تأثير أوكسيد الخارصين على بعض مؤشرات الوراثة الخلوية في الفأر الابيض

عبد الامير ناصر غلوب الركابي

قسم التقنيات الاحيائية، كلية العلوم، جامعة بغداد. بغداد – العراق.

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى تسليط الضوء للكشف عن التأثير الوراثي الخلوي لأوكسيد الخارصين Zno بإستخدام فحوصات الوراثة الخلوية (معامل الانقسام Mitoticinder والتغيرات الكروموسومية Chromosomal aberration) على الخلايا الجسمية والجنسية وتشوهات رؤوس الحيامن Head sperm abnormalities للفئران المختبرية من سلالة Balb/c . اجريت الدراسة على 98 فأراً ذكراً، وقسمت الحيوانات الى مجموعتين: الاولى للسيطرة والثانية عوملت بأوكسيد الخارصين .

أشارت النتائج بأن لأوكسيد الخارصين تأثير مثبط لمعامل الانقسام في الخلايا الجسمية والجنسية وقد إزداد التثبيط بزيادة التراكيز. وكان التأثير معنوياً بإحتمالية ($P<0.01$) وأثرت الجرع معنوياً بإحتمالية ($P<0.05$) في كلا النوعين من الخلايا. كما إزدادت التغايرات الكروموسومية بزيادة تركيز أوكسيد الخارصين وكان التأثير معنوياً ($P<0.01$) وأثرت الجرع معنوياً وبإحتمالية ($P<0.05$) على الكسور الكروماتيدية في الخلايا الجنسية فقط. كما أظهر أوكسيد الخارصين زيادة معنوية ($P<0.01$) في تشوهات رؤوس الحيامن بينما لم يظهر للفترات تأثيراً معنوياً في ذلك، وهذا يدل على أن الخلايا كانت حساسة لأوكسيد الخارصين في جميع مراحل تكوين الحيامن Spermatogenesis.

THE EFFECT OF ZINC OXIDE ON SOME CYTOGENETICS PARAMETERS IN WHITE MOUSE

Abstract

The aim of this study wase focusing some light to detect the cytogentic effects of zinc oxide through using cytogentic analysis (**Mitotic index and chromosomal aberrations on the somatic and sex cells and sperm head abnormalities**) on Balb/c mice.

Ninty eight male mice were used in this study, these animals were divided into two groups the first one was the controlling groups and the second one was. Treated with Zinc Oxide.

The results showing that the Zinc Oxide causes an inhibition of mitotic index in somatic and sex cells and the inhibition increased by augmenting the concentration, where the effect was significant ($P<0.01$) , and the effect of doses were significant ($P<0.05$), in both kinds of cells.

The chromosomal aberration increased pursuant to the raising of zinc oxide concentration.

The influence was significant ($P<0.01$). The doses had an effect on the occurance of aberration ($P<0.05$) in the chromatidal breaks of sex cells only.

Also Zinc Oxide had a significant influence ($P<0.01$) in sperm head abnormalities, while the periods did not show a significant effect. This indicated that the cells were sensitive to the material (Zno) in all the stages of spermatogenesis.

المقدمة

يعد الخارصين من المعادن الاساسية المؤثرة في التمثيل الغذائي للبروتينات والدهون والكربوهيدرات في معظم الكائنات الحية (1) كما يدخل في تكوين معقدات Zn-amino acid مثل Zno cystine و Zn-histidine(Z) ويدخل الهستدين في تكوين الموقع المحفز لإنزيم Ribonuclease ويعرف لدى المصابين بنقص الخارصين ارتفاع فعالية أنزيم الرايبونيوكليز المصلي كما تشير أدلة عديدة الى حدوث تغييرات في أيض الاحماض النووية (وبالاخص بناء RNA) في حالة نقص الخارصين (3).

وقد أحدث الخارصين بتركيز 0.05 جزء بالمليون إنخفاضاً في نمو قطر مستعمرة الفطر *Pythium plerоricum*، بينما تطلب إنخفاض عدد الحوامض البوغية الناضجة الى تراكيز أعلى (4). كما أظهرت التراكيز الواطئة من الخارصين زيادة في معدل الكسور الكروموسومية وخاصة في مرحلة Go(5).

