

تأثير مبيد الكلايفوسيت على استحثاث التشوهات الكروموسومية والنواة الصغيرة في خلايا نقي العظم لذكور الفئران

المختبرية *Mus musculus*

زينب جليل خزعل

فائزة عبدالوهاب احمد

قسم علوم حياة - كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة البصرة

E-mail: s_zainab59@yahoo.com

E-mail: faizah_noorahmed@yahoo.com

الخلاصة

صممت الدراسة الحالية لدراسة تأثير المبيد العشبي على بعض التغيرات الكروموسومية والخلوية في خلايا نقي العظم لذكور الفئران المختبرية وذلك باستخدام اختبار التشوهات الكروموسومية (CA) واختبار النواة الصغيرة (MN) وقد تم استخدام ٧٨ حيوان من ذكور الفئران وادت عملية حقن المبيد بالجرعتين ٢٥ ملغم/كغم و ١٢.٥ ملغم/كغم بمنطقة تحت الخلب (i.p) intraperitoneally وللفترتين ١٥ و ٣٠ يوم الى ظهور تغيرات كروموسومية في خلايا نقي العظم نوع كروموسوم حلقي وكسر سنترومييري وكسر كروماتيدي وصلت حد المعنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة واطهرت النتائج ان الجرعة العالية اظهرت تأثيرا اكبر في ظهور انواع التشوهات الكروموسومية مقارنة مع الجرعة الواطئة بمستوى معنوية ($P \leq 0.01$) وان الفترة ٣٠ يوم كانت اكثر تأثيرا في ظهور التشوهات مقارنة مع مجموعة السيطرة والفترة ١٥ يوم كذلك ادى حقن المبيد الى حدوث زيادة معنوية في ظهور تشوه النواة الصغيرة (MN) مقارنة مع مجموعة السيطرة بمستوى معنوية ($P \leq 0.01$) وكانت الجرعة العالية للفترتين ١٥ و ٣٠ يوم مرتفعة معنويا مقارنة مع الجرعة الواطئة للفترتين ومجموعة السيطرة .

Induction of Chromosomes Aberration and Micronucleus by Glyphosate Herbicide in Bone Marrow Cell of Male Mice *Mus Musculus*

Faizah AW. Ahmed

Zainab J. Khzaal

Department Of Biology . College Of Education for Pure Science _ University Of Basrah

Abstract

The present study was designed to investigate the ability of the herbicide Glyphosate to induce cytogenetic effects in the laboratory mice *Mus musculus*, using chromosomal aberration and micronucleus parameters. Mice were intraperitoneally (i.p) injection with 12.5, 25 mg/kg of Glyphosate for two periods 15 and 30 days. The result showed that Glyphosate caused significant increase in the chromosomal aberration , ring chromosome , centromeric break and chromatid break in comparison with the control group .The higher dose induced chromosomal aberration at significant level ($P < 0.01$) compared with the lower does . Injection of Glyphosate for 30 days caused significant increase chromosomal aberration in the experimental group compared with control group. Glyphosate injection induced micronucleus .There was a significant increase caused by the higher dose compared with lower dose for the two periods 15 and 30 days ($P < 0.01$).

Keywords: Genotoxicity, chromosomes aberration, micronucleus, Glyphosate, mice.

١- المقدمة

C3H8N03P وهو الاكثر استعمالا في العالم وقد تصدر الاسواق في العالم منذ عام ١٩٨٠ (Ho and Cummins 2010). يعمل ال Glyphosate على منع تركيب الاحماض الامينية العطرية واستقلاب المركبات الفينولية من خلال تعطيل المسار الأيضي لحمض Shikimic acide مما يؤدي الى عدم قدرة المصنع على تجميع البروتين ونتاج الانسجة النباتية الجديدة (McLaren and Hart 1995)، أظهر ال Glyphosate تأثيرات مضادة في جميع الاختبارات السمية الوراثية بضمن ذلك السمية طويلة المدى وقصيرة المدى والضرر الوراثي والتسرطن الوراثي ايضا التأثيرات على اعادة الانتاج . بينت دراسة (Beneditti ٢٠٠٤) وجماعته ان ال Glyphosate سبب ضررا لكبد الجرذان المعرضة له وذلك بتسرب انزيمات الكبد الخلوية ، اوضح (Prasad ٢٠٠٩) وجماعته تأثير ال Glyphosate في استحثاث النواة الصغيرة والتشوهات الكروموسومية في خلايا نقي العظم للفئران البيضاء بعد حقن الحيوانات بالمبيد وبتراكيز مختلفة وان التأثير التثبيطي لمبيد Glyphosate على نمو الجذور النباتات ومنها نبات البصل اوضحت في العديد من الدراسات اذ بينت دراسة ان التركيز العالي من المبيد تؤدي الى تثبيط نمو الجذور في انواع من النباتات (Pline et al., 2002) .

