Induction of Sperm Head Abnormalities in Male Mice by Using Dill Extracts

Dr.Abbas A. Al-Janabi
University of Technology, Applied Science Department-Biotechnology Branch/Baghdad
Email:abbas Abdull@yahoo.com
Suhad A. Ahmed, Nagham H. Abood
University of Technology- Applied Science Department-Biotechnology Branch/Baghdad
Mohamad Kamal Amin
University of Technology- Applied Science Department-Biotechnology Branch/Baghdad
Dalal sabri bedan
University of Technology- Applied Science Department-Biotechnology Branch/Baghdad

Received on: 13/6/2012& Accepted on: 4/10/2012

ABSTRACT

The objective of the present study is to detect the genetic effects of methanolic extract of Dill plant in morphological phenotypic big sperm abnormalities of male mice (*Mus musculus*).Sixty mice were used and divided into three groups by 20 mice for each group and each group was divided in turn into four groups: the first control group, while tested the remaining three groups with alcohol extract in concentrations ranged (0.5, 1, 2) mg/ml within periods (1, 3, 5) week. The results showed the presence of abnormal change in the form of the heads of sperm in the stages of spermatids ,spermatocytes and spermatogonia where it was observed the presence of significant differences ($P\leq 0.05$) in sperm cells and spermatocytes of the sperm when compared with control while the difference was highly significant ($P\leq 0.01$) in spermatogonia and for the three doses in a period of 5 weeks. So we can conclude that doses of dill extract may permanently sterilize mice.

Keywords :Dill extract, head sperm abnormalities ,mice

أستحثاث التشوهات في رؤوس النطف في الفئران من خلال أستخدام مستخلص نبات الشبت

الخلاصة

https://doi.org/10.30684/etj.31.3B.14
2412-0758/University of Technology-Iraq, Baghdad, Iraq
This is an open access article under the CC BY 4.0 license http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

تهدف الدراسة الحالية الكشف عن التأثيرات الوراثية للمستخلص الميثانولي لنبات الشبت (Dill) في الشكل المظهري لرؤوس النطف غير الطبيعية لذكور الفئران (Mus musculus) حيث تم استخدام ٦٠ فأرا موزعين على ثلاث مجاميع بواقع ٢٠ فأرا لكل مجموعة وكل مجموعة قسمت بدورها إلى أربع مجاميع حيث اعتبرت الأولى مجموعة السيطرة (control) في حين اختبرت الثلاث المتبقية بالمستخلص الكحولي وبتراكيز تراوحت ما بين (٠,٥، ١، ٢) ملغم/مل وللفترات (١، ٣، ٥) أسبوع.

بينت النتائج وجود تغير غير طبيعي في شكل رؤوس النطف في مراحل الخلايا المنوية والخلايا الأمية وسلف الخلايا النطفية حيث لوحظ وجود فروق معنوية ($P\leq 0.05$) في الخلايا المنوية والخلايا الأمية للنطف عند مقارنتها مع العينة القياسية ، في حين كانت الفروق المعنوية أكبر ($P\leq 0.01$) في سلف الخلايا النطفية وللجرع الثلاث وللفترة ٥ أسبوع لذا نستنتج ان جرع معينه من مستخلص نبات الشبت قد تؤدي الى حدوث عقم لدى الفئران وبشكل دائمي.

