التأثير المضاد للتطفير للجرجير *Eruca sativa* في حث الطفرات المقاومة للستربتومايسين والريفامبيسين في الانظمة البكترية

الهام عبد الهادي خلف زهرة محمود الخفاجي *
معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية للدراسات العليا / جامعة بغداد / العراق
* العنوان الحالي : قسم علوم الأغذية / كلية الزراعة / جامعة الموصل / العراق .

الخلاصة

استعمل نظام G – system المكون من ثلاث سلالات مختلفة G3 (*Bacillus* spp) و G12 (*Arthrobacter* spp) و G27 (*Brevibacterium* spp) الموجبة لصبغة كرام وحساسة لصبغة البلور البنفسجي ، وكذلك حساسة لتركيز ١٠ مايكروغرام / مللتر من المضاد الحيوي الستربتومايسين و ٢٠ مايكروغرام / مللتر الريفامبيسين (واسمات كروموسومية) . استعملت السلالات لدراسة القابلية التطفيرية لعصير نبات الجرجير *Eruca sativa* والتأثير المضاد للتطفير عند استعمال مركب Cyclophosphamide (Cp) . تم قياس السمية الخلوية بقياس معامل البقاء Sx والسمية الوراثية بحساب تردد الطفرات المقاومة للستربتومايسين والريفامبيسين . اظهرت النتائج ان عصير الجرجير لا يؤثر في خلايا السلالات عند استعمال كميات قليلة (٥٠ و ١٠٠) مايكرولتر / مللتر من عالق خلايا في الطور اللوغارتيمي معلقة في محلول دارىء الفوسفات ، في حين اثر استعمال ٢٠٠ مايكرولتر في الخلايا وخفض معامل بقاءها إضافة الى حث بعض الطفرات في السلالات الثلاث . اظهر Cp فعلا ساما لخلايا السلالات البكترية الثلاث حيث خفض معامل البقاء وأدى الى حث الطفرات المقاومة للستربتومايسين والريفامبيسين . اما تداخلات عصير الجرجير مع المطفر سواء بالاستعمال سوية او استعمال العصير قبل او بعد المطفر ، فقد أظهرت نتائج مختلفة ، اذ امتاز استعمال العصير مع المطفر (J+Cp) او قبل المطفر (J/Cp) الى المحافظة على معامل البقاء دون التدني الى قيم اقل من الحد الفاصل للمواد المطفرة ، في حين كانت المعاملة بالمطفر اولا ثم بالعصير (Cp/J) غير قادرة على الحفاظ على معامل البقاء بحدود عدم التأثر ، وقد انسحب التأثير في حث الطفرات سواء المقاومة للستربتومايسين والريفامبيسين .

المقدمة

السرطان من الأمراض المتعلقة بالعمر والتفاعل مع البيئة سواء الخارجية او الداخلية للجسم . ويحصل حوالي ٣٠ % منه في عمر الثمانينات عندما تنخفض فعالية الجهاز المناعي (Dix واخرون ، ١٩٨٨) . وتشترك المطفرات مع المسرطنات بكونها مواد محبة للالكترونات Electrophiles والتي تهاجم الجزيئات الحيوية المختزلة جدا وخاصة DNA وتؤدي الى إحداث الضرر فيه وتغييره مما ينعكس بشكل سلبي على الفعاليات الحيوية للخلايا (Knudsen ، ١٩٨٦) . ومن جهة ثانية فان الأغذية النباتية وخاصة الطازجة تحوي على مواد مضادة للتطفير Antimutagens ومواد مضادة للتسرطن Anticarcinogens ، منها صبغات الكلوروفيل والكاروتينات والكومارينات والفلافونات والكلوتاثايون وغيرها وخاصة المركبات الحاوية على الكبريت (DeMarini ، ١٩٩٨) . وقد زاد الاهتمام بالأغذية النباتية المصدر للبحث عن مكوناتها وأنواعها المفيدة في الحد من تفاقم ألازمات الصحية الناتجة عن التطور الصناعي ، وهذا الاهتمام كان لابد ان يكون مقرونا باستعمال وتطوير وسائل كشف سريعة وملائمة ، وقد ازداد الاهتمام بالأنظمة الميكروبية كونها سريعة وتعطي نتائج ذات علاقة وثيقة بين المواد التي تؤدي الى حث الطفرات فيها والمواد المسرطنة (Stich و San ، ١٩٨١ و Knudsen ، ١٩٨٦) . نبات الجرجير *Eruca sativa* الذي تتناوله الدراسة الحالية يعود الى العائلة الصليبية Cruciferae وتسمى ايضا Brassicaceae باسم اهم الأجناس العائدة لها وهو نبات اللهانة (الملفوف) *Brassica oleracea* var *capitata* والقرنابيط *B. oleracea* var *botrytis* (Chakravarty ، ١٩٧٦ ، الكاتب ، ٢٠٠٠) . وللنباتات استعمالات طبية منها استعمالها كمضاد للبثع Antiscorbutic

---

مستل من رسالة ماجستير للباحثة الاولى
تاريخ تسلم البحث ٢٠٠٧/١١/١٩ وقبوله في ٢٠٠٨/١/٣٠

واغراض اخرى (Morales و Janick ، ٢٠٠٢) . والجرجير من النباتات التي تنمو في البيئات العراقية وقد استزرع في العراق منذ ثمانينات القرن المنصرم ، ونشطت الدراسات للبحث عن مكوناته ومدى الاستفادة منها (الجنابي ، ٢٠٠٤ والعنزي ، ٢٠٠٤) . وتستهدف الدراسة الحالية معرفة التأثير المطفر لعصير الأوراق للنبات وتأثيرها المضاد للتطفير باستعمال نظام تطفير بكتري (G – system) (العزاوي ، ٢٠٠٤) .

مواد البحث وطرائقه

السلالات البكترية المستعملة : G3 (*Bacillus* spp) و G12 (*Arthrobacter* spp) و G27 (*Brevibacterium* spp) من معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية للدراسات العليا / جامعة بغداد ، والسلالات حساسة لتركيز ١٠ مايكروغرام / مللتر من المضاد الحيوي الستربتومايسين و ٢٠ مايكروغرام / مللتر الريفامبيسين (واسمات كروموسومية) وحساسة للبلور البنفسجي Crystal violet .