٢- المواد وطرائق العمل

٢-١ الحيوانات المختبرية

استخدمت في هذه الدراسة ذكور الفئران المختبرية البيضاء Mus musculus L سلالة BALB/C بعمر يتراوح ٩-١٠ اسابيع ووزن يتراوح بين ٢٠-٢٥ غم التي جلبت من البيت الحيواني التابع لكلية التربية جامعة البصرة حيث ربيت في اقفاص بلاستيكية ذات ابعاد قياسية (11x12x30) سم مصنعة من قبل شركة North Kent Plastic Kent England تحت ظروف مسيطر عليها من حيث درجة الحرارة ٢٠-٢٥م وطول الفترة الضوئية (12ساعة ضوء ، 12ساعة ظلام) واستخدمت نشارة الخشب لغرض فرش أرضية الاقفاص التي تبدل اسبوعيا .زودت الحيوانات بالعليقة المكونة من 15 % بروتين حيواني و 50 % طحين حنطة و 25% نخالة طحين و 6% فول الصويا ، 2% دهن نباتي ، 2% حليب مجفف و 1غم /كغم /وزن الجسم خليط معادن وفيتامينات .

تستخدم المبيدات بكل انواعها الحشرية والعشبية والفطرية على نطاق واسع لتحسين محصول الانتاج بشكل عام وكنتيجه لذلك فأنها بتماس مباشر مع البيئة وارتباطها يكون بذلك مع الانسان ولهذا يكون تجنب التعرض لها غير ممكنا (Van der, 1996) ،اذ تسبب الاذى للكائنات الحية الاخرى غير المستهدفة وحسب منظمة احصائيات الصحة العالمية WHO ان هناك ثلاثة ملايين حالة تسمم بسبب التعرض للمبيدات سنويا وحوالي ٢٢٠٠٠٠٠ حالة وفاة في الدول النامية (Richter.,2002) .اثناء السنوات الاخيرة درست سمية المبيدات من قبل العديد من العلماء ليس فقط فيما يتعلق بأهميتها واستعمالها الواسع في الزراعة لكن ايضا لأجل اثبات ان العديد من المبيدات يكون لها اثار مسرطنة Carcinogenic ومطفرة Mutagenic ونشاط كاسر Clastogenic (Celik et al., 2003).بعد الفأر من الحيوانات الاكثر استعمالا لتكاثرها السريع ،حجمها الصغير وسهولة المعاملة وايضا اظهرت انها نظاما نموذجيا للباثن (Tice et al., 1989) وتظهر عملية استخدام خلايا نقي العظم للفأر الابيض في دراسة معامل الانقسام والتغيرات الكروموسومية لأن هذه الخلايا هي الاكثر استعمالا من بين انسجة اللبائن الاخرى لأن هذا النسيج هو الاكثر انقسامًا والاكثر نشاطًا اذ يعطي انواعا كثيرة ومختلفة من الخلايا مما يسمح بدراسة افضل للكروموسومات دون الحاجة الى مزارع خلوية (Knutial et al., 1979) وقد تم تقييم الضرر الوراثي الخلوي من خلال المؤشرات الحيوية مثل التشوهات الكروموسومية (CA) Chromosomes aberration واختبار النواة الصغيرة Micronucleus (Mn) ومعامل الانقسام الخيطي (MI) Mitotic Index وغيرها من الاختبارات .يعتبر مبيد Glyphosate ، N-(phosphonomethyl) glycin مبيد اعشاب شامل وغير انتقائي والذي يسيطر على الكثير من النباتات الدائمة والحولية وكذلك يسيطر على الاعشاب الضارة وذلك بمنع تنشيط الاحماض الامينية العطرية الضرورية لتشكيل البروتين في النباتات السريعة التأثر (Dykstra and Ghali., 1991) ; Akcha et al.,2012) ويعد الاسم Roundup الاسم التجاري ل Glyphosate حيث انتج هذا المبيد في الولايات المتحدة الامريكية ١٩٧٤ وهو ينتمي الى مجموعة الاحماض الامينية الفوسفونية (Williams et al.,2000) ويحتوي على المكون النشط Phosphonomethyl glycin isopropylamid (IPA) salt ;

من وزن الجسم ومجموعة المعاملة الثانية (T2) حققت ب ٠.١ مل من تركيز المبيد العشبي وبجرعة ٢٥ ملغم/كغم .

ثانيا - المجموعة الثانية : اجريت الاختبارات على ١٥ فأرا قسمت التساوي الى ثلاث مجاميع بعد 30 يوم من الحقن وضمت مجموعة السيطرة التي حققت ب ٠.١ مل محلول فسيولوجي ومجموعة المعاملة الاولى (T1) وحقنت ب ٠.١ مل تركيز المبيد وبجرعة ١٢.٥ ملغم/كغم من وزن الجسم ومجموعة المعاملة الثانية (T2) حقنت ب ٠.١ مل من تركيز المبيد العشبي وبجرعة ٢٥ ملغم/كغم .

٢-٦ اختبار التغيرات الكروموسومية في الخلايا الجسمية (نقي العظم) لذكور الفئران

هياً لهذه الدراسة (48) فأراً بعمر يتراوح بين (8-10) اسبوعا ووزن 20-25 غم ووزعت كما في فقرة تقسيم الحيوانات لأختبار التشوهات الكروموسومية وقسمت الى مجموعتين تتألف كل مجموعة من 8 ذكور قتلت المجموعة الاولى بعد 15 يوم من الحقن والثانية بعد 30 يوم من الحقن وتم استخراج الكروموسومات بأنتباع طريقة Sugiyama (1971) اذ تم حساب ١٠٠ خلية منقسمة وغير منقسمة وحساب ١٠٠ كروموسوم طبيعي ومشوه للحيوان الواحد واستخرج المعدل .

٢-٧ اختبار النواة الصغيرة

اجري الاختبار وفق طريقة (Essa (2012), Schmid (1975) ، و استخدم لهذا الاختبار خمسة حيوانات لكل مجموعة كما في فقرة تقسيم الحيوانات لاختبار تشوه النواة الصغيرة اذ تم حساب ٥٠٠ خلية من نوع الدمية متعددة الجبيبات و النواة الصغيرة واستخرج معدل ظهور النواة الصغيرة فيها.

٣- النتائج والمناقشة

٣-١ تأثير مبيد الكلايفوسيت في تشكيل التغيرات

الكروموسومية للخلايا الجسمية (نقي العظم)

تشير النتائج الموضحة في الجدول (١) الى حصول تغيرات كروموسومية تركيبية تمثلت بظهور ثلاثة انواع هي كروموسوم حلقي ، كسر سنترومييري و كسر كروماتيدي ضمن الجرعتين الواطئة (١٢.٥ ملغم /كغم) والعالية (٢٥ ملغم /كغم) ، كما موضحة في الصور (٢ و ٣) نتيجة لحقن المبيد مقارنة مع مجموعة حيوانات السيطرة كما في الصور (١)،(٢)،(٣)،(٤). وقد كانت الجرعة العالية اكثر تأثيراً مقارنة بالجرعة الواطئة ومجموعة السيطرة بمستوى معنوية ($P \leq 0.01$) في ظهور

٢-٢ تحضير تراكيز المبيد العشبي

تم تحضير تركيزين من المبيد العشبي الكلايفوسيت ، الجرعة الواطئة ١٢.٥ ملغم/كغم حيث حضرت بإضافة ٠.٠٥ مل من المبيد وخفف ب ٠.٤٥ مل من الماء المقطر ، والجرعة العالية (٢٥ ملغم/كغم) حضرت بإضافة ٠.١ مل من المبيد العشبي وخففت ب ٠.٤ مل من الماء المقطر ، و كانت الجرعة نصف المميتة LD50 بالنسبة للفئران (i.p) Intraperitoneal هي 130 ملغم/كغم كما ذكرت في المصدر (WHO, 1985).

٢-٣ اسلوب الحقن

حقنت الحيوانات المختبرية بغشاء الخلب (i.p) Interaperitoneal استنادا الى (Balanchand *et al*., 1987) بالجرعتين الواطئة ١٢.٥ ملغم / كغم والعالية ٢٥ ملغم / كغم وقد تم تقسيم الحيوانات كالاتي :

٢-٤ تقسيم الحيوانات لاختبار التشوهات الكروموسومية

قسمت الحيوانات الى مجموعتين رئيسيتين وكما يلي :

اولا - المجموعة الاولى : اجريت الاختبارات على ٢٤ فأرا قسمت بصورة متساوية الى ثلاثة مجاميع بعد 15 يوم من الحقن وضمت مجموعة السيطرة التي حقنت ب ٠.١ مل محلول فسيولوجي ومجموعة المعاملة الاولى (T1) وحقنت ب ٠.١ مل من المبيد وبجرعة ١٢.٥ ملغم/كغم من وزن الجسم ومجموعة المعاملة الثانية (T2) حقنت ب ٠.١ مل من تركيز المبيد العشبي وبجرعة ٢٥ ملغم/كغم .

ثانيا - المجموعة الثانية : اجريت الاختبارات على ٢٤ فأرا قسمت بالتساوي الى ثلاثة مجاميع بعد 30 يوم من الحقن وضمت مجموعة السيطرة التي حقنت ب ٠.١ مل محلول فسيولوجي ومجموعة المعاملة الاولى (T1) وحقنت ب ٠.١ مل من المبيد وبجرعة ١٢.٥ ملغم/كغم من وزن الجسم ومجموعة المعاملة الثانية (T2) حقنت ب ٠.١ مل من تركيز المبيد العشبي وبجرعة ٢٥ ملغم/كغم .

٢-٥ تقسيم الحيوانات (اختبار النواة الصغيرة)

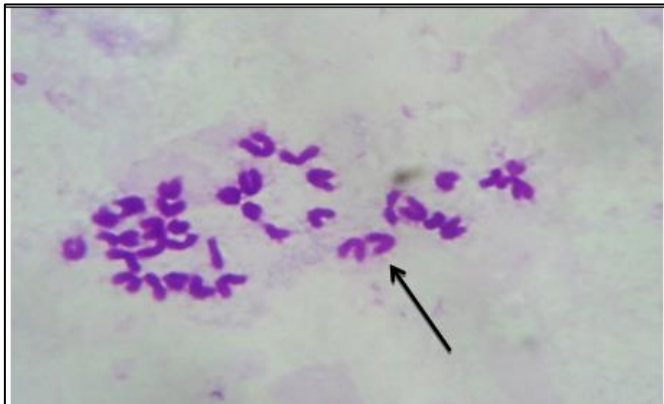
استخدام ٣٠ حيوان لهذا الاختبار قسمت الى مجموعتين رئيسيتين وكما يلي :

اولا - المجموعة الاولى : اجريت الاختبارات على ١٥ فأرا قسمت بالتساوي الى ثلاث مجاميع بعد 15 يوم من الحقن وضمت ، مجموعة السيطرة التي حقنت ب ٠.١ مل محلول فسيولوجي ومجموعة المعاملة الاولى (T1) وحقنت ب ٠.١ مل من المبيد وبجرعة ١٢.٥ ملغم/كغم

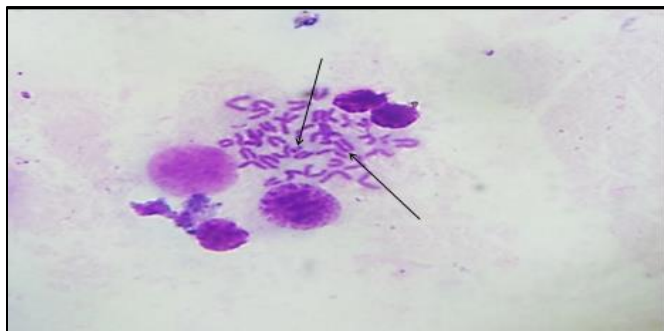
جدول (١) معدل التشوهات الكروموسومية لخلايا نقي العظم لذكور الفئران المعاملة بالمبيد العشبي (المعدل \pm الخطأ القياسي)

الجرعة (ملغم/كغم)	فترة المعاملة (يوم)	كروموسوم حلقي	كسر سنترومييري	كسر كروماتيدي
السيطرة	15	1.26 \pm 8.17	0.32 \pm 1.22	0
	30	2.96 \pm 9.92	0.90 \pm 1.52	0
الجرعة الواظنة	15	6.80 \pm 18.90 ^{aB}	1.25 \pm 3.12 ^{dB}	0
	30	7.91 \pm 24.07 ^{aA}	2.59 \pm 15.42 ^{aA}	0
الجرعة العالية	15	7.06 \pm 21.65 ^{aB}	7.08 \pm 38.15 ^{bB}	1.22 \pm 2.87 ^{bB}
	30	3.82 \pm 15.72 ^{aA}	8.65 \pm 62.20 ^{aA}	1.36 \pm 6.00 ^{aA}

(a,b,c,d) الأحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين الجرعة والسيطرة عند مستوى معنوية $P \leq 0.05$ (A,B,C,D) الاحرف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين الفترات لنفس الجرعة عند مستوى معنوية $P \leq 0.05$.



صورة (١) الكروموسومات الطبيعية لمجموعة السيطرة بقوة تكبير ٥٠٠ X



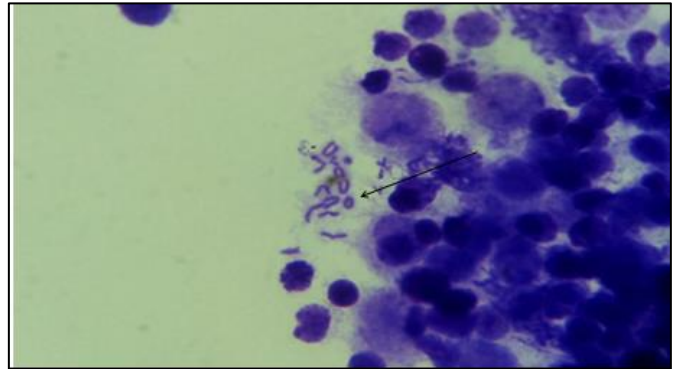
صورة (٢) الكسر السنترومييري لخلايا نقي العظم المعاملة بالمبيد العشبي الكلايفوسيت بقوة تكبير ٥٠٠ X

كروموسوم نوع حلقي وكسر كروماتيدي وكروموسومات فاقد للسنترومييري. ووضحت النتائج ان الجرعة الواظنة وتحت الفترة ٣٠ يوما من الحقن اكثر تأثيرا في ظهور تشوه الكروموسوم نوع حلقي بينما كانت الجرعة العالية وتحت الفترة ٣٠ يوما اكثر تأثيرا في ظهور الكسر السنترومييري وكذلك الكسر الكروماتيدي مقارنة مع مجموعة السيطرة تحت مستوى معنوية ($P \leq 0.01$). وان هذه النتائج جاءت متفقة مع ما توصل اليه (Aboukila et al, 2014) في دراسة تأثير مبيد الكلايفوسيت على خلايا نقي العظم الفئران المختبرية التي ادت الى حدوث تشوهات كروموسومية مختلفة ومتزايدة. كما بين (Williams et al, 2000) في دراسة مختبرية على الخلايا اللمفية للانسان اذ لاحظ زيادة في اعداد الكروماتيدات الشقيقة نتيجة المعاملة بالمبيد Roundup وقد عزى ذلك الى تبدل المادة الوراثية اثناء انقسام الخلايا بين ازواج الكروموسومات .

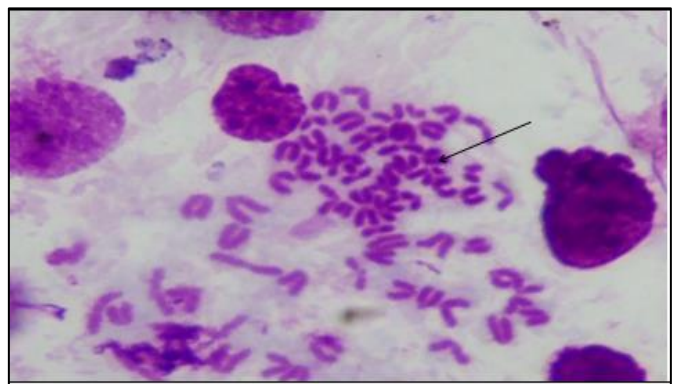
واثبتت دراسات ان هناك ادلة على ان مبيد الكلايفوسيت له اثار مكسرة في اختبارات *in vitro* وهذا ما جاء متفقا مع نتائجنا الحالية (Li and Long, 1988) ، وفي دراسة (Prasad et al, 2009) بين تأثير مبيد الكلايفوسيت في استحداث التشوهات الكروموسومية في خلايا نقي العظم للفئران وذلك بظهور التشوهات بأنواع مختلفة وقد عزى ذلك الى ان المبيد يحفز التغيرات الكروموسومية يمكن ان يؤدي الى التغيرات المفاجئة والمبكرة او زيادة في تحطيم DNA او نتيجة حدوث خلل في الاصلاح . وبينت دراسات ان هذا المبيد ضعيف التأثير الكاسر في اختبارات *in vivo* (Dimitrov et al., 2006; Rank et al., 1993) وان نتائج هذه الدراسات لم تتوافق مع نتائج الدراسة الحالية .

ان الاليات الجزيئية المسؤولة عن السمية الوراثية للكلايفوسيت غير معروفة بشكل واضح حتى الان ومع ذلك فأن التغيرات الكروموسومية لوحظت في الحيوانات انها تشير بوضوح الى ان هذه المركبات تتفاعل مع كروماتين ال DNA ويؤدي الى تحطيمها ، هذه التفاعلات والضرر في DNA قد يكون سببه زيادة في حدوث عطل في مواقع Alkali في DNA كما لوحظ في الكبد والكلية عند معاملة الفئران المختبرية بال Glyphosate (Peluso et al., 1998) وهذه المواقع العاطلة للقلويات تنتج في مواقع رئيسية في ال DNA وقد تظهر تغير في طبيعة الحامض النووي Denature DNA ، وان زيادة بقايا Oxidized guanine (8-hydroxyl guanine 8OHdG) في DNA في خلايا الكبد وخلايا نقي العظم نتيجة المعاملة بمبيد Glyphosate تكون سببا رئيسيا لأضرار الكروموسومات في الفئران المختبرية (Prasad et al., 2009).

يؤكد وجود فروق معنوية اعتمادا على الجرعة وفترات المعاملة ، ووجدت النتائج ان الفترة ٣٠ يوما حقن كانت مرتفعة معنويا مقارنة بالفترة ١٥ يوم بمستوى معنوية ($P < 0.01$) وهذا ما جاء متفقا مع دراسة الباحث Prasad et al, (٢٠٠٩) ووضح (Peluso et al, 1998) ان مبيد الكلايفوسيت له دور كبير في استحثاث تشوه النواة الصغيرة اعتمادا على زيادة الجرعة في الفئران المختبرية اذ ينتج السموم التي تؤدي الى انخفاض الاصلاح التلقائي HdG ٨٠ Repair of spontaneous وبالتالي يؤدي الى تراكم الاكسدة واقترح (٢٠٠٩) Prasad et al, ارتفاع ظهور النواة الصغيرة يمكن ان يكون نتيجة خلل في خيوط المغزل Mitotic spindle اذ يمكن ان يسبب الكلايفوسيت تثبيطا في انقسام اجهزة المغزل الانقسامية ، و بين (Piesova 2005) ان للكلايفوسيت دور في استحثاث تشوه النواة الصغيرة في الخلايا اللمفاوية في البقر بعد التعرض له و اشارت نتائج على حيوانات اخرى ان لهذا المبيد اثرا كبيرا في حث تشوه النواة الصغيرة التي تتكون بواسطة الكروموسومات و خيوط المغزل واضرار في مرحل الانقسام وهذا جاء متفقا مع نتائج الدراسة الحالية . يمكن ان يعزى تشكل النواة الصغيرة ربما لحالات غير طبيعية في انقسام القطع المركزية Centromeres للكروموسومات او ناتجة بسبب اضرار بال DNA تقود الى عدم فعالية القطع المركزية والى عدم تشكل المغزل وهذه تتفق مع نتائج كل من (Takada et al., 2003 ; Kasahara et al., 1992) والتي تقسر ظهور قطع كروموسومية خالية من القطع المركزية لديها القدرة على التحام نهاياتها لتكوين تشكيلات كروية تشبه النواة ، صورة (٥) .



صورة (٣) الكروموسوم الحلقي لخلايا نقي العظم المعاملة بالمبيد العشبي الكلايفوسيت بقوة تكبير ٥٠٠ X



صورة (٤) الكسر الكروماتيدي لخلايا نقي العظم المعاملة بالمبيد العشبي الكلايفوسيت بقوة تكبير ٥٠٠

جدول (٢) معدل النواة الصغيرة لخلايا نقي العظم لذكور الفئران لمعاملة بمبيد الكلايفوسيت (المعدل \pm القياسي الخطأ)