المقدمة

الشبت Dill نبات حولي من نباتات الفصيلة الخيمية [١]. ويدعى بالأنجليزية Dill واسمه العلمي Anethum graveolens . بذور الشبت وثماره سمراء ذات خمسة عروق طويلة والطعم العطري في الأوراق الخضراء والبذور لكن البذور أكثر استعمالاً للأغراض التجارية والتسويق كتوابل، تؤكل الأوراق نيئة أو مضافة الى السلطات أو مطبوخة مع الشوربات والحساء [٢]. تحتوي ثمار الشبت على مكونات فعالة متعددة أهمها الزيت الطيار المسمى زيت الشبت الذي يوجد بنسبة تتراوح بين (٣-٤)% من وزن الثمار، وهو شبيه بزيت الكراوية وأهم مكوناته مادة الكارفون (Carvone) والتي تشكل أكثر من نصف كمية الزيت , كما يحتوي الزيت على مادة الليمونين والفيلاندرين[٣] . وتحتوي البذور على مواد مخاطية لزجة ومواد راتنجية (صمغية) ومواد نيتروجينية، ولهذه البذور مكونات ومواد مقاومة للأورام السرطانية [٤].وقد كان الشبت يوصف لعلاج الأمراض قديما فقد وصف بأنه مقو للمعدة والقلب ، مهدئ ، نافع في تشنج الحجاب الحاجز، ويفيد رماده (بعد حرقه) في ضماد الجروح، وهو مدر للبول ومدر للحليب عند المرضعات وذلك عند طبخه مع الحساء. وقد وصفه الشيخ ابن سينا بأنه منوم ومفيد في علاج البواسير [٥]. وحديثاً فان للشبت استعمالات كثيرة فمعروف أن أوراق الشبت غنية بفيتامين (أ) على شكل كاروتينات وفيتامين (ج) بل انها تقارن بالمصادر الغذائية الغنية جدا" لهذين الفيتامينين ، وكلا الفيتامينين من الفيامينات المضادة للأكسدة .كما تحتوي الأوراق على الألياف الغذائية المنشطة للأمعاء والمنظمة للأكسدة. وكذلك المنظمة لأمتصاص الدهون والسكريات البسيطة والمقللة من امتصاص الكولسترول وأملاح المرارة .كما ان البذور تحتوي بجانب نكهتها الطيبة وفتحها للشهية على محتوى جيد من البروتين والدهون والألياف الغذائية .وهي غنية بصورة خاصة بالحديد والكالسيوم والبوتاسيوم ومجموعة من فيتامينات (ب) وفيتامين (ك) والبذور متوفرة عند العطارين الذين يصفونها للأغراض المذكورة أعلاه[٦] . وجدير بالذكر أن ظروف انبات الشبت وزراعته متوفرة وسهلة ويمكن زراعته في حديقة المنزل . ونظراً لأهمية الشبت الغذائية والصحية يمكن تطوير استعماله وتشجيع زراعته وادخاله في بعض الصناعات كمعاجين أسنان (كمطهر للفم) وفي الخلطات العشبية التي توصف لعسر الهضم والانتفاخات وطرد الغازات المعوية [٧].

ولغرض معرفة التأثيرات الجانبية لأستخدام هذا النبات ، تم أختيار أختبار التشوهات لرؤوس النطف في الفئران المختبرية لهذا الغرض ، أذ لوحظ من خلال العديد من الدراسات التي اجريت في هذا المضمار انها تزداد عند التعرض للعوامل المطفرة Mutagenic agents سواء أكانت فيزيائية أو كيميائية وعلى سبيل المثال لا الحصر، لوحظ زيادة معدل التشوهات في خلايا سلف النطف Spermatogonia بعد تعريض الفئران لأشعة x–ray بجرعة ٦٠٠ راد كما لوحظ انخفاض عدد الولادات الحية ٤,٨% وحالة شبه العقم تورث بنسبة ٦,٧% لاناث ناتجة من ذكور مشعة [٨] كما لوحظ وجود زيادة معنوية في عدد النطف المشوهة بعد تعريض الفئران للاشعة السينية ولفترة ثلاث وخمس اسابيع من التعرض، وزيادة التكرارات المميتة المتغلبة للنطف في البربخ وقناة القذف في اناث الفئران المختبرية المتزاوجة عند تعريضها لمادة Isopropyl methane sulfonate بتركيز ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم[٩] وظهر انتاج أبناء عقيمين وشبه عقيمين عند تعريض ذكور الفئران ضرب CH3 لمادة Triethylene melamine بتركيز 0.04 ملغم/كغم من وزن الجسم [١٠].

لقد أحدثت المادة المسرطنة سايكلوفوسفوأمايد بتركيز ٣٠٠ملغم/كغم وزن الجسم زيادة في تكرار الروؤس المشوهة بعد ٣٥ يوماً من تعريض ذكور الفأر ضرب CPH [١١]،أما مركب Quercetin الموجود في الخضروات الورقية والفواكه والبقوليات والذي عرف كمطفر في النظام البكتيري وفي اختبار تشوهات رؤوس النطف أعطى نتائج ذات دلالة معنوية عالية [١٢].لهذا اعتمداختبار التشوهات لبيان القابلية التطفيرية لبعض المركبات والمواد، لذا عد اختبار التشوهات في رؤوس النطف من الاختبارات الخاصة لكشف قابلية العوامل الفيزياوئية والكيمياوئية على استحثاث التطفير أوالتسرطن في الخلايا الجنسية حيث وجد انها أكثر حساسية وبنسبة ١٠٠% للمواد المطفرة. كما يفضل هذا الاختبار لكونه من الاختبارات السريعة، قليلة التكلفة والتي لاتحتاج الى مواد أو معاملات كثيرة (كالاوساط الزرعية وغيرها), يفحص خلال خمس أسابيع بعد المعاملة لأي مادة يراد أختبار قابليتها التطفيرية أو التسرطنية، من خلال متابعة المراحل المختلفة من تطور ونمو النطف Spermatogenesis وأثر تلك المواد في كل مرحلة منه فالاسبوع الاول يمثل تأثير المادة على النطف في مرحلة الخلايا المنوية Spermatids والأسبوع الثالث يمثل التأثيرعلى مرحلة الخلايا الأمية للنطف Spermatocytes أما الأسبوع الخامس فيمثل التأثير على مرحلة سلف الخلايا النطفية Spermatogonia [١٣].