الأوساط الغذائية :

المرق المغذي Nutrient broth (شركة England / Mast) : حضر وفق إرشادات الشركة المنتجة

وسط أكار أساس الدم Blood base agar (شركة England / Mast) : حضر وفق إرشادات الشركة المنتجة ودون إضافة الدم (Hedges وخرون ، ١٩٧٨) .

ماء البيبتون : حضر باذابة ١و. غم من البيبتون (شركة England / Mast) في ١٠٠ مللتر من الماء المقطر واستعمل في تخفيف المزارع البكترية .

محلول دارىء الفوسفات Phosphate buffer (PBS) : حضر برقم هيدروجيني ٥.٥ باستعمال محلول عياري من حامض الهيدروكلوريك HCl ، استعمل في إجراء عمليات التطفير وغسل الخلايا (Hudson و Hay ، ١٩٨٠) .

تحديد العد العيوشي Viable count : تم وفق الطرق المتبعة (Harrigan و McCance ، ١٩٧٦).

تحضير عصير النبات : اتبعت طريقة Lai واخرون (١٩٨٠) مع بعض التحوير وكالاتي :

تم اخذ ١٠٠ غرام من أوراق الجرجير المغسولة بماء الحنفية لإزالة الأوساخ والأتربة ، فرمت يدويا ثم وضعت في الخلاط الكهربائي Blender (شركة China / Moulinet) لمدة ٣ دقائق على السرعة المتوسطة ، رشح الناتج خلال طبقات من الشاش الطبي ، ثم تم ترويق العصير بالطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة ٢٠ دقيقة ، عقم النموذج بالترشيح باستخدام مرشحات غشائية (0.22µm Millipore filter) ، وكان الناتج ٢٠ مللتر من العصير الذي استعمل طازجا في التجارب .

محلول عقار Cyclophosphamide (Cp) : حضر محلول خزين بإذابة ٥٠ ملغم في ١٠ مللتر من الماء المقطر المعقم ، واستعمل المحلول لتحضير التراكيز المختلفة .

محاليل المضادات الحيوية : الستربتومايسين (Streptomycin sulphate) (شركة Ajanta India / والريفامبيسين (Rifampcin) (شركة الأدوية / سامراء SDI) حضرت محاليل خزينة Stock solutions في الماء المقطر المعقم . الاول بتركيز ١٠٠ ملغم/ مللتر والثاني ٢٠ ملغم / مللتر ، وحفظت في الثلاجة لحين الحاجة خلال أسبوع لتحضير التراكيز المطلوبة .

دراسة تاثير عصير الجرجير و Cp في السلالات البكترية : تم باستعمال الطريقة المستعملة في معهد الهندسة الوراثية (العزاوي ، ٢٠٠٤) .

اما دراسة التداخل بين العصير النباتي والمطفر Cp فقد تم بثلاث معاملات :

المعاملة الاولى : عوملت الخلايا بعصير الجرجير بتركيز ١٠٠ مايكرولتر / مللتر من عالق الخلايا (باعتباره التركيز الملائم) لمدة ١٥ دقيقة بدرجة حرارة ٣٧° م ، ثم غسلت الخلايا بمحلول PBS وعلقت بالمحلول نفسه وأضيف المطفر Cp بتركيز ٥٠ مايكروغرام / مللتر (التركيز الملائم) وحضنت لمدة ١٥ دقيقة بدرجة ٣٧° م ، بعدها فصلت الخلايا وغسلت بالمحلول PBS ، وسميت المعاملة (J/Cp) .

المعاملة الثانية : وفيها تم معاملة الخلايا بالمطفر أولا ثم بعصير النبات ثانيا وسميت (Cp/J)

المعاملة الثالثة : معاملة الخلايا بعصير النبات مع المطفر (J+Cp) وفيها تم مزج المطفر Cp مع العصير النباتي وحضنت النماذج بدرجة حرارة ٣٧˚ م لمدة ٣ ساعات قبل الاستعمال (الربيعي ، ٢٠٠٠) ، ثم استعملت المحاليل الناتجة في معاملة الخلايا لمدة ١٥ دقيقة بدرجة حرارة ٣٧˚ م ، ومن ثم فصلت الخلايا وغسلت .

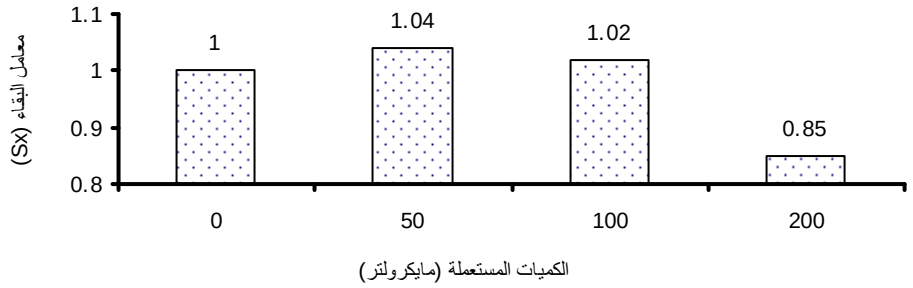
في جميع التجارب أعلاه وبعد فصل وغسل الخلايا تعلق الأخيرة في ٥ مللتر من وسط المرق المغذي ويحدد العد العيوشي لها ، ثم تحضن لليوم الثاني بدرجة حرارة ٣٧˚ م للتعبير الظاهري عن الطفرات ، اذ يحدد العدد الحي وعدد الطفرات المقاومة للستربتومايسين والريفامبيسين (Miller و Miller، ١٩٧٢) .

كررت التجارب أعلاه ثلاث مرات (وبثلاث مكررات) وتم اخذ معدلات القيم في الحسابات .

التحليل الإحصائي والحسابات : تم تحديد معامل البقاء Survival index (Sx) وتردد الطفرات Mutant frequency (Mx) (Eckardt وHaynes ، ١٩٨١) . اختبرت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دانكن متعدد الحدود (Duncan ، ١٩٥٥) .

النتائج والمناقشة

تجمع العديد من الدراسات ان حوالي ٨٥ % من المسرطنات هي مواد مطفرة باستعمال انظمة فحص قصيرة الأمد لان العمليتين تستهدفان المادة الوراثية (Haroun و Ames ، ١٩٨١ Kier و واخرون ، ١٩٨٦) . وتحتاج الدراسات الى تحديد التراكيز الملائمة من المطفرات وكذلك يجب تحديد تراكيز المواد المضادة للتطفير عند البحث عنها . توضح الأشكال ١ و ٢ و٣ تأثير الكميات المختلفة ٥٠ و ١٠٠ و ٢٠٠ مايكرولتر في معامل البقاء (Sx) للسلالات G3 , G12 , G27 على التوالي .

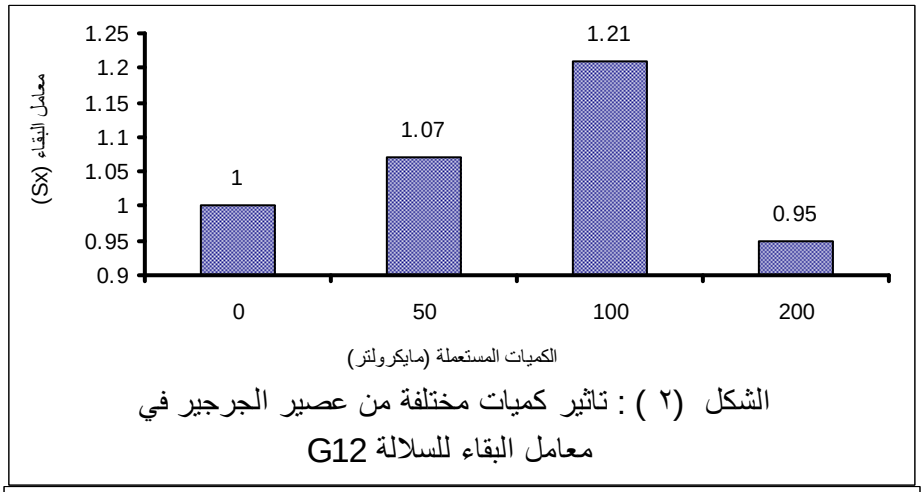


الشكل (١) : تاثير كميات مختلفة من عصير الجرجير في معامل البقاء للسلالة G3

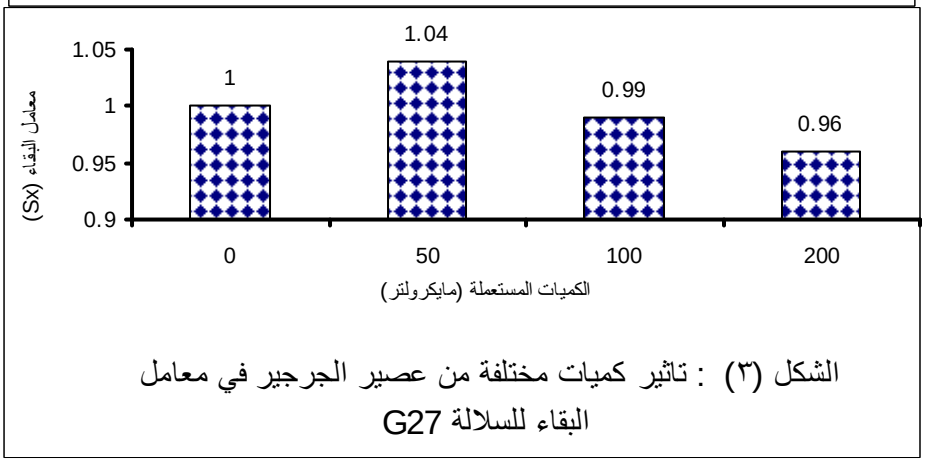
ويلاحظ من الاشكال ان الكميات ٥٠ و ١٠٠ مايكرولتر لم تؤثر في معامل البقاء وعيوشية السلالات الثلاث ، اما بالنسبة للكمية ٢٠٠ مايكرولتر فقد اظهر بعض التأثير خاصة بالنسبة للسلالات G3 , G12 اذ وصلت القيم القياسية المحددة لمواد التطفير ، اذ تعد المواد غير مطفرة فيما اذا كانت قيم معامل البقاء بين ٠.٩٦ – ١.٠، والقيم ٠.٨٦ – ٠.٩٥ للمطفرات الضعيفة ، اما القيم اقل من ٠.٨٥ فعندها تعد المواد مطفرة (Leifer واخرون ، ١٩٨١) ، وتصبح المادة سامة وراثيا فيما اذا انخفض معامل البقاء الى ٠.٥ . وقد اختيرت التراكيز المستعملة بناءا على تجارب اولية لدراسة التطفير لان التراكيز العالية تؤدي الى تسمم الخلايا وذلك لإحداثها تدمير كبير للـ DNA (Haroun و Ames ، ١٩٨١) ، فضلا عن تأثيرها في أهداف خلوية اخرى . فالتراكيز العالية تؤدي الى إظهار تأثيرات سمية على الخلايا ، ومعامل البقاء يحسب ليعطي مؤشرا لعمليات التطفير الا انه لا يحل محل فحص التطفير وانما يكون مكملا له ، لذلك يجرى قبل اجراء فحص التطفير (Leifer واخرون ، ١٩٨١و Green و Tweast ، ١٩٨١) . وقد درس تأثير الكمية ٢٠٠ مايكرولتر في حث الطفرات المقاومة للستربتومايسين (الشكل ٤) والطفرات المقاومة للريفامبيسين (الشكل ٥) .

وزيادة الكميات تؤدي الى زيادة تراكيز المواد الطبيعية الموجودة في العصير النباتي والذي قد يعود بالآثار السلبية والمتمثلة بالتأثيرات السمية والوراثية (Kassie واخرون ، ١٩٩٩) . اما التأثير

المطفر Cp على معامل البقاء للسلالات المستعملة فموضحة في الشكل (٦) ، وتأثيره على حث الطفرات المقاومة للستربتومايسين (الشكل ٧) والمقاومة للريفامبيسين (الشكل ٨) .



الشكل (٢) : تاثير كميات مختلفة من عصير الجرجير في معامل البقاء للسلالة G12



الشكل (٣) : تاثير كميات مختلفة من عصير الجرجير في معامل البقاء للسلالة G27

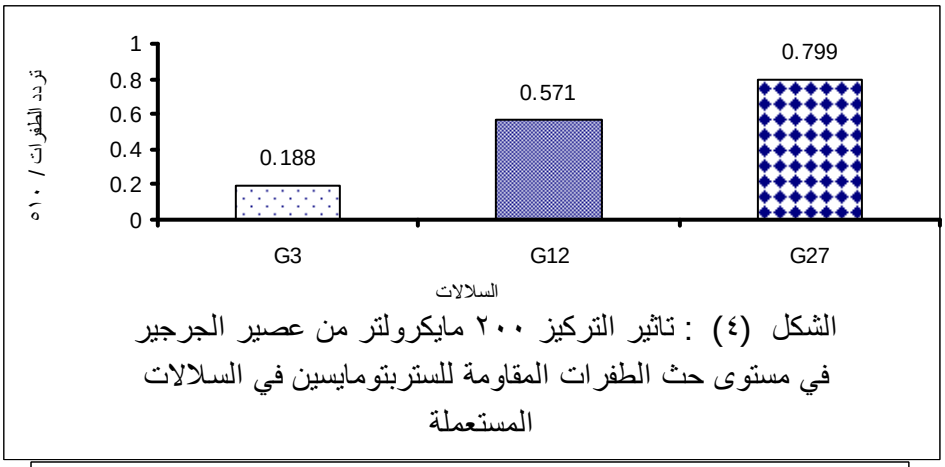
ويلاحظ من الشكل (٦) ان المطفر قد ادى الى انخفاض معامل البقاء في حين زاد من حث الطفرات عند استعمال تراكيز متزايدة ، وبصورة عامة تتناسب قيم معامل البقاء عكسيا مع معدل حث الطفرات (Rosin ، ١٩٨١) وهذا ما يلاحظ من الأشكال ، كما ان Cp يعد من المطفرات في البكتريا *Salmonella* ، اذ انه يؤدي الى زيادة مضطردة في عدد الطفرات عند زيادة التراكيز المستعملة أي انه من المطفرات القياسية (Stich و San ، ١٩٨١) .

وقد استعملت في الدراسة طريقة معاملة الخلايا في النظام السائل (دارىء الفوسفات) ولمرة واحدة أي تعريض محدد والتي تعد اكثر حساسية من طريقة الأطباق التي تبقى فيها الخلايا بملامسة مع المادة المطفرة والتي يمكن ان تؤثر في النتائج فضلا عن امكانية تفاعل المواد مع مكونات الوسط والاكر (Bartsch خرون ، ١٩٧٦) . وفي التجارب عامة والتجارب الخاصة بالتداخل فقد تم إجراءها في محيط سائل (PBS) وتغسل الخلايا بعد المعاملة لإزالة التأثيرات المتبقية .

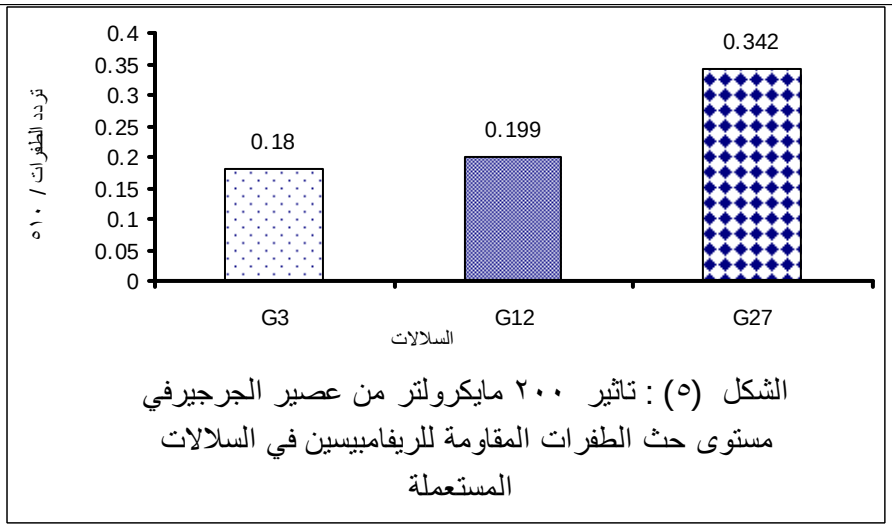
درس تأثير التداخلات بين عصير الجرجير والمطفر Cp (٥٠ مايكروغرام / مللتر باعتباره التركيز الملائم) في معامل البقاء بداية وبوجود السيطرة السالبة (بدون إضافات) والسيطرة الموجبة (باستعمال Cp) ، واستعمال عصير الجرجير بتداخلات مختلفة شملت استعمال العصير ١٠٠ مايكرولتر (كونه الكمية الأفضل) لدراسة التطفير ، اذ عوملت الخلايا بالعصير قبل الطفر (J/Cp) وبالعصير بعد استعمال المطفر (Cp/J) وبالعصير مع المطفر (J+Cp) والنتائج موضحة في الشكل (٩) .

ويلاحظ ان الكمية المستعملة ١٠٠ ميكرولتر من الجرجير لم تؤثر في معامل البقاء للسلالات ما عدا السلالة G27 التي حصل انخفاض لمعامل بقاءها الى (٠.٩٧) ولكنه غير مهم معنويا ويقع ضمن المدى (٠.٩٦ – ١.٠) الذي لا يعد مطفرا (Leifer واخرون ، ١٩٨١) وقد يعود الهبوط عن الحالة

الطبيعية الى ان عصير الجرجير تتركز فيه النترات بشكل كبير فضلا عن كونه غني بمركبات الكبريت التي يمكن ان تظهر تأثيرات سلبية على الخلايا عند زيادتها (Lenzi و Tesi ٢٠٠٠) ، في حين اظهر المطفر انخفاضا كبيرا في معامل البقاء واثر بشكل سام للخلايا وكانت اكثر السلالات تأثرا G12 .



الشكل (٤) : تاثير التركيز ٢٠٠ مايكرولتر من عصير الجرجير في مستوى حث الطفرات المقاومة للستربتومايسين في السلالات المستعملة



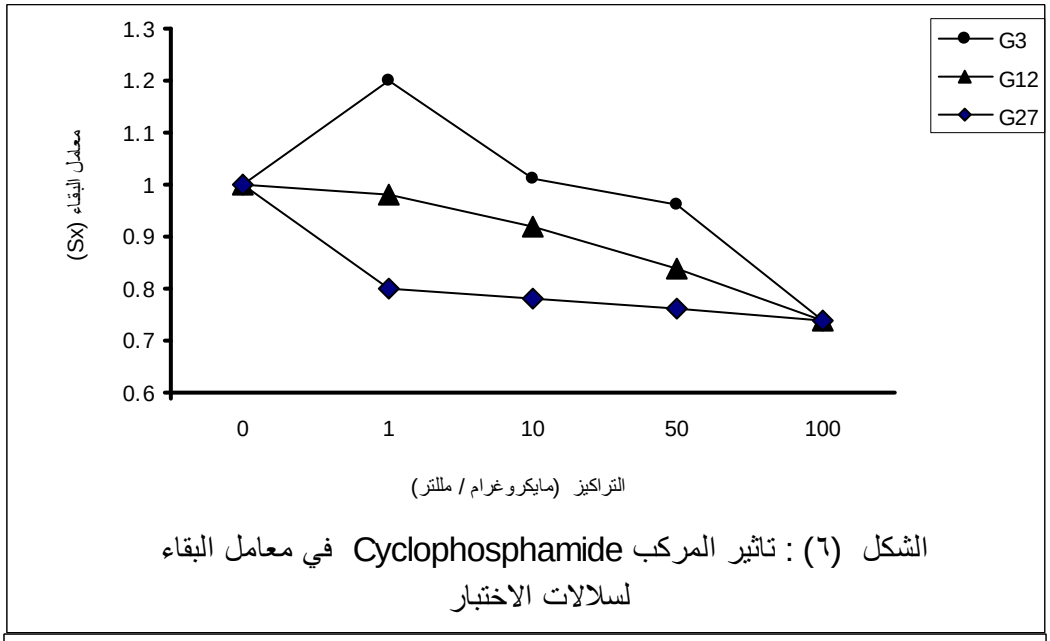
الشكل (٥) : تاثير ٢٠٠ مايكرولتر من عصير الجرجيرفي مستوى حث الطفرات المقاومة للريفامبيسين في السلالات المستعملة

اما التأثير المطفر للمعاملات اعلاه في حالة الستربتومايسين موضحة في الشكل (١٠) والريفامبيسن في الشكل (١١) .

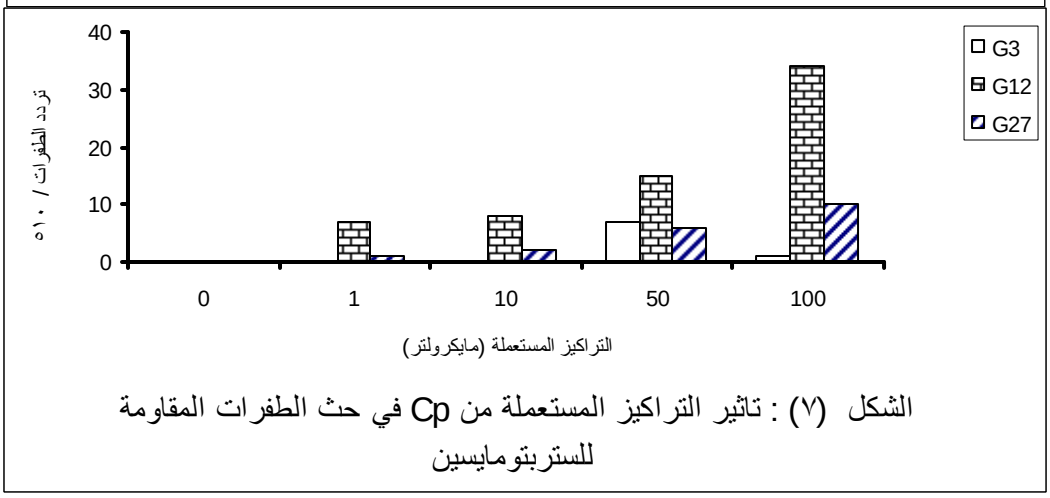
ويلاحظ بصورة عامة ان معاملات الجرجير قد أدت الى إخماد حث الطفرات سواء في حالة الستربتومايسين او الريفامبيسين خاصة عند استعمال العصير لمعاملة الخلايا قبل استعمال المطفر او مع المطفر ، ويتضح ان العصير قد أدى الى حماية وصلت الى ١٠٠ % مقارنة بالسيطرة الموجبة (المعاملة بالمطفر) وإعادتها الى المستوى الطبيعي (السيطرة السالبة) ، ويوضح الشكلان (١٢ و١٣) نسب الحماية التي أضفتها المعاملات ضد حث الطفرات المقاومة للستربتومايسين والريفامبيسين على التوالي .

ومن المعروف ان هناك العديد من أنظمة الكشف القصيرة الأمد ولكن لا يمكن الركون الى فحص واحد لذلك توصي الجهات المختصة باستعمال سلسلة من الفحوص (WHO ، ١٩٩٣) للكشف عن قابلية المواد على التطفير والتسرطن ، وفحوص التطفير عادة تكشف عن المواد التي تتفاعل مع DNA ، اما المسرطنات فبالإضافة الى تفاعلها مع DNA الا ان هناك مسالك أخرى تحث السرطانات (Haroun و Ames ، ١٩٨١) ، وهذا يعني ان ليس كل المسرطنات هي مواد مطفرة والعكس صحيح ، ولكن بصورة عامة تستعمل فحوص التطفير والكشف عن المواد المضادة للتطفير او التسرطن اعتمادا على حقيقة ان تحول الخلايا من الحالة الطبيعية الى حالة التسرطن تكون ناتجة عن تغيير في الجينات أي حدوث الطفرات التي تؤدي الى تغيير الصفات الموروثة وفقدان السيطرة على

نمو الخلايا (Kier واخرون ، ١٩٨٦) . وبما ان جميع الكائنات الحية تتكون مادتها الوراثية من أشرطة مزدوجة من DNA وبتسلسل محدد من القواعد النتروجينية تكون خاصة بكل كائن حي لذلك يمكن استعمال أي كائن حي لتحديد المطفرات والمواد المضادة لها بوجود معاملات سيطرة ملائمة (Ames، ١٩٧١) .