وأدى مبيد القوارض فوسفيد الخارصين الى تثبيط معامل الانقسام للخلايا الجسمية والجنسية وزيادة في معدل التغايرات الكروموسومية وتشوهات في رؤوس الحيامن في الفئران البيضاء وكذلك في الفئران الحقلية (6-7).

كما أدى الحقن المباشر لأملاح الخارصين داخل الخصية الى حدوث سرطان الخصية في الجرذ، ولم ينتج نفس التأثير عند حقن الحيوانات بطرق أخرى (8-9)، وقد ذكر Painter و Howard بأن الخارصين معدن مسبب للتغايرات الكروموسومية والتسرطن، ولكن أعطى نتيجة سالبة بإستخدام إختبار تثبيط بناء الDNA في خلايا هيلا Hela (10).

وتهدف الدراسة الحالية الى إستخدام التحليلات الوراثية الخلوية لتقييم قابلية أوكسيد الخارصين Zno في أحداث الطفرات الوراثية في الخلايا الجسمية والجنسية، حيث تعد هذه التغيرات (في حال إثباتها) بمثابة دليل على خطورة هذه المادة على صحة الانسان والكائنات الحية. إذ أن التغيرات في المادة الوراثية قد تسبب السرطان أو تحدث تشوهات خلقية.

المواد وطرائق العمل

1) الحيوانات المختبرية

إستخدم في هذه الدراسة 98 فأراً ذكر من نوع Mus musculus ومن الضرب Balb/c والتي تم الحصول عليها من مختبر الصحة المركزي وكانت بعمر (9 - 12) أسبوع وتراوحت أوزانها بين (26 - 28)غم .

2) دراسة تأثير أوكسيد الخارصين على الخلايا الجسمية والخلايا الجنسية

درس هذا التأثير بإستخدام 48 فأراً ذكر حيث قسمت الى ثلاث مجاميع (16 فأر لكل مجموعة) الاولى للسيطرة والثانية لدراسة تأثير تركيز 50 ملغم/كغم من مادة أوكسيد الخارصين والثالثة لدراسة تأثير تركيز 100 ملغم/كغم، وبأربع جرع ، جرعة واحدة كل يوم بمقدار 0.1 مل وبمعدل 4 فئران للجرعة الواحدة، وبعدها حقن كل فأر بـ 0.25 مل من الكولجسين بتركيز 10 ملغم/كغم قبل ثلاث ساعات من إنتهاء المعاملة ثم شرحت الحيوانات على الكروموسومات بإتباع طريقة Allen وجماعتها (13) وكما يلي قطع عظم الفخذ وأزيلت العضلات حول العظم ثم قطع إرتباط مفصلي الحوض والركبة ثم نظف العظم خارج جسم الحيوان من بقايا ومسك بشكل عمودي فوق فوهة إنبوبة إختبار وبواسطة محقنة نبيذة حقن 5 مل من محلول داري الفوسفات الفسلجي .P.BS لغسل العظم وإنزال كل النقي بحيث يصبح لون العظم أبيض لخلوه من محتواه الخلوي.

إستخلص نقي كل ساقين وفخذين بالطريقة السابقة نفسها وجمع النقي في إنبوبة واحدة، حصدت الخلايا بالطرد المركزي (بسرعة 2000/لمدة 15 دقايق) ثم عوملت الخلايا بالمحلول واطئ الشد (5 مل كلوريد البوتاسيوم 0.075 مولاري) وثبتت الخلايا بإستخدام مزيج محضر آنياً من ثلاث حجوم من الكحول المثيلي المطلق وحجم واحد من حامض الخليك الثلجي، ثم تقطر الخلايا المثبتة ومن على إرتفاع ثلاثة أقدام على شرائح زجاجية نظيفة وتجفف في الهواء وتصبح بصبغة كمزا وتفحص كروموسومات الطور الاستوائي بإستخدام قوة التكبير X100 للمجهر الضوئي المركب.