المواد وطرائق العمل

تم جلب النبات (الأوراق والساق) من الأسواق المحلية وغسلها بماء الحنفية ومن ثم جفف في الظل وبوجود تيار هواء لمدة يومين، وسحق باستعمال هاون خزفي، وحضر المستخلص الكحولي الخام (Crude Extract) حسب الطريقة المذكورة في[١٣] حيث تم وزن (١٠٠) غم من المسحوق النباتي ونقع في (٥٠٠) ملليلتر من الميثانول لغرض الحصول على المستخلص الكحولي، وترك الخليط في جهاز الحاضن الهزاز (Shaking Incubator) بدرجة (٣٧) ْم ولمدة (٢٤) ساعة، ثم تم ترشيح النقيع باستخدام ورق ترشيح من نوع (Whatman No.1) وبخر المحلول بجهاز المبخر

الدوار (Rotary Evaporator Vaccum) للحصول على محلول مركز تحت تأثير الضغط المخلخل وتحت درجة حرارة الغرفة بوجود تيار هواء متداور لحين الحصول على مسحوق جاف ثم حفظ المسحوق الناتج في قنينة زجاجية معقمة لحين الاستعمال.

حضر المحلول الأساس Stock Solution باذابة (١) غم من المسحوق في (١٠) ملليتر من الماء المقطر المعقم ثم حضرت منه التراكيز التالية: (٠,٥ ، ١ , ٢ ملغم/ملليتر).

الحيوانات

تم الحصول على ٦٠ ذكراً من الفئران المختبرية Mus musculus من مختبرات المركز الوطني للرقابة والبحوث الدوائية/ ساحة الأندلس/ بغداد. بعمر (٨-١٢)أسبوعا" وبمعدل وزن يساوي٢٥ غم وجرى تربيتها مختبرياً في أقفاص لدائنية ذات غطاء مشبك وأعطيت الماء والعليقة المتكاملة طيلة فترة اجراء التجربة. قسمت الفئران الى أربعة مجاميع وهي:
المجموعة الاولى ضمت (١٥) فأراً أعدت كسيطرة (عينة قياسية) ، المجموعة الثانية ضمت (١٥) فأراً أعطيت الجرعة ٠,٥ ملغم/لتر. المجموعة الثالثة ضمت (١٥) فأراً أعطيت الجرعة ١ ملغم/لتر، المجموعة الرابعة ضمت (١٥) فأراً أعطيت الجرعة ٢ ملغم/ملليتر. علماً بأنه في كل مجموعة من المجاميع الثلاث الأخيرة أخذت الحيوانات للحصول على النطف بعد الأيام (35,21,7) من أعطاء المستخلص .

طريقة تحضير النطف

أتبعت طريقة Wyrobek وBruce [١٣] للحصول على النطف مع أجراء بعض التحويرات عليها ،اذ يؤخذ البربخ Epididymis ويوضع في طبق بتري Petri dish حاوي على ٥ سنتميتر مكعب من محلول ملحي متعادل (٠,٨٥%) ، يقطع ويهرس بأستخدام أبرة دقيقة Needle وملقط دقيق الى أجزاء صغيرة جداً ويوضع المحلول ومايحتويه في أنبوبة أختبار نظيفة . ثم يوضع المزيج في المثبت لمدة ساعة بعدها يجري تحضير الشرائح الزجاجية وصبغها بصبغة الهيماتوكسلين وتركها لمدة (١٥) دقيقة ثم تغسل بماء الحنفية Tap water ، ثم تصبغ بالأيوسين Eosin وتترك لمدة ١٠ دقائق ، وتغسل بعدها الشرائح بالكحول ثم تجفف .

التحليل الأحصائي

أجرى التحليل الأحصائي للبيانات المتحصل عليها لكل تركيز بأيجاد المتوسط والخطأ القياسي ، بينما قورنت تلك المتوسطات المختلفة بأستخدام أختبارt–test لأيجاد قيمة أقل فرق معنوي وعلى مستوى ٥%.

