تأثير إطعام بذور القطن صنف (Coker 310) في الفئران البيض *Mus musculus*

المرحوم/ علي عبيس عبد الشمري
معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية للدراسات العليا/ جامعة بغداد/ العراق

الخلاصة

تم دراسة تأثير إطعام بذور القطن صنف (Coker 310) الذي يزرع في العراق في بعض الصفات للفئران البيض *Mus musculus* درست الصفات المظهرية الواضحة مثل وزن الجسم، وبعض الصفات التشريحية بقياس أوزان بعض الأعضاء الداخلية منها وزن الكبد ووزن الكلى ووزن الطحال، فضلاً عن تأثيرها في الخلايا الجنسية الذكرية بقياس عدد النطف المشوهة. ودرست بعض مؤشرات الوراثة الخلوية بقياس تكون النوى الصغيرة وقياس معامل الانقسام في خلايا نخاع عظام الفخذ.

أوضحت النتائج عدم وجود فروق معنوية في وزن الجسم لذكور الفئران البالغة بعد الإطعام لمدة عشرة أيام، ولم تكن الفروق معنوية في أوزان الكبد والكلى ($P\leq0.05$)، إذ كان معدل أوزان الكبد لمجموعة السيطرة 1.47 غم ولمجموعة المعاملة 1.25 غم، أما الكلى فكان المعدل لمجموعة السيطرة 0.44 غم ولمجموعة بذور القطن 0.395 غم. ولكن وزن الطحال تأثر وبشكل كبير وبفروق معنوية إذ كان معدل الوزن لمجموعة السيطرة 0.104 غم وبالنسبة لمجموعة بذور القطن 0.066 غم أي بنسبة انخفاض وصلت إلى 36.5% ($P\leq0.05$).

أما التأثير في الخلايا الجنسية فقد ارتفع عدد النطف المشوهة ليصل إلى ثلاثة أضعاف الحالة الطبيعية التي كانت بمعدل 1.65/ 1000 نطفة في حين وصلت إلى 5.5/1000 نطفة عند إطعام بذور القطن وبفروق معنوية ($P\leq0.05$). وأشارت دراسة مؤشرات الوراثة الخلوية إلى ارتفاع عدد النوى الصغيرة وبشكل معنوي إذ كانت في الحالة الطبيعية 3.2/1000 خلية ووصلت إلى 6.07/ 1000 خلية في حالة استعمال بذور القطن، وانخفض معامل الانقسام وبفرق معنوي إلى 3.22 مقارنة بالحالة الطبيعية الذي كان 7.18.

المقدمة

يعد القطن من المحاصيل ثنائية الغرض، فهو أحد المصادر الأساسية للألياف الصناعية، كما إن بذوره التي تشكل 66% من حاصل قطن الزهر تعد مصدراً أساسياً لاستخلاص الزيوت المستخدمة في طهو الطعام (1). ويستعمل مسحوق القطن بعد استخلاص الزيوت منه في تدعيم الأغذية والأعلاف في بعض البلدان (2).

تحوي نباتات القطن كما هو الحال مع نباتات العائلة الخبازية Malvaceae الأخرى على صبغات الكوسيبول Gossypol (3، 4). والصبغة من الفينولات المتعددة توجد في غدد خاصة تنتشر في أجزاء النبات وتتركز في الجذور والبذور (5). ويشكل الكوسيبول 21-40% من وزن الغدد ويوجد مع صبغات أخرى، وقد وجد إن هناك علاقة وثيقة بين كمية الكوسيبول وعدد الغدد في البذرة الواحدة (3، 6).

ويساعد الكوسيبول في حماية نبات القطن من الآفات على مختلف أنواعها وبطرق مختلفة وهو من مواد الايض الثانوي (7، 8).

والكوسيبول جزيئة معقدة التركيب وعلى نوعين، النوع المرتبط وهذا أقل تأثيراً في الأحياء نظراً لأنه غير متاح للفعاليات الحيوية، والنوع الآخر الحر (Free gossypol) وهو الأكثر سمية خاصة للحيوانات غير المجترة (9). والنوع الحر له نظيران (+)، (-) (10). ونظراً لتعقيد جزيئة الكوسيبول وكثرة المجاميع الفعالة فيها فهو يظهر فعاليات متعددة في الأنظمة الحيوية مثل فعاليات مضادة للخصوبة وأخرى مضادة للميكروبات وصفات سمية أخرى التي تختلف اعتماداً على نوع الكائن الحي وجنسه (7). وقد استعمل في عقم الذكور في الصين في السبعينات، نظراً لكون الخصوبة قابلة للرجوع في 80% من الحالات، لذا

وفي السنوات الأخيرة أوصت الجهات المختصة باستعماله في حالات خاصة مثلاً عند الوصول إلى قرار نهاية الإنجاب أو للأشخاص الراغبين في البقاء عقيمين طوال الحياة (8).

