

التاثير الوراثي الخلوي لكبريتيت الصوديوم على التكاثر في الفار الابيض

عبد الامير ناصر غلوب الركابي , اشواق عبد جبير , فاضل محمد لفته*

كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية. بغداد – العراق.

* كلية العلوم ، جامعة بغداد. بغداد- العراق

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية للكشف عن التاثير الوراثي الخلوي لكبريتيت الصوديوم من خلال استخدام فحوصات الوراثة الخلوية (معامل الانقسام Mitotic index والتغيرات الكروموسومية Chromosomal aberrations) على الخلايا الجسمية والجنسية وتشوهات رؤوسالنطف للفئران المختبرية البيضاء . اجريت الدراسة على 98فارا ذكرا وعند اختبار كل مؤشر قسمت الفئران الى مجموعتين الاولى للسيطرة والثانية عوملت بكبريتيت الصوديوم بتركيز 50 و100 ملغم اكغم فكانت النتائج تشير الى ان المادة احدثت تثبيطا لمعامل الانقسام في الخلايا الجنسية و ازداد التثبيط بزيادة التركيز وكان ذو دلالة معنوية ($p<0.01$) وكان تاثير الجرعة معنويا في الخلايا الجسمية ($p<0.05$) . كما ازدادت التغيرات الكروموسومية عند المعاملة بكبريتيت الصوديوم وقد تتناسب الزيادة مع شدة التركيز وكان التاثير معنويا ($p<0.01$) واثرت الجرعة معنويا في حدوث التغيرات ($p<0.05$) في الكسور الكروماتيدية للخلايا الجنسية فقط . كذلك كان لماده كبريتيت الصوديوم تاثيرا معنويا ($p<0.01$) في زيادة تشوهات رؤوس النطف بانواعها المختلفة.

CYTOGENETICS EFFECT OF SODIUM SULPHATE ON REPRODUCTIVE IN *MUS MUSCULUS*

Name

Department

Abstract

The aim of this study was to detect the cytogenetic effect of sodium sulphate through using cytogenetic analysis (mitotic index and chromosomal aberrations on somatia and germ cells) and sperm head abnormalities on white mice .

Ninety eight male mice were used in this study . To test the effect on each indicator , these animals were divided into two groups . The first one was the control group while the second was treated with sodium sulphate . The result refer that the sodium sulphate cause an inhibition of the mitotic index in somatic and sex cells and the inhibition increased by augmenting the concentration . Such difference were significant ($P<0.01$) . The influence of the doses was significant in the case of the somatic cells ($P<0.05$).

The chromosomal aberrations increased pursuant to the raising of sodium sulphate concentration , the influence was significant ($P<0.01$) . The doses had an effect on the occurrence of aberration ($P<0.05$) in case of chromatid breaks of the sex cells

only , sodium sulphate brought about a significant augmentation ($P<0.01$) in sperm head abnormality , with their different kind period were without significant effect .

وقد اشارت دراسة الركابي (13) الى عدم ظهور تأثير واضح وثابت على مؤشرات الوراثة الخلوية في العاملين المتعرضين للكبريت في حقول المشرق , حيث كانت نسبة الانحرافات الكروموسومية ضمن المدى المقبول كما ان اختلاف معامل انقسام خلايا المتعرضين وغير المتعرضين واضح . وتهدف الدراسة الحالية الى تسليط الضوء على التأثير الوراثي الخلوي لمادة كبريتيت الصوديوم Na_2SO_3 من خلال استخدام فحوصات الوراثة الخلوية المتمثلة بمعامل الانقسام (Mitotic Index) والتغيرات الكروموسومية (Chromosomal Aberrations) على الخلايا الجنسية والجسمية وتشوهات رؤوس الحيامن (Sperm head abnormalities) للفئران المختبرية البيضاء .