النتائج والمناقشة

لقد تم دراسة عدد كبير من التشوهات في رؤوس النطف ممثلة بـ معيوب الجسم الطرفيAcrosome Defective ، أنحراف قمة كلاب الرأس Apical Hook ، أنتفاخ في الرأس Swollen Head ، فقدان كلاب الرأس Blunt Hook ، شكل الرأس المطرقي Hammer Head ، خطأ في زاوية كلاب الرأسHook at wrong angle ، الكلاب الصغير Short Hook والشكل الوتدي للرأس Pin Head ، والشكل الشريطي Ribbon Shap وغيرها من التشوهات التي أمكن

ملاحظتها أثناء فحص الشرائح الزجاجية مجهرياً . جدول (١) يبين التأثيرات السلبية لمستخلص نبات الشبتAnethum graveolens على النطف في مرحلة الخلايا المنوية Spermatids وذلك بعد أسبوع من المعاملة ، لقد أتضح بأن المستخلص الميثانولي للنبات بتراكيزه الثلاث (٢،١،٠,٥) ملغم/مل قد أحدثت زيادة في معدل التشوهات لرؤوس النطف ، أذ أظهرت النتائج وجود أختلاف معنوي ($p<0.05$) للجرعتين ١،٢ ملغم/مل مقارنة بالحيوانات غير المعاملة (السيطرة) ، أما جدول (٢) فيبين تأثير مستخلص نبات الشبت على النطف في مرحلة الخلايا الآمية Spermatocytes وذلك بعد الأسبوع الثالث من المعاملة . لقد أظهرت نتائج تحليل أختبارt–test وجود فرق معنوي لجميع الجرع ($p<0.05$) مقارنة بالفئران غير المعاملة ، أما جدول (٣) فيبين تأثير المستخلص لنبات الشبت على النطف في مرحلة سلف الخلايا النطفية Spermatogonia وذلك بعد الأسبوع الخامس من المعاملة ، لقد أتضح بأن الجرع الثلاث قد أحدثت فرقاً معنوياً عالياً في زيادة معدل التشوهات في رؤوس النطف للفئران المعاملة وللتراكيز الثلاثة ($p<0.01$) مقارنة بالفئران غير المعاملة.

يتبين لنا من النتائج أعلاه أن لهذا المستخلص تأثيراً سلبياً من خلال زيادة أستحثاث التشوهات في رؤوس النطف للفئران المعاملة بالتراكيز (٢،١،٥،٠) ملغم / مل وبفارق معنوي كبير عن مجموعة السيطرة للمراحل المختلفة من عملية تكوين النطف Spermatogenesis وخاصة في مرحلة تشكيل الخلايا المنوية Spermatids ومرحلة الخلايا الأمية Spermatocytes ومرحلة سلف الخلايا النطفية Spermatogonia .

أن نتائج الدراسة الحالية تظهر وجود علاقة طردية ما بين زيادة التركيز وزيادة معدل حصول التشوهات لرؤوس النطف ، ويمكن أن يفسر على أساس أن التراكيز العالية للمستخلص الميثانولي لنبات الشبت يعود الى أحتوائه على بعض المركبات الفعالة ذات التأثير السلبي على عملية تكوين النطف ، وأنها أثرت على الخلايا الجرثومية الذكرية للفآر في مرحلة ما بعد الأنقسام الأختزالي –Post meiotic ، وأن التشوهات الحاصلة للنطف نتيجة تعرضها لتلك المستخلصات تؤثر على المراحل المختلفة ،أذ كان هناك تأثيراً على سلف الخلايا النطفية Spermatogonia cells ومرحلة الخلايا النطفية الأولية Primary spermatocytes والثانوية Secondary spermatocytes (هذه الخلايا كانت أكثر حساسية)، أذ كانت الفترتان (٢١،٧) يوم بعد المعاملة هما الأكثر تأثيراً . يتضح ذلك بوجود تشوهات في قمة كلاب الرأس وأنتفاخ الرأس ، أذ أن التأثير لهاتين الصفتين يقع ضمن مرحلة الخلايا الأمية للنطف Spermatocytes والتي تمثل المرحلة الوسطية وبالتالي يمكن الأستنتاج أن المركبات الفعالة والتي خضعت لبعض الفعاليات الأيضية تبقى محتفظة بفعاليتها خلال هذه الفترة

او قد تعود الى الحالة الفسيولوجية للحيوان والتي أثرت على بعض الجينات Genes المسؤولة عن هذه التشوهات .

لقد أحدث التركيزان(١،٢) ملغم/مل أعلى نسبه من التشوهات في مرحلة Spermatocytes ومرحلة Spermatogonia ، مما يعني أن لهما تأثيراً كبيراً على الجينات التