The Study of antioxidant and Anti-abnormality activities for Liquid-Methanolic Extrct of Honey Bee Pollen Grains on White Mice

دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة لتشوهات النطف للمستخلص الميثانولي المائي لحبوب لقاح نحل العسل في الفئران البيض

* باسم كاظم بريسم ** علي حمود السعدي *** ستار جاسم حتروش
* محافظة واسط – العراق .
** قسم علوم الحياة , كلية العلوم – جامعة بابل , العراق .
*** قسم علوم الحياة , كلية العلوم – جامعة كربلاء , العراق .
*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول .

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية اختبار فعالية المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح كمضاد للأكسدة ولتشوهات النطف , إذ تم الكشف عن التأثيرات الضارة لعقار السايكلوفوسفامايد ومحاولة الحد منها باستخدام هذا المستخلص .

اما عند اجراء اختبار الكشف عن التشوهات في رؤوس الحيوانات المنوية فقد تبين بان الجرعة 5 ملغم / كغم في التداخل الاول والثاني أدت الى حدوث فرق معنوي ($P < 0.01$) مقارنة مع السيطرة الموجبة . في حين لم يؤدَّ التداخل الثالث الى اختلافات معنوية , وعند اجراء الجرعة 15 ملغم/كغم تبين أن التداخلين الاول والثاني ادى الى حدوث اختلافات معنوي , في حين لم يؤدَّ التداخل الثالث الى حدوث اختلافات معنوية , وعند الجرعة 30 ملغم/كغم فقد ادى التداخل الاول والثاني الى حدوث اختلافات معنوية ($P < 0.01$) , في حين لم يؤدِ التداخل الثالث الى فرق معنوي .

ومن نتائج الدراسة الحالية يمكن ان نستنتج أن المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح يمتلك فعالية مضادة للأكسدة ولتشوهات النطف عند اعطائه قبل ومع المطفر وبجرع واطئة في الخلايا الجرثومية.

Summary

The current study was included the test of the activity of methanol water extract of pollen grains as an antioxidant and anti-abnormality of sperms. As it has been detected the harmful effects of drug and try to cyclophosphamide and try to reduce them by using this extract.

when testing for abnormalities in sperm. It turns out that the dose of 5 mg \ kg in the first and second interactions led to a significant difference($P<0.01$) compared with positive control , while the third interaction did not lead to significant difference . At a dose of 15 mg \ kg showed the first and second interactions resulted in a significant difference . While the third interaction did not lead to differences. And at a dose of 30 mg \ kg the first and second interaction led to occurrence of significant differences ($P<0.01$) . While the third interaction does not lead to significant difference .

As a result of the present study, we can conclude that a methanol water extract of pollen grains has activity antioxidant and anti-abnormality of sperms when given before and with of mutagen and low doses in germ cells.

المقدمة Introduction

تُعد حبوب اللقاح (Pollen grains) وحدات تكاثرية ذكرية صغيرة تتكون في متك ازهار النباتات وتقوم عاملات النحل بجمعها من مصادر نباتية متباينة وتحتوي على العديد من المغذيات الدقيقة والمركبات الغنية بالطاقة (12) , يتدرج اللون في حبوب اللقاح من الابيض المصفر الى الازرق الغامق بحسب النوع بسبب احتوائها على كثير من الصبغات النباتية مثل الكاروتينات (Carotenes) والفلافوزانثينات (Flavoxanthins) والزانثوفيلات (Xanthophylles) والكربتوزانثينات (Cryptoxanthins) واسترات الليوتين (Lutein esters) والانثوسيانيات (Anthocyanins) و يعد البيتاكاروتين مصدر مهم وكمادة اولية (Precursor) لفيتامين A بالاضافة الى فعاليته كمضادة للاكسدة (18) .

كذلك أشار Martin وجماعته (15) ان حبوب لقاح نحل العسل تمتلك فعالية مضادة للأكسدة عالية لإحتواءها على العديد من المركبات المضادة للأكسدة كالفيتامينات والفينولات المتعددة .

تحتوي حبوب اللقاح على كثير من المواد ذات التاثيرات المختلفة مثل المواد المضادة للاكسدة كالفينولات والفيتامينات والاحماض الدهنية غير المشبعة وكذلك تحوي على الاحماض الامينية والكربوهيدرات والبروتينات والتي اضفت عليها اهمية خاصة فهي بالاضافة الى استخدامها كغذاء تمتلك بعض الخواص المهمة منها الفعالية المضادة للاكسدة , تحتوي حبوب اللقاح على العديد من المركبات الفينولية المضادة للأكسدة مثل Flavanoids وبصورة رئيسية الفلافونولات Flavonols والفلافونات Flavones و الفلافونونات Flavanones وهذه المركبات من العوامل المضادة للتطفير وانها من المواد المضادة للأكسدة والتي تضفي عليها اهمية في الوقاية من السرطان في الفئران والجرذان في المراحل الاولى من نشوءه (16) .