ولإستخلاص كروموسومات الخلايا الجنسية إستخدمت طريقة Evans وجماعته (14) بإستئصال حصتي كل فأر ووضعت في طبق بتري يحتوي 5 مل من محلول نترات الصوديوم بتركيز 1% لمدة 20 دقيقة ثم فكك نسيج الخصيتين بإستخدام ملقطين دقيقين، حيث تم الحصول على محلول خلوي وضع في إنبوبة إختبار ومرت الانابيب بباقي الخطوات التي مرت بها الانابيب الحاوية على نقي العظم.

3) إختبار معامل الانقسام Mitotic Index Assy

بإستخدام قوة التكبير (X40) للمجهر الضوئي المركب فحصت الشرائح المحضرة وتم حساب 1000 خلية منقسمة وغير منقسمة بصورة وطبقت المعادلة التالية لحساب معامل الانقسام (15):-

معامل الانقسام(M.I.)= عدد الخلايا المنقسمة / لعدد الكلي للخلايا المنقسمة وغير المنقسمة X 100

4) دراسة تأثير أوكسيد الخارصين في إستحاث التشوهات في رؤوس الحيامن

تم تهيئة 50 فأر وقسمت الى مجوعتين متساوية الاولى للسيطرة والثانية عوملت بأوكسيد الخارصين بتركيز 100ملغم/كغم وتم تشريح خمس فئران في كل إسبوع لدراسة تأثير Zno على المراحل المتعاقبة لتكوين الحيامن Spermatogenesis .

وبعد تشريح الفئران إستخدمت طريقة Wyrobe و Bruce (16) حيث إستأصل Epididymus البربخ ووضع في طبق حاوي على 5 مل من محلول ملحي متعادل (0.85%) بعد ذلك قطع وهرس بإستخدام إبرة دقيقة وملقط الى أجزاء صغيرة جداً ووضع المحلول وما يحتويه في إنبوبة إختبار ثم وضع المزيج في المثبت لمدة 15 دقيقة بعدها جرى تحضير الشرائح وصبغها بصبغة الهيماتوكلسين لمدة 15 دقيقة ثم غسلت بماء الحنفية ووضعت بالايوسين لمدة 15 دقيقة وغسلت بالكحول وتركت لتجف، وفحص 1000 حيمن لكل نموذج وقورنت مع الشكل الطبيعي لحيمن فأر من سلالة Balb/c وحسبت النسبة المؤدية للتشوهات.

5) التحليل الاحصائي

حللت المؤشرات الثلاثة بإجراء تحليل التباين لتجربة عاملية بعاملين وبإستخدام التصميم العشوائي Complete Randomized Design وقورنت المتوسطات بإستخدام أختبار أقل فرق معنوي Least Significant Difference(L.S.D) بمستوى إحتمالية 0.05 (17).

النتائج

1) تأثير اوكسيد الخارصين على معامل إنقسام الخلايا الجسمية والجنسية

أظهرت نتائج تحليل التباين في الجدول رقم(1)، وجود فروق معنوية عالية الاحتمالية (P<0.01) للتراكيز على معامل إنقسام الخلايا الجسمية والجنسية، حيث إنخفض معامل الانقسام وإزداد التنشيط بزيادة الجرع على الرغم من عدم ملاحظة فروق معنوية بين الجرع.

ففي الخلايا الجسمية كانت قيمة معامل الانقسام لمجموعة السيطرة (13.7875%) بينما بلغت قيمته لتركيزي أوكسيد الخارصين 50 و 100ملغم/كغم مقدار 11.65 ، 11.488% على التوالي وهي مختلفة معنوياً عن السيطرة وبإحتمالية (P<0.05). (جدول رقم 2).

أما في الخلايا الجنسية فكانت قيمة معامل االنقسام لمجموعة السيطرة 17.2536% ولتركيزي 50 و 100ملغم/كغم من Zno بمقدار 14.2831 و 13.4938% على التوالي وهي مختلفة معنوياً بإحتمالية (P<0.05) عن مجموعة السيطرة (جدول رقم 2)، ولم يكن للتداخل بين الجرع والتراكيزي تأثير معنوي على معامل الانقسام.