المواد وطرق العمل

1- الحيوانات المختبرية : استخدمت الفئران البيضاء من نوع (Mus musculus) التي الحصول عليها من معهد المصون واللقاحات التابع لوزارة الصحة العراقية . واختبر (98) فارا ذكرا تراوحت اعمارهم بين 12-9 اسبوعا وياوزان بين 26-28 غم
2- تركيز كبريتيت الصوديوم Na_2SO_3 : استخدم تركيزي 50 و100 ملغم / كغم كبريتيت الصوديوم اعتمادا على بحوث سابقة تعاملت مع هذه المادة او مع مركبات اخرى للكبريت (14, 15, 16) .
3- دراسة تأثير كبريتيت الصوديوم في الخلايا الجسمية (نقي لعظم) والجنسية (الخلايا المولدة للحيامن) .
درس التأثير باستخدام 48 فار بمعدل 6 فار لكل تركيز بمعدل اربع جرع , جرعة واحدة في كل يوم بمقدار 0.1 مل بمعدل اربع فئران للجرعة لمدة اربعة ايام , خصص 6 فار كسيطرة جرعت بالماء المقطر فقط . حقن كل فار ب 0.25 مل من الكولجسين بتركيز 10 ملغم /كغم قبل ثلاث ساعات من انتهاء المعاملة . ثم قتلت الحيوانات وشرحت مباشرة للحصول على الكروموسومات حيث اتبعت طريقة Allen وجماعته (17) وذلك بقطع عظم الفخذ من منطقة ارتباطة بمفصلي الحوض والركبة . بعدها حقن العظم ب 5 مل من محلول داريء الفوسفات الفسليجي (Phosphate buffer solution) لغسل العظم ونزال كل النقي , كما استخلص نقي

المقدمة

نظرا لظرورة اهمية دراسة مشاكل التلوث فقد تناولت ابحاث عديدة تأثير ملوثات معينة على صحة العاملين في الصناعات المختلفة باستخدام المؤثرات المرضية والفسلجية والتكاثرية والوراثية وقد ازداد التاكيد في السنوات الاخيرة على الوشرات الوراثية كونها تعكس المخاطر المستقبلية وبعيدة المدى لهذه الملوثات , حيث اثبتت الدراسات علاقتها باستحداث انواع مختلفة من السرطان (1).
ويعتبر الكبريت عنصرا واسع الانتشار في الطبيعة ويتوقع وجوده في كل كائن حي حيث يدخل في تركيب الاحماض الامونية المكونة لبروتين الهستون المرتبط بالحمض النووي DNA في الكروموسومات (2و3) .
فقد بينت الدراسات ان لدقائق الهواء الملوثة باكاسيد الكبريت قابلية تطهيرية عالية على البكتريا (4) .
في حين لوحظ عند اختبار القابلية التطهيرية للكبريتات انها لم تستحث طفرات وراثية عند فحصها باختبار ايمز (Amest test) على بكتيريا (Salmonell typhimurim) كذلك على حشرة عثة التين (او ك5و6) .
وفي دراسة للمستخلصات العضوية لاربعة انواع من الفحم مختلفة المستوى اختبرت قابليتها التطهيرية باستخدام اختبار (Salmonella microsomal) وقد اختبرت اضرارها وسيمتها الخلوية على خلايا مبيض الهامستر الصيني فوجد ان الانواع ذات المحتوى الكبريني العالي اكثر تطهيراً واضراراً بالكروموسومات من الانواع ذات المحتوى الواطي وقد سببت الكسور (breaks) والفحوات (gabs) والالتبادلات الكروماتيدية (chromosomal exchanges) (7) . كما اظهر تعريض الارومات الليفية الى الراشح المائي لنوعين مختلفي المحتوى الكبريتي في الفحم الى حدوث تثبيط في نمو الخلايا (8) . كما احدث المركب (Diethyl sulfates) طفرات متغلبة ومميتة في الحيامن ونتج عنها انخفاض واضح في عدد اجنة الولادة الوادة للفئران المتزاوجة بذكور معاملة بهذا المركب (9,8,10).
اما في الدراسات التي شملت تعريض خلايا الانسان للمفاوية الى ثاني اوكسيد الكبريت فقد لوحظ تثبيط العمليات المتعلقة ببناء الحامض النووي (DNA) وبالتالي تثبيط الانقسام الخلوي , كما لوحظ تأثيرات مماثلة عند تعريض بويضات اللبائن الملقحة لاكاسيد الكبريت (11, 12)

بالايوسين لمدة 10 دقيقة ثم فحص 1000 حيمن لكل نموذج وقورنت مع الشكل الطبيعي لحيمن الفار من سلالة Balb/c وحسب النسبة المئوية للتشوهات .
5- التحليلات الاحصائية : حلت نتائج المؤشرات الثلاثة باجراء تحليل التباين لتجربة عوملت بعاملين باستخدام التصميم العشوائي (Complete Randomized design) وقورنت المتوسطات باستخدام طريقة اقل فرق معنوي (Least Significant Differences LSD) بمستوى احتمال 0.05 (20) .

النتائج

1- تأثير كبريتيت الصوديوم Na₂SO₃ على معامل الانقسام

اشارت نتائج تحليل التباين (جدول 1) الى وجود تأثير معنوي عالي ($P < 0.01$) للتركيز على معامل الانقسام للخلايا الجسمية (نقي العظم) والخلايا الجنسية (الخلايا المولدة للحيامن). فقد انخفض مقدار معامل الانقسام للخلايا الجسمية بزيادة التركيز، حيث كانت قيمة لعينة السيطرة 13.78% فيما بلغت قيمة بتركيز 50 و 100 ملغم/كغم من كبريتيت الصوديوم بمقدار 1.55 و 9.9% على التوالي وهي تختلف معنويا باجمالية ($P < 0.05$) عن مجموعة السيطرة (جدول 2). كذلك الحال مع الخلايا الجنسية، بينما كان معامل الانقسام لمجموعة السيطرة 17.25 فكانت قيمة لتركيز 50 و 100 ملغم/كغم Na₂SO₃ هي 14.71 و 13.79% على التوالي وهي مختلفة معنويا باحتمالية ($p < 0.05$) عن مجموعة السيطرة (جدول 2). وقد اظهر التركيز 100 ملغم/كغم تأثيرا واضحا في معامل الانقسام في كلا الحالتين (جدول 4) كما ان معامل الانقسام يزداد بازياد الجرعة .

2- تأثير كبريتيت الصوديوم Na₂SO₃ في استحثاث التغيرات الكروموسومية

اشارت نتائج تحليل التباين الى وجود فروق معنوية عالية الاحتمالية ($P < 0.01$) للتركيزين 50 و 100 ملغم/كغم ولكلا النوعين من التغيرات الكروموسومية المتمثلة بالكسر الكروماتيدي والكسر الكروموسومي وفي كلا النوعين من الخلايا الجسمية والجنسية (جدول 3). ان الخلايا الجسمية كانت قيمة الكسر الكروماتيدي لمجموعة السيطرة 0.375% بالنسبة لتركيزي 50 و 100 ملغم/كغم Na₂SO₃ كانت قيمة الكسر الكروماتيدي هي 4.06 و 5.81%

كل من الساقين بالطريقة نفسها، وفصلت الخلايا عن المحلول الدارى بالطرد المركزي (2000 دورة/دقيقة) لمدة (10 دقائق) ثم عومل بمحلول واطي الشد باستخدام 0.075 مولاري من كلوريد البوتاسيوم بدرجة 37 م لمدة (10 دقائق). وثبتت الخلايا باستخدام المحلول المثبت المحضر انيا من ثلاث حجوم من الكحول المثلي المطلق وحجم واحد من حامض الالخليك الثلجي. وحضرت كروموسومات الطور الاستوائي من خلال تقطير الخلايا المثبتة من على ارتفاع ثلاثة اقدم علة شرائح زجاجية نظيفة بعد ذلك تركت لتجف في الهواء ثم صبغت بصبغة كمزا. وفحصت بالمجهر الضوئي على قوة 100× اتبعت طريقة (18). وللحصول على كروموسومات الخلايا الجنسية استاصلت خصيتي كل فار ثم ازيل الغلاف الخارجي لها ووضعت في طبق بتري حاوي على 5 مل من محلول سترات الصوديوم الثلاثية بتركيز 1% لمدة 20 دقيقة. ثم فكك نسيج الخصيتين بواسطة fly mash للحصول على محلول خلوي عالق بعد ذلك حصدت الخلايا بالطرد المركزي كما مر بنا واستمكمت باقي الخطوات كما في معاملة خلايا نقي العظم .
ولحساب معامل الانقسام باستخدام قوة التكبير (40%) للمجهر الضوئي المركب، فحصت الشرائح المحضرة وتم حساب 1000 خلية منقسمة وغير منقسمة بصورة عشوائية وطبقت المعادلة التالية لحساب معامل الانقسام (19).

عدد الخلايا المنقسمة

$$\text{معامل الانقسام} = \frac{\text{عدد الخلايا المنقسمة}}{100} \times \text{عدد الخلايا المنقسمة وغير المنقسمة}$$

4- دراسة تأثير Na₂SO₃ في استحثاث التشوهات في رؤوس الحيامن : تمت تهيئة 50 فار ذكر قسمت الى مجموعتان ضمن كل مجموعة 25 فارا . واستنادا الى نتائج التجارب السابقة المتعلقة بمعامل الانقسام والانحرافات الكروموسومية انتخب التركيز 100 ملغم/كغم وجرعته الرابعة . وعوملت الحيوانات بالطريقة نفسها المتبعة في التجارب السابقة .

بعد 25 من اخر جرعة تم تشريح الحيوانات واستخراج الحيامن من البربخ epididymus ووضعت في طبق بتري حاوي على 5 مل من محلول ملحي متعادل (85%) وبعد ذلك يهرس باستخدام ابرة دقيقة وملقط ثم يثبت لمدة ساعة ثم حضرت الشرائح وصبغت بلهيماتوكسلين لمدة 15 دقيقة ثم

كشفت نتائج الدراسة الحالية حدوث تغيرات في المؤشرات الوراثية . حيث أظهر تأثير كبريتيت الصوديوم تأثير مثبط لمعمل انقسام الخلايا الجسمية ويتناسب التأثير التثبيطي طردياً مع زيادة التركيز، حيث كان للتركيز تأثيراً عالي المعنوية وبأحتمالية ($P < 0.01$) . وهذه النتائج تتفق مع ما ذكر عن تأثير الكبريت واكاسيدة في تثبيط العمليات المتعلقة ببناء الـ DNA وبالتالي تثبيط الانقسام الخلوي (11) وكذلك ما ذكر عن تثبيط نمو الخلايا عند تعريض الارومات الليفية للفأر الى الراشح المائي لنوعين مختلفي المحتوى الكبريتي من الفحم (21) .

ولا تتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسات اخرى من عدم قدرة بعض مركبات الكبريت على اعطاء نتيجة موجبة في اختبار قدرة تثبيط بناء الحامض النووي DNA في خلايا Hella (22) . وقد سببت مواد عديدة في انخفاض معامل انقسام الخلايا الجسمية بزيادة تركيز المادة نتيجة التأثير المباشر لهذه المواد او نواتجها الايضية في خلايا نخاع العظم ومن هذه المواد املاح الالمنيوم وكوسبول القطن (23 ، 24) . وفيما يتعلق بنتائج تأثير كبريتيت الصوديوم على معامل انقسام الخلايا الجسمية فقد اتضح ان معامل الانقسام قد انخفض ايضاً بزيادة التركيز والجرعة ، حيث كان تأثير التركيز معنوياً بأحتمالية ($P < 0.01$) وهذه النتائج تتفق مع دراسة تضمنت تعرض بويضات اللبائن المحضونة لأكاسيد الكبريت حيث حدث تثبيط في بناء الـ DNA وبالتالي في معامل الانقسام (12) . ان درجة التأثير في معامل الانقسام في الخلايا الجسمية كانت اوطى من الخلايا الجسمية وهذا يتفق مع نتائج دراسة تأثير الكوسبول 1997 ويتعارض مع نتائج دراسة البرودي فالوم ومن المحتمل ان النواتج الايضية لكبريتيت الصوديوم التي تصل الى نسيج الخصى تؤثر فيه حتى اقل من تلك التي تصل الى نخاع العظم او قد يعود السبب الى التركيز الطبيعي للكبريت في الخصى او تداخل انزيمي او هرموني معين او لاختلاف طبيعة المسارات الايضية للمادة في كلا العضوين .

على التوالي . وهي مختلفة عن مجموعة السيطرة معنوياً باحتمالية ($P < 0.05$) بالنسبة للكسر الكروموسومي فكانت قيمته لمجموعة السيطرة 0.06% وقد بلغت قيمة التركيزين 100 و 50 ملغم / كغم مقدار 0.6875 و 1.625 % على التوالي ، وظهر التركيز الثاني فرقا معنوياً ($P < 0.05$) عن مجموعتي السيطرة والتركيز الاول ولم تظهر فروق معنوية لتأثير الجرعة (جدول 3) و (جدول 4) .

اما بالنسبة للخلايا الجنسية فكانت قيمة الكسر الكروماتيدي لمجموعة السيطرة 0.0625% لتركيزي 100 و 50 ملغم / كغم Na_2SO_3 فكانت 3 و 3.5 % على التوالي وقد اظهر التركيز الثاني اختلافا معنوياً ($P < 0.05$) عن مجموعتي السيطرة والتركيز الواطيء . اما بالنسبة للكسر الكروموسومي فكانت قيمة 0.62 و 1 % على التوالي ولم تظهر قيمة التركيز الواطيء اختلافا معنوياً عن مجموعة السيطرة ولم يظهر التركيز الثاني اختلافا معنوياً عن التركيز الاول في قيمة الكسر الكروموسومي كما لوحظ زيادة معنوية ($P < 0.05$) احداث الكسور الكروماتيدية بزيادة الجرعة (جدول 4) .

3- تأثير كبريتيت الصوديوم Na_2SO_3 في استحثاث التشوهات في رؤوس الحيامن

اظهرت النتائج تأثيرات معنوية عالية الاحتمالية ($P < 0.01$) للتركيز 100 ملغم / كغم على جميع انواع التشوهات في رؤوس الحيامن والمتمثلة ب (حيمن ورأس عصوي الشكل ، حيمن معيوب الجسم الطرفي ، حيمن مفصص الشكل ، حيمن منتفخ ، حيمن ذو رأس مثلث ، حيمن فاقد كلاب الراس ، و تشوهات اخرى) (جدول 5) .

حيث ان جميع التشوهات في رؤوس الحيامن قد ازدادت نسبتها عند المعاملة بتركيز 100 ملغم / كغم حيث كان متوسط التشوهات لمجموعة السيطرة : 2.96 ، 3.12 ، 2.526 ، 3.28 ، 1.8 ، 1 % على التوالي للتشوهات المذكورة انفاً ، في حين كانت قيمتها للتركيز 100 ملغم / كغم : 8.92 ، 13.68 ، 8.76 ، 6.64 ، 6.16 ، 6.68 ، 3.31 % على التوالي وهي مختلفة معنوياً (بأحتمالية $P < 0.05$) عن مجموعة السيطرة (جدول 6) ، بينما لم يظهر تحليل التباين (جدول 3) وجود تأثيرات معنوية في الفئران بعد المعاملة على حدوث التشوهات في رؤوس الحيامن .

المناقشة

الى تفاعلها المباشر مع الـ DNA . كما اشارت الدراسة الحالية الى قدرة مادة كبريتيت الصوديوم على استحداث التشوهات في رؤوس الحيامن حيث أثر التركيز 100 ملغ /كغم بمعنوية عالية ($P < 0.01$) على جميع انواع التشوهات المذكورة آنفاً . ويتفق ذلك مع نتائج دراسة اوضحت قدرة الـ Carbon disulfide على استحداث تغيرات مظهرية في الحيامن (29) . و اشار القاضي (24) الى قدرة كوسبول القطن على استحداث تشوهات رؤوس الحيامن بزيادة التركيز وهي تتفق مع نتائج الدراسة الحالية.

واتضح من النتائج قدرة كبريتيت الصوديوم على استحداث التغيرات الكروموسومية (الكسر الكروماتيدي والكسر الكروموسومي) وقد سجلت هذه الفقرات بزيادة التركيز وكان التأثير معنوياً ($P < 0.01$) وهذا يتفق مع نتائج دراسة تتضمن تعريض خلايا الهامستر لانواع مختلفة من المحتوى الكبريتي من الفحم ، حيث اشارت الى زيادة الى زيادة الاضرار الكروموسومية بزيادة المحتوى الكبريتي للفحم (7) . كما لوحظ ان تعرض العمال الى خليط من المواد ومن ضمنها الكبريت قد يسبب ارتفاعاً ملحوظاً في الانحرافات الكروموسومية (25) في حين كانت الانحرافات الكروموسومية في خلايا الدم للمفاوية لعمال معمل كبريت المشراق ضمن المدى المقبول (13) . بينما تسببت مادة كبريتات الالمنيوم في زيادة الانحرافات الكروموسومية في الخلايا للمفاوية (26) .

جدول 1: تحليل التباين لدراسة تأثير كبريتيت الصوديوم بتركيز وجرع مختلفة على معام الانقسام الخلايا الجسمية و الجنسية لذكور الفئران .

مصادر التباين SOV	درجات الحرية D.F.	متوسط المربعات	
		معامل انقسام الخلايا الجسمية	معامل انقسام الخلايا الجنسية
التركيز A	2	**51.33	**60.91
الجرع B	3	N.S.3.72	*10.56
التداخل AB	6	N.S.1.62	N.S.4.41
الخطأ التجريبي	36	1.55	2.53

* ($P < 0.05$) ** ($P < 0.01$) غير معنوي N.S.

ويعتقد ان المسلك الشائع لكثير من العوامل المطفرة ربما يكون في قدرتها على تدمير الاجسام المحللة للمادة النووية والتي لها القدرة على احداث الكسور الكروموسومية او ربما يرجع الى التفاعل المباشر وغير المباشر مع اشربة الـ DNA مما يؤدي الى حدوث التشوهات (27، 28) . في حين يؤكد الامر ان قدرة المواد على التطهير ربما تعود

م الخلايا الجسمية والجنسية لذكور الفئران المعاملة كبريتيت الصوديوم
بتراكيز وجرع مختلفة .

المتغيرات التراكيز (ملغ/كغم)	عامل انقسامل الخلايا الجنسية %
C	a13.7
50	b11.6
100	b11.1
L.S.D.	1.0
الجرع (يوم)	
1	a9.7
2	ab9.4
3	ab9.1
4	b8.2
L.S.D.	1.2

جدول 5: تحليل التباين لدراسة تأثير كبريتيت الصوديوم والفترات بعد المعاملة على حدوث التشوهات في رؤوس الحيامن لذكور الفئران .

