظهر أي تأثير للمبيد في مراحل الجني في بكتريا السالمونيلا , لم تعطي نتائج التحليل الإحصائي أي فروق معنوية إحصائية تحت مستوى احتمالية 0.05 لجميع مراحل الجني ومعاملة السيطرة السالبة وللسلالتين ولمحصولي الطماطة والخيار .

جدول (12)تأثير متبقي مبيد abamectin في مستخلص ثمار الطماطة والخيار في نمو سلالتين من بكتريا *S. typh.* بطريقة التقليب .

النبات	محصول الطماطة								محصول الخيار						
مراحل الجني	المقارنة الموجبة MMS	بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة	بعد ساعة	1 يوم	3 يوم	5 يوم	10 يوم	20 يوم	قبل ساعة
التركيز ملغم/لتر / أعداد الحفر العكرة		0.15	0.1	0.06	0.02	0.009	0.005	المقارنة السالبة	0.2	0.13	0.07	0.015	0.006	0.002	المقارنة السالبة
TA100	94 ± 2.8	21 ± 1.4	24 ± 5.7	26 ± 1.4	20 ± 1.4	21 ± 2.8	25 ± 5.7	30 ± 1.4	28 ± 2.8	30 ± 2.8	25 ± 1.4	24 ± 5.7	29 ± 1.4	34 ± 1.4	31 ± 1.4
TA98	90 ± 4.2	24 ± 5.7	22 ± 7.07	21 ± 4.2	20 ± 2.8	20 ± 2.8	20 ± 2.8	26 ± 1.4	24 ± 2.8	22 ± 2.8	20 ± 2.8	22 ± 8.5	23 ± 5.7	20 ± 1.4	24 ± 2.8

* فروق معنوية تحت مستوى احتمالية 0.05 .

إنتاج المبيدات يتضمن عمليات صياغة أو إنتاج المكونات الفعالة (النشطة) خلطها بالمواد الكيمائية الخاملة (inert) أو فاقدة للنشاط الكيمائي أو البيولوجي لإنتاج أشكال مختلفة من المنتجات (WHO, 2003) . ففي عملية تخليق المبيدات وتصنيعها لا تشترك مادة واحدة أو اثنين في تكوين منتج جديد , وإنما تشترك عدة مركبات في ذلك يجب أن تحدد كمياتها ونسب ونوعيات تلك الشوائب التي توجد مع المنتج النهائي , موضوع الشوائب هو موضوع الساعة حاليا كما كان في السابق لاسيما في حالة تحضير وتكوين وتجهيز وتصنيع المواد ذات النشاط الحيوي سبب تأثيراتها السرطانية كما هو الحال مع المبيدات المقلدة أو المنسوخة أو المصنعة من مصادر غير أصلية التي يطلق عليها المعاملة بالمثل ME-TOO وان نسبة النقاوة العالية في تصنيع المبيد والشوائب المحددة هي احد أهم مسارات التخليق للمبيدات (عبد الحميد ، 2004)

اختلاف نتائج الاختبار يمكن أن تنعكس من التأثيرات المختلفة للتعرض مثل التكييف ، ومقدار التعرض والاستعمال الوقائي و نوع المحصول و العوامل البيئية التي يمكن أن تؤثر على نوع تركيب أو صياغة المبيد بالإضافة إلى الامتصاص الكيمائي (Bolognesi , 2003) .

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendation

5- 1 : الاستنتاجات :

1- وجد عند دراسة المستحضر التجاري لمبيد bifenthrin و PropamocarbHCL أن أكثر التراكيز المستعملة تأثيرا" في نمو سلالتي السالمونيلا TA100 ، TA98 وإحداث الطفرة المنعكسة في الخلايا البكتيرية هو 10 ملغم/لتر إذ اظهر كلا المبيدين فاعلية تطفيرية عالية في السلالتين وفي كلا الطريقتين , الأطباق المدمجة والتقليب .

2-وعند دراسة تأثيرات متبقيات المبيدين bifenthrin و PropamocarbHCL في نمو سلالة TA100 وTA98 وجد أن أكثر مراحل الجني تأثيرا"في البكتيريا وقد تشكل خطورة على الإنسان هي المراحل الخمسة الأولى من جني المحصولين ولكلا السلالتين.

3-تبين من الدراسة الحالية أن لمبيد bifenthrin و PropamocarbHCL تأثيرا" مطفرا" في البكتريا, وأن مبيد abamectin من المركبات أو المستحضرات الأمينة من الناحية التطبيقية في استعمال المبيد بالرغم من أن مبيد abamectin سام جدا" وذلك واضحا" من خلال الكمية المسموح أخذها يوميا" 0.0001 ملغم/كغم عكس المبيدين الآخرين إذ بلغت كمية الأخذ المسموح أعلى مما هو عليه في مبيد abamectin 0.02 و 0.1 ملغم / كغم للمبيدين bifenthrin و PropamocarbHCLعلى التوالي , يعني ذلك انها على الرغم من تأثيرها السمي القليل لكنها تمتلك تأثيرا" تطفيري يشكل خطورة واضحة على صحة الإنسان .

4- على الرغم من انخفاض تركيز متبقي المبيد بصورة كبيرة ولاسيما بعد 10 أيام من عملية الرش وتوصية الشركات المنتجة بالسماح بتناول هذه المنتجات بعد هذه المدة إلا أنه تبين أن لهذه المتبقيات تأثيرا" مطفرا" لذا لا يجوز تناول المحاصيل بعد هذه المدة .

5- تبين من دراسة تلاشي المبيدات الثلاثة أن محصول الخيار أكثر احتفاظا" بمتبقيات المبيدات من محصول الطماطة .

5 – 2 : التوصيـات:

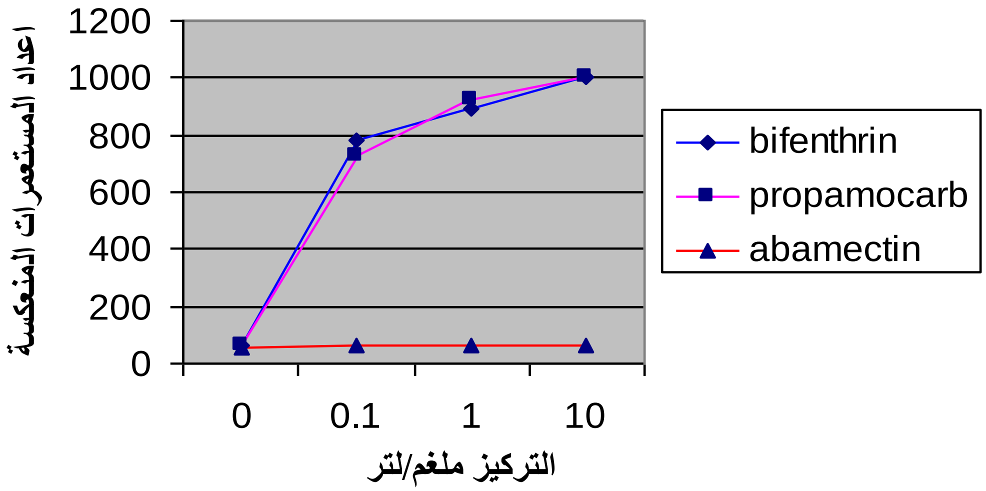
1- إجراء دراسة يطبق فيها الاختبار نفسه لفحص المادة القياسية لكل مبيد للمقارنة مع نتائج اختبار المستحضر التجاري .
2- إجراء دراسة أخرى باستعمال سلالات جديدة مع إضافة المصدر الخارجي الايض S9 في فحص المبيدات .
3- العمل على البحث في تأثيرات خلط مبيدين أو أكثر مع بعضهما (كما يفعل البعض من الفلاحين) للتعرف على أثارهما التي من الممكن أن تكون أخطر من استخدامها بشكل منفرد أو ربما يكون اقل خطورة .
4- اختبار متبقيات مبيد bifenthrin و PropamocarbHCL في مراحل الجني لمحصولي الطماطة والخيار بعد مرور أكثر من عشرين يوما" من معاملة النبات بالمبيد .
5- إعادة إجراء هذا الاختبار على المحاصيل المذكورة ولكن عند الزراعة المكشوفة .
6- التواصل في إجراء دراسات أخرى تشمل المزيد من اختبار المبيدات المتداولة في الأسواق بتطبيق هذا الاختبار أو أنواع أخرى من الاختبارات القصيرة او باستعمال طرق اختبار خلايا الدم للإنسان أو Tissue culture cell.
7- إخضاع عمليات استيراد واستعمال وتداول المبيدات إلى الرقابة الدولية الحكومية تحت شروط وقوانين صارمة واعتماد هذه الطريقة في العراق بوصفها جزء مكملا" لاختبار متبقيات المبيدات من قبل اللجنة الوطنية لتسجيل واعتماد المبيدات .