2) تأثير أوكسيد الخارصين في إستحاثات التغايرات الكروموسومية

أشارت النتائج (جدول رقم 3) الى وجود معنوية عالية الاحتمالية (P<0.01) للتراكيز وعلى كلا النوعين من التغايرات الكروموسومية المتمثلة بالكسر الكروماتيدي والكسر الكروموسومي في الخلايا الجسمية والجنسية والتي إزدادت نسبتها بزيادة التراكيز.

ففي الخلايا الجسمية كانت قيمة الكسر الكروماتيدي لمجموعة السيطرة 0.375% وبالنسبة لتركيزي Zno (50 و 100ملغم/كغم) كانت قيمة الكسر الكروماتيدي 2.8125 و 4.437% على التوالي. في حين كانت قيمة الكسر الكروموسومي لمجموعة السيطرة 0.0625% وبلغت قيمته للتركيزين 50 و 100ملغم/كغم مقدار 0.8125 و 1.4375% على التوالي.

اما في الخلايا الجنسية فكانت قيمة الكسر الكروماتيدي لمجموعة السيطرة 0.0625 وبالنسبة لتركيزي 50 و 100ملغم/كغم كانت قيمته 1.3125 و 2.5625% على التوالي، في حين كانت قيمة الكسر الكروموسومي لمجموعة السيطرة 0.0625% بينما بلغت قيمته لتركيزي 50 و 100ملغم/كغم من أوكسيد الخارصين مقدار 0.5 ، 0.875% على التوالي (جدول رقم 4).

ولم يكن هناك فروق معنوية لتأثير التداخل بين الجرع والتراكيز.

3) تأثير Zno في إستحاث التشوهات في رؤوس الحيامن

أشارت نتائج تحليل التباين (جدول رقم 5) الى وجود تأثيرات معنوية عالية الاحتمالية (P<0.01) على جميع أنواع التشوهات في رؤوس الحيامن، حيث كان المتوسط الحسابي (جدول رقم 6) للتشوهات في مجموعة السيطرة 2.96 ، 3.12 ، 2.55 ، 3.28 ، 1.8 ، 0.88 ، 1% على التوالي للتشوهات المذكورة وفق تسلسلها في الجدول بينما كانت قيمتها لتركيز

100ملغم/كغم من أوكسيد الخارصين 10.44 ، 12.6 ، 10.36 ، 8.72 ، 10.4 ، 9.64 ، 1.8% على التوالي وهي مختلفة معنوياً ($P<0.05$) عن مجموعة السيطرة.

المناقشة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية حدوث تغيرات في المؤشرات الوراثية عند معاملة ذكور الفئران بأوكسيد الخارصين، فقد أدى Zno الى تثبيط معامل الانقسام للخلايا الجسمية والجنسية، وتناسب هذا التثبيط طردياً مع زيادة التركيز (جدول رقم 1 و 2).

ويعود السبب في هذا التثبيط الى قدرة الخارصين الى إحداث خلل في تركيب النبيبات الدقيقة المغزلية Spindle microtubules أثناء عملية الانقسام الخلوي (4 ، 18) كما قد يؤدي الى إعاقة بناء الـDNA أو الـRNA وبالتالي حصول خلل في إيصال الشفرة الوراثية الى الخلية لتحفيزها على الانقسام (19 ، 20).

وقد إتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة الحيمن (6) والتي أحدث فيها مبيد فوسفيد الخارصين تثبيطاً في معامل الانقسام، وقد إزداد التثبيط بزيادة الجرع والتركيز. في حين تعارضت نتائج هذه الدراسة مع دراسة تناولت تأثير مركبات تحتوي على الخارصين (الزنك) وأظهرت عدم قدرتها على تثبيط بناء الـDNA في خلايا Hela (10).

وكان تأثير التثبيط في الخلايا الجنسية أكبر منه في الخلايا الجسمية وقد يعود السبب الى إرتفاع تركيز أيونات الخارصين في الخصي، وهذا يعود الى وجود إنزيم

(Zi) Zinc metal enzyme alcohol dehydogenase.

وقد أظهرت النتائج قدرة أوكسيد الخارصين على إستحثاث التغيرات الكروموسومية في الخلايا الجسمية والجنسية، حيث كانت تأثير التراكيز معنوياً ($P<0.01$) في إستحثاث التغيرات والتي إزدادت بزيادة الجرع وكان التأثير واضحاً في الخلايا الجسمية أكثر منه في الخلايا الجنسية.

وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة Voroshinin وجماعته (5) حيث لاحظوا حدوث تغيرات كروموسومية في خلايا نقي العظم للجزءان المعرضة للخارصين.

كما أشارت دراسة تأثير مبيد فوسفيد الخارصين الى قدرة المبيد على إستحثاث التغيرات الكروموسومية والتي إزدادت بزيادة الجرعة وقد عزيت الى تأثير النواتج الايضية لهذا المبيد والتي هي غاز الفوسفين وكلوريد الخارصين (6 ، 7).

كما أشارت الدراسة الحالية الى قدرة أوكسيد الخارصين على إستحثاث تشوهات رؤوس الحيامن بالتركيز المستخدم 100ملغم/كغم حيث كانت النتائج معنوية بإحتمالية ($P<0.01$) ولجميع أنواع التشوهات ولم يظهر للفترات تأثير معنوي في إستحثاث هذه التشوهات، وتتفق نتائج دراستنا مع دراسة أوضحت قدرة الزئبق المثيلي في إستحثاث تشوهات رؤوس النظف (16) وإتفقت كذلك مع نتائج دراسة قدرة مبيد فوسفيد الخارصين في إستحثاث تشوهات رؤوس الحيامن، حيث أظهر المبيد قدرة على أحداث هذه التشوهات، تختلف معها في تأثير الفترات حيث ظهر أن للفترات تأثيراً مختلفاً في إحداث التشوهات في رؤوس النطف (6 ،7).

جدول (1): تحليل التباين لدراسة تأثير أوكسيد الخارصين بتراكيز وجرع مختلفة على معامل إنقسام الخلايا الجسمية والجنسية لذكور الفئران

مصادر التباين S.O.V.	درجات الحرية DF	متوسط المربعات	
		معامل إنقسام الخلايا الجسمية	معامل إنقسام الخلايا الجنسية
التراكيز A	2	31.506 **	63.006 **
الجرع B	3	8.949 *	5.118 *
التداخل BA	6	5.019 N.S.	1.930 N.S.
الخطأ التجريبي	36	2.3549	1.281

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

جدول (2): الوسط الحسابي لمعامل إنقسام الخلايا الجسمية والجنسية لذكور الفئران المعاملة بأوكسيد الخارصين بتراكيز وجرع مختلفة

المتغيرات	معامل إنقسام الخلايا الجسمية	معامل إنقسام الخلايا الجنسية %
التراكيز (ملغم/كغم)		
C	13.7875 a	17.2563 a
50	11.65 b	14.2813 b
100	11.1438 b	13.4938 b
LDS	1.0965	0.8087
الجرع (يوم)		
1	9.7188 a	11.8 a
2	9.45 ab	11.5313 ab
3	9.1813 ab	10.9688 ab
4	8.2313 b	10.7313 b
LDS	1.2661	0.9338

C- السيطرة الاحرف (a, b, c) المتماثلة لا تختلف معنوياً بمستوى 0.05

جدول (3): تحليل التباين لدراسة تأثير أوكسيد الخارصين بتراكيز وجرع مختلفة على التغايرات الكروموسومية في الخلايا الجسمية والجنسية لذكور الفئران

