دراسة التأثير السمي لمبيد الادغال كولد توبيك (80EC) في بقاء و سلوك سمك البعوض (*Gambusia holbrooki* ,Girard 1859)

طيبة نجم حسن و مها عبد النبي غثوان

قسم علوم الحياة/كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم)/جامعة بغداد

tibanajiem@yahoo.com

الخلاصة

أجريت التجربة لدراسة التأثيرات السمية لمبيد الاعشاب Gold Topik (80EC) في بقاء وسلوك سمك البعوض *Gambusia holbrooki*, وذلك بتحديد التركيز المتوسط القاتل (LC50) خلال 24 ساعة تعرض وقياس الفروق المعنوية بين التراكيز باستخدام جدول تحليل التباين ANOVA عند مستوى معنوية P(0.005) . وقد استخدمت تراكيز تصاعدية من مبيد الكولد توبيك (7.7, 8.7, 9.7, 10.7, 11.7, 12.7, 13.7, 14.7 ملغم/لتر), لتحديد قيمة التركيز المتوسط القاتل . وقد اظهرت النتائج قيمة ال LC50 هي (11.7) ملغم/لتر , وان معدل الهلاكات يزداد بزيادة التراكيز . كما اظهرت نتائج الدراسة الحالية بعض السلوكيات غير الطبيعية متمثلةً بالتهيج والسباحة غير المنتظمة وقلة الرغبة بالتغذي, بالإضافة الى فقدان التوازن وزيادة حركة الغطاء الغلصمي, لتقود هذه الأعراض الى موت الاسماك .

الكلمات المفتاحية : التأثير السمي , مبيد الادغال , كولد توبيك , بقاء وسلوك .

Study the toxic effect of the herbicide Gold topik (80EC) on survival and behavior of mosquito fish (*Gambusia holbrooki* Girard 1859)

Teeba Najim Hassan and Maha Abdulnabi Gathwan
Department of Biology, College of Education for Pure Science, (Ibn Al-Haitham), University of Baghdad

Email : tibanajiem@yahoo.com

Tel : 07700248779

Abstract:

The experiment was carried out to study the toxic effect of the herbicide Gold Topik (80EC) on survival and behavior of mosquito fish *Gambusia holbrooki* . The mean lethal concentration (LC50) and differences between concentrations were determined during 24 hrs exposure and been measured using ANOVA methods at significant level (P<0.005). Ascending concentrations of Gold Topik (80EC) (7.7 ,8.7 ,9.7 ,10.7 ,11.7 ,12.7 ,13.7 ,14.7 mg/l) were used to determine. The value of LC50 was 11.7 mg/l. The mortality rate was increased with increasing the concentrations. Results of present study showed some abnormal behaviors including erratic and irregular swimming , decrease the feeding intensity , in addition to loss balance and increase the movements of operculum ,these symptoms lead to death of fish.

Key word : Toxic effect , Herbicide ,Gold topik , survival and behavior.

المقدمة

تتعرض مصادر المياه الطبيعية الى التلوث من خلال تأثرها بالعديد من العوامل الفيزيوكيميائية وانشطة الانسان والكائنات الحية الاخرى , اذ تتغير العديد من الصفات الموسمية على مكونات المياه ولا يستثنى من ذلك اي مصدر من المصادر المائية سواء كان بحرا او نهرا او بحيرة او بركة وغيرها [1] .

ارتبط مفهوم التلوث البيئي سابقاً بالصناعة , كون البيئة ومنذ زمن طويل تتعرض لمختلف الملوثات الصناعية , فقد اعطى اودم (Odum) [2] تعريفا للملوثات على انها بقايا لمواد صنعها الانسان والتي يستعملها ويرميها , الا انها في الوقت الحاضر تمثل اي زيادة في الانشطة الصناعية , الزراعية والبشرية, لأنها تسبب تلوث المياه السطحية والجوفية بوساطة الاجهاد الفسيولوجي الشديد الذي تسببه تلك المواد في النظم المائية والمؤدية لضرر الموطن المائي ككل [3].

عرف نيكولسن وروزن (Nicolson & Rosen) [4]المبيدات على انها سموم اقتصادية تستخدم لتنظيم اثر الحيوانات والنباتات الضارة على حياتنا الاقتصادية , مبيد الكولد توبيك (80EC) موضوع الدراسة الحالية من المبيدات العشبية الجهازية المستخدمة في الزراعة للسيطرة على الحشائش النامية بين النباتات المنتجة للحبوب , وقد ذكر انيلادي فيكو نجاما (Aniladevikunjamma) [5]دخول مثل تلك المواد للنظم المائية تسبب ضغطاً بيئياً على الكائنات الحية وبالأخص الاسماك , كونها واقعة عند قمة السلسة الغذائية وهي الاكثر تأثرا بالملوثات وبعده طرق كأن تكون خلال التنفس او عن طريق تناول الانواع الملوثة الاصغر حجما وحصول ظاهرة التراكم الحيوي Bioaccumulation لمجموعة واسعة من الملوثات لان الكائنات الحية لا تستطيع العيش بمعزل عن بيئتها , وان التفاعل بين الكائن الحي والمحيط الذي يعيش فيه ما هو الا مبدأ اساسي في علم البيئة والذي ينتج عنه تطور الكائن . [6, 7]

وضح شعبان ونزار [8] بعض الكائنات الحية يمكنها العيش في بيئة ملوثة وان هذه البيئة قد تؤثر في معيشتها وتكاثرها, كون الأحياء متحسسات لعوامل بيئية محددة فتتحسس بوجود التغيرات البيئية, وتعد الاسماك اكثر الاحياء تأثرا بالملوثات بسبب وجودها في الماء, والذي اذ ما حدث فيه اي تغيير سوف يحدث اضطراب في التوازن الملحي لسوائل اجسامها الخارجية, كون العلاقة وطيدة بين السوائل الجسمية والمحيط الخارجي [9] .

تعددت الدراسات التي تناولت التأثيرات السمية للمبيدات على سلوك الاسماك , كدراسة [10] حول تأثير مبيدات الاعشاب(Herboclin) في سلوكيات سمك قرموط الكلاريس *Clarias*

batrachus ودراسة [11] على سمك الجوبي *Poecilia reticulate cuppy* ودراسة [12] على سلوكية سمك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* المعرض لمبيد الاندوسلفان, أذ أظهرت النتائج انحرافات سلوكية تمثلت بالتشنجات وحركات عنيفة اثناء السباحة مع فقدان توازن وزيادة في معدل حركة الغطاء الغلصمي, والمرور بفترات خمول طويلة نسبيا لتنتهي جميع هذه الاعراض بموت الاسماك بفم وغطاء غلصمي مفتوحين وتغير لون الجسم , وعلى اساس تلك الانحرافات ركزت الدراسة الحالية في معرفة التأثيرات السمية لمبيد الادغال Gold topik (80EC) ومادته الفعالة Clodinafop-propargyl في سمك البعوض *Gambusia holbrooki*, بتحديد التركيز المتوسط القاتل LC_{50} خلال 24 ساعة تعرض, ومعرفة نسبة البقاء والتغيرات السلوكية للأسماك المعرضة لتراكيز مختلفة من المبيد , علما ان هذا المبيد من المبيدات واسعة الاستخدام في مكافحة الادغال رفيعة الاوراق بين محصول الحنطة بعد الانبات , وان اختبارات السمية الحادة Acute toxicity تعطي معلومات مباشرة حول الاثار السلبية لتلك المواد على الكائنات الحية والنظم البيئية, مما يعطي صورة كاملة حول الاثار الضارة المحتمل حصولها للبيئة [14,13].

المواد وطرائق العمل

- استخدام مبيد الأدغال كولد توبيك GOLD TOPIK (80EC) المجهز من قبل شركة Green River, والذي يحتوي على المادة الفعالة Clodinafop-propargyl بشكل مستحلب بسعة 1 لتر وتركيز مادته الفعالة 80 غم\لتر.

- حضرت ثمان تراكيز مختلفة متدرجة من مبيد كولد توبيك (80EC) (7.7, 8.7, 9.7, 10.7, 11.7, 12.7, 13.7, 14.7)ملغم/لتر , لغرض تحديد التركيز المتوسط القاتل LC_{50} خلال 24 ساعة تعرض, وهو تركيز المادة السامة في الوسط البيئي على ان يكون افراد هذه المجموعة من نفس النوع والوزن والعمر والجنس والحالة التغذوية وضمن نفس الظروف المختبرية لغرض قتل نصف العدد من افراد تلك المجموعة الحاملة لنفس الصفات .

- حضرت التراكيز المستخدمة في التجربة حسب تركيز المادة الفعالة للمبيد, بتحضير محلول stock solution بتركيز 250ملغم\لتر من التركيز الاصلي وباستخدام طريقة التخفيف حسب قانون التخفيف.

(عددمرات التخفيف)=التركيز الاصلي

غم\لتر/التركيز المطلوب غم\لتر.

- اعتمدت طريقة التجربة المستمرة بعد تحضير تراكيز متسلسلة من المبيد لتحديد التركيز المتوسط القاتل LC_{50} خلال24 ساعة ,وتحديد التركيز الذي يقتل 0% والتركيز الذي يقتل 100% وبواقع 24 سمكة لكل تركيز وبثلاث مكررات ,وحدد التركيز 7.7 ملغم\لتر تركيزا ادنى والتركيز 14.7 ملغم\لتر تركيزاً اعلى .

- استخدمت اسماك البعوض *Gambusia holbrooki* في التجربة والتي تم جمعها بواسطة شبكة خاصة لجمع الاسماك fish net ذات فتحات بقطر 2.5 ملم من محافظة ديالى ,واختيرت الاسماك الخالية من الاصابات المرضية الظاهرة لغرض تعرضها للمبيد وباوزان تتراوح 0.08 ± (0.316) .

- وزعت الأسماك في أحواض زجاجية بأبعاد (30*30*100) سم مقسمة من الداخل الى خمسة احواض بأبعاد (30*30*20) سم للحوض الواحد وبسعة 20 لتر ماء ,وجهزت بالتهوية المستمرة لمدة 20ساعة يوميا ودرجة حرارة (22 ± 2).

- تركت الأسماك لمدة 48 ساعة في الاحواض المجهزة سابقاً بمياه خالية من الكلور قبل إضافة المبيد اليها لمراقبة سلوكها الحركي قبل اضافة التراكيز المجهزة من المبيد المستخدم.

- زودت الاسماك بالغذاء من علب التغذية الجاهزة للأسماك في الاسواق المحلية بشكل اقراص , واضيف قرص واحد لكل حوض وبشكل يومي.

- حسب التركيز المتوسط القاتل LC_{50}بالطريقة المباشرة اي حساب 50% هلاكات .

- حسبت النسبة المئوية للهلاكات بعدما خضعت الاسماك لمراقبة مستمرة ولمدة 24 ساعة حسب معادلة ابوت [15].

$$P=(P`-C)\backslash(100-C)*100$$

P=النسبة المئوية للهلاكات

P`=النسبة المئوية للهلاكات بعد المعاملة

C=النسبة المئوية للهلاكات في السيطرة

- . كما اعتمد البرنامج الاحصائي (SPSS) في تحليل النتائج احصائيا ,واختيرت معنوية الفرق بين التراكيز باستخدام اختبار اقل فرق معنوي(LSD(least significant difference test عند مستوى معنوية (0.05).

النتائج والمناقشة

التأثيرات السلوكية :

أظهرت اعراض التأثير السام لمبيد الكولد توبيك (80EC) بعد ساعات من التعرض وقبل انتهاء ال 24 ساعة تعرض , وشملت الاعراض التوقف عن السباحة والبقاء ثابتة في مكانها ردا على التغير الحاصل في بيئتها والمتمثل بالمبيد . ثم تحولت الى السباحة السريعة غير المنتظمة (تهيج وارتباك) وعدم الرغبة بالتغذي بالمقارنة مع مجاميع السيطرة , والطفو على السطح وتنفس سريع ويتضح من ارتفاع حركة الغطاء الغلصمي operculum , فقدان الاسماك توازنها لتنتهي جميع هذه الاعراض بالموت. تتفق هذه النتائج مع دراسة [16] حول تأثير مبيد التريبون Etofenprox ومتبقياته في بالغات اسماك البعوض *Gambusia affinis* , والذي استنتج خلالها ان للمبيد القابلية على التراكم في المواد الدهنية .

ومن الاعراض الاخرى لوحظ الصعود الحاد للأسماك الى السطح وزيادة في افراز المخاط من قبل الخلايا المخاطية , وقد فسرت دراسة [17] اعراض الصعود الحاد والطفو فوق سطح الماء و افراز المخاط , الى التأثير السام للمبيد على الجهاز العصبي المركزي Central (CNS) nervous system وعلى نظام القلب والاوعية الدموية والذي يلعب دوراً في التحكم بسلوك وتصرفات الجسم , فيؤدي الى نقص التنسيق عند الجهاز العصبي المركزي الناجم من تراكم الاستيل كولين استيريز Acetyl choline esterase عند المشبك العصبي –العضلي [18] , كما ان ظاهرة الطفو على السطح والتي تترافق مع معاملة الاسماك بتراكيز sub lethal والناتجة عن نقص الاوكسجين في الماء, اذ تمثل هذه الظاهرة احد السلوكيات لدى الاسماك للحصول على الاوكسجين من الهواء الجوي [19] , اما فقدان التوازن وفرط النشاط فأنها من علامات تسمم الاسماك بالمبيدات , كون ان المبيدات تسبب العديد من الاضرار وبصورة مباشرة على الاسماك , وان سمية الاسماك تظهر بسلوكها بالدرجة الاساس [20].

ذكر كوكس Cox [21] ان تعرض سمك التراوت القزحي *Salmo gairdenri* الى 1/2 قيم ال LC_{50} للمبيد العشبي سبب للأسماك السباحة العشوائية وصعوبة بالتنفس , اضافة للدوران حول محور الجسم والوصول الى قعر الحوض, لان الأسماك تتأثر بصورة شديدة بعمليات ازالة الاوكسجين في البيئة المائية والناتج من طرح الملوثات وما تحويه من مواد عضوية أساسها الكاربون القابل للتحويل الى CO_2 باستخدام الاوكسجين المذاب, والذي لا تستطيع السمكة من استنشاقه [23,22].

سمية المبيد :

أظهرت نتائج السمية لمبيد الكولد توبيك Gold topic (80EC) على اسماك البعوض *Gambusia holbrooki* عند تعريضها الى تراكيز متسلسلة تراوحت (7- 15) ملغم/لتر وخلال فترة تعرض 24ساعة لكل تركيز وبثلاث مكررات , اذ يلاحظ في الجدول زيادة النسبة المئوية للهلاكات مع زيادة التركيز , وقد حدد التركيز المتوسط القاتل LC_{50} للمبيد وقيمته 11.7 ملغم/لتر والموضح في الشكل (1) والذي يبين ان المبيد سام للأسماك بدرجة معتدلة , كون قيمته وحسب تصنيف لويس [24] للمبيدات العشبية على اساس درجة سميتها واقعة (11- 100) ملغم/لتر , وقد سجلت (EFSA ,2005) ان لمبيد التوبيك سمية منخفضة عند الاستنشاق , وقيم (LC_{50}>2.3)ملغم/لتر بالمقارنة مع مبيد الPendimethalin العشبي شديد السمية للأسماك , وقيم الLC50 لسمك زرقاء الغلاصم 199 ملغم/لتر ولسمك السلور 420 ملغم/لتر [26], كما اشارت النتائج في الجدول (1) الى تزايد سمية المبيد على سمك البعوض بزياده تركيزه على اساس النسب المئوية للهلاكات, اذ يتضح من خلال الجدول تناسبا طرديا بين النسب المئوية للهلاكات والتراكيز المستخدمة من المبيد . كما اعتمد البرنامج الاحصائي (SPSS) في تحليل النتائج احصائيا ,واختيرت معنوية الفرق بين التراكيز باستخدام اختبار اقل فرق معنوي LSD(least significant difference test) عند مستوى معنوية (0.05),والموضح في الجدول (2) الذي يبين فروقا واضحة عند مستوى معنوية $P<0.05$ عند المقارنة بين جميع التراكيز المستخدمة في التجريب , عدا التركيز 9.7 ملغم /لتر عند مقارنته مع التركيز 8.7ملغم /لتر كون الفروق بدت ارتفاعا في المعنوية عن مستوى 0.05 . المادة الفعالة في المبيد هي Clodinafop- propargyl , تحوي على مجموعات كيمياوية لها تأثير على تكوين الاحماض الدهنية وهذه المجموعات تسمى Aryloxy Phenoxy Propionate , والتي لها تأثير ايضاً على سلوكيات الكائنات الحية .

المصادر:

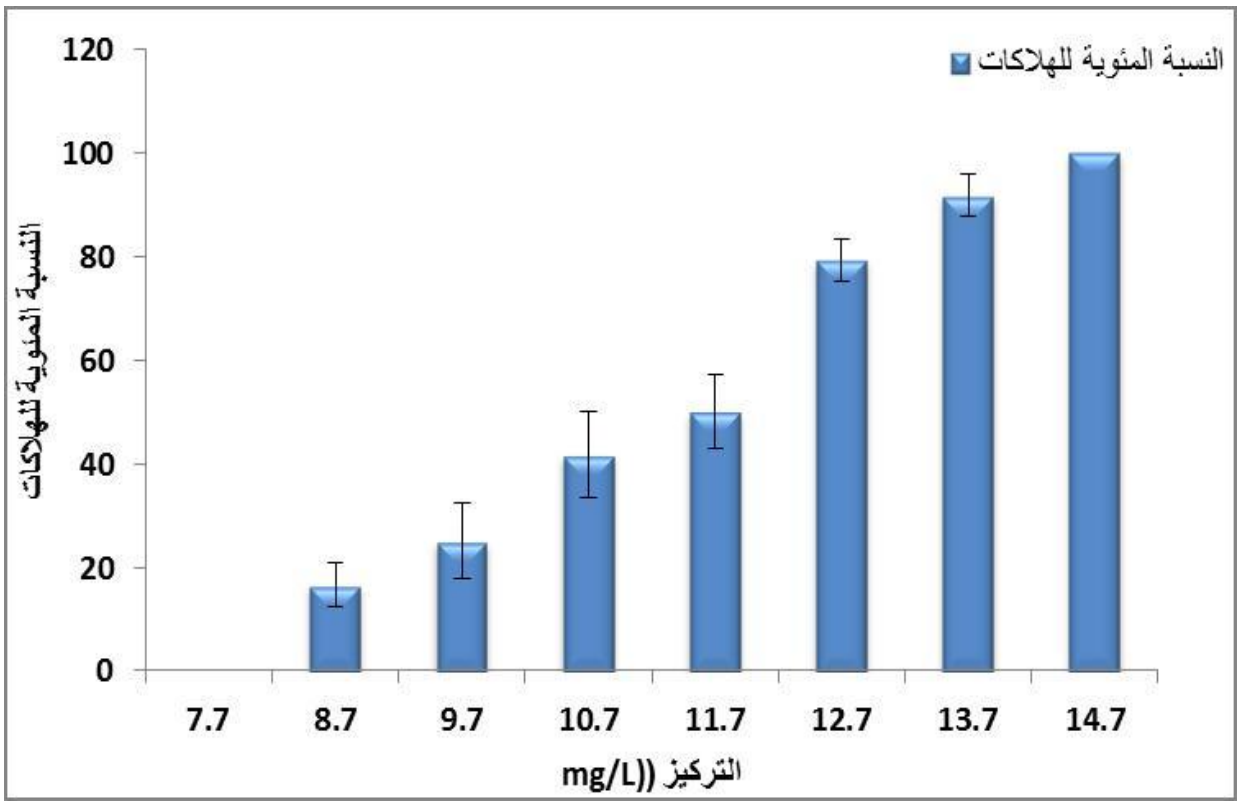
1. الغرابية ,مسامح و الفرحان ,يحيى . (2011). المدخل الى العلوم البيئية .رام الله –المصيون دار الشروق للنشر والتوزيع :436 صفحة.

2. Odum,E.P. (1971). Fundamental of ecology. Philadeliphia.578pp.
3. Chaplen, F.W.R., Vissvesvaran , G. and Jovanovic , G.N. (2007). Improvement of bioactive compound classification through integration of orthogonal cell-based biosensing methods. Sensors, 7:38-51.
4. Nicolson, C.A and Rosen, F. (1963). In:Advances in enzyme regulation ,VOL.I ed B.weber, pergamon press, NY, 1963.341.Indirectly quoted from "significance of aminotransferase activity of the fresh water teleost ,*Oreochromis mossambicus* (trewavas)"under lindane toxicity .current science ,October 20, 54(20).
5. Aniladevi Kunjamma, K.P., Babu, P., Smitha,V.B. and Jisha, J. (2008). Histopathological effects on *Oreochromis mossambicus* (Tilapia) exposed to chloropyrifos. JERAD 2:553-559.
6. Koca, S., Koca, Y.B., Yildiz, S. and Gurcu, B. (2008). Genotoxic and histopathological effects of water pollution on two fish species. *Barbus Capitopectoralis* and *Chondrostoma nassus* in the Buyukmenderes River. Turkey Biol Trace Elem Res 122:276-291.
7. AL-Sabti, K., and Metcalfe, C.D. (1995). Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. Mutat Res, 343:121-135.
8. شعبان, عواد ونزار , مصطفى الملاح. (1993). المبيدات .دارالكتب للطباعة والنشر .جامعة الموصل : 520 صفحة .
9. Robeerts, N.L., Cameron, D.M., Emrson, E.S. and Carter, J.N. (1987). Residues of Etofenoprox in the milk and tissue of dairy cows.Huntingdon research Ltd .Rep. Mtc 132\87587.
10. Krian, A. and Jha, A.k. (2009). Acute toxicity and behavioral responses of herbicide (Herboclin) to the fish *Clarias batrachus* (Linn).Indian . J. Environ. Ecoplan.16: 185-188.
11. Pranshranth, M.S., Sayeswara, H.A. and Gondar ,M.A. (2011). Free cyanide induced physiological changes in the fresh water fish water fish, *Poecilia reticulate*. J.Exp.Sci.2(2):27-31.
12. AL-Rudainy, A.J. and Kadhim, M.H. (2012). Hematological and neurotoxic effects of endosulfan pesticide on common carp *Cyprinus carpio*.The Iraqi J.Vet.Med., 36:58-67.
13. Adedeji, O.B., Adedeji,A.O., Adeyemo, O.K. and Agbede, S.A. (2008).

Acute toxicity of diazinon to the African catfish (*Clarias gariepinus*). Afr. J. Biotechnol, 7:651-654.

14. Onyedineke, N.K., Odukoya, A.O. and Ofoegbu , P.U. (2010). Acute toxicity tests of cassava and rubber effluents on the ostra codastrandes iapravaklie , 1935 (*Crustacea ostracoda*).Res. J. Environ. Sci. 4:166-172.
15. Abbott , W.S. (1925). Amethod of computing the effectivenss of an insecticide. J. Econ. Entomol, 18:265-267.
16. تأثير مبيد . (2010) . ابراهيم قدوري ,حسين عبدالاميروقدو المشهداني,Etofenprox ومتبقياته في بالغات اسماك البعوض *Gambusia affinis* .564-561: 4العدد, 5المجلد, المجلةالعراقية للعلوم.
17. Hussein,S.M. (1996). Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on freshwater fish *Orechruomis niloticus* and *Chyrsichthyes auratus* at Assiut, Egypt, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 57:503-510.
18. Rao, J.V., Begum, G., Pallela, G., Usman , P.K. and Rao, R.N. (2005). Changes in behavior and brain acetylcholinesterase activity in mosquitofish *Gambusia affinis* in elation to sublethal exposure of chlorpyrifos. Int.J.Environ.Res.Public Health, 2(3-4): 478-483.
19. Rajasekaran, G., Kavitha, M., Sudha, R. and Kannan,K. (2009). Impact of temperature on berhaviour and respiratory responses of catfish *Clarias gariepinus*. J.Ecobiol. 24:263-268.
20. Scott, GR., Sloman, K.A. (2004). The effect of environmental pollutants on complex fish behavior : Integrating behavioral and physiological indicators of toxicity. Aquat. Toxicol., 68: 369-392.
21. Cox, C. (1998). Glyphosate (Round up). J. Pesticide Reform, 18:3-16.
22. Row, C.L. (2003). Growth responses of an estuarine fish exposed to mixed trace element in sediments over a full life cycle. J. Ectox. Environ., 54(2).
23. Beg, M.U. (2001). Chemical contamination and toxicity of sediment from a coastal area receiving industrial effluents in kuwait. Archchvives of environmental contamination and toxicology. 41(3):289-297.
24. Louis, A.H., Diana, L.W. and Elizabeth, R.S. (1996). Pesticide and aquatic animal :A Guide to reducing impacts on aquatic systems ,Virginia Department of Game and inland fisheries ,Blacksbury ,Virgina Publications number,13:420.
25. European food safety authority (EFSA) ,Conclusion on the peer review of clodinafop. EFSA scientific Report 34:1-78.(2005). Available from ,asof june 16, 2011. http://WWW.efsa.europa.eu/en/efsaJournal/pub/34ar.htm
26. Extoxnet. (1996). Pesticide information ,Profile:2,4D .June. http://ace.orst.edu./info/extoxent/pips/2,4-D.htm

شكل (1): الخط السمي الناتج من معاملة اسماك البعوض باستخدام مبيد الكولد توبيك (80EC) وقيمة LC50=11.7 mg\L



الجدول (1): يبين النسبة المئوية لهلاك سمك البعوض*Gambusia holbrooki* مقابل التراكيز من مبيد ال(GOLD TOPIK(80EC

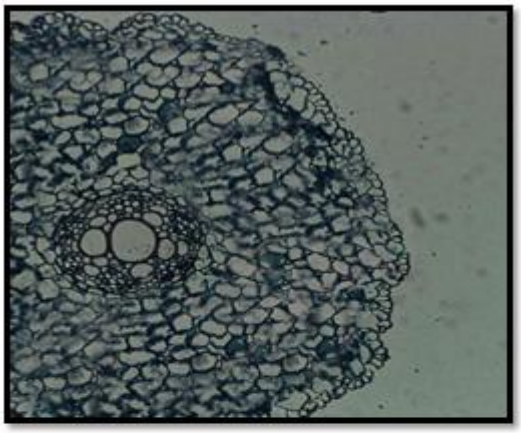
التركيز ملغم\لتر	لوغاريتم التركيز	النسبة المئوية للهلاكات
7.7	0.886	0%
8.7	0.939	16.66%
9.7	0.986	25%
10.7	1.029	41.66%
11.7	1.068	50%
12.7	1.103	79.16%
13.7	1.136	91.66%
14.7	1.167	100%

جدول(2): تحديد الفروق المعنوية(P-value) للتراكيز باستخدام طريقة الانوفا ANOVA عند مستوى معنوية ($p<0.05$)

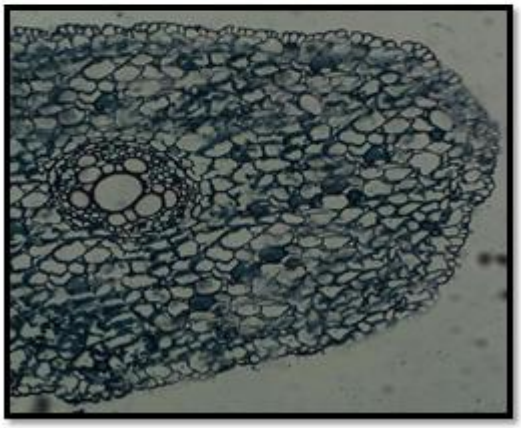
	Concentration	Mean difference	p-value
Dependent variable of dead fish in concentration 8.7 mg\L With all concentration	7.7	16.667*	0.041
	9.7	-8.333	0.284
	10.7	-25.000*	0.004
	11.7	-33.333*	0.000
	12.7	-62.500*	0.000
	13.7	-75.000*	0.000
	14.7	-83.333*	0.000

*تعني وجود فرق معنوي بين التراكيز

- تعني قيم الفروق بطريقة الLSD

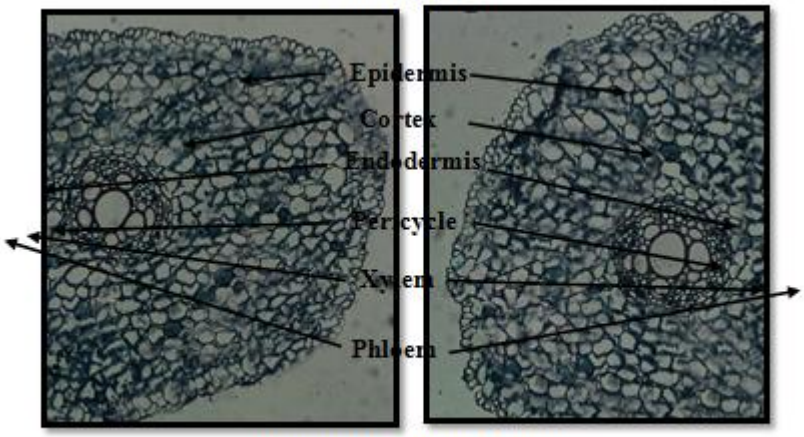


Allium cepa



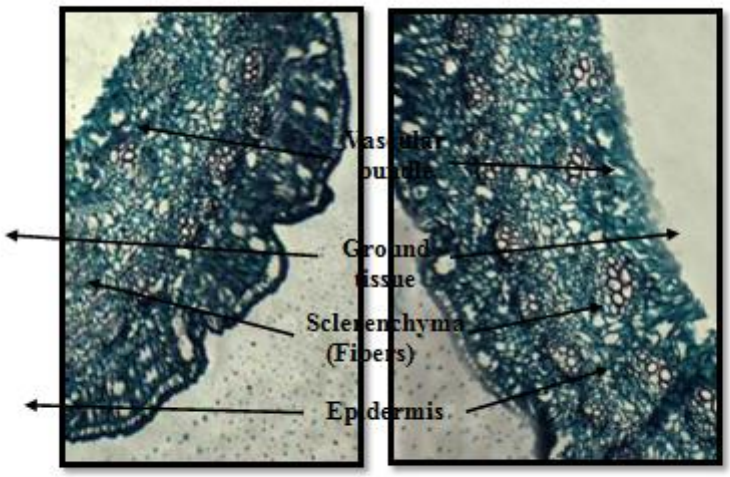
Allium sativus

Allium sativus



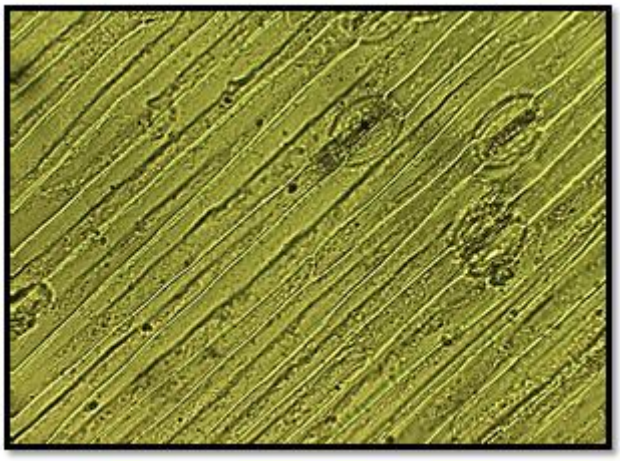
*Allium cepa**Allium sativus*

لوحة (1): صفات المقطع المستعرض لجذور النوعينتحت الدراسة مقاسة بالقوة 40x.

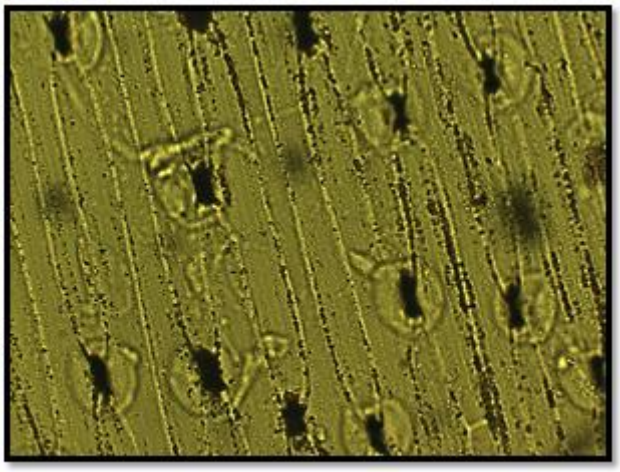


Allium cepaAllium sativus

لوحة (2): صفات المقطع المستعرض للساق الزهري للنوعينتحت الدراسة مقاسة بالقوة 40x.