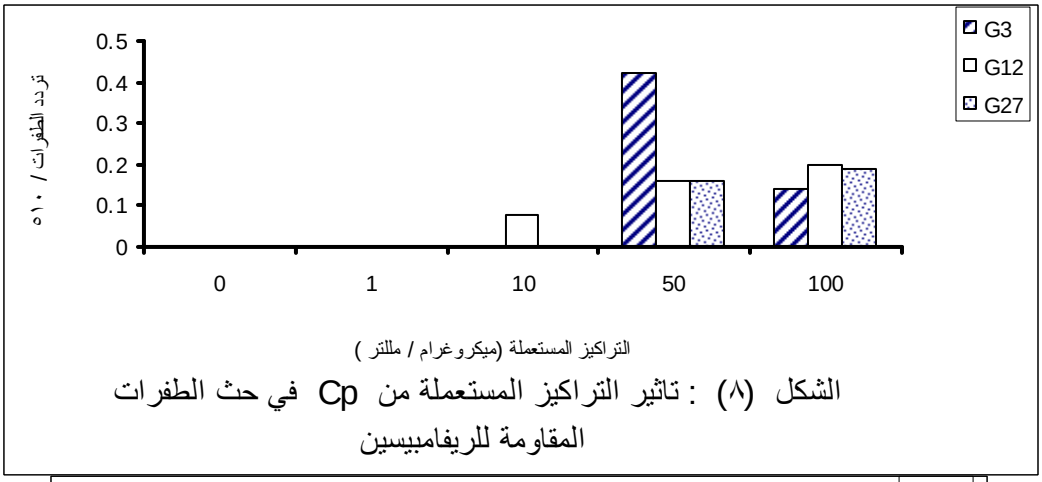
الشكل (٦) : تاثير المركب Cyclophosphamide في معامل البقاء لسلالات الاختبار



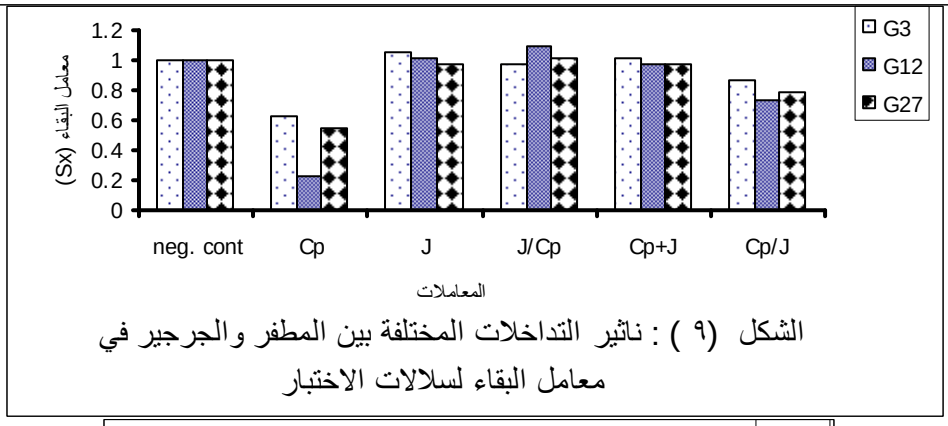
الشكل (٧) : تاثير التراكيز المستعملة من Cp في حث الطفرات المقاومة للستربتومايسين

وتستعمل الأنظمة مثل نظام ايمس (Ames system) المعتمد على استعمال طفرات عوز غذائي (Auxotroph) للهستدين his^- للرجوع الى الحالة الطبيعية his^+ في سلالات خاصة من البكتريا *Salmonella typhimurium* بتأثير المطفرات (Kier واخرون ، ١٩٨٦) وكذلك تستعمل للكشف عن المواد المضادة للتطفير (Rosin ، ١٩٨١) .

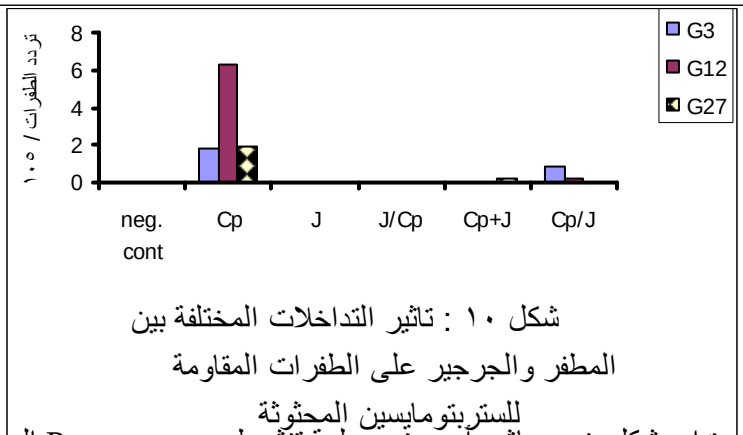
وبصورة عامة تكون المواد المضادة للتطفير اما مضادات تطفير مباشرة Desmutagens أي تتفاعل مع المواد خارج الخلايا وتحورها ، او تكون مثبطات تطفير حيوية Bioantimutagens وهي التي تساعد في إصلاح المواد الوراثية بعد حصول العطب فيها (Kada واخرون ،١٩٨٦ و Bronzetti ، ١٩٩٧) ، ولذلك تجرى المعاملات على الخلايا قبل وبعد المعاملة بالمطفر لمعرفة سلوك المواد المضادة للتطفير (Rosin و Stich ، ١٩٧٨) . ويمكن للمواد المضادة للتطفير ان تعمل بعدة ليات مثل كسح الجذور الحرة الفعالة المتولدة نتيجة التعرض للإشعاع او كونها مواد عرضية ناتجة من الفعاليات الحيوية داخل الجسم . وقد وجد ان العائلة الصليبية تحوي على ما يسمى بـ Cabbage factor الذي يقلل من الفعل المطفر للـ Trp-p2 الناتج من طبخ اللحوم تجاه بكتريا *Escherichia coli* وذلك بتثبيط



الشكل (٨) : تاثير التراكيز المستعملة من Cp في حث الطفرات المقاومة للريفامبيسين

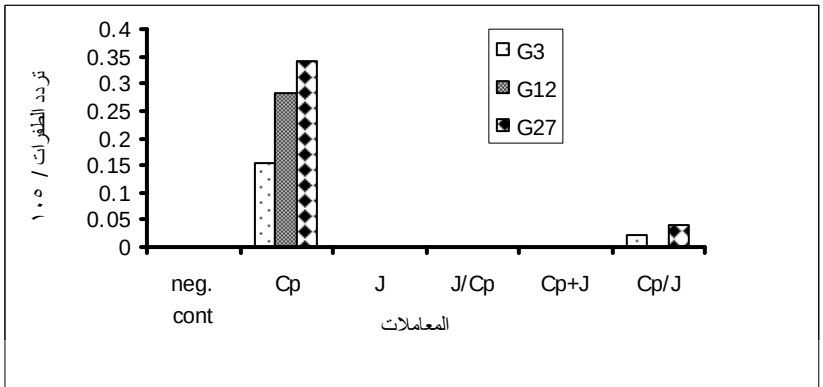


الشكل (٩) : ناثير التداخلات المختلفة بين المطفر والجرجير في معامل البقاء لسلالات الاختبار



شكل ١٠ : تاثير التداخلات المختلفة بين المطفر والجرجير على الطفرات المقاومة للستربتومايسين المحثوثة

المطفر مباشرة او بشكل غير مباشر أي يمنع عملية تنشيط Promutagen الى مطفرات فعالة مباشرة . وتحوي أفراد العائلة الصليبية مثل الجرجير على المركبات الحلقية Aromatic isothiocyanates ومنها Benzyl - ITC و Allyl –ITC وكذلك احتواءه على مركبات الاندول ومن اهمها Indole – 3 – carbinol ، وقد أثبتت الدراسات قدرة هذه المركبات في منع حصول الطفرات في المادة الوراثية حيث تعمل باليات مختلفة لتثبط فعل المطفرات منها غلق مسار التنشيط الايضي لها ، او كسح الجذور المتكونة أثناء ايض المطفرات (Zhang واخرون ، ٢٠٠٣) ، فضلا عن احتواء الجرجير على الفيتامينات مثل فيتامين C والكاروتين والتي تعد من المركبات المضادة للأكسدة ولها القدرة على التثبيط المباشر (Lee ، ١٩٩٩) .



ومن الدراسة الحالية والدراسات الأخرى يتضح ان لنباتات العائلة الصليبية تأثير فعال في الوقاية من خطر الإصابة بأمراض السرطان اذ وجد ان فعاليتها في الحد من السرطان تفوق الكثير من الفواكه والخضر لما لها من اثر كبير في تثبيط المطفرات ومنع تراكمها في الجسم وبذلك فهي تعمل على تثبيط مرحلة البدء لمرض السرطان (Keek و Finley ، ٢٠٠٤)

والتأثير السلبي لعصير الجرجير على الخلايا البكترية بالتراكيز العالية قد يعود الى احتواءه على الحامض ألدهني Erucic acid الذي ثبت ان له تأثيرات سلبية على الخلايا الحية (Mattson ، ١٩٧٣) ، كما ان المواد التي تثبت فعاليتها في منع التطفير مثل الجرجير لا يمكن ان تفسر نتائجها على انها مفيدة للإنسان بدون حدود وبالتالي الإسراف في تناولها خاصة نباتات العائلة الصليبية فقد يكون لها تأثير ضار (Grobstein ، ١٩٨٢) ، كما ان نتائج الدراسة يجب ان تدعم بفحوص أخرى مثل فحوص داخل الجسم الحي وفحوص طويلة الأمد كما توصي العديد من الجهات المختصة مثل منظمة الصحة العالمية (WHO ، ١٩٩٣) ومنظمة حماية البيئة EPA وغيرها .

ANTIMUTAGENIC EFFECT OF ROCKET (*Eruca sativa*) ON INDUCTION OF STREPTOMYCIN AND RIFAMPICIN RESISTANT MUTANTS IN BACTERIAL SYSTEMS

Ilham A. Khalaf Zahra M. Al-Khafaji*
Institute of Genetic Engineering & Biotechnology for Postgraduate Studies / University of Baghdad / IRAQ .
* Present address : Dept. of Food Science / University of Mosul / IRAQ.

ABSTRACT

G- system (Bacterial system) , composed of three strains , G3 (*Bacillus* spp) , G12 (*Artherobacter* spp) , G27 (*Brevibacterium* spp) which are Gram positive , sensitive to crystal violet and Streptomycin (10 µg / ml) and Rifampicin (20µg / ml) (Chromosomal markers) . This system was used to study the mutagenic effect of rocket juice (*Eruca sativa*) and its antimutagenic activity against the cyclophosphamide(Cp) mutagenic activity using different combinations by measuring the cytotoxicity (Estimating the survival index) , and genotoxicity by estimating the induction of streptomycin and rifampicin resistant mutants (As chromosomal markers) . Results showed that rocket juice at 50 and 100 µl / ml of log culture cell suspension in phosphate buffer had no cytotoxic or genotoxic effects , higher levels (200µg / ml) had slight cytotoxic and genotoxic activities . Cp had both cytotoxic and genotoxic activities . Combinations of plant juice and mutagen (Cp) together (J+Cp) or using juice before treating with mutagen (J/Cp) or using the juice after treatment with mutagen (Cp/J) showed different effects . The treatment (J+Cp) and (J/Cp)protect the cells and the survival index didn't exceed the cutoff value of mutagenic agents , while the (Cp/J) treatment was unable to protect the cells . The latter effects appeared as an induction of streptomycin and rifampicin resistance .

المصادر

الجنابي ، نضال محمد صالح (٢٠٠٤) . تأثير المستخلصات النباتية كمضادات ميكروبية ومضادات أكسدة وتطبيقها في الأنظمة الغذائية . أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة / قسم الصناعات الغذائية والتقنيات الحيوية / جامعة بغداد / العراق .

العنزي ، مهند (٢٠٠٤) . تأثير المستخلصات الخام لنبات الجرجير *Eruca sativa* M في نمو الجراثيم المرضية . رسالة ماجستير ، كلية العلوم / جامعة بغداد / العراق .

الربيعي ، فرحة عبد (٢٠٠٠) . دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفير لبعض النباتات الطبية العراقية في الفئران البيض . رسالة ماجستير ، كلية التربية ابن الهيثم / قسم علوم الحياة / جامعة بغداد / العراق .

العزاوي ، غيث لطفي (٢٠٠٤) . الكشف عن المطفرات في الأغذية والبيئة باستعمال نظام بكتيري . رسالة دبلوم عالي . معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية للدراسات العليا / جامعة بغداد / العراق .

الكاتب ، يوسف منصور (٢٠٠٠) . تصنيف النباتات البذرية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة الموصل / العراق .

Ames , B . (1971) . The Detection of Chemical Mutagens with Enteric Bacteria . *In* " Chemical Mutagens : Principles and Methods for their Detection " . A. Hollaender (Ed.) . Plenum : New York , Vol. I .

Bartsch , H . , A. Camus and C. Malaveille (1976) . Comparative mutagenicity of N- nitrosamines in a semi-solid and in liquid incubation system in the presence of rat or human tissue fractions . Mut. Res. 37 : 149 -162 .

Blum , A . and B. Ames (1977) . Flame retardant additives as possible cancer hazards . Science 195 : 17 – 23 .

Bronzetti , G . (1997) . The role of antimutagenesis and anticarcinogenesis. J. Environ . Pathol . Toxicol . Oncol . 16 : 259 – 262 .

Chakravarty , H . (1976) . Plant Wealth of IRAQ . A Dictionary of Economic Plants : Vol. I . Ministry of Agriculture and Agrarian Reform , Baghdad , IRAQ .

DeMarini , D. (1998) . Dietary interventions of human carcinogenesis . Mut. Res. 414 : 457 – 465 .

Dix , D . ; R. Cohen and J . Flannery (1980) . Role of aging in cancer incidence . J. Theor. Biol. 83 : 163 – 173 .

Duncan , D. 1955 . Multiple range and multiple F- test . Biometric 11 : 1 -42 .

Eckardt, F. and R . Haynes (1981) . Quantitative Measures of Induced Mutagenesis . *In* " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens " . H . Stich and R . San (Eds.). Springer – Verlag : New York , Heidelberg .

Green, M. and D. Tweast (1981) . An *Escherichia coli* Differential Killing Test for Carcinogens Based on *uvrA , recA , lexA* Triple Mutant . *In* " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens " . H . Stich and R . San (Eds.) . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .

Grobstein , C. (1982) . Diet , Nutrition , and Cancer . Nutrition Academy Press : Washington .

Haroun , L. and B. Ames (1981) . The *Salmonella* / Mutagenicity Test : An Overview . *In* " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens " . H . Stich and R . San (Eds.) . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .

Harrigan , W. and M. McCance (1976) . Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology . Academic Press : London , New York .

Hedges, A. , R. Snannon , and R. Hobbs (1978) . Comparison of the precession obtained in counting viable bacteria by the Miles and Misra method . J . Appl. Bacteriol. 45 : 57 – 65 .

Hudson , L. and F. Hay (1980). Practical Immunology . 2nd Edition . Blackwell Scientific Publications : London .

Kada , T. ; T. Inoue ; K. Morita and M. Namiki (1986) . Dietary Desmutagens . *In* " Genetic Toxicology of the Diet " I . Knudsen (Ed.) , Alan , R. Liss . Inc. : New York .

Kassie , F. ; B. Pool-zobel ; W. Parzefall and S. Kansmuller (1999) . Genotoxic effects of benzyl isothocyanates , a natural chemoprotective agent . Mutagenesis 14 : 595 – 604 .

Keek , A. and J . Finley (2004) . Cruciferous vegetables : Cancer protective mechanism of glycosinolate hydrolysis products and selenium . Integrative Cancer Therapies 3 : 5 – 12 .

Kier , L. ; D . Brusick ; A. Auletta ; E. Halle ; M. Brown ; V. Simmon ; V . Dunkel ; J. Mecann ; K. Mortelmans ; M. Prival ; T. Rao and V. Ray (1986) . The *Salmonella typhimurium* / mammalian microsomal assay : A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gen –Tox Program . Mut. Res. 168 : 240 -269 .

Knudsen , I. (1986) .Genetic Toxicology of the Diet . Alan R. Liss . New York .

Lee , I . (1999) . Antioxidant vitamins in the prevention for cancer . Proc. Assoc. Am . Physicians 111 : 10 – 15 .

Leifer , Z. ; J . Hyman and H. Rosenkranz (1981) . Determination of Genotoxic Activity Using DNA Polymerase – Deficient and – Proficient *E. coli* . *In* " Short –Term Tests for Chemical Carcinogens " . H . Stich and R . San (Eds.) . Springer –Verlag : New York , Heidelberg .

Mattson , F. (1973) . Potential Toxicity of Food Lipids . In " Toxicants Occurring Naturally in Foods " . National Academy of Sciences : Washington .

Miller , E. and J . Miller (1972) Mutagenicity of Chemical Carcinogens Correlations Problems and Interpretations . *In* " Chemical Mutagens : Principles and Methods for their Detection " . A. Hollaender (Ed.) . Plenum : New York , Vol I .

Morales , M . and J . Janick (2002) . Arugula A : Promising Leaf Vegetable . *In* " Trends in New Crops and New Uses " . J . Janick & A . Whipkey .(Eds.) ASHS Press : Alexandria . VA .

Rosin , M. (1981) . The Use of a Bacterial Assay to Identify which Agents Modify Carcinogen – Induced Mutagenesis . *In* " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens". H . Stich & R . San (Eds.) . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .

Rosin, M. and H. Stich (1978) . Inhibitory effect of reducing agents on N-acetoxy– and N – hydroxyl -2 acetylaminofluorene – induced mutagenesis . Cancer Res. 38 : 1307 – 1310 .

Stich , H and R. San (Eds.) (1981) . Short – Term Tests for Chemical Carcinogens . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .

WHO (1993) . Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines . Regional Office for the Western Pacific . Manila .

Zhang , Y. ; L. Tang and V. Gonzalez (2003) . Selected isothiocyanates rapidly induced growth inhibition of cancer cells . Mol . Cancer Ther. 2 : 1045 – 1055.