ويمنع الكوسيبول تخليق البروتينات وذلك بارتباطه إلى Epsilon Amino Group للحامض الامينـي اللايسين (11)، كما انه يؤثر في عمليات إنتاج واستهلاك ATP وفي فعالية الأنزيم المهم Pyruvate dehydrogenase (9). وقد وجد إن لطريقة دخول الكوسيبول إلى الجسم تأثير مختلف، فإطعام الفئران عن طريق الفم لم يؤثر في أوزان الحيوانات، في حين إن الحقن في الخلب يكون أكثر سمية (12)، وتخلص الدراسات المختلفة على أنواع مختلفة من الحيوانات وبأعمار مختلفة وبمدد مختلفة إلى إن تأثير الكوسيبول يكون غير متجانس(13).

وأشارت العديد من الدراسات إلى الآليات التي يؤثر فيها الكوسيبول في الأنظمة الحيوانية، إذ يعد من المواد الدخيلة (Xenobiotics) عليها، والأضرار التي يحدثها تختلف باختلاف الجرعة ومدة التعرض وغيرها من الظروف (14، 15، 16). وفي العراق تستعمل زيوت القطن المستخلصة بالهكسان في مصانع بيجي في سد النقص الحاصل في زيوت الطبخ إلى نسبة تصل إلى 25% (معلومات غير منشورة)، ولكن مصادر زيوت القطن المستعملة تكون بمواصفات غير جيدة من حيث احتوائها على صبغات الكوسيبول، فضلاً عن إن الفلاحين يستعملون بذور القطن لسد الحاجة للأعلاف خاصة في مواسم شحة الأعلاف الخضر لتغذية الماشية. وتم إجراء البحث الحالي كجزء من دراسات أخرى مكملة باستعمال الفئران البيض لدراسة التأثيرات الضارة للكوسيبول.

المواد وطرائق العمل

الحيوانات المختبرية: استخدمت ذكور الفئران السويسرية البيضاء *Mus musculus* الضرب (Balb/c) بالغة بعمر 10–12 أسبوع وبأوزان تراوحت بين 21–37 غم وبمعدل 30.54 غم واستعمل 7 فئران لكل معاملة (معاملة السيطرة ومعاملة بذور القطن). تم الحصول عليها من مركز بحوث المناطق الحارة/ جامعة بغداد.

بذور القطن: تم الحصول على البذور صنف كوكر 310 (Coker 310) من قسم المحاصيل/ كلية الزراعة/ جامعة بغداد.

تحضير العلائق:

العليقة الاعتيادية مكونة من:

مجروش الحنطة 30%، مجروش الشعير 24.5%، مجروش الذرة الصفراء 22.5%، فول الصويا 15%، بروتين حيواني 7.15%، ملح الطعام 0.45%، حجر الكلس 0.2%.

عليقة القطن:

تم إزالة الزغب(Lintes) من البذور باستعمال حامض الكبريتيك المركز، ثم غسلت جيداً بالماء المقطر لإزالة تأثير الحامض (17). جففت البذور وسحقت بالمطحنة الكهربائية ثم خلط الناتج بقليل من الماء وشكلت على شكل حبات Pellets ليسهل تناولها من قبل الحيوانات.

قياس الأوزان:

وزنت الحيوانات عند بدء التجربة وكذلك عند نهاية التجربة، ووزنت أعضاء الحيوانات بعد انتهاء التجربة التي استمرت مدة 10 أيام بعد تشريحها (الكبد، الكلى، الطحال). تم تسجيل الهلاكات أثناء مدة التجربة وعلى مدد متقاربة.

الفحوص الخلوية:

قبل بدء تشريح الحيوانات حقن كل فأر بـ 0.25 مللتر من محلول Cholchicin (شركة Houde الفرنسية) بتركيز نهائي 10 ملغم/كغم من وزن الجسم، تحت غشاء الخلب Introperitoneal، وبعد مرور 3 ساعات تم تشريح الحيوانات للحصول على الأعضاء الداخلية، وكذلك الحصول على خلايا نخاع العظم لإجراء الفحوص الخلوية–الوراثية.

معامل الانقسام:

استعملت طريقة Gohosh وآخرون (18) وحسب معامل الانقسام لـ 1000 خلية وفق المعادلة الآتية:

معامل الانقسام=(عدد الخلايا المنقسمة/العدد الكلي للخلايا) × 100

فحص النوى الصغيرة:

تم الفحص وفق طريقة Fenech (19) وحسبت الانوية الصغيرة في 1000 خلية من الخلايا السابقة لخلايا الدم الحمر في نخاع العظم.