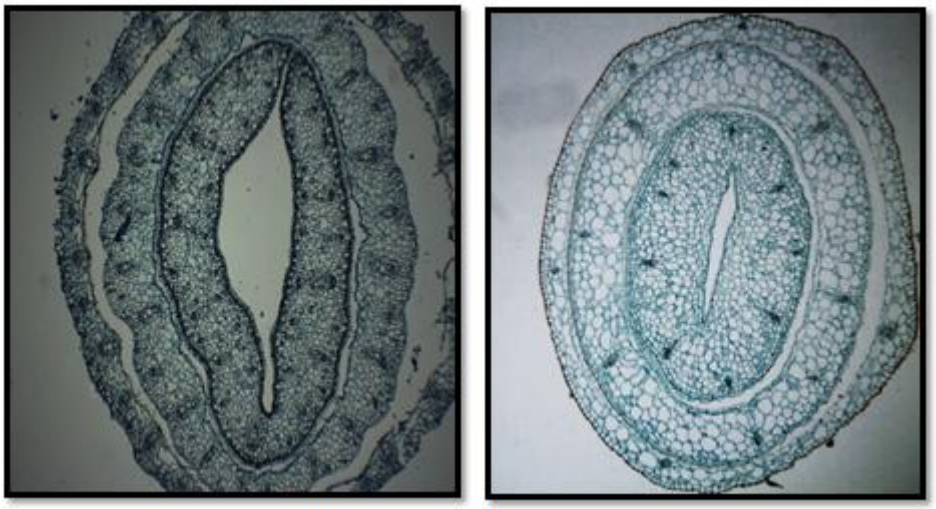


Allium cepa

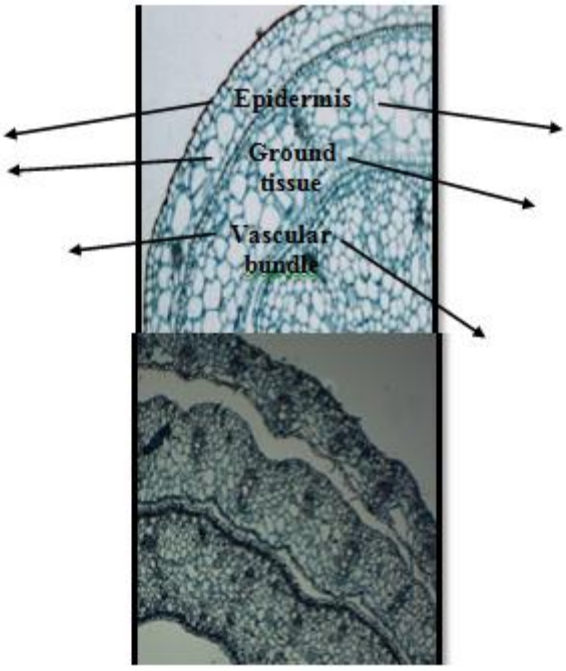


Allium sativus

لوحة (3): صفات خلايا البشرة الاعتيادية والمعقدات الثغرية في بشرة الورقة للنوعين تحت الدراسة مقاسة بالقوة 40x.



Allium cepaAllium sativus



Allium cepaAllium sativus

لوحة (4): صفات المقطع العمودي لنصل الورقة للنوعين تحت الدراسة مقاسة بالقوة 40x.

المصادر

1- سعدي، عبد العزيز (2012). دراسة تصنيفية مقارنة لانواع جنس *Allium* L. في العراق: صفحة 4.

2-Chakwarty, H. L. (1976). Plant wealth of Iraq. Ministry of Agriculture Aegerion reform. Baghdad: 15-20.

3-Rossiter, W. (1818). Illustrated dictionary of scintefic terms. G.P. Putons Sons, New York: 352 pp.

4-Simpson, M. G. (2006). Plant systematic: anintegrated approach. Science. Publisher. India: 561 pp.

5-جامعة الخرطوم، كلية الزراعة، قسم البساتين .Uofk-edu/mod/resource/view.php/.

6-الشحات، نصر أبو زيد (2000). الزيوت الطيارة. الدار العربية للنشر والتوزيع مدينة نصر: 36-38 صفحة.

-Johansen, D. A. (1940). Plant microtenique. Mc Grow Hill Book Company. New 7 York and London: 523 pp.

8-Özdemir, C.; Altan, Y.; Aktaş K. and Baran, P. (2008). Morphological and anatomical investigations on endemic *Allium ormenum* Boss &Kotschy and *Allium* dimilense Boss Exregel (Alliaceae) species of East Anadolia, Thaiszia. J. Bot. Kosice., 18: 1-8.

9-Özdemir, C. (2004). The morphological and anatomical studies on of *Ixora* Vol. 1. J. Med. Plants and Altern. Med., 2(2): 13-20.

10-Ünal, F. D. (2002). Cytoxonomic studies four *Allium* L. (Liliaceae) species endemic to Turkey. Cayologia, 55(2): 175-180.

11-العروسي، حسين ووصفي، عماد الدين (2011). مورفولوجيا وتشريح نبات. مكتبة المعارف الحديثة الاسكندرية. مصر: 181 صفحة.

12-Shretha, H. (2004). Plant monograph onion (*Allium cepa*) the school of phgrmacential and biomedical sciences Pokhora University Simolchour. Pokara. Nepal: 19-20 p.

13-Mehivarz, S. S. (2009). Scape anatomy *Allium* (Alliaceae) in Iraq and its systematic application, thaisszia. J. Bot., 91:20-32.

14-Essitt, U. A. (2014). Studies of the leaf and floral anatomy of two species endemic two *Crocuspulchallusherbext* (Iridaceae) in Turkey. J. Ecom. Taxon. Bot., 28(2): 237-245.

15-Abid, R.; Sharmeen, S. and Perveen, A.(2007). Stomatal types of monocots within flora of Karachi, Pakistan. Pak: J. Bot., 30(1): 15-21.

16- Lee, S. Y; Kim, H. H., Kim, Y. Y.; Park, N. and Park, S. U. (2009). Plant regeneration of garlic (*Allium sativus*) L-via somatic embryogenesis. J. Scient. Res. and Essay, 4(13), 1574.

17-Yousef, Z.; Shinwar, Z. K.; Asghar, R. and Parveen, A. (2008). Leaf epidermal anatomy of selected *Allium* species, family (Alliaceae) from Pakistan. Pak. J. Bot., 40(1): 77-90 p.

18-Costea, M. (2012). Anatomy of *Allium cepa*anatomy of concentric leaves forming of false stem (Contact: Mcostea@ www. Comref., 148564.