مصادر التباين S.O.V.	درجات الحرية D.F.	متوسطات المربعات			
		الخلايا الجسمية		الخلايا الجنسية	
		كسر كروماتيدي	كسر كروموسومي	كسر كروماتيدي	كسر كروموسومي
التراكيز A	2	123.2708 **	9.8958 **	25 **	2.6458 **
الجرع B	3	$11.8333^{N.S.}$	$1.4722^{N.S.}$	5.5208 *	$0.6875^{N.S.}$
التداخل AB	6	$3.0208^{N.S.}$	$0.5347^{N.S.}$	$1.6667^{N.S.}$	$0.2292^{N.S.}$
الخطأ التجريبي	36	5.0972	0.7917	1.8819	0.4236

* (P<0.05) ** (P<0.01) N.S. غير معنوي

جدول (4): الوسط الحسابي للتغايرات الكروموسومية في الخلايا الجسمية والجنسية لذكور الفئران المعاملة بأوكسيد الخارصين بتراكيز وجرع مختلفة

المتغيرات	الخلايا الجسمية %		الخلايا الجنسية %	
	كسر كروماتيدي	كسر كروموسومي	كسر كروماتيدي	كسر كروموسومي
التراكيز (ملغم/كغم) C 50 100	0.375 a 2.8125 b 4.4375 c	0.0625 a 0.8125 b 1.4375 b	0.0625 a 1.3125 b 2.5625 c	0.0625 a 0.5 ab 0.875 b
L.D.S	1.1786	0.702	0.9802	0.4651
الجرع (يوم)				
1	1.125	0.3125	0.375 a	0.125
2	1.75	0.5	0.8125 ab	0.3125
3	2.1875	0.625	1.1875 ab	0.5
4	2.5625	0.875	1.5625 b	0.5
L.D.S.			1.1319	

C- السيطرة الاحرف (a, b, c) المتماثلة لا تختلف معنوياً بمستوى 0.05

جدول (5): تحليل التباين لدراسة تأثير أوكسيد الخارصين والفترات بعد المعاملة على حدوث التشوهات في رؤوس الحيامن لذكور الفئران

مصادر التباين S.O.V.	درجات الحرية D.F.	متوسط المربعات						
		حيمن ذو رأس عصوي الشكل	حيمن معيوب الجسم الطرفي	حيمن ذو رأس مفصص الشكل	حيمن منتفخ لرأس	حيمن ذو رأس مثلث الرأس	حيمن فاقد كلاب الرأس	تشوهات أخرى
التراكيز A	1	6.99.38 **	1123.38 **	768.32 **	369.92 **	924.5 **	959.22 **	8 *
الفترات B	4	2.5 N.S.	2.03 N.S.	8.33 N.S.	2.75 N.S.	3.65 N.S.	2.33 N.S.	1.55 N.S.
التداخل AB	4	1.78 N.S.	1.03 N.S.	3.77 N.S.	0.77 N.S.	2.05 N.S.	3.47 N.S.	0.65 N.S.
الخطأ التجريبي	40	12.2	7.9	7.19	8.5	5.23	4.98	1.38

جدول (6): الوسط الحسابي لتشوهات رؤوس الحيامن في ذكور الفئران المعاملة بأوكسيد الخارصين وبعد فترات زمنية مختلفة

المتغيرات	حيمن ذو رأس عصوي الشكل	حيمن معيوب الجسم الطرفي	حيمن ذو رأس مفصص الشكل	حيمن منتفخ الرأس	حيمن ذو رأس مثلث الكلاب	حيمن فاقد كلاب الرأس	تشوهات أخرى
التراكيز (ملغم/كغم)							
C	2.96 a	3.12 a	2.52 a	3.28 a	1.8 a	0.88 a	1 a
100	10.44 b	12.6 b	10.36 b	8.72 b	10.4 b	9.64 b	1.8 b
L.D.S	2.0007	1.6067	1.3023	1.666	1.3073	1.2756	0.6715
الفترات (يوم)							
7	2.96	3.16	2.44	2.6	2.28	2.04	0.56
14	2.8	3.2	2.8	2.28	2.6	2.24	0.68
21	2.64	3.32	3.04	2.64	2.76	2.36	0.32
28	2.52	3.2	2.52	2.32	2.4	2	0.72
35	2.48	2.84	2.08	2.16	2.16	1.88	0.52