فحص تشوهات رؤوس النطف:

تم وفق طريقة Wyrobek (20)، وحسبت نسبة التشوهات بفحص 1000 نطفة ومقارنة أشكال النطف مع الشكل الطبيعي لرأس نطف الفأر (Balb/c).

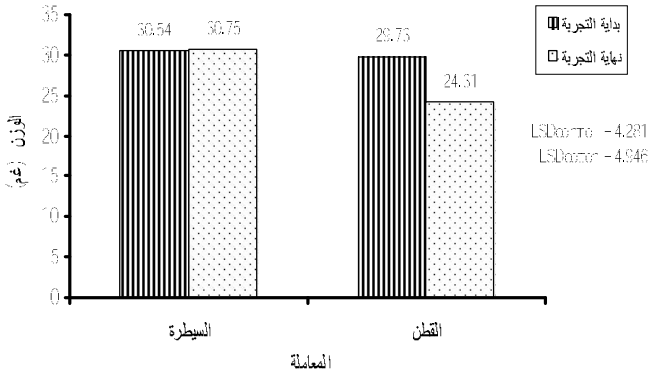
التحليل الإحصائي:

استعمل البرنامج الإحصائي SAS (21) لتحليل تأثير المعاملات في الصفات المختلفة وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي (LSD).

النتائج والمناقشة

عند دراسة تأثير إطعام القطن يكون من الأفضل إعطاءها بشكل منفصل وليس كأحد مكونات العلائق نظراً لتداخل مكونات القطن مع مكونات العلائق وهي الطريقة المتبعة من قبل المنظمات المعنية (22). وتستمر هذه التجارب عادة بين 10-20 يوماً (14).

ويوضح الشكل (1) تأثير إطعام الفئران ببذور القطن في أوزان الحيوانات التي أطعمت لمدة 10 أيام، وتظهر النتائج انه لا توجد فروق معنوية في مجموعة السيطرة التي أطعمت عليقه عادية بمقارنة الأوزان المبدوء بها مع نهاية التجربة (أقل فرق معنوي 4.281 على مستوى احتمالية ($P\leq0.05$)، وكذلك الحال بالنسبة لمجموعة بذور القطن فلم تكن الفروق معنوية (اقل فرق معنوي 4.946 على مستوى احتمالية ($P\leq0.05$) ولكن لوحظ إن المجموعة المغذاة على بذور القطن قد فقدت 18% من معدل وزنها، وعند مقارنة معدلات الأوزان بين المجموعتين أظهرت فروق غير معنوية في نهاية التجربة. وحصلت هلاكات في مجموعة القطن بعدد 5 من مجموع 7 بنهاية العشر أيام الأولى في حين لم تحصل هلاكات في مجموعة السيطرة.

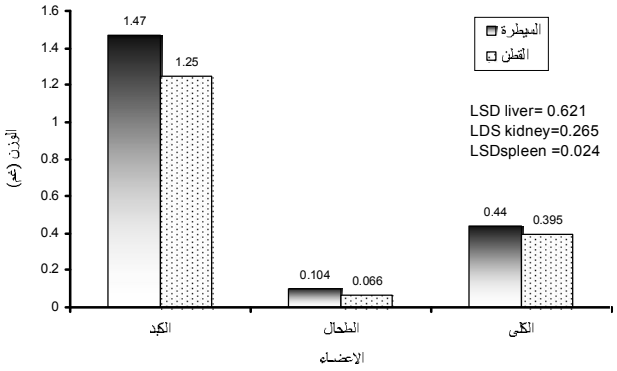


شكل رقم (1): اوزان جسم الحيوانات عند استعمال تغذية مختلفة (عليقة بذور القطن وعليقة السيطرة).

ويلتبس أمر تشخيص الأعراض الظاهرية التي يسببها كوسيبول القطن مع علل أخرى ولكن استهلاك بذور القطن بمستويات فوق الموصى به يؤدي إلى ظهور أعراض عسر الهضم (Dyspnea) وفقدان الشهية للطعام (Anorexia) وأهم الأعراض هو ضعف وانخفاض معدلات النمو ثم الموت كما حصل في هذه الدراسة، علماً بان بذور القطن غنية بالمواد الغذائية مثل ارتفاع نسب الزيت والبروتينات والمغذيات الأخرى(5). ومثل هذه الأعراض مسجلة في الأبقار (حيوانات مجترة) والتي يفترض أن يكون تحملها للكوسيبول أكبر نظراً لوجود بكتريا الكرش (Rumen bacteria)، إذ قل إنتاجها للحليب (بالنسبة للإناث) وزيادة خفقان القلب وزيادة هيموغلوبين الدم ثم الموت (23).

وتتعدد تأثيرات الكوسيبول في الجسم الحي فهو يكون معقدات مع الحديد ويمنع أكسدة الدهون(14). كما انه يؤدي إلى حدوث انخفاض البوتاسيوم(Hypokalemia) في سوائل الجسم مما يؤدي إلى أعراض مثل الإعياء وضعف العضلات وفي الحالات الشديدة إلى الشلل والموت (24، 25). وفي هذا المجال وجد إن مجاميع الكاربونيل Carbonyl group التي يحملها الكوسيبول هي الأساس في منع نقل الايونات خلال الأغشية الخلوية (26). كما انه يؤدي إلى نقصان في الهرمون T_3 (Tri-iodothyronine) و Testosterone (27).

أما تأثير إطعام بذور القطن للفئران في أوزان الأعضاء الداخلية فموضحة في الشكل (2).

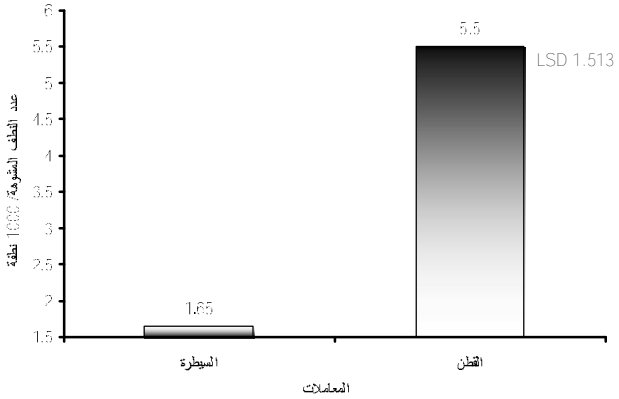


شكل رقم (2): اوزان الاعضاء المختلفة عند استعمال تغذية مختلفة (عليقة بذور القطن وعليقة السيطرة).

والملاحظة العامة إن الفروق لم تكن معنوية بين أوزان الأكباد والكلى بين حيوانات السيطرة والحيوانات التي أطعمت بذور القطن وكانت نسبة وزن الكبد إلى وزن الجسم عند انتهاء التجربة في حيوانات السيطرة 0.048 في حين كانت النسبة بالنسبة للمعاملة ببذور القطن 0.05 مما يشير إلى حصول زيادة في وزن الكبد في الحالة الأخيرة. وفي حالة الكلى كانت نسبة الوزن في حيوانات السيطرة 0.014 وفي حالة المعاملة 0.016 مما يشير إلى تضخم الكلى في الحالة الثانية. أما نتائج وزن الطحال فقد كانت الفروق معنوية ونسب وزنها إلى وزن الجسم الكلي في حالة مجموعة السيطرة كانت 0.0034 وفي مجموعة بذور القطن انخفضت إلى 0.0026 (أي بنسبة 22%) مما يشير إلى حدوث انخفاض في وزن الطحال.

يعتمد تراكم الكوسيبول في أعضاء الجسم على أعضاء حيوانات التجربة، فهو يكثر عادة في الأعضاء الحاوية على عدد كبير من الأوعية الدموية مثل الكبد والكلى والطحال عند زيادة كميته عن مدى تحمل الحيوان، إذ أشارت الدراسات باستعمال الكوسيبول المعلم (^{14}C) إلى انه يتركز في الكبد والكلى (28، 29). ويختلف تراكمه في الأعضاء المختلفة اعتماداً على نوع الحيوان ففي الأسماك وجد إن الكوسيبول الحر أو المرتبط يتراكم في الكبد ثم في الطحال وهو أقل تراكماً في أنسجة العضلات (30). ويؤثر الكوسيبول في عدد من أنزيمات الكبد مثل Liver alcohol dehydrogenase وكذلك Aldehyde dehydrogenase وفي إناث الفئران فهو يؤثر أيضا في أنزيم نزع هيدروجين الالديهايدات Aldehyde dehydrogenase في المايتوكوندريا، في حين يؤثر بشكل كبير في أنزيمات نزع هيدروجين اللاكتات Lactate dehydrogenase في خلايا عضلات القلب بشكل يعتمد على الجنس، وبهذه التأثيرات فانه يؤثر في تغيير حالات الأكسدة والاختزال داخل الخلايا (31). وفي الكبد على وجه الخصوص يتداخل الكوسيبول مع ايض الحديد الطبيعي (14). وعلى العموم يمكن للكبد التخلص من الكوسيبول عن طريق الصفراء خاصة وان الكوسيبول يذوب بشكل جيد في الدهون (32). ويسبب الكوسيبول هبوط تركيز البوتاسيوم في سوائل الجسم نظراً لاضطراب وظائف الكلى (24، 25)، الذي يؤدي إلى أعراض متعددة ومتزامنة كما ذكر أعلاه.

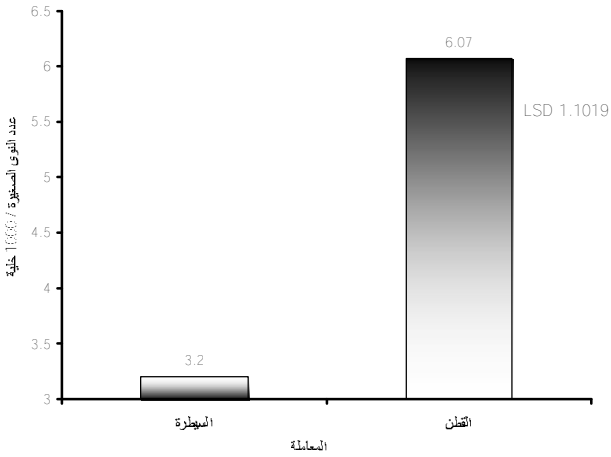
ويوضح الشكل (3) تأثير إطعام الفئران بذور القطن في عدد النطف المشوهة ويلاحظ من الشكل إن القطن قد أدى إلى زيادة عدد النطف المشوهة بشكل كبير وبفروق معنوية ($P\leq0.05$)، إذ تضاعفت حوالي ثلاث مرات.



شكل رقم (3): تشوهات النطف بتأثير المعاملات المختلفة (عليقة بذور القطن وعليقة السيطرة).

وجد في ذكور الفئران إن المعاملة بالكوسيبول لا يكون ذو تأثير كبير في وزن الجسم ولكنه يؤثر في الخلايا التابعة للجهاز التناسلي بشكل مختلف اعتماداً على مواقع الخلايا في التراكيب التناسلية (13)، فهو يؤدي إلى انفجار أغشية رؤوس النطف فضلاً عن تغيرات في الأغشية للتراكيب الأخرى فضلا عن إحداث انفتال Distortion لكروماتين الانوية، كما انه يؤدي إلى التأثير في المايتوكوندريا مؤدياً إلى تمددها وظهور الفجوات في المنطقة الوسطية بين رأس النطفة والذنب، ويؤثر أيضا في جهاز الحركة للنطف مما يؤدي إلى قلة حركتها أو انعدامها، وفي الحالات الشديدة يؤدي إلى ظهور أجسام مكثفة bodies Dense وحدوث

تمدد في أغشية جهاز كولجي Golgi الغشائي مما يؤدي إلى موت الخلايا (33)، كل هذه التأثيرات تظهر على شكل تشوهات في رؤوس النطف (27)، ونظراً لكون هذه التغيرات قابلة للرجوع والإصلاح ما عدا في حالة 20% استعمل الكوسيبول لمنع الخصوبة خاصة في الصين (8، 34). وبداية تأثير الكوسيبول في الأجهزة التناسلية يكون في الأنزيم النازع لهيدروجين اللاكتات في الخصى Testicular lactate dehydrogenase ، كما انه يؤثر في الإناث مؤدياً إلى اضطراب الحمل (2، 11، 35، 36). أما الشكل (4) فيوضح تأثير إطعام بذور القطن في حث النوى الصغيرة في خلايا نخاع العظم، ويلاحظ إن المعاملة أدت إلى مضاعفة عدد النوى وبفروق معنوية ($P\leq0.05$). ويعد فحص النوى الصغيرة من الفحوص التي توفر فرصاً أسرع وأسهل لتحديد التشوهات الكروموسومية (37).

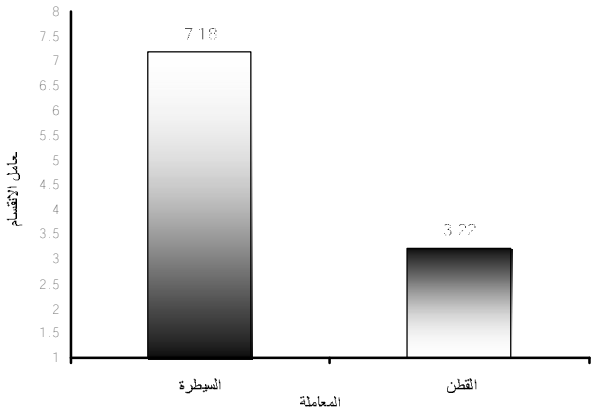


شكل رقم (4): عند النوى الصغيرة المستحثة بتأثير عليقة بذور القطن وعليقة السيطرة في خلايا نخاع العظم للفئران.

وقد يكون تأثير الكوسيبول بشكل غير مباشر وذلك بالتأثير في الماكنة الأنزيمية التابعة للـ DNA خاصة تلك المشاركة في عملية التضاعف مثلDNA polymerase α، إذ يتداخل الكوسيبول بشكل لا تنافسي مع النيوكلوتيدات الأربعة وليس بخلب المعادن أو اختزال مجاميع SH–، وكذلك يؤثر في النوع β من الأنزيم المذكور ولا يؤثر في النوع δ كما أوضحت الدراسات التي أجريت على مزارع HeLa cells ولذلك يعتقد انه يؤدي إلى إغلاق دورة الخلية في الطور S-phase ربما بتداخل مع عمليات إصلاح DNA (38).

ومن جهة ثانية أشارت الدراسات باستعمال Comet assay إلى إن الكوسيبول يؤدي إلى إحداث الكسور في المواد الوراثية للخلايا اللمفاوية للجرذان وبتراكيز واطئة تصل إلى 2 مايكرو غرام/مللتر بعد ساعة من المعاملة واستنتجوا إن تكسر DNA هو تأثير ثانوي لسمية الكوسيبول في هذه الخلايا، إذ إن وجود البروتينات مثل Fetal bovine serum في الوسط الغذائي بنسبة 10% أدى إلى تقليل سمية الكوسيبول (6). ونظراً لمشابهة تأثير الكوسيبول في الخلايا اللمفاوية لعدد من العوامل التي تقوم بتكوين الجذور الحرة لذلك يعتقد إن جزءاً من تأثير الكوسيبول يكون عبر تكوين الجذور الحرة، وذلك نظراً لتأكسده إلى مركبات لها القابلية للارتباط مع DNA وتكوينه جذور سامة وأخرى مدمرة للـ DNA (39).

أما الشكل (5) فيوضح تأثير إطعام بذور القطن في معامل انقسام خلايا نخاع العظام، ويلاحظ إن الفروق معنوية ($P\leq0.05$)، إذ انخفض المعامل إلى حوالي النصف، ويعكس قياس معامل الانقسام تأثير المواد في حركيات الانقسام وتستعمل المواد التي تخفض الانقسام في معالجة بعض أنواع السرطانات كما هو الحال في استعمال بعض مشتقات الكوسيبول (16، 40)، وقد سجلت نتائج مشابه في خلايا اللمفاويات البشرية (15). وكذلك في الفئران ولهذا عُد الكوسيبول من العوامل المطفرة والمسرطنة (27) فضلاً عن إن له القابلية للارتباط بالدهون الفوسفاتية في الأغشية الخلوية (11) مما يؤدي إلى اضطراب نقل الإشارات الواردة للخلايا وبالتالي اختلال وظائفها.



شكل رقم (5): معامل أنقسام خلايا نخاع العظم بتأثير عليقة بذور القطن مقارنة بعليقة السيطرة.

وبصورة عامة فان الكوسيبول له تأثيرات ضارة في الأنظمة الحيوية وان استعمل لحث العقم في الرجال في السبعينات لكن عادت المنظمات الخاصة وحددت الشروط لاستعماله (8). ويزداد تركيز الكوسيبول عند تناوله نتيجة للقضم وكذلك انفجار الغدد عند ملامستها للطور المائي ولا تستطيع الحيوانات غير المجترة تحمل أكثر من 0.1 غم من الكوسيبول الحر لكل كغم من وزن الجسم (9)، وعند تدعيم الأعلاف بنسبة 25% فان ذلك يعني توفر الكوسيبول الحر بتراكيز تصل إلى 100–250 جزء بالمليون. وتتفق اغلب الدراسات في إن تأثير الكوسيبول يكون منوطاً بالتراكيز المستعملة ومدة التعرض فضلا عن وجود اختلافات كبيرة بين الأحياء فتختلف حساسية الفئران للكوسيبول الحر الذي يصل إلى 7.5 ملغم/كغم وزن الجسم من الكوسيبول الحر في حين تزداد النسبة إلى 20 ملغم/كغم وزن الجسم في الإنسان(9، 16).

نستنتج من الدراسة الحالية إن للقطن تأثير سلبي على بعض المؤشرات المهمة مثل المؤشرات الوراثية الخلوية وبعض الأعضاء الداخلية التي كان أكثرها تأثرا الطحال وان كانت التأثيرات السلبية قليلة أو غير واضحة على مستوى الصفات الظاهرية Gross character مثل وزن الجسم.

المصادر

[1] E. Charles, "Production consumption of cottonseed and Cottonseed products". *In* "Cottonseed and Cottonseed Products" A. Baily (Ed.). Interscience Publishers, Inc.: New York, 1948.

[2] R. Ramde; C. Chase; and S. Wyse, "effect of gossypol and cottonseed on reproduction", J. Anim. Sci. Vol. 70, 1992, pp. 1628-1638.

[3] C. Boatner, "Pigments of Cottonseed" *In* "Cottonseed and Cottonseed Products" A. Bailey (Ed.), Interscience Publishers, Inc. New York. 1948.

[4] L. Berardi and L. Goldblatt, "Gossypol" *In* "Toxic Constituents of Plant Foodstuffs", I. Liner (Ed.). Academic Press: New York. 1969.

[5] A. Sotelo; I. Montalvo; M. Crail and M. Gonzalez-Garza, "Infertility in male rats induced by diets containing whole cottonseed flour", J. Nutr., Vol. 112, 1982, pp. 2052-2057.

[6] P. Quinatana; A. Peyster; S. Klatzke, and H. Park, "Gossypol-induced DNA breaks in rat lymphocytes are secondary to cytotoxicity", Toxicol. Lett. Vol. 117, 2000, pp. 85-94.

[7] H. Benbouza; G. Lognay; R. Palm; J. Baudoin and G. Mergeai, "Development of a visual method to quantify the gossypol content in Cottnseeds", Crop Sci.,Vol. 42, 2002, pp. 1937-1942.

[7] E. Coutinho, "Gossypol: a contraceptive for men", Contraception Vol. 65, 2002, pp. 259-263.

[9] V. Bertrand, and J. Belleville, "Effect of refeeding diets containing cottonseed flour with traces of gossypol on rat liver and testis", Br. J. Nutr. Vol. 66, 1991, pp. 269-283.

[10] M. Calhoun; S. Kuhlmann and B. Baldwin, "Assessing the gossypol status of cattle fed cotton Feed products", Proceeding Pacific Northwest Nutrition Conference. October, 1995.

[11] S. Burlatschenko, "Suspected gossypol toxicosis in a sow herd", J. Swine Health Prod. Vol. 11, 2003, pp. 137-139.

[12] S. Hunt and U. Mittwoch, "Effect of gossypol on sperm counts in two inhred strains of mice", J. Reprod. Fert., Vol. 70, 1984, pp. 341-345.

[13] S. Kumar and Sr. Kumar, "Histologic changes in the mouse testis after treatment with gossypol tetra-acetic acid", Arch. Histol. Cytol., Vol. 53, 1990, pp. 393-396.

[14] C. Skutches; D. Herman and F. Smith, "The effect of dietary free gossypol on blood and tissue iron in swine and rats", J. Nutr., Vol. 104, 1974, pp. 415-423.

[15] Y. Tsui; M. Creasy and M. Hulten, "The effect of the male contraceptive agent gossypol on human lymphocytes *in vitro*: traditional chromosome breakage, micronuclei, Sister chromatid exchange", and Cell Kientic. J. Med. Gene. Vol. 20, 1983, pp. 81-85.

[16] Y. Wang and P. Rao, "Effect of gossypol on DNA synthesis on cell cycle progression of mammalian cells *in vitro*", Cancer Res. Vol. 44, 1984, pp. 35-38.

[17] A. Marani and A. Amirov, "Effect of

delinting and genetic factors on the germination of cottonseed at low temperature", Crop Sci., Vol. 10, 1970, pp. 509 -511.

[18] B. Gohosh; G. Taluker and A. Sharma, "Effect of culture media on spontaneous incidence of mitotic index, chromosomal aberration, SCE and cell cycle in peripheral blood lymphocytes of male and female donor", Cytogenetic, *67*, 1991, pp. 71-75.

[19] M. Fenech, "The *in vitro* micronucleus technique" Mut. Res., Vol. 455, 2000, pp. 83-93.

[20] A. Wyrobek, "Methods for Human and Murine Sperm Assay" *In* "Short-Term for Chemical Carcinogens" H. Stich and R. San (Eds.). Springer-Verlag: New York, Heidelberg, 1981

[21] SAS. "Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical Version" 7th Edition. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA, 2004.

[22] AOCS (Association of American Feed Control Officials) Official publication, Atlanta, GA., 2001.

[23] NCPA (National Cottonseed Products Association). Composition and Feeding value of Cottonseed Feed Products for Beef Cattle. Kansas State University, USA. 2000, MF-2538.

[24] N. Lohiya; K. Sharma; M. Humar and S. Sharma, "Limitations on developing gossypol acetic acid as a male contraceptive", Contraception. Vol. 41, 1990, pp. 519-532.