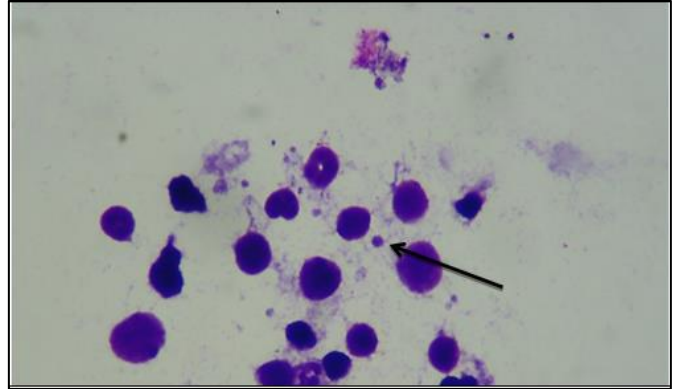
التركيز ملغم/كغم	الوقت (يوم)	الخلايا النمية متعددة الجبيبات pce	النواة الصغيرة %
السيطرة (ماء مقطر)	١٥	٥٠٠	0.09 ± 0.20^e
	٣٠	٥٠٠	0.08 ± 0.20^e
الجرعة الواطئة	١٥	٥٠٠	0.12 ± 0.21^{dB}
	٣٠	٥٠٠	0.18 ± 0.27^{cA}
الجرعة العالية	١٥	٥٠٠	0.17 ± 3.30^{bB}
	٣٠	٥٠٠	0.26 ± 4.76^{aA}

٢-٣ تأثير مبيد العشبي في تشكيل النواة الصغيرة في الخلايا الجسمية (نقي العظم)

يوضح الجدول (٢) تأثير المبيد العشبي في تشكيل النواة الصغيرة لخلايا نقي العظم لذكور الفئران اذ ارتفع ظهورها في الحيوانات المعاملة الجرعتين الواطئة (١٢.٥ ملغم /كغم) والعالية (٢٥ ملغم /كغم) وبالفترتين ١٥ و ٣٠ يوم بمستوى معنوية ($P < 0.01$) مقارنة مع السيطرة . ووضحت النتائج ان الجرعة العالية للفترتين ١٥ و ٣٠ يوما كانت اكثر تأثيرا في ظهور تشوه النواة الصغيرة مقارنة مع الجرعة الواطئة ومجموعة السيطرة بمستوى معنوية ($P \leq 0.01$). وقد اكد التحليل الاحصائي عدم وجود فروقا معنوية بين مجموعة السيطرة والجرعة الواطئة تحت الفترة ١٥ يوما بينما وجدت فروقا بين السيطرة والجرعة الواطئة للفترة ٣٠ يوما . وهذا

- plant and mammalian test systems. *Mutagenesis* 21, 375-382.
- Dykstra, W. and Ghali, G. (1991). Second Peer Review of Glyphosate. U.S. Environ. Protection Agency Memo.
- Essa, B. H.; El-Nahas, A.F.; Mahrous and EL-Tahawy, A.S (2012). Genotoxicity of Ivermectin (P-gp substrate) and/or Erythromycin (Pgp-inhibitor) as a Model of Drug- Drug Interaction Alex. J. Vet. Sci. 38 (1): 23-32.
- Heddle, J. A. ; Cimino, M. and Hayashi, C. M. (1991). "Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present, and future," *Environmental and Molecular Mutagenesis*, vol.18, no.4, pp. 277–291.
- Ho, M. W. and Cummins, J. (2010). Glyphosate toxic and Roundup worse, Available : <http://www.percyschmeisr.com/Toxic.html>.
- Kasahara, Y.; Nakai, D. Miura, K. and Hirbayashi, T. (1992). Mechanism of micronuclei and chromosome aderration in mouse bone marrow by multiple treatment of methorexate. *Mutation Res.*280:117-128.
- Knuutail, S.; Markki, A.; Rossi, L. and Rantanen, P. (1979). "In vivo method of SCE in Chines hamster fetal and Bone Marrow " , *mercditas*, 91: 23-26 .
- Li, A. P. and Long, T. J. "An evaluation of the genotoxic potential of glyphosate," *Fundamental and Applied Toxicology*, vol. 10, no. 3, pp. 537–546, 1988.
- McLaren and Hart, Environmental Engineering Corporation. January 10, (1995). Use of the Registered Aquatic Herbicide Fluridone (Sonar) and the Use of the Registered Aquatic Herbicide Glyphosate (Rodeo and Accord) in the State of New York - Final Generic Environmental Impact Statement. (prepared for DowElanco and Monsanto).
- Ohtaki, K. (1992). G-banding analysis of radiation induced chromosome damage in lymphocytes of Hiroshima A-bomb survivors. *Japanes. Journal of human genetics*, 37:245-262.
- Peluso, A. ; Munnia, C.; Bolognesi, and S. Parodi. (1998). " 32P- Postlabeling detection of DNA adducts in mice treated with the herbicide Roundup," *Environmental and Molecular Mutagenesis*, vol. 31, no. 1, pp. 55–59.
- Piesova, E.(2005). The effect of glyphosate on the frequency of micronuclei in bovine lymphocytes in vitro. *Acta Vet – Beograd*, 55, 3-13.

الأحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين الجرعة والسيطرة عند مستوى معنوية $P \leq 0.05$ ، (A,B) الاحرف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين الفترات لنفس الجرعة عند مستوى معنوية $P \leq 0.05$.



صورة (٥) النواة الصغيرة لخلايا نقي العظم المعاملة بالمبيد العشبي الكلايفوسيت بقوة تكبير ٥٠٠ X

المصادر

- Aboukila, S.R. ; Hemed, A. S. and El Nahas, F. A. (2014). Cytogenetic Study on the Effect of Bentazon and Glyphosate H erbicide on Mice . *Alexandria Journal of Veterinary Sciences* , 41 :95-101.
- Akcha, F.; Spagnol, C. and Rouxel, J. (2012). Genotoxicity of diuron and glyphosate in oyster spermatozoa and embryos *Aquatic Toxicol.* 106–107: 104–113.
- Balanchand, R. J.; Hori, K. and Balanchard, D. C. (1987). Ethanol effects in aggression of rat selected for different levels of aggressiveness *pharma Col. Biochem . And Behav.*, 27:641 P.
- Benedetti, A ;De Lourdes ; Vituri, C; Trentin, A. G; Dominguesc, M. A. C. and Alvarez-Silva, M. (2004). The effects of sub-chronic exposure of Wistar rats to the herbicide glyphosate-biocarb. *Toxicology Letters* 153: 227-232.
- Celik, A.; Mazmanc, B.; Camlca, Y.; Askn, A. and Cmelekog, lu. U.(2003). Cytogenetic effects of lambda-cyhalothrin on wistar rat bone marrow, *Mutat. Res.* 539 ,91–97.
- Dimitrov, B. D.; Gadeva, P. G.; Benova, D. K. and Bineva, M. V. (2006). Comparative genotoxicity of the herbicides Roundup, Stomp and Reglone in

- Pline, W. A.; Wilcut J W; Edmisten, K. L. and Wells, R. (2002). Physiological and morphological response of glyphosate-resistant and non-glyphosate-resistant cotton seedlings to root-absorbed glyphosate. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 73: 48-58.
- Prasad, S. ; Srivastava, S. ; Singh, M. and Shukla, Y. (2009) Clastogenic effects of glyphosate in bone marrow cells of swiss albino mice, *Journal of Toxicology*, p 1-6 .
- Rank, J.; Jensen, A. G.; Skov, B.; Pedersen, L. H. and Jensen, K. (1993). Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, Salmonella mutagenicity test, and Allium anaphase-telophase test. *Mutation Research* 300: 29-36
- Richter, E. D. (2002). Acute human poisonings. In: Pimentel D (Ed.), *Encyclopedia of Pest Management*. Dekker, New York. pp. 3-6.
- Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mut. Res.* 31:9-15..
- Sugiyama, T. (1971). Specific vulnerability of the largest telocentric chromosome of Ret bone marrow cells to (7.12). dimethylbenz anthranence. *Nalt. Cancerinst.*, 47:p. 1267.
- Takada, S.; Kelkar, A. and Theurkoff; W.(2003). Drosophila check point kinase zcuples centrocome function and spindle assembly to genomic integrity-cell 113:87-99.
- Tice, R. R. and Ormiston, B. G. and McFee, A. F. (1989). The effect of agent dose and Treatment time on the inter cellular Distribution of SCE induced by genotoxic agent in mouse Bone Marrow cell. In vivo .*Muta. Res.*,215: 25-37.
- Van der Werf, H. M. G.(1996) "Assessing the impact of pesticides on the environment," *Agriculture, Ecosystems and Environment*, vol. 60, no. 2-3, pp. 81-96 .
- Williams, G. M, Kroes, R. and Munro, I. C. (2000). Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 31:117-165.