وقد هدفت الدراسة الحالية الى فحص الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلص الميثانولي المائي لحبوب لقاح نحل العسل , ودراسة تأثير مطفر السايكلوفوسفامايد (Cyclophosphamide) في رؤوس الحيوانات المنوية لذكور الفئران.

المواد وطرائق العمل Material and Methods

1. المواد

1.1. مصدر المستخلص

أستخدمت حبوب لقاح نحل العسل المتجمعة من اصول نباتية مختلفة وتم جلبه من العديد من النحالين في محافظة كربلاء ومحافظة بابل.

2.1. حيوانات التجارب

استخدمت في هذه الدراسة ذكور الفئران البيض السويسرية البالغة والتي تراوحت اعمارها بين 8-10 اسابيع والتي تم الحصول عليها من معهد ابحاث الاجنة وعلاج العقم التابع لجامعة النهرين في بغداد .

3.1 السايكلوفوسفامايد

استخدمت حبوب السايكلوفوسفامايد شركة (Baxter) الالمانية الموجودة في الصيدليات المحلي .

2. طرائق العمل Methods

1.2. تحضير المستخلص النباتي

حضر مستخلص حبوب لقاح نحل العسل ، حسب طريقة Sato وجماعته (21) مع بعض التحوير إذ تم اخذ وزن محدد من الحبوب الجافة وخلط بمعدل 1 غم من الحبوب:3 مل من محلول الاستخلاص (1 ميثانول:4 ماء مقطر,V / V), وتم مجانسته بواسطة خلاط كهربائي ولمدة نصف ساعة, رشح المحلول الناتج بوساطة قماش شاش وركز الراشح باستخدام المبخر الدوار ووضع في الحاضنة على درجة حرارة 50 م^0 لمدة 24 ساعة للحصول على المستخلص الجاف, حفظ المستخلص في مكان جاف لحين الاستخدام .

2.2. توصيف المستخلص النباتي بوساطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC (Thin Layer Chromatography)

نشطت صفائح السيليكاجل بوضعها في الفرن لمدة ساعة عند درجة حرارة 105 م^0 وتم وضع حجم ما يقارب (100 , 300 ,500) ميكروليتر من المستخلص بعد اذابته بنفس الطور السائل المستخدم (بنسبة 1غم من المستخلص لكل 3 مل من المذيب) عند قاعدة الصفيحة , إذ استخدمت ثلاث انظمة من المذيبات كطور سائل لعملية الفصل وهي: 1. بترواليوم ايثر:ميثانول:بنزين:كلوروفورم , بنسب حجمية 1:1:1:1 . 2. ايثر:ايثانول:كلوروفورم:بنزين , بنسب حجمية 1:1:1:1 . 3. هكسان:ايثانول:كلوروفورم , بنسب حجمية 1:1:1 . وتم مراقبة عملية ارتفاع الطور السائل على الصفائح حتى وصوله بالقرب من الحافة العليا ، إخرجت الصفائح من الحوض وتركت لفترة معينة بدرجة حرارة الغرفة إلى أن تجف وأجريت عملية الفحص تحت الضوء المرئي والأشعة فوق البنفسجية وتم تصويرها بوساطة كاميرا رقمية (23) , إذ تم تحديد عامل الاعاقة R_f (Retardation Factor) للحزم المتكونة بالإضافة إلى اللون وعدد تلك الحزم مع العلم بأن:

$$R_f \text{ الـ} = \frac{\text{المسافة التي قطعتها الحزمة}}{\text{المسافة التي قطعها الطور السائل}}$$

3.2. أختبار الفعالية المضادة للاكسدة بطريقة الرش بالبيتاكاروتين (β-carotene Spray Method)

أجريت عملية اختبار الفعالية المضادة للأكسدة على صفائح الـ TLC بأستخدام طريقة الرش بالبيتاكاروتين المشار اليها من قبل(15) , فقد أذيب 9 ملغم من البيتاكاروتين في 30 مل من الكلوروفورم ثم أضيف الى الخليط قطرتين من حامض اللينوليك النقي و60 مل من الايثانول , وتم رش هذا الخليط على صفائح الـ TLC وبعد ثم عرضت الصفائح الى الضوء العادي حتى تم قصر لون الارضية (2-6 ساعات) , ان الحزم التي تحتفظ باللون الاصفر لأطول فترة ممكنة تمثل مكونات مضادة للأكسدة بحيث تتناسب كثافتها اللونية مع الفعالية .

4.2. تحديد الجرعة المثلى للسايكلوفوسفامايد

تم استخدام الجرعة المثلى للسايكلوفوسفامايد وهي الجرعة التي تمتلك قوة تطفيرية عالية بحيث تتناسب مع وزن الفأر والمتمثلة بـ 20 ملغم/كغم من وزن الجسم (22) .

5.2. تحضير المحاليل الخاصة باختبارات رؤوس الحيوانات المنوية

1.5.2. محلول السايكلوفوسفامايد Cyclophosphamide Solution

حضر باذابة حبة (50) ملغم من السايكلوفوسفامايد في في 1 مل وجرع كل حيوان 50 مايكروليتر فموياً .

2.5.2. محاليل المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح Pollen grain Solution

تم تحضير ثلاثة جرع (30,15,5) ملغم / كغم من المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح بعد اذابة وزن منها في 1 مل من الماء المقطر وجرعت فموياً (8).

3.5.2. محلول ملون ازرق المثلين Methylene Blue Stain

لتحضير 100 مل منه تم اذابة 0.5 غم من الصبغة و 1.6 غم من اوكزالات البوتاسيوم و 1 مل فورمالين في 70 مل من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى 100 مل من الماء المقطر وحفظ بدرجة حرارة الغرفة لحين الاستعمال (9) .

4.5.2. محلول داريء الفوسفات الملحي Phosphate Buffer Saline (PBS)

لتحضير 1000 مل منه تم أذابة 8 غم من NaC1 و 0.015 غم من Na_2HPO_4 و 0.2 غم من KH_2PO_4 و 0.2 غم KC1 في 500 مل ثم اكمل الحجم الى 1000 مل من الماء مقطر وضبط الـ pH على 7.2 وعقم بالمؤصدة وحفظ بدرجة حرارة 4 °م (10) .

6.2. تحضير الحيوانات المنوية للفئران

اتبعت طريقة (9) مع بعض التحوير إذ قص الجلد أسفل التجويف البطني للحيوان ، واستخرج البربخ وقطع في طبق بتري وتم عمل مسحة شريحية منه وثم تركت لكي تجف في الهواء وثبتت بوساطة قطرة من الميثانول لمدة دقيقتين , ولونت الشريحة بوساطة ملون ازرق المثلين لمدة من 10 - 12 دقيقة ومن ثم تركت الشريحة لتجف ومن ثم غسلت بوساطة PBS وفحصت الشرائح تحت المجهر الضوئي لحصر التشوهات في رؤوس الحيوانات المنوية لكل 1000 خلية .

7.2. التحليل الاحصائي Statical Analysis

تم تحليل النتائج وفق نموذج التصميم العشوائي الكامل (Complete Randomized Design) بأستخدام اختبار F للإستدلال على المعنوية واستخدام اختبار اقل فرق معنوي .L.S.D (Least Significant Differention) لإظهار معنوية النتائج وتم ايضاً استخراج المتوسط الحسابي M (Arithmetic Mean) والخطأ القياسي Se (Standard error) (2) .

النتائج والمناقشة Results and Discussion

1.4. توصيف المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) :

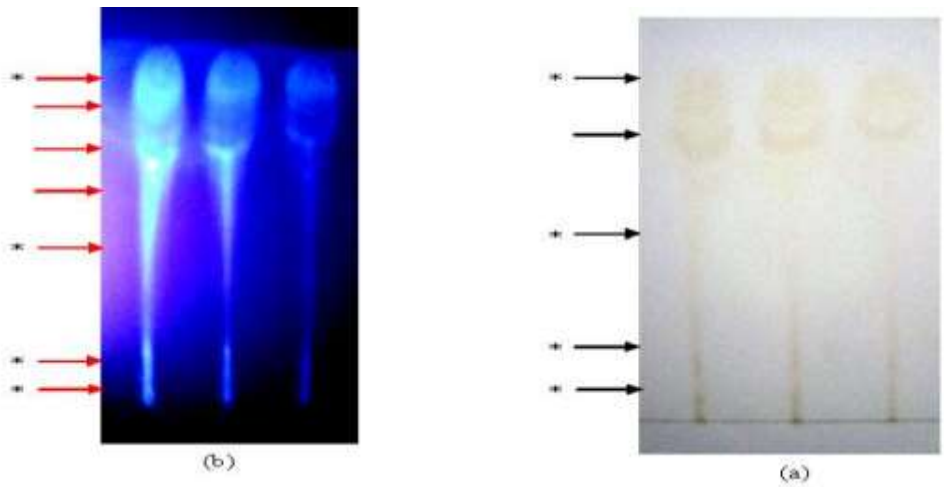
تبين الأشكال (3,2,1) نمط ترحيل الـ TLC للمستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح عند فحصه بالضوء الاعتيادي والاشعة فوق البنفسجية التي تم تلخيصها في الجداول (3,2,1) والتي تبين خصائص الحزم من ناحية الـ R_f واللون وعدد الحزم الظاهرة , إذ لوحظ ظهور 5 حزم عند الفحص بالضوء الاعتيادي للطور السائل (بترواليوم ايثر, ميثانول , بنزين , كلوروفورم V/V/V/V 1:1:1:1) وقد تراوحت قيم الـ R_f بين 0.07-0.89 في حين لوحظ ظهور 7 حزم عند الفحص بالاشعة فوق البنفسجية وتراوحت قيم الـ R_f لها بين 0.07-0.89. اما عند استخدام الطور السائل (ايثر , ايثانول , كلوروفورم , بنزين V/V/V/V 1:1:1:1) فقد لوحظ ظهور 7 حزم عند الفحص بالضوء الاعتيادي وتراوحت قيم الـ R_f بين 0.08 0.87 في حين لوحظ ظهور 12 حزمة عن الفحص بالاشعة فوق البنفسجية تراوحت قيم الـ R_f بين 0.08- 0.78 . وعند استخدام الطور السائل (هكسان , ايثانول , كلوروفورمV/V/V1:1:1) لوحظ ظهور 5 حزم عند الفحص بالضوء الاعتيادي وتراوحت قيم الـ R_f بين 0.09 -0.9 وكذلك لوحظ ظهور 9 حزم عند الفحص بالاشعة فوق البنفسجية تراوحت قيم الـ R_f بين 0.05 -0.95 . إذ تبين هذه النتائج وجود اكثر من مكون للمستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح عند استخدام عدة اطوار سائلة مختلفة . ويمكن تفسير ذلك بان حبوب اللقاح تحتوي على العديد من المكونات والتي من اهمها المغذيات مثل الاحماض الامينية والاحماض الدهنية والانزيمات ومرافقات الانزيم والفيتامينات والمركبات الفينولية والصبغات النباتية , فقد وجد ان حبوب اللقاح تحتوي على الفيتامينات مثل حامض البانتوثينك وفيتامين C و E والكيمياويات الضوئية وبقية المغذيات مثل الكاروتينات والفلافونيدات والستيرولات وان 20% من حبوب اللقاح تتكون من احماض امينية وتحتوي ايضاً على اكثر من 5000 انزيم ومرافق انزيمي (4).

فضلاً عن ذلك أشار(17) ومن خلال الاعتماد على نتائج التحليل الكروموتوغرافي من نوع كروموتوغرافيا السائل ذو الكفاءة العالية (HPLC) وبوساطة الطيف الكتلي ان حبوب اللقاح تحتوي على عدة صبغات مختلفة منها: (Anthocyanin) و (Petunidin 3-o-rutinoside) و (Delphinidin) و (Cyanidin) و (Petunidin-3-o-glucoside), وايضاً أشير ان حبوب لقاح نحل العسل تتألف من الكربوهيدرات بنسبة 55% والبروتين 35% والفيتامينات والمعادن 3% والاحماض الدهنية 2% وبقية المكونات 5% وتحتوي حبوب اللقاح على ما لايقل عن 15 مركب مضاد للاكسدة والتي من اهمها الفلافونات (11) . وقد ذكر الباحث Roman وجماعته (20) ان مستخلص حبوب اللقاح يحتوي على عدة مركبات فينولية تم الكشف عنها بوساطة تقنية الترحيل الكهربائي الشعري المقترن مع تقنية الرش الكهربائي الايوني للطيف الكتلي ومن اهم الفينولات Galloyl Galloylv glucose و Genistein - 7 - O - β - D - glucoside و Apigenin -6-8-di-c-glucoside و Acetin glucoside و Quercetin - 3 – rutinoside , وكذلك بين (13) ان حبوب لقاح نحل العسل وباستحدام HPLC-MS وبعد استخلاصها تحتوي على : Apigenin و Myricetin و و و Luteolin و Quercetin و Naringenin و Hesperetin و 8- Methoxykaempferol و Luteolin-3-methylether .

جدول (1) توصيف الحزم المتكونة على صفائح الـ TLC للمستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح باستخدام الطور السائل (بتروليوم ايثر , ميثانول , بنزين , كلوروفورم)(V/V/V/V1:1:1:1).

طريقة الفحص	خصائص الحزم		العدد
	R_f	اللون	
لضوء الاعتيادي (المرئي)	0.07*	بني مخضر	5
	0.18*	بني مخضر	
	0.47*	بني فاتح	
	0.73	بني فاتح	
	0.89*	بني مصفر	
الاشعة فوق البنفسجية	0.07*	ازرق مخضر	7
	0.18*	ازرق فاتح	
	0.47*	ازرق فاتح	
	0.64	ازرق مخضر	
	0.7	ازرق مخضر	
	0.81	ازرق فاتح	
	0.89*	ازرق فاتح	

- **الحزم المشتركة عند الفحص بالضوء الاعتيادي المرئي والاشعة فوق البنفسجية**

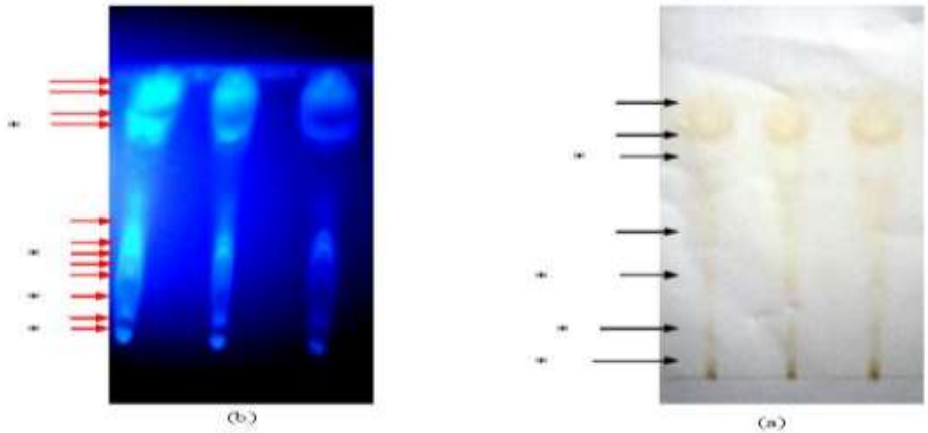


شكل (1) ترحيل المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح في صفائح الـ TLC باستخدام الطور السائل (بتروليوم ايثر, ميثانول, بنزين, كلوروفورم) (V/V/V/V 1:1:1:1) , a. عند الفحص بالضوء الاعتيادي . b. عند الفحص بالاشعة فوق البنفسجية . الاسهم تشير الى مواقع الحزم .* الحزم المشتركة عند الفحص بالضوء الاعتيادي والاشعة فوق البنفسجية .

جدول (2) توصيف الحزم المتكونة على صفائح الـ TLC للمستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح باستخدام الطور السائل (ايثر : ايثانول : كلوروفورم: بنزين) (V/V/V/V 1:1:1:1).

طريقة الفحص	خصائص الحزم		العدد
	R_f	اللون	
الضوء الاعتيادي (المرئي)	0.08*	بني مخضر	7
	0.16*	بني مخضر	
	0.30*	بني فاتح	
	0.5	بني فاتح	
	0.64*	بني فاتح	
	0.82	بني مصفر	
	0.82	بني مصفر	
الاشعة فوق البنفسجية	0.08*	ازرق مخضر	12
	0.10	ازرق فاتح	
	0.16*	ازرق فاتح	
	0.21	ازرق فاتح	
	0.25	ازرق مخضر	
	0.30*	ازرق مخضر	
	0.32	ازرق مخضر	
	0.37	ازرق فاتح	
	0.64*	ازرق مخضر	
	0.68	ازرق مخضر	
	0.75	ازرق مخضر	
	0.78	ازرق مخضر	

*** الحزم المشتركة عند الفحص بالضوء الاعتيادي المرئي والاشعة فوق البنفسجية**

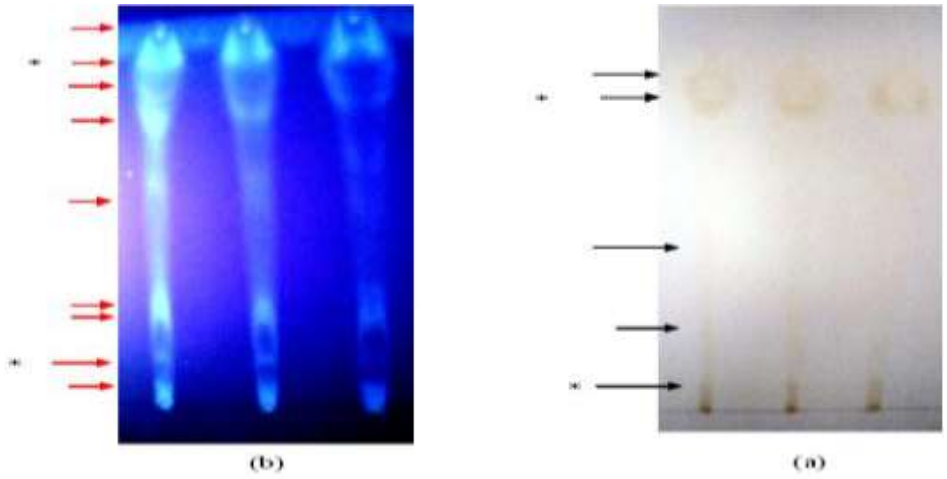


شكل (2) ترحيل المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح في صفائح الـ TLC باستخدام الطور السائل (ايثر, ايثانول, كلوروفورم, بنزين) (V/V/V/V 1:1:1:1) , a. عند الفحص بالضوء الاعتيادي . b. عند الفحص بالاشعة فوق البنفسجية . الاسهم تشير الى مواقع الحزم . *الحزم المشتركة عند الفحص بالضوء الاعتيادي والاشعة فوق البنفسجية .

جدول (3) توصيف الحزم المتكونة على صفائح الـ TLC للمستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح باستخدام الطور السائل (هكسان , ايثانول , كلوروفورم) (V/V/V 1:1:1)

طريقة الفحص	خصائص الحزم		العدد
	R_f	اللون	
الضوء الاعتيادي (المرئي)	0.09*	بني مخضر	5
	0.19	بني فاتح	
	0.44	بني فاتح	
	0.84*	بني مصفر	
	0.9	بني مصفر	
الاشعة فوق البنفسجية	0.05	ازرق مخضر	9
	0.09*	ازرق فاتح	
	0.23	ازرق مخضر	
	0.25	ازرق مخضر	
	0.52	ازرق فاتح	
	0.72	ازرق فاتح	
	0.80	ازرق	
	0.84*	ازرق مخضر	
	0.95	ازرق فاتح	

*** الحزم المشتركة عند الفحص بالضوء الاعتيادي المرئي والاشعة فوق البنفسجية .**



شكل (3) ترحيل المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح في صفائح الـ TLC باستخدام الطور السائل (هكسان,ايثانول, كلوروفورم) (V/V/V 1:1:1) , a. عند الفحص بالضوء الاعتيادي . b. عند الفحص بالاشعة فوق البنفسجية . الاسهم تشير الى مواقع الحزم .* الحزم المشتركة عند الفحص بالضوء الاعتيادي والاشعة فوق البنفسجية .

4.2. دراسة التشوهات في رؤوس النطف :

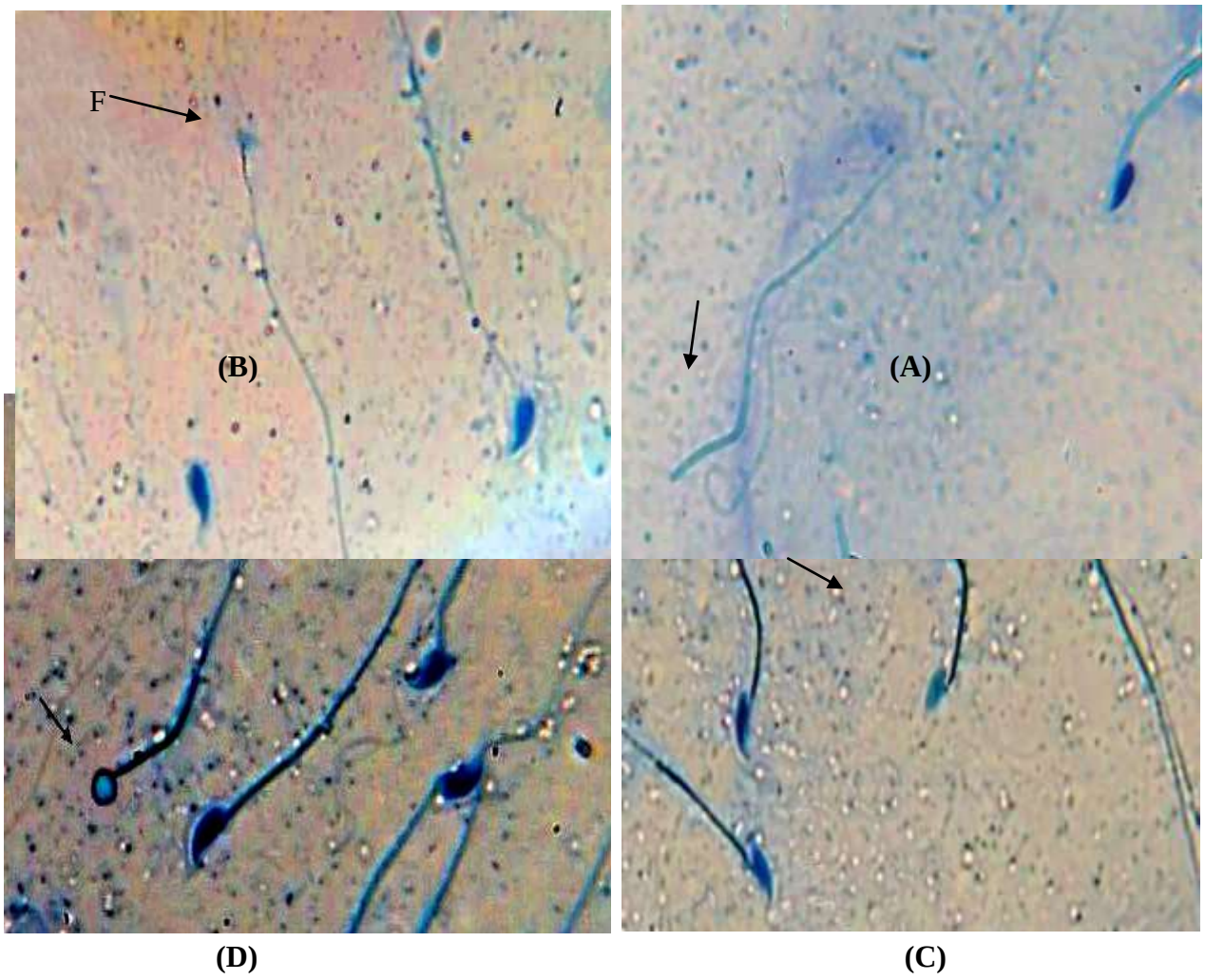
يبين جدول (7) التغيرات في معدلات التشوهات في رؤوس النطف لذكور الفئران المعاملة بجرع (30,15,5) ملغم / كغم من المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح و20 ملغم / كغم من السايكلوفوسفامايد , إذ تبين بان التداخل الاول والثاني من الجرع الجرعة 5 و 15 ملغم / كغم في التداخل الاول والثاني أدى الى حدوث اختلاف معنوي ($P < 0.01$) مقارنة مع السيطرة الموجبة , اما الجرعة 30 ملغم/كغم فقد ادى التداخل الاول الى حدوث اختلاف معنوي , اما التداخل الثاني فلم يؤدَّ الى فروق معنوية بأستثناء التشوه من نوع نطف فاقدة للرأس في حين لم يؤدَّ التداخل الثالث الى فرق معنوي باستثناء التشوه من نوع نطف فاقدة للذنب , وهذه النتائج تتفق مع ما أشار اليه (7) ان مستخلص حبوب لقاح النخيل يعمل على تقليل التشوهات في رؤوس الحيوانات المنوية لذكور الجرذان , وايضاً ذكر (6) انه لزيت بذور الكتان وزيت بذور العنب تأثيرات مخفضة للتشوهات في رؤوس الحيوانات المنوية المستحثة بوساطة

السايكلوفوسفامايد في الفئران , اما بخصوص التداخل الثالث من كل جرعة فقد أشار (1) إلى فشل الكفاءة التثبيطية لمستخلص التمر اتجاه التأثيرات السمية والتطفيرية للمطفر سايكلوفوسفامايد عند استخدام المستخلص بعد المطفر .

جدول (7) التغيرات في معدلات التشوهات في رؤوس النطف لذكور الفئران المعاملة بجرع (30,15,5) ملغم / كغم من المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح و20 ملغم / كغم من السايكلوفوسفامايد.

التشوه / المعاملة	فاقدة الرأس (per 1000 cell)	فاقدة الذنب (per 1000 cell)	فاقدة كلاب الرأس (per 1000 cell)	رأس كروي (per 1000 cell)
السيطرة السالبة	10.6±0.297*	18.0±0.707*	10.4±0.678*	7.2±0.800*
السيطرة الموجبة	79.2±3.469	48.2±1.319	53.8±1.593	51.0±3.807
جرعة 5ملغم/كغم التداخل الاول	11.8±0.969*	23.8±1.655*	16.4±0.509*	11.2±0.734*
التداخل الثاني	17.6±0.871*	25.2±1.428*	28.6±0.812*	31.2±1.280*
التداخل الثالث	77.8±3.426	51.6±2.638	48.6±3.043	54.6±2.803
الجرعة 15ملغم/كغم التداخل الاول	37.6±1.720*	27.0±2.549*	33.4±0.927*	29.8±1.462*
التداخل الثاني	43.2±1.428*	36.8±3.624*	39.2±1.200*	40.2±1.157*
التداخل الثالث	81.2±2.083	48.6±1.568	49.2±2.576	51.2±1.496
الجرعة 30ملغم/كغم التداخل الاول	60.6±1.166*	52.4±1.077	50.6±2.063	49.4±2.767
التداخل الثاني	61.2±0.734*	53.3±3.352	53.8±1.280	50.4±1.964
التداخل الثالث	81.2±2.222	58.2±2.130*	52.6±2.657	54.4±4.308

***فرق معنوي عند مستوى (P<0.01) , الخطأ القياسي ± المعدل (M.±S.e.) ,**



(A) شكل (7) نطفة فاقدة للراس لذكور الفئران المعاملة بالسايكلوفوسفامايد وتراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح (قوة التكبير 1600 X , ملون ازرق المثلين) .

(B) شكل (8) G.نطفة فاقدة للذنب F. نطفة فاقدة للرأس لذكور الفئران المعاملة بالسايكلوفوسفامايد وتراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح (قوة التكبير 1600 X , ملون ازرق المثلين).

(C) شكل (9) نطفة فاقدة كلاب الرأس لذكور الفئران المعاملة بالسايكلوفوسفامايد وتراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح (قوة التكبير 1600 X , ملون أزرق المثلين) .

(D) شكل (10) نطفة ذات رأس كروي لذكور الفئران المعاملة بالسايكلوفوسفامايد وتراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح (قوة التكبير 1600 X , ملون أزرق المثلين) .

المصادر References

1. السعدي ، محمد حمود . (1996) . تثبيط التطفير الوراثي لبعض المسرطنات الكيميائية باستخدام مستخلص تمر الزهدي . رسالة ماجستير , كلية العلوم ، جامعة بغداد .
2. الراوي , خاشع محمود . (2000) . مدخل الى الاحصاء . الطبعة الثانية . كلية الزراعة والغابات , جامعة الموصل.
3. Albritton ,T.(2004) . The benefits of bee products revealed ,Vitamin Cottage Natural Grocers ,Inc., pp1-3 .
4. Asita ,A.O. , Dingann ,M.E. and Magama ,S. (2008) . Lack of modulatory effect of asparagus ,tomato and grape juice on cyclophosphamide induced genotoxicity in mice . J. African Biotechnol ., *7* : 3383-3388
5. Bahmanpour ,S. , Talaei ,T. , Vojdani ,Z. , Panjehshahin ,M.R. , Poostpasand ,A. , Zareei ,S. and Chaeminia ,M. (2006) . Effect of *phoenix dactylifera* pollen on sperm parameters and reproductive system of adult male rats . J. Iran Med., *31*(4) :208-212.
6. British herbal pharmacopeia. (1983) . British herbal medicine association .pp244-245.
7. Coles, E. H. (1980). Veterinary clinical pathology 3rd ed. W. B. Sauhders Company. London .
8. Cruickshank, R., Duguid, J. P., Mormion, B. P. and Swain, R. H. A., (1975). Medical Microbiology, Vol. 2, 12th ed. Edinburgh: Churchil Living Stone.
9. Deuster ,P. , Maier ,S. , Moore ,V. , Paton ,J. , Simmons ,R. and Vawter ,S. (2004) .Dietary supplements and military divers a synopsis for undersea medical officer . Uniformed Services University of the Heart Sciences . pp: 16-18.
10. El-Siddig,K. , Gunasena ,H.P , Prasad ,B.A. , Pushpakumara ,D.K. , Ramana ,K.V. , Vijayanand ,P. and Williams J.T.(2006). Tamarind, *Tamarindus indica*. Southampton Centre for Underutilised Crops, Southampton, UK.
11. Hegazi ,A.G. and Abd El-Hady .(2007) . Influence of honey on the suppression of human low density lipoprotein (LDL) peroxidation (*In vitor)* .J. eCAM .*6*(1) :113-121 .
12. Martin ,P. , Lorente ,G. , Hortiguela ,V. and Carretero ,L. (2006) . Influence of different pollen conservation conditions ,preliminary studies . Bee Research Institute Dol. , p:112-113 .
13. Naranjo ,R. , Sanchez ,J. , Paramas ,G. and Gonzalo ,J. (2004). Analysis of bee pollen pigments by HPLC and mass spectrum . J. of Chroma , *1054*(1):205-210.
14. Owayss ,A.A. , Rady, M.M. , Gadallah , F.M. (2004) . Pigmentation of some honey bee *Apis mellifera* L. products . J. Fayoum , *18*(2)121-130 .
15. Pratt , D . E . and Miller , E . E . (1984). A flavonoid antioxidant in Spanish peanuts . JAOCS., *61*(6) : 1064 – 1071 .
16. Roman ,D. , Zurek ,G. , Babmann ,C. , Abarca , N. , Quirantes ,R. , Carretero , A. and Guterrez ,A. (2007). Identification of phenolic compounds from pollen extracts using capillary electrophoresis – electrospray time of flight mass spectrum . J. Arial Bioanal Chem ., *389*:1909-1917.
17. Sato, T., Onse, Y., Nagase, H. and Kito, H. (1990). Mechanism of antimutagenicity of aquatic plant extracts against (benzo (a) yrene) in the *Samonella* assay .J. Mut. Res ., *241*:283-290 .
18. Shubber, E. K. (1981). The genetic hazard of ten antiparasitic drugs compared to radiation. Ph. D. Thesis, Harvard Univ., cambridge, U. S. A :p 28.
19. Vekiari, S. A., Orcopoulo, V. and Thomopoulos, C. D. (1993). Oregano flavonoids as lipid antioxidants.J. JAOCS., *70* (5) : 483-487.