مصادر التباين S.O.V.	درجات الحرية	متوسط المربعات						
		حيمان ذو رأس عصوي الشكل	حيمان معيوب الجسم الطرفي	حيمان ذو رأس مفصص الشكل	حيمان منتفخ الرأس	حيمان ذو رأس مثلث الشكل	حيمان فاقد كلاب الرأس	تشوهات اخرى
تركيز A	1	444.02**	1393.29**	486.72**	141.12**	**237.62	420.2**	67.28**
تركيز B	4	0.68N.S.	2.15N.S.	6.03N.S.	3.68N.S.	N.S.3.62	3.37 N.S	0.73N.S.
تداخل AB	4	0.54N.S	1.17	2.07N.S.	1.12N.S.	1.72N.S.	2.95N.S.	1.13N.S.
الخطأ التجريبي	40	4.27	5.77	4.06	3.44	2.6	3.42	1.95

• (P<0.05) ** (P<0.01) N.S. غير معنوي

جدول 6: الوسط الحسابي لتشوهات رؤوس الحيامن في ذكور الفئران المعاملة بكبريتيت الصوديوم بعد فترات زمنية مختلفة .

المتغيرات التراكيزيـز ملغم/كغم	حيمان ذو رأس عصوي الشكل	حيمان معيوب الجسم الطرفي	حيمان ذو رأس مفصص الشكل	حيمان منتفخ الرأس	حيمان ذو رأس مثلث الشكل	حيمان فاقد كلاب الرأس	تشوهات اخرى
	2.96a	3.12a	2.52a	3.28a	1.8a	0.88a	1a
100	8.92b	13.68b	8.76b	6.64b	6.16b	6.68b	3.32b
L.S.D.	1.18	1.37	1.15	1.06	0.92	1.05	0.79
الفترات (يوم)							
7	2.4	3.36	2.16	2	1.6	1.6	1
14	2.4	3.4	2.4	2.08	1.76	1.72	140.8
21	2.52	3.6	2.64	2.32	1.88	1.68	021.72
28	2.32	3.36	2.28	1.84	1.44	1.4	28088
35	2.24	3.08	1.8	1.68	1.28	1.16	0.92

السيطرة C الحروف (a,b,) لا تختلف معنوياً بمستوى (0.05)

References

1. Longstatt,E.1986 . "Genetic toxicology , a review .Ade. Drug- React" . Ac. Pois. Rov., 4:255-235 .
2. Sumner , A. T. 1983 ."The role of protein sulphhydryls and disulphides in chromosome structure and condensation" , Kew chromosome conference .2nd, George Allen and Unwin .
3. Sumner , A. T. 1984 ."Distribution of protein disulphhydryls and disulphides in fixed mammalian chromosome and their relation to banding" .J. Cell Sci., 70 : 177-188 .
4. Van Houdt , J. J. ; Alink ,G. M. and Boleij ,G. S.M.1987." Mutagenicity of air borne particles related to meteorological and air pollution parameters" .The science the total environmental , 61 : 23-36 .
5. Waksvik ,H. and Boysen ,M. 1982 . "Cytogenetic analysis of lymphocytes from nickel refinery workers " . Mutat. Res. , 1032:185- 190 .
6. Al-Hakak, Z.S. and Hussain ,A. F.1988 . "Physiological and genetical effect of lead chromium on Ephestia cautella " . J. Bio .Sci .Res.
7. Stahl , R.G. ; France ,JR .; Arrigni , E. ; Thomas, S.; Mataney , S. ; Gary ,S. ; Bernard ,S. and Johuston ,D. A. 1984 . "Mutagenic and cytogenetic analysis of organic extracts of simulation runoffs form model coal piles " .