[25] M. Kuman; S. Sharma and N. Lohiya, "Gossypol-induced hyokalemia and role of exogenous potassium salt supplementation when used as an antispermatogenic agent in male languor monkey", Contraception 56, 1997, pp. 251-256.

[26] A. Beaudoin, "Developmental toxicity evaluation of gossypol", Contraception. Vol. 37, 1988, pp. 197-219.

[27] T. Taha; W. Shaaban; A. El-Mahdy; F. El-Nouty and M. Salem, "Reproductive toxicological effects of gossypol on male rabbits: semen characteristics and hormonal levels", Anim. Sci. Vol. 82, 2006, pp. 259-269.

[28] M. Abou-Donia; C. Lyman, and J. Dieckert, "Metabolic fate of gossypol. The metabolism of ^{14}C –gossypol in rats", Lipids Vol. 5, 1970, pp. 938-946.

[29] F. Smith, and A. Clawson, "The effects of dietary gossypol on animals", J. Am. Oil Chem. Soc. Vol. 47, 1970, pp. 443-447.

[30] J. Roehm; D. Lee and R. Sinnhuber, "Accumulation and elimination of dietary gossypol in the organs of rainbow trout", J. Nutr. Vol. 92, 1967, pp. 425-428.

[31] F. Messiah, "Effect of gossypol on kinetics of mouse liver alcohol and aldehyde dehydrogenase", Gen. Pharmacol. Vol. 22, 1991, pp. 573-576.

[32] F. Smith, and A. Clawson, "Effect of diet on accumulation of gossypol in the ongans of swine", J. Nutr. Vol. 87, 1965, pp. 317-321.

[33] S. Majundar, and D. Wicks, "Ultra structural effects of gossypol acetic acid on mouse epididymi", Acta Microscopica, Vol. 3, 1994, pp. 79-90.

[34] N. Kalla; G. Weinbauer; E. Rovan and J. Frick, "Effect of gossypol on testicular testosterone production *in vitro*", J. Androl. Vol. 4, 1983, pp. 331-335.

[35] S. Morgan, "Gossypol as a toxicant in livestock", Vet. Clinics N. Am. Food Anim. Pract. Vol. 5, 1989, pp. 251-262.

[36] G. Waites; C. Wang and P. Griffen, "Gossypol: reasons for its failure to be accepted as a safe, reversible male antifertility drug", Int. J. Androl. Vol. 21, 1998, pp. 8-12.

[37] E. Gebhart; B. Windolph and F. Wopfner, "Chromosome studies on lymphocytes of patients under cytostatic therapy", Hum. Genet., *56*, 1980, pp. 157-167.

[38] L. Rosenberg; R. Adlakha; D. Desai and P. Rao, "Inhibition of DNA polymerase alpha by gossypol", Biochim Biophys Acta. Vol. 866, 1986, pp. 258-267.

[39] M. Nordenskjold and B. Lambert, "Gossypol induces DNA strand breaks in human fibroblasts and sister chromatid exchanges in human lymphocytes *in vitro*" , J. Med. Genet. Vol. 21, 1984, pp. 129-132.

[40] P. Rao; Y. Wang; E. Lotzova; A. Khan; S. Rao and L. Stephens, "Antitumor effect of gossypol on murine tumors", Cancer Chemother. Pharmacol. Vol. 15, 1985, pp. 20-25.

Abstract

The effect of feeding with cottonseed (Coker 310) which is cultivated in Iraq on some parameters on white mice *Mus musculus* was studied. The parameters were gross characters such as body weight, and some anatomical parameters; weight of liver, kidney and spleen. In addition the effect on male germ cells was studied by measuring the sperm head abnormalities, some cytogenetic parameters were studied as well, among these, the induction of micronuclei (Mn) and mitotic index (MI) in femur bone marrow.

Results showed that there was non-significant differences in body weight between control group and treated group after ten days of feeding with cottonseeds. Similar results were obtained for weights of liver and kidney. The average weight was 1.47g for control group and 1.25g for treated group, kidney weights were 0.44g (control) and 0.395g for cottonseed group. On the other hand, spleen weights were affected significantly ($P \leq 0.05$) as the weight of control groups was 0.104g and the treated group was 0.066, ie., there was 36.5% reduction.

The effect on male germ cells was statistically significant ($P \leq 0.05$), since the treatment (ie, feeding with cottonseed) increased the level of abnormal sperms to 5.5/1000 sperm compared to control group (1.65/1000 sperm).

Cytogenetic parameters were significantly affected ($P \leq 0.05$) as the Mn raised to 6.07 /1000 cells compared to background level 3.2/1000 cells (control group), while the MI reduced in treated group to 3.22 compared to 7.18 of the control group.

Keyword: Cottonseed, mice, feeding, bone marrow