8- تحليل المبيدات ذات التأثير التطفيري كيميائيا" إلى المركبات الأصلية وإخضاع كل مركب للاختبار للتأكد من المصدر المؤثر في البكتريا .
9- للتأكد من النتائج التي تم الحصول عليها نوصي بأجراء دراسة للتأثير التراكمي لهذه المواد في الحيوانات اللبونة كالفئران أو الأرانب .

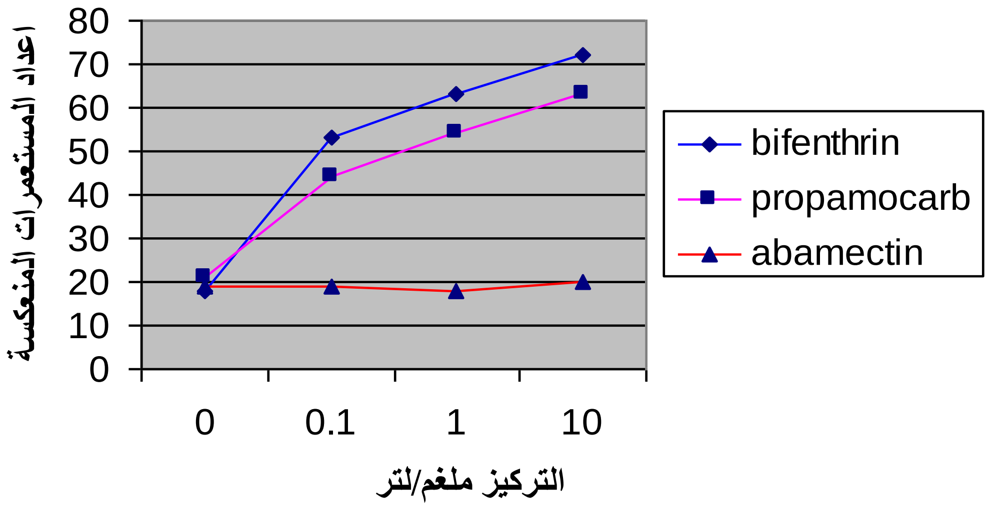
10- العمل على إجراء ندوات مفتوحة لغرض توعية الفلاح على نحو خاص والمواطن على نحو عام عن كيفية اقتناء واستعمال المبيد المناسب وطريقة استعماله .

11- العمل على بناء مختبر للسيطرة على المواد الغذائية خصوصا" لتأكد من خلوها من متبقيات المبيدات والمواد الحافظة .

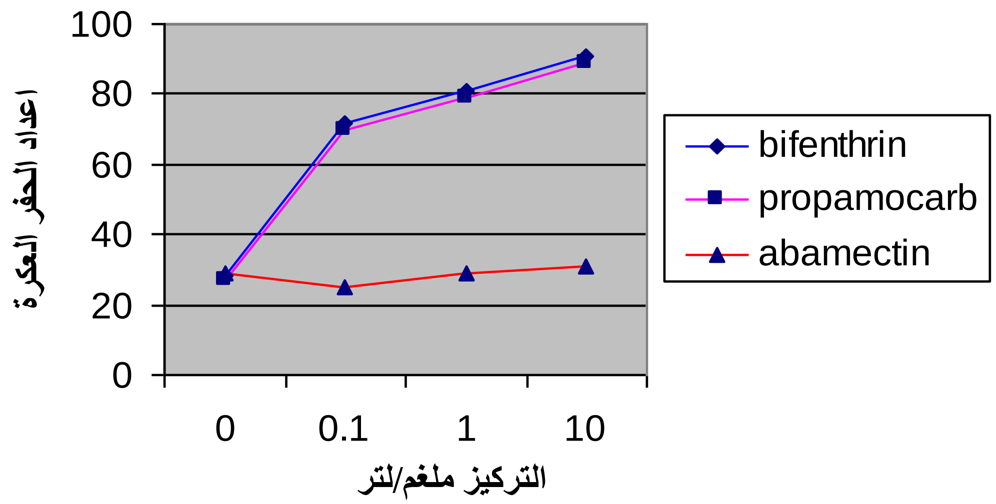
الملاحق



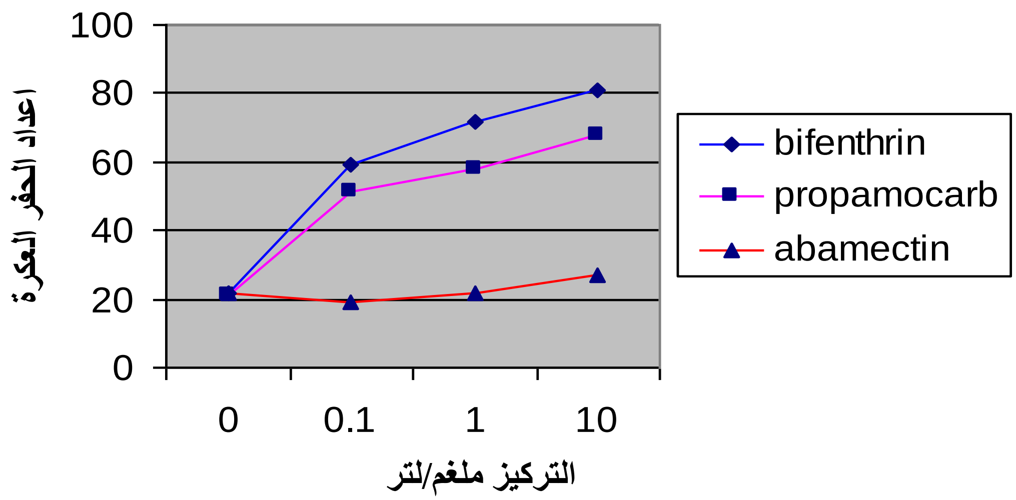
ملحق(1) تأثير تراكيز المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA100 لبكتريا السالمونيلا بطريقة الأطباق المدمجة



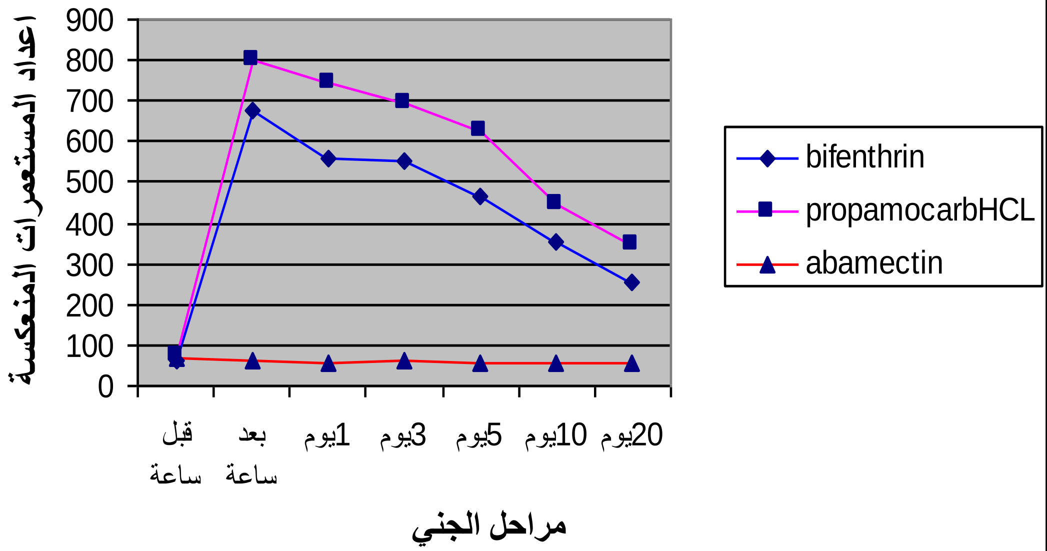
ملحق (2) تأثير تراكيز المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA98 بطريقة الأطباق المدمجة



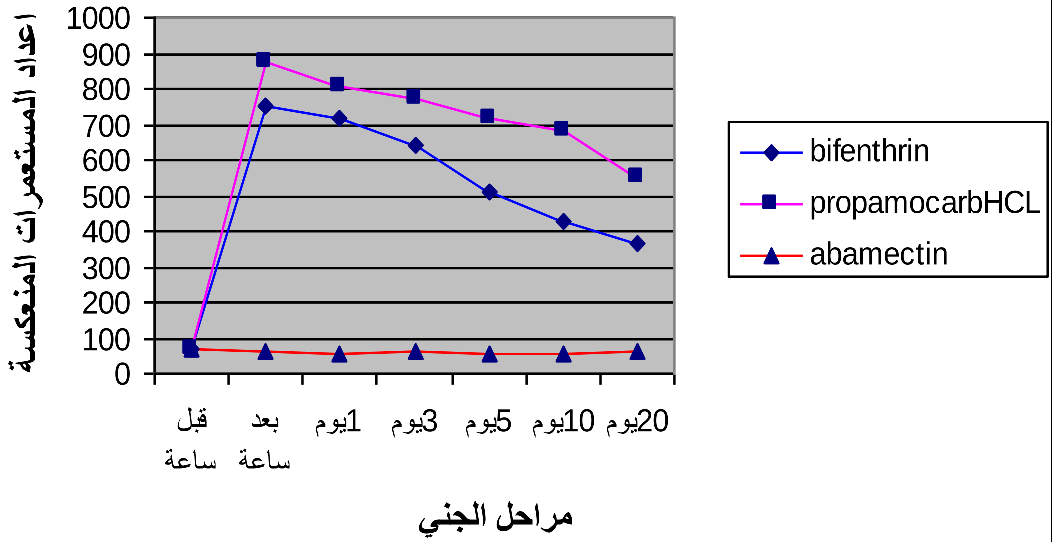
ملحق(3) تأثير تراكيز المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA100 بطريقة التقليب



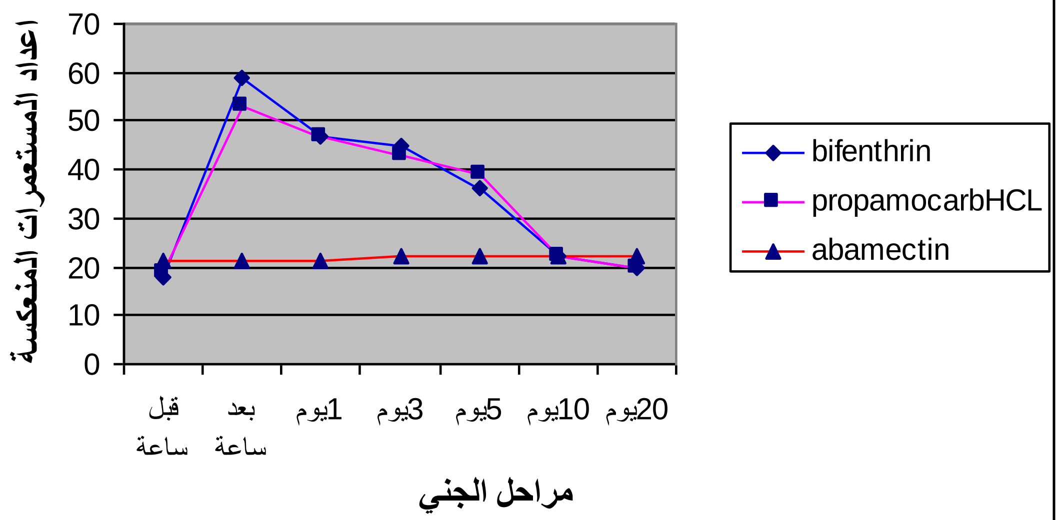
ملحق(4) تأثير تراكيز المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA 98 بطريقة التقليب



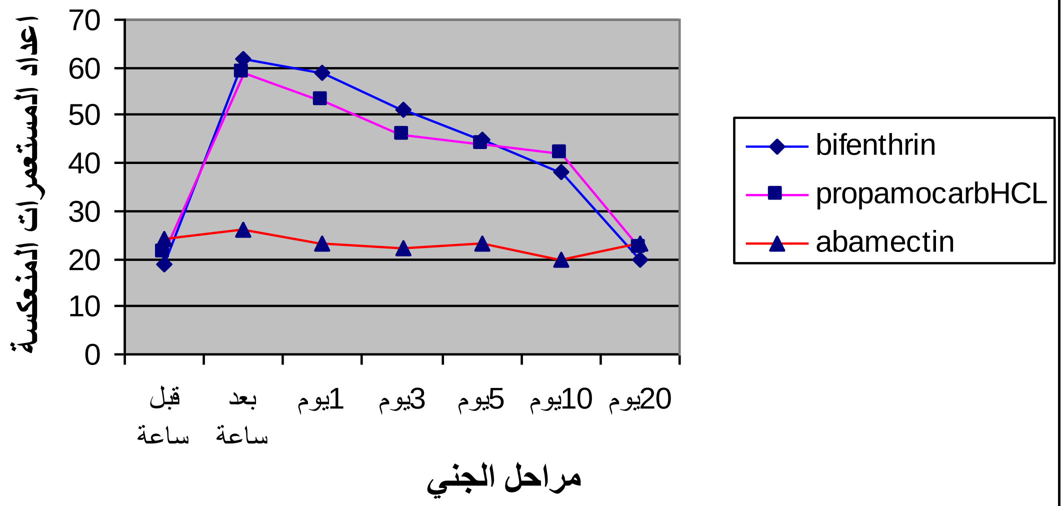
ملحق(5) تأثير متبقيات المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA100 في محصول الطماطة بطريقة الأطباق المدمجة



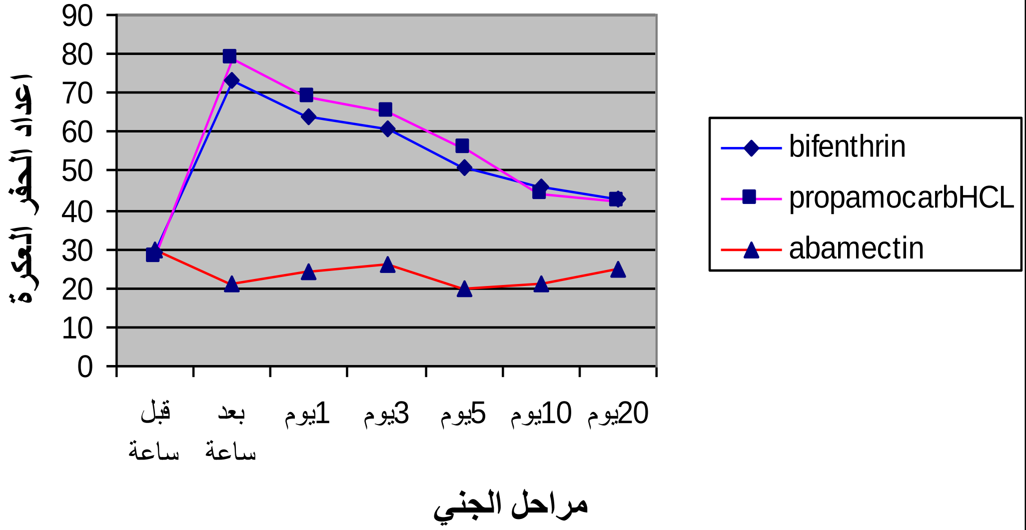
ملحق (6) تأثير متبقيات المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA100 في محصول الخيار بطريقة الأطباق المدمجة



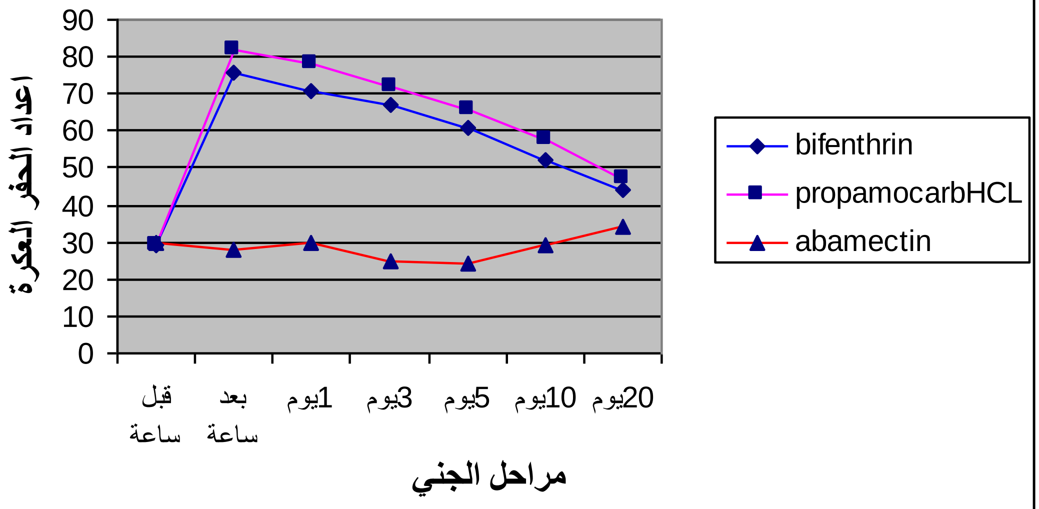
ملحق(7) تأثير متبقيات المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA98 في محصول الطماطة بطريقة الأطباق المدمجة



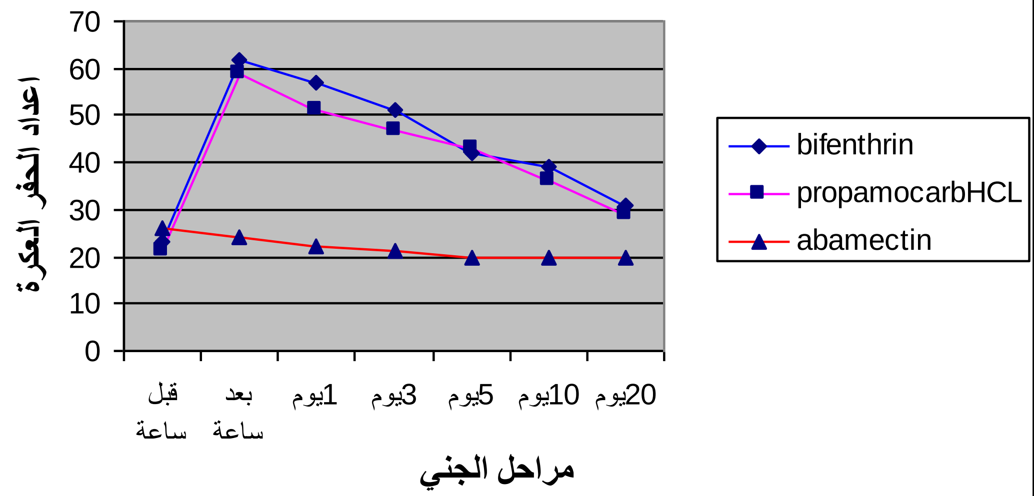
ملحق(8) تأثير متبقيات المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA98 في محصول الخيار بطريقة الأطباق المدمجة



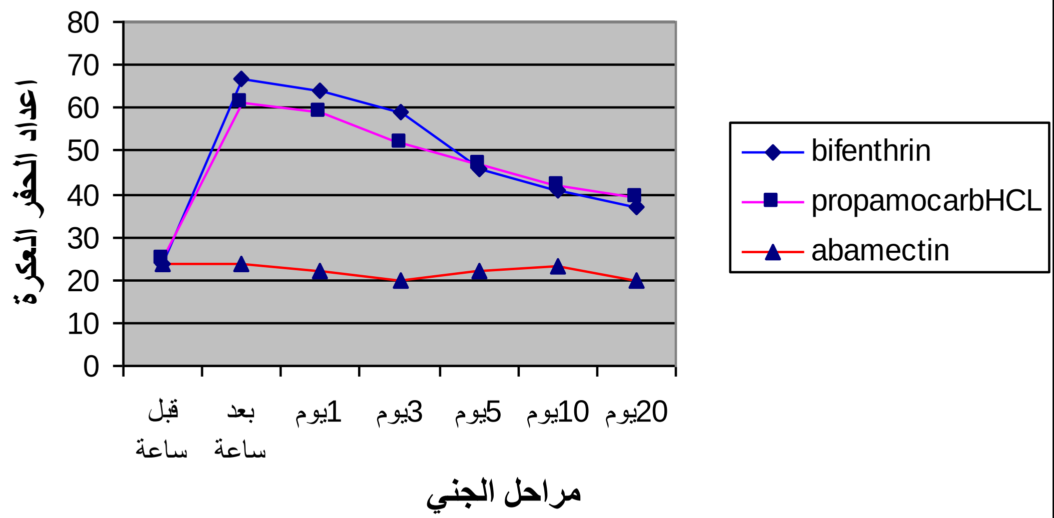
ملحق (9) تأثير متبقيات المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA100 في محصول الطماطة بطريقة التقليب



ملحق(10) تأثير متبقيات المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA100 في محصول الخيار بطريقة التقليب



ملحق(11) تأثير متبقيات المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA98 في محصول الطماطة بطريقة التقليب



ملحق(12) تأثير متبقيات المبيدات الثلاثة في نمو سلالة TA98 في محصول الخيار بطريقة التقليب

المصادر References

المصادر العربية :

الرجب ، وفاء جاسم وحسن محمد علي و القزاز (1986) . علم الأحياء المجهرية ، الجزء الأول ، مطابع جامعة الموصل ، مديرية مطبعة الجامعة , ص 266-278 .

العادل ، خالد محمد (2006) . مبيدات الآفات مفاهيم أساسية ودورها في المجالين الزراعي والصحي . الطبعة الأولى ، كلية الزراعة – جامعة الموصل , ص 55-103 .

العادل ، خالد محمد ومولود كامل عبد (1979) . المبيدات الكيماوية في وقاية النبات ، دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل , ص 13-45 .

العزاوي ، خلود عبد المجيد (1988) . تلاشي مبيد الفنتراثايون (سوميثيون) في محصول الخيار في البيوت الزجاجية ، رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد .

جاردنر، الدون ج. جاردنر و بيتر سنستاذ (1999). مبادئ علو الوراثة . (ترجمة احمد شوقي حسن شوقي واخرون) الطبعة الرابعة ، الدار العربية للنشر والتوزيع – مصر , ص 699-719 .

سيد أحمد ، أحمد فتحي (2000) . البيولوجيا الجزيئية / أسس الهندسة الوراثية ، دار البحار، مكتبة الهلال – بيروت .

شعبان ، عواد و نزار مصطفى الملاح (1993) . المبيدات ، دار الكتب للطباعة والنشر – الموصل , ص 81–320 .

عبد الحميد ، زيدان هندي (2004) . تخليق وتصنيع المبيدات . الجزء الأول ، الطبعة الأولى ، كانزا جروب للنشر والتوزيع – مصر , ص 145 –235 .

عبد الحميد ، زيدان هندي (2000) . السمية البيئية والتفاعلات الحيوية للكيميائيات والمبيدات ، الطبعة الأولى ، الدار العربية للنشر والتوزيع – مصر , ص 389– 641 .

عبد الرحمن ، أبو شبانه مصطفى (2005) . مبيدات الآفات رؤية عامة . الجزء الثاني ، الطبعة الأولى ، الدار العربية للنشر والتوزيع – مصر , 45–146 .

عواد , هاشم إبراهيم , إبراهيم جدوع الجبوري و صلاح مجيد كسل (2002) . المبيدات المسجلة والمستخدمة في الزراعة والصحة العامة في العراق . بأشراف باسل كامل دلالي , اللجنة الوطنية لتسجيل واعتماد المبيدات . وزارة الزراعة , العراق .

- المصادر الأجنبية:

ABmann, N. , M. Emmrich , G. Kampf and M. Kaiser (1997) . Genotoxic activity of important nitro –benzenes and nitro anilines in the Ames test and their structure – activity relationship . Institute for Hygienc , Environmental and Occupational Medicine . Free University of Berlin . Germaney. Mutation research ., 395: 139-144 .

Akintonwa , A. , O. Awodele , S .O. Olayemi , I . A. Oreagba and O. M. Olaniyi (2008) . The mutagenic testing of different brands of commonly used insecticides Department of Pharmacology . Colleg of Medicine . Idi-Araba , University of Lagos . Nigeria . African. Jou. Of Biotechnology ., 7(13): 2134-2136 .

Akintonwa, A. , O. Awodele , P. M. Emeka , O. Osajare (2007) . The mutagenic potentials of potassium bromate and some commonlyused food additives Department of pharmacology . College of Medicine . Idi – Araba , University of Lagos , Nigeria . African. J . of Biotechnology ., 6(8) : 1004-1006.

Alberts, B. J. , L. J. Alexander , M. R. Raff , W. P. Keith (2002) . Molecular cell Biology . (Fifth edition) Garland Science textbooks , New York ., pp : 47-54 .

AL- Mossawi, M . A. J. , M. Salama and A. Salem (1983) . The deiection of mutagenic pollutnts in Marine Organisms of Kuwait . Institute of scientific research , safat, Kuwait . D. Reidel Publishing Company ., 22 : 131-141 .

AL- Samurraei , A.I. (2002). Routin Quantitative residues determination of abamectin in some crops , Pesticide Sci. , 23: 330 – 339 .

Amer, S. M. , A.A. Ibrahim and K.M. EL-Sherbeny (1993) . Induction of chromosomal aberration and sister chromatid exchange *in-vivo* and *in-vitro* by the insecticide cypermethrin . Jou. Appl. Toxicol. , 13(5): 341-345 .

Ames , B. N. (1992) . Pollution pesticides and cancer , Jou. AOAC Int., 75: 1-5 .

Ames , B. N. , J . McCann and E . Yamasaki (1975) . Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella \ Mammalian Microsome Mutagenicity test . Mutation Research ., 31: 347- 364 .

Ames, B. N. and J. McCann (1981) . Validation of the Salmonlla test . reply to Rinkus and Legator – cancer res., 41:4192- 4196 .

Anonym – International Agency for Research on cancer , Suppl. 4 (1982) . IARC Monographs on the evalution of the carcinogenic risk of chemical to humans . chemicals , industrial processes and industries associatel with cancer in humans . IARC . Lyon .

Anthony , J.G. , H. M. Jeffry , T. S. David , C. L. Richard and M. G. William (2000) . Introduction to Genetic Analysis . (seventh edition) .W.H. Freeman & Company , New York ., pp: 97-106 .

APHA-AWWA-WPCF (1980) . Standard method for the examination of water and west water , 15 th edition ., pag: 507 .

Aspelin , A. L. (2003) . Pesticide usage in the united states . Trends during the 20th century . Raleigh , NC : Center for Integrated pest M anagement , North Carolina states University .

Bagchi, D. , M. Bagchi , E. A. Hassoun and S. J. Stohs (1995) . In vivo and vitro generation of reactive oxygen species . DNA

damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticids , Toxicology ., 104:129-140 .

Barrueco, C. and E. D. Pena (1989) . Influence of bacterial growth of the Overnight culture on the capton- and foloet induced reversion in the Ames test UK Environmental mutagen Society \ Oxford university press , Mutagenesis ., 4(1):1-5 .

Baron , S . (1996) . Medical Microbiology . 4th ed . The University of texas medical Barnchal Galveston , Texas ., pp: 207-213.

Basiri, M. , M. Samini , M. Ghazi- Khansari , M. Rezayat , M. Sahebgharani and A. Partoazar . (2008) .Monitoring Ames assay on urine of clinical pathology laboratories technicians . Jou. of pharmacology and Toxi., 3(3) : 230-235 .

Batzing, B. L. (2002) . Microbiology , first edition . Books , cole , adivision of Thomson Learning , Inc. , USA ., pp: 156 .

Beck, S. L. (1983) . Assessment of adult skeletons to detect prenatal exposure to Trypan Blue inmice . Teratology., 28: 271-285 .

Berg, J. M. , J. L. Tymoczko and L. Stryer (2002) . Biochemistry . (fifth edition) . W.H. Freeman & Company . New York ., pp : 132-145 .

Bhalli, J. A. , Q. M. Khan , M. A. Haq , A. M. Khalid and A. Nasim (2006) . Cytogenetic anaylsis of Pakistani individuals occupationally exposed to pesticide in a pesticide production industry . Mutagenesis ., 21: 143-148 .

Blarir, A. and S. H. Zahm (1995) . Agricultral exposures and cancer . Environ. Helth perspect ., 103: 205-208 .

Bloomquist, J. R. (1993) . Neuro receptor mechanisms in pyrethroid mode of action and resistance . Rev. pestic. Toxico., 2: 185-226 .

Bolognesi, C . (2003) . Genotoxicity of pesticides areview of human biomoitring studies . Mutat. Res., 543:251-272 .

Bolognesi, C. , E. Perrone and E. Landini (2002) . Micronucleus monitoring of afloriculturist population from western Liguria . Italy . Mutagenesis., 17(5): 391-397 .

Bolognesi, C. , S. Bonatti , P. Degan , E. Gallerani , M. Peluso , R. Rabboni , P. Roggieri and A. Abbondandolo (1997) . Genotoxic activity of glyphosate and its technical formulation roundup . Jou. Agric. Food Chm. , 45: 1957-1962 .

Bortoli, G. M. , M. B. Azevedo and L. B. Silva (2009). Cytogenetic biomonitoring of Braziliam workers exposed to pesticides :Micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers . Mutation res. \ Genetic Toxicology and Environm. Mutagenesis ., 675 : 1-4 .

Broek hoven, L. H. and E. R. Nestmann (1991) . Statistical analysis of the salmonlla Mutagenicity assay , in : D. Krewski and C. Franklin (Eds.) Satistics in Toxicology . Gordon and Breach . New York., pp: 205-264 .

Brown, L. M. , A. Blair , R. Gibson , G. D. Everrtt , K. P. Cantor , L. M. Schuman , L. F. Burmeister , S. F. Vanlier and F. Dick (1990) . Pesticide exposures and outher agricultural risk factors for leukemia among men in Iowa and Minnesota . Cancer res., 50 :6585-6591 .

Brown, T. D. , C. E. Schmidt and A. Radziwon (1993) . Comprehensive assessment of toxic emissions from coal – fired power plants , in: W. Chow , K. K. Connor (Eds.), Managing Hazardous Air pollutauts : state of the Art , Lewis , Florida ., pp: 116-125 .

Brown, N. L. and J. R. Sandy (2002) . Basic sciences in normal and abnormal palate development . Braz. Jou. Oral. Sci. , 1(2) :60-70 .

Bull, S. , K. Flecher , A. R. Boobis and J. M. Battershill (2006). Evidence for genotoxicity of pesticides in pesticide applicators : areview , Mutagenesis ., 21:93-103 .

Butler, W. H. (1991) . FMC 54800 technical oncogeicity lifetime feeding study in albino mice . Histopathological review of selected sections of liver , lung and urinary bladder . FMC study No. A83-974 . Unoublished report prepared by W. H. Butler, BIBRA Toxicology International . Submitted to WHO by FMC Corporation.

Caihong, X. , D. Yufei and C. Ping (2000). Studies on the Mutagenicity , teratogenicity and subchronic toxicity of methylamino – Abamectin China . Carcinogenesis , Teratogenesis , and Mutagenesis ., 12(3): 156-161 .

Calpp, W. L. , B. S. Fagg and C. J. Smith (1999) . Reduction in Ames test Salmonella Mutagenicity of mainstream cigarette smoke condensate by tobacco protein removal . Mutation res., 446: 167- 174 .

Carins, J. (1975). Mutation selection and the natural history of cancer. Nature., 255:197-201 .

Cariello, N. F. and W. W. Piegorsch (1996). The Ames test :The Two-fold rule revisited . USA mutation res., 369: 23-31 .

Campos, S. V. , C. L. Dais , E. D. Barbour , E. S. Nascimentom and G. A. Umbuzeiro (2009). The introduction of the salmonella \microsome Mutagenicity assay in a ground water monitoring program . Barzil , Muta. Res., 675: 17-22 .

Cavas, T. and S. Konen (2007) . Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral erthrocytes of gold fish (carassius auratus) exposed to aglyphosate formulation using the micronucleus test and the comet assay . Mutagenesis ., 22: 263-268.

Celik, M. , L. Donbak , F. Unal , D. Yubasioglu , H. Aksoy and S. Yilmaz (2007) . Cytogenetic damage in workers from acoal – fired power plant . Muta. Res., 627:158-163 .

Celik, A. , B. Mazmanci , Y. Camlica and A. Askin (2003) . Cytogenetic effects of lambda – cyhalothrimon wister rat bone marrow . Mutation res., 539: 91-97 .

Chang, H. , S. Wang , J. Chen , L. Hsu and S. Hwang (2000) . Mutagenic analysis of fermenting strains and fermented brine for Stinky Tofu . Jou. Of food and Drug Analysis ., 9 : 45-49 .

Chen, S. C. , T. Y. Wong and K. T. Chung (1997) . Base-pair mutation caused by four nitro-group containing aromatic amines in *salmonella typhimurium* TA100. TA104 . Mutation res. , 395:223-227 .

Christensen, K. , M. M. Schmidt , M. Vaeth and J. Olsen (1995) . Absence of facial – cleft defects .N. Engl. J. Med. , 333:161-164 .

Cobourne, M. T. (2004) . The complex genetics of cleft palate . Euro. Jou. Ortho., 26(1): 7-16 .

Collins, A. R. (2002). The comet assay principles , applications and limitation . Methode , Mol. Biol., 204: 163-177 .

Daniels, J. L. , A. F. Olshan and D. A. Savitz (1997) . Pesticides and childhood cancers Envirion. Health perspect USA ., 105 (10): 1068-1077 .

Dent, D. (2000) . Insect pest management .CABI publishing. New York . USA ., 410 PP.

Dimitrov, B. D. , P.G. Gadeval , O.K. Benova and M. V. Bineva (2006) . Comparative genotoxicity of the herbicides Roundup , stomp and Reglone in plant and mammalin test systems . Mutagenesis ., 21:375-382 .

Dulout, F. N. , M. C. Pastori , O. A. Olivero , C.M. Gonzalez , D. Loria , F. Matos , U. Sobel , E. C. De bujan and N. Albiano (1985) . Sister – chromatid exchanges and chromosomal aberrations in apopulation exposed to pesticide . Mutation rse. , 143:237-244 .

Edler, L. (1992) . Statistical methods for short – term test in genetic toxicology . The first fifiteen years . Mutat. Res., 277:11-33 .

EL-Khatib, E. , M. Abdel-Aziz , Y. Badr and N. Kamal (2005) . In-vivo genotoxicity of the synthetic pyrethroid pesticides (cypermethrin) in rat liver cell by Comet assay . Egypt, Arab Jou. Biotech. , 8(1): 67-82 .

EL-Khatib, E. and H.A. Rokaya (2001) . Genotoxic effect of two pesticides and their mixtures: *In-vitro* chromosomal aberrations assays . J. Union Arab. Biol. (16 A) Zoology: 355-380 .

Elliott, B. M. , R. D. Combes , C. R. Elcombe , D. G. Gatehouse , G. G. Gibson , J. M. Mackay and R.C. Wolf (1992). Alteratives to Aroclor 1254 - induced S9 *in vitro* genotoxicity assays . Mutagenesis ., 7:175-177 .

EPA, Food and Environment Protection Act . (1985) . Control of pesticides regulation evaluation of Fully Approved or Provisionally Approved products . part III , Evaluation on: bifenthrin No. 12 .

EPA, Environment Protection Agency (2002) . Department of pesticide Regulation Medical Toxicology Branch . California ., 67 : 236 .

Faribairn, D. W. , P. L. Olive and K. L. Oneill (1995) . The comet assay : acomprehensive review . Mutat. res., 339: 37-59 .

Farm Chemical hand book (2000) . Meifter publishing company – Willoughby USA .

Fall, M. , H. Haddouk , J. P. Morin and R. Forster (2007) . Mutagenicity of benzyl chloride in the salmonella \ microsome mutagenesis assay depends on exposure condition . France . Mutat. Res., 633:13-20 .

Gatehouse, D. , S. Haworth , T. Cebula , E. Gocke , L. Kier , T. Matsushima , C. Melcion , S. Venitt and E. Zeiger (1994). Recommendations for the performance of bacterial mutation assay . Mutat. Res., 312: 217- 233 .

Gatehouse, D. , I. R. Rowland , P. Wilcox , R. D. Callender and R. Foster (1990). Bacterial mutation assays . In : Basic Mutagenicity Tests: UKEMS part 1 Revised . Ed. D. J. Kirkland Cambridge University press ., pp: 13-61 .

Gatehouse, D. (1978). Detcation of mutagnic derivatives of cyclophosphamide and a variety of other mutagens in a microtiter R fluctuation test without microsomal activation . Mutation res., 53: 289 .

Geiger, L. E. , E. J. Ballester , J. Barbera and A.V. Malloy (1986) . Oncogenicity of FMC 54800 : Lifetime feeding study in albino mice . Unpublished report No. A83-974 prepared by FMC Corp. , Princeton, NJ, USA . Submitted to WHO by FMC Corporation .

Ghosh, A. K. , A. Sharma and G. Talukder (1992) . Cytotoxic effects of Sumicidin, atype II synthetic pyrethroid , on mice *in-vivo* at 6, 12 and 24 h after exposure . Cytpbios. , 71(285): 85-91 .

Gold, L. S. , T. H. Slone , B. N. Ames and N.B. Manley (2001) . Pesticide residues in food and cancer risck : A critical anaiysis In : Handbook of pesticide Toxicology . second edition (R, Krieger, ed.) San Diego, CA: Academic press., pp: 799-843 .

Gordon, L. R. , M.O. Bradleg , M.M. Cook , R. M. Berglund and M. Prato (1982) . Microbiol mutagen test on Abamectin (MK0936) with and without rat liver enzyme activation . study No. TT 82-8013 . Unpublished report prepared by Merck sharp and Dohme Research Laboratories , west point, Pennsylvania , USA . Submitted to WHO by MSDRL, Three Bridages , NJ. USA .

Green, M.C. (1967). A defect of the splanchnic mesoderm caused by the mutant gene dominant hemimelia in the mouse . Devl. Biol. , 15:62-89.

Green, M. H. L. , W. J. Muriel and B. A. Bridegs (1976) . Use of asimplified fluctuation test to detect low level of mutagens . Mutat. Res. , 38:33-42 .

Green, M. , E. Ben-hur , E. Riklis , S. Gordin and I. Rosenthd (1980). Application of Mutagenicity test for milk . Journal Dairy Science ., 63: 358-361.

Grover, P. , K. Danadevi , M. Mahboob , R. Rozati , B. Saleha and M.F. Rahman (2003) . Evalation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing the comet assay . Mutagnesis ., 18(2): 201-205 .

Glatt, H. , M.P. Sablijc and F. Oesch (1983) . Mutagenicity of glutathione and cysteine in the Ames test Science Magazine ., 220: 961-963 .

Guzman, A. , A. R. F. De henestrose , I. Carasa and L. Pritchard (2007) . Evaluation of the genotoxic potentid of the natural neurotoxin Tetrodoxin (TTX) in abattery of *in vitro* and *in vivo* genotoxin assay . mutat. Res., 634: 14-24 .

Guzzela, L. , F. Dicanterino , S. Monarca , C. Zani , D. Feretti , I. Zerbini , G. Nardi , A. Buschini (2006) . Mutagens in water – distribution systems after disinfection . Mutat. Res., 608: 72-81 .

Göggelmann, W. , M. Bauchinger , U. Kulka and E. Schmid (1996) . Genotoxicity of 4-chloro-o-toluidine in *Salmonella typhimurium* human lymphocytes and V79 cells Mutat. Res., 370: 39-47 .

Hartmann, M. and A. Hartwig (1998) . Disturbance of DNA damage recognition after UV irradiation by nickel (II) and cadmium (II) mammalian cells . Carcinogenesis., 19(4) : 617-621 .

Hartmann, M. and G. Speit (1996) . Effect of arsenic and cadmium on the persistence of mutagen – induced DNA lesions in human cells . Environ. Mol. Mutagen., 27: 98-104 .

Harwood (2001) . Determination of residue of Talstar and metalaxyl in nutried solution and soil samples by gas chromatography analyst ., 133: 208 – 215 .

Hofnung, M. and P. Quillardet (1986) . Recent developments in bacterial short – term tests for the detecation of genotoxic agents . Mutagenesis ., 1 : 319-330 .

Hoglund, M. , D. Gisselsson , G. Hansen , T. Sall and F. Mitelman (2002) . Muiltivariate analysis of chromosomal hnbalances in breast cancer delineates cytogenetic pathways and reveals complex relation ships among inbalances . Cancer res., 62: 2675-2680 .

Hubbard, S. A. , M. H. L. Green , D. Gatehouse and J. W. Brides (1984) . The fluctuation test in bacteria , In : handbook of Mutagenicity test procedures . 2N Edithion .Ed. Kilbey, B. J. , Legator, M. ; Nichols, W. and Ramal , C. Elsevier, Amsterdam- New- York – oxford., pp: 141-161 .

Hulka, B. S. , T.C. Wilcosky and J. D. Griffith (1990) . Biological Markers in Epidemiology , Oxford Universty press , New York .

Hübner, P. , P. M. Groux , B. Weibel , C. Sengstag , J. Horlbek , P. M. L. Morgenthaler and J. Lüthy (1997) . Genotoxicity of ethyl

earbamate (Urethane) in Salmonella , Yeast and human lymphoblastoid cells . Mutat. Res., 390: 11-19 .

IARC (1991) . Monograph on the “ Evaluation of carcinogenic risks to human” Occupatioal exposure in insecticide application and some pesticide International Agency for research on cancer . Lyon , Mutat. Res., 260: 105-113 .

Ji, B. T. , D. T. Silverman , P. A. Stewart , A. Blair , G. M. Swanson , D. Baris , R. S. Greenberg , R. B. Hayes , L. M. Brown , A. G. Schwartz , and R. N. Hoover (2001) . Occupational exposure to pesticides and pancreatic cancer . Ame. Jou. Ind. Med., 39:92-99 .

Jolibois, B. and , M. Guerbet (2005) . Evaluation of industrial , hospital and domestic wastewater genotoxicity the SOSchromotest Mutat. Res., 565: 151-162 .

Jones, E. and L. A. Fenner (1987) . Techincal PropamocarbHCL Hydrochloride : microbial metabolic activation test to assess mutagenic poletial . Unpublished reporte No. A85431 from Huntingdon Researach Centre , Huntingdon , England . Submitted to WHO by Bayer Crop. Sciences , Monheim , Germany .

Jäger, I. , C. Hafner and K. Schneider (2004) . Mutagenicity of different textile dye products in *salmonella typhimurium* and mouse lymphoma cells. Mutat. Res ., 591: 35-44.

Kammann, U. , M. Bunke , H. Steinhart and N. Theobald (2001) . permanent fish cell line(EPC) for genotoxicity testing of marine sediments with the comet assay . Mutat. res., 498: 67-77 .

Kassie, F. , W. Parzefall and S. Knasmuller (2003) . Single cell gel electrophoresis assay : a new technique for human bimonitoring studies . Mutat. Res., 463: 13-31.

Kennelly, J. C. , E. M. Cuirle , J. V. Garner and A. V. Malloy (1988) . Staudy to determine the ability of FMC 54800 to induce mutation in four histidine – requiring strains of Salmonella typhimurium using liver S9 from (a) maleor (b) female Swiss Webster mice oe (c) male sprague Dawley rats . Unpublished report prepared by Microtest Research Limited for FMC Corporation ., Princeton , NJ , USA . Submitted to WHO by FMC Corporation .

Kidd, H. and D. R. James (1991). Eds. The Agrochemicals Handbook, Third Edition. Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK, (As Updated).10-12

Kier, L. D. , D. J. Brusick , A. E. Auletta , E. S. VonHalle , M. M. Brown , V. F. Simmon , V. Dunkel , J. McCann , K. Mortelmans , M. Prival , T. K. Rao and V. Ray (1986) . The *salmonella typhimurium* \mammalian microsomal assay . Areport of the U. S. Environmental prptection agency Gene-tox program, Mutat. Res., 168: 69-240 .

Kirby, P. E. , G. Breidenthal , W. L. Bullock , E. M. Carey , J. L. Johnson , N. S. Karten , A. V. Malloy and T. R. O’Keefe (1983) . L5178Y Mouse lymphoma mutagenesis assay : FMC 54800 technical . Unpublished report prepared by Microbiological Associates for FMC Corp ., Princeton , NJ , USA . Submitted to WHO by FMC Corporation .

Kornuta, N. , E. Bagleg and N. Nedopitanskaya (1996) . Genotoxic effect of pesticides . Jon. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol., 15(2-4): 75-78 .

Kozumbo, W. J. , R. Kroll and R.T. Rubin (1982) . Assessment of the Mutagenicity of phthalate Esters. Environ. Health Perspectives ., 45: 103-109 .

Lah, B. , B. Zinko , M. Narat and R.M. Logar (2005) . Monitiring of genotoxicity in drinking water using *in vitro* comet assay and Ames test . Food Technol. Biotechnol., 43(2): 139-146.

Lamprodon, D. A. , T. A. Albanis (2002) . "Headspace solid-phase microextration applied to the analysis of organophosphprus insecticides in strawberry and cherry juices ." Jon. of Agicultural and Food Chemistry ., 50: 3359- 3365 .

Landauer, W. (1965) . Nanomelia alethal mutation of the fowl. Jon. Hered., 56: 131-138 .

Lankas, G. R. and L.R. Gordon (1989) . Toxicology . In Ivermectin and Abamectin . Campell, W. C., Ed. Springer Verlag. New York , NY., 10-142 .

Leite, A. C. L. , R. F. F. Vieira , D. R. M. Moreira , D. J. Brondani , R. M. Srivastava , V. F. De Silva and M. A Junior (2005) . Genotoxic activity of 3- (3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-s-yl) propionic acid and its peptidyl derivatives determind by Ames and SOS response tests . Mutat. Res., 588: 166-171.

Little, C. A. , D. J. Tweats and R. J. Pinnecy (1989) . Studies of error-prone DNA repair in *Escherichia coli* K-12 and *salmonella typhimurium* strains using amodel alkylating agent , Mutagenesis., 4(2): 90-94 .

Liddell, D. (1976). Practical tests 2 * 2 contingency tables .Statistician ., 25: 295 .

Light, H. C. , J. J. Hubert , P. David , S. S. Mattano , and W. W. Weber (2008) . Benzidine activation in the ames test : roles of hepatic N- acetytransrferase and of the cytoolic and microsoinal factor . Oxford Jou. Print Issu ., 143- 334 .

Lucero, L. S. , S. Pastor , R. Suarez , C. Durban , T. Gomez , A. Parron and R. Creus (2000) . Cytogentic biomonitoring of Spanish greenhouseworkers exposed to pesticides Micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells . Mutat. Res., 464: 255-262 .

Maertens, R. M. , R. W. Gagne , G. R. Douglas, J. Zhu and P.A. White (2008) . Mutagenic and carcinogenic hazards of settled House Dust II; Salmonella Mutagenicity . Environ. Sci. Tecnol. , 42(5) : 1754-1760 .

Majer, B. J. , B. Laky , S. Knusmuller and F. Kassie (2001) . Use the micronucleus assay with exfoliated epithelial cells as abiomarker for monitoring individuals at elevated risk of genetic damage and inchemoprevention trials . Mutat. Res., 489: 147-172 .

Maron, D. M. and B. N. Ames (1983) . Revised methods for the Salmonella mutagenicity test . Mutat. res., 113: 173-215 .

Marray, J. C. (1995) . Facts: genes Environment, and cleft lip and \ or palate . Clin. Genet., 61: 248-256 .

Mathur, N. , P. Bhatnagar and P. Bakre (2005) . Assessing Mutagenicity of Textile dyes from Pali (Rajastan) using Ames bioassay .

India . Applied Ecology and Environmental Res., 4(1) : 111-118 .

Matsushima, M. , M. Sawamura , K. Hara and T. Sugimura (1976) . A safe substitute for poly chlorinated biphenyls as an Inducer of metabolic activation system In: " *In vitro* metabolic activation in mutagenesis testing " Eds F.J. de Serres et al., Elsevier , North Holland ., pp: 85-88 .

McCann, J. and B. N. Ames (1976) . Detection of carcinogens as mutagens in the salmonella \ microsome test : assay of 300 chemicals : discussion . Proc. Natl. Acad. Sci. USA ., 73: 950-954 .

McCann, J. , E. Choi , E. Yamasaki and B. N. Ames (1975) . Detecation of carcinogens as mutagens in the Salmonella \ microsome test : of 300 chemicals. Proc. Natl. Acad. Sci. USA ., 72: 5135- 5139 .

McCauley, L. A. , W. K. Anger , M. Keifer , R. Langley , M.G. Robson and D. Rohlman (2006) . Studies health outcomes in farm worker population exposed to pesticides . Environ. Helth perspect ., 114: 953-960 .

Meinert, R. , J. Schuz , U. Kaletsch , P. Kaatsch and J. Michaelis (2000) . Leukemia and non – HodgKins Lymphoma in childhood and exposure to pesticides : results of aregister – based case – control study in Germany . Am. Jou. Epidemiol. , 151: 639-646 .

Mettlin, G. and A. Michalek (1996) . The causes of cancer . In R. McCorkle , M. Grant, M. Fran – strom borg, and S. Baird (eds),

cancer nursing : A comprebensiv text (2nd ed ., pp: 138-149 . Philadelphia: W.B sunders .

Migeot, C. k. , F. Callais , I. Momas and B. Festy (1997) . Use of *salmonella typhimurium* TA98, YG1024 andYG1021 and deconjugating enzymes for evaluating the Mutagenicity from smoker's urine . Mutat. Res. , 390: 283-291 .

Miyamae, Y. , M. Yamamoto, Y.F. Sasaki , H. Kobayashi , M. Igarashi-Soga , K. Shimoi and M. Hayashi (1998) . Evaluation of a tissue homogenization technique that isolates nuclei for the *in-vivo* single cell gel electrophoresis (comet assay) : a collaborative study by five laboratories . Mutat. Res., 418: 131-140 .

Morikawa, Y. , K. Shiomi , Y. Ishihara and N. Mastsura (1997) . Triple primary cancers involving kidney , Urinary Bladder and Liver in adye workers –Am. J. of Indus. Med. , 31: 44-49.

Moses, M. , E. S. Johnson , W. K. Anger , V.W. Buse , S. W. Horstman , R. J. Jackson , R.C. Lewis , K. L Maddy , R. McConnell , W.T. Meggs and S. H. Zahm (1993) . Environmental equity and pesticide exposure , Toxicol. Ind. Health . , 9: 913-959 .

Mortelmans, K. and E. Zeiger (2000) . The Ames Salmonella Microsome Mutagenicity assay . Mutat . Res. , 455: 29-60 .

Muniz, J. F. , L. McCauley , M. Scherer , M. Koshy , Y.W. Kow , V. Nazarstewart, and G. E. Kisby (2008) . Biomarkers of oxidative stress and DNA damage in agricultural worker : apilot studay , Toxicol. Appl. Pharmacol. , 227: 97-107 .

Murray, J. (2002) .Gene / environmental causes of cleft lip and / or palate . Calin. Genet. , 61: 248-256 .

OECD. (1997) . Guideline . no.471, OECD Organization for Economic and Development Guidelines for the testing of chimecals , Section 4-Health effect . bacterial reverse mutation test , OECD, Paris .

Oh, T. , T. Watanabe and K. Wakabay ashi (2004) . Mutagens in surface water : areview , Mutat. Res. , 567: 109-149 .

Pagano, A. D. and E. Zeiger (1992) . Conditions for detecting mutagens in human urine . Mutat. Res. , 121: 25-32 .

Pan, X. , M. J. San Francisco , C. Lee , K. M Ochoa , X. Xu , J. Liu , B. Zhang , S. B. Cox and G. P. Cobb (2007) . Examination of the Mutagenicity of RDX and its N-nitrosometal oiltes using the Salmonella reverse mutation assay . Mutat. Res. / Genetic Toxico. and Environ. Mutagen. , 629: 64-69 .

Pedigo, L. P. (1999) . Entromology and pest management . Prentice- Hall Inc., Simon and Schuster / Aviacom company New Jersey ., pp: 691 .

Piperakis, S. M. , K. Kontogianni , Z. I. Karanastasi , A. C. Wasilewska and M. M. Piperakis (2009) . Investigation of the genotoxic effect of pesticides on Green house workers lymphocytes . Environ. and Molecular. Mutagen., 50: 121-126 .

Poletta, G. L. , A. Larriera , E. Kleinsorge and M. D. Mudry (2009) . Genotoxicity of the herbicide formulation Roundup (glyphsate) in broad – snouted caiman (Caiman Latirostris) evidenced by the comet assay and the micronucleus test . Mutat. Res. / Genetic Toxico. and Environ. Mutage. , 672: 95-102 .

Ray, D. E. (1991) . Pesticides derived from plants and other organisms. In Handbook of Pesticide Toxicology. Hayes, W. J., Jr. and

Laws, E. R., Jr., Eds. Academic Press, New York, NY., 10-144 .

Renhana, Z. , A. Mallik and M. Ahmad (1995) . Mutagenic activity of the ganges water with special reference to the pesticide pollution the river between Kachla to Kannauj (U.P.), Indian . Mutat. Res. / Genetic Toxicology . , 343: 137-144 .

Ribas, G. , J. Surralles , E. Carbonell , N. Xamena , A. Creus and R. Marcos (1996) . Genotoxicity of the herbicides alachlor and maleic hydrazide in cultured human lymphocytes . Mutagenesis . , 11: 221-227 .

Ruiz, M. J. and D. Marzin (1997) .Genotoxicity of six pesticides by Salmonella mutagenicity test and SOSchromtest . Mutat. Res. / Genetic Toxico. and Environ. Mutage. , 390: 245-255 .

Russell, P. J. (1998) . Genetices . (5^{th} ed.) The Benlamin cumming Bublishing company , Inc. Menlopank, USA . pp 585-614 .

Sabbioni, G. and H. G. Numann (1990) . Biomonitoring of arylamines : hemoglobin adducts of urea and carbamate pesticides . Carcinogenesis . , 11: 111-115 .

Sailaja, N. , M. Chandrasekhar , P.V. Rekhadevi , M. Mahboob , M. F. Rahman , S. B Vuyyuri , K. Danadevi , S. A. Hussain , and P. Grover (2006) . Genotoxic evalution of workers employed in pesticide production : Mutat. Res./ Genetic Toxico. and Environ. Mutagene. , 609: 74-80 .

Sanborn, M. , K. J. Kerr , L. H Sanin , D. C. Cole , K. L. Bassil and C. Vakil (2007). Non-cancer health effects of pesticide for family doctors . Can. Fam. Physician ., 53: 1712-1720 .

Sarhan, M. A. (2007). Mutagenic Activity of N-butyl and N-hexyl Azide in the Salmonella Mutagenicity Test (Ames test) , Jou. of Applied Sci. Res., 3(9): 886-889 .

Shirasu, Y. , M. Moriya , K. Kato and A. Furuhashi (1976). Mutagenicity screening of pesticides in the microbial system , Mutat. Res. , 40: 19-30 .

Shukla, Y. , A. Yadav and A. Arora (2002). Carcinogenic and Cocarcinogenic potential of cypermethrin on mouse skin cancer , Toxicol . Lett., 182(1): 33-41.

Sierra-Tores, C. H. , N. Gajas-salazar , L. S. Hoyos and M. Zuleta (1998). *In vitro* and *in vivo* genotoxic activity of miral , an organophosphorus insecticide used in Colombia , Mutat. Res. , 415: 59-67 .

Slavkin, H. C. (1995). Molecular biology experimental strategies for craniofacial – oral dental dys morphology . Connact. Tiss. Res. , 32: 233-239 .

Surralles, J. , N. Xamena , A. Creus , J. Catalan , H. Norppa and R. Marcos (1995). Induction of micronuclei by five pyrethroid insecticides in whole-blood and isolated human iymphocyte cultures . Mutat. Res., 341: 169-184 .

Takekosh, S. (1964) .The mechanism of vitamin A induced teratogenesis . J. Embryol. Exp. Morph. , 12(2) : 263-271 .

Tamura, G. , C. Gold , A. Ferro-Luzzi and B. N. Ames (1980) . Fecalase : A model for activation of dietary Glycosides to mutagens by Intestinal Flora , Proc. Natl. Acad. Sci. USA . , 77: 4961-4965 .

Tsui, M. T. K. and L. M. Chu (2003). Aquatic toxicity of glyphosate – based formulation : comparison between different organisms

and the effect of environmental factors . Chemosph. , 52: 1189-1197 .

Thompson, E. D. and P. T. Melampy (1981). An Examination of the Quantitative Suspension Assay for mutagenesis with strains of *Salmonella typhimurium*. Environ. Mutagen. , 307: 335-344 .

Umbuzeiro, G. A. , D. A. Roubicek , P. S. Sanchez and M. I. Z. Sato (2001). Elsevier Sciencen , Mutat. Res./ Genetic Toxico. and Environ. Mutagen. , 491: 119-126 .

U.S. Environmental Protection Agency. (1990). Pesticide Fact Sheet Number 89.2: Avermectin B1. Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC.,10-143

U.S.FDA, Food and Drug Administration . (2000). Toxicological principles for the safety assessment of food Ingredients, Redbook , Center for food safety and Applicd Nutrition .

Vasconcellos, M. C. , R. M. Rosa , M. S. Machado , I. V. Villela , A. E. M. Crotti , J. L. C. Lopes , C. Pessoa , M. O. DeMoraes , N. P. Lopes , L.V. Costa – Lotufo , J. Saffi and J. A. P. Henriques (2007). Genotoxicity of 15-deoxygoyazen solide in bacteria and yeast . Mutat. Res. , 631: 16-25 .

Viel, J. F. and B. Chalier (1995) . Bladder cancer among French farmers: Does exposure to pesticides in vineyards play apart ? Occup Environ. Med. , 52: 587-592 .

Ware, G. W. and D. M. Whitacare (2004). In : The pesticide book . 6th Ed. Pp: 496 , meister media , world wide, will ongh by Ohio .

Walker, J. K. and R. Jam (1996) . Bioactivity of some fungicide that used in vegetable production , J. Agric. Food Chem. , 52: 533 – 538 .

Wessner, D. S. , P. C. Maiorano , J. Kenyon , R. Pillshury and A. M. Campbell (2001) . Spot-overlay Ames test of potential mutagens . proceeding of the 22nd workshop / conference of the association for Biology Laboratory Education (ABLE) ., 22: 489 .

WHO . (1992). Control T echnology for the formulation and packing of pesticides , world Health organisution , Geneva .

Wilcox, P. , A. Naidoo , D. J. Wedd and D. G. Gatehouse (1990). Comparison of *Salmonella typhimurium* TA102 with *Escherichia coli* WP2 Tester strins , Mutagenesis ., 5: 285-291.

Wilkie, A. O. and G. M. Morriss-kay (2001). Genetics of Carniofacial development and malformation , Nature Riviews Genetics ., 2: 458-468 .

Zeljezic, D. and V. Garaj-Vrhovac (2001) . Chromosmal aberration and single cell gel elctrophoresis (comet) assay in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides , Mutagenesis ., 6(4) : 359-363 .

Abstract

This study has been conducted to detect the mutagenic effect of this pesticides residues in tomatos and cucumber crops .

The commercial brond and the residues bifenthrin EC 10 % , propamocarbHCL SP 10% and abamectin EC 1.8 % were given the priority in screening due to thin abundant use in vegetables crops in Kerbala province .

The plate incorporation and Fluctuation tests using *Salmonell typhim urium* TA100 and TA98 , Were inplend in the screening procedures no mouse liver enzymes (S9) was used at this stage .

The Results of the commercial pesticides propamocarb HCL and bifenthrin showed that there is a mutagenic effect in the bacterial cells for all used concentrations in both strains by using the two methods . While abamectin pesticide showed no significant effect . .

Concerning dissipation of the three pesticides in the tomatos and cucumber crops , the results generally show that the residues of pesticides in cucumber are more than in the tomato crop for the three pesticides .

When the plate incorporation method was used to investigate the influence of the pesticicdes residue in the mentioned crops , the results showed that the residue of propamocarb and bifenthrin pesticides in tomato and cucumber crops have mutagenic influence at all the levels of production pick by using TA100 strain . But when the TA98 strain was used to perform the test , no mutagenic influence was conducted after 10 and 20 days of treating the tomato plant . And when the cucumber plant was treated , the mutagenic influence has not been noticed after 20 days of the treatment .

In the fluctuation test , concentrations of the residues of the propamocarbHCL and bifenthrin has shown the mutagenic influence in TA100 strain in all of the production pick of tomato and cucumber crops .

The same result has been shown in TA98 strain except in the last final stage of the two production pick , which has not shown any mutagenic influence in that bacterial strain . The researcher has also noticed that the stress of the mutagenic influence in the bacterial cells is also connected relationship with pesticide , its residues showed no mutagenic influence in both strains TA98 and TA100 by using the two methods .

The mentioned results assert the importance of using the rapid tests to investigate the material with genotoxicity in the environment specially those which mix with the food or drink of human in order to avoid them as in the case of proving that the abamectin pesticide has no mutagenic influence compared with bifenthrin and propamocarb which can be replaced by another pesticide in order to avoid the health damages might be resulted from . It is too early to judge these two pesticides because the used method shold be correlated other live systems like using tissue culture cell or

Eucaryotic cell like Yeasts . Any way the growth of the large numbers of chemical material intermingle in the food series of human , direct us to use cheap and rapid ways for the initial evaluation which highly assists testing the materials that are considered dangerous on the human health .

Bioassay Investigate about mutagenic effect of some pesticide that used in resistance vegetable pests

A Thesis Submitted

By

Huda AbdulRuda Abdullah Al Hashemi

To

The council of the College of Education - Kerbala University

As a partial Fulfillment of the Requirements For the Degree of Master of Science In Biology / Animal

Supervised

By

Dr. Muhsin Abd Jabar AL Mossawi

Dr. Rafid Abbas Al Essa

2009AC **1430 AH**