8. Hoffman , G. R. **1980** . "Genetic effect of diethyl sulphate and related compound".Mutation Res. ,75 :63-129.
9. Ehling ,V. H. and Neuhauser-Klaus ,A. **1988** . "Induction of specific locus dominant lethal mutation in male mice by diethyl sulphate male mice" . Muatat. Res., 199 :191-198
10. Ehling ,V. H. ; Kratochvilova , J. ; Lechmaher , W. and Neuhauser-Klaus ,A. **1988** . "Mutagenicity testing at vinceistine sulphate in germ cells of male mice " . Muatat. Res., 209 :107-113.
11. Schneider , L.K. and Calkins ,A. **1970** ."Sulphate dioxide induce lymphocyte defects in human peripheral blood culture " . Environment Res., 3: 473-483 .
12. Jaiello ,G. M. ; Lin , J. S. and Ducayaan ,M.A. **1975** ."SO₂ and its metabolic effects on mammalian egg chromosomes ".Environment Res. , 9 :84-93 .
13. الركابي ، عبد الامير ناصر غلوب، **1990** . دراسة كروموسومات وصحة التكاثر للعاملين في حقول كبريت المشراق" . رسالة ماجستير - كلية العلوم - جامعة الموصل .
14. Nordenson, I .and Beckman , L . **1984** . "Interaction between some common clasogenic agents ". Toxicol environmental chem.. ,8: 34-43 .
15. Beckman , L . and Nordenson , I.**1986** . "Interaction between some common genotoxic agents" . Hom. Hered. ,36 :397-401 .
16. الجنابي عباس عبد الله محمد، **1997**. "تأثير مبيد القوارض (فوسفيد الخارصين والبروديالكروم) على الهيئة الكروموسومية ومؤشر الانقسام والنطف في الفئران الحقلية والمختبرية *Mus musculus* ". أطروحة دكتوراه ، كلية التربية -ابن الهيثم _جامعة بغداد .
17. Allen , J .; Shuler, C. and Batt , S. A. **1977**. "A simplified techniquefor in vivo analysis of SCE using 5- Brdu tablets ".Cyto. Cell Genet., 18: 231-234.
18. Evansm ,E. ;Breckon, G. and Ford , C. **1964** . "An air drying method for meiotic preparation from mammalian testes ".Cytogenetics ,3 :289- 294 .
19. Ghosh ,B . ; Talukder , G .and Sherma, A. **1991**. "Effect of culture media on spontaneous incidences of mitotic index ,chromosomal aberration ,SCE and cyclin peripheral blood lymphocytes of male and female donaar".Cytologia, 67:71-75.
20. داود، خالد محمد والياس ، زكي عبد ، **1990** . الطرق الإحصائية للأبحاث الزراعية" . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة الموصل .
21. Christian , R. T. ; Coake , J. ;Elia, V. and Code, T. E. **1975** . "The effect of aqueous and simple extracts of coal on cultured mammalian cells" .In proceeding of the second international conference on complete water reuse . Chicago , Linion . Americam institute of chemi0cal engineering , May :446-448.
22. Painter ,R.B. and Howard , R. **1982** . "The Hela DNA synthesis inhibition test as a rapid screen for mutagenic carcinogens " . Mutation Res., 92 : 427-437.
23. Leonard , A. and Gerber , G. B. **1988** . "Mutagenicty and teratogenicity of aluminum" . Mutation Res., 199: 247-257 .
24. القاضي ، ضياء جواد كاظم، **1997** . التأثيرات الوراثية الخلوية لكوسبول القطن على الفأر الأبيض " . رسالة ماجستير ، كلية التربية (ابن الهيثم) ، جامعة بغداد .
25. Beckman, G. Beckman ,L. and Nordenson, I .**1977** . "Chromomsome aberration in workers exposed to arsenic ".Environmental health perspective , 19 :145- 149 .
26. Roy ,A. K.; Talukder ,G. and Sharma ,A. **1990** ." Effect of aluminum sulphate on human leukocyte chromosome in vitro ".Mutation Res. ,299 :179-183.
27. Dzwonkowska , A. and Hiibner ,H. **1986** . "Induction of chromosomal aberration in the Syrian Hamster by insecticides test in vivo " . Arc .Toxic . , 58 :152-156 .
28. احمد حسن ، مفيد فائد . **1997** . التأثيرات الدموية والوراثية الخلوية لأشعة كاما على الفأر الأبيض *Mus musculus* " . رسالة ماجستير ، كلية التربية (ابن الهيثم) ، جامعة بغداد .
29. Stellman , J.M. **1979** ."The effect of toxic agent on reproduction" . Occupy Health Safety: 36-43