C- السيطرة الاحرف (a, b, c) المتماثلة لا تختلف معنوياً بمستوى 0.05

المصادر

1. Gruenw edel, D.W.; Glaser,J.F.and Cruikshank, M.K. **1981**. *Binding of methyl mercury II by hela suspension their effect on DNA replication and Protein Synthesis*. Chem. Bio. Enteract., 36: 259-274.
2. Ahmed, B.S.**1998**. *Relationship between some etements (Ca,Mg,Cu,Zn) and Uric acid and epilepsy*.M.SC. thesis, Collage of Med.Univ. Tikrit.
3. Martin, W.M.;Mayes, P.A. and Rodwell, V.W.**1981** . Harpor,s review of biochem .stry .18 edithion. Middle east edition.
4. Jalal,T.K. **1997**. *The effect of Some heavy metals on the fungus Pythinm Pleroricm*. Al Mustansiriy J.SCi.,Vol 9. No.3 : 100-103.
5. vorshinin, s.; Plotko, E.; Fink, E. and N.kitorova, W.**1978**. *Cytogentic action of inorgamic compound of tungsten, zinc, cadmium and cobalt on human and animal cells*. Tistologyl. Genctika, 12:241-243. (Abstract).
6. الحسني، وجدان عبد الهادي عبد علي **1995**. *التأثيرات الوراثيـــة الخلويـــة لمبيـــدي القـــوارض فوســـفيد الزنـــك والبروديفاكوم علـى الفأر الابيض*. رسالة ماجستير ، كلية التربية(إبن الهيثم) جامعة بغداد.
7. الجنـابي، عبـاس عبـد الله محمـود **1997**. تـأثير مبيـد القـوارض فوسـفيد الخارصـين والبروديفـاكوم علـى الهيئـة الكروموسومية ومؤشر الانقسام والنطف في الفئران الحقلية والمختبريـة Mus musculus رسـالة دكتـوراه كليـة التربية(إبن الهيثم) جامعة بغداد.
8. Klassen, C.D.; Amdur, M.O. and Doull, J. **1986**. *Toxicology , Environmental Toxicology , the basic secience of poisons. 3rd edition* . Mac millan publishing company new york 948:804-841, 657-678.
9. Casarett, L . and Doull , J . **1990** . *Toxicology , the basic science of poisons, 1st edition, Macmillan publishing co*. Inc. New york.
10. 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.
11. Nordenson, I.and beckmun, L.**1982**. *Occvpational and environmental risk. Heriedities*, 96:175-181.
12. Beckman, L.and Nordenson, I. **1986**. *Interaction Hered*., 36: 397-401.
13. Allen, J.; Shuker, C.and Latt, S.A. **1977**. *A simplified technique forin vivo analysis of SCE using 5-Brdu tablets: cyto.cel*. Genet., 18:231-234.
14. Evans, E., Breckon, G. and Ford, C.**1964**. *An air drying method for mitotic preparation from mammalian testes*. Cytogentics, 3:289-294.
15. Ghosh, B.; Talukder, G,and Sherma, A. **1991**. *Effect of culture media on spontaneous incidences of mitotic index. Chromosomal aberration, SCE and cyclein peripheral blood lymphocytes of male and female donor cytogi*, 67: 71-75.
16. Wyrobek, And Bruce, W. **1980**. *The induction of sperm shape shape abnormalities in mice and human*. Hollander (Eds) Chemical Mutagens, 6, Plenuem, New york: 257-285.
17. داود خالـد محمـد وإليـاس، زكـي عبـد **1990**. *الطـرق الاحصائية للأبحاث الزراعية*، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل.
18. Shiraishi , Y . **1978** . *Chromosome aberration induced in germ cell of mice*. Mutations Res., 57:313-324.
19. Martin, W.M.; Mayes. P.A. and Rodwell. W.**1981**. *Harper's review of biochemistry*. 18ed. Meddle easted.
20. Had., H.A.; Joseph, A.H. and Catillo, R.A. **1987**. *Alcohol and reproductive Function: A review* . Copyright by Williams & Wilkins, 42;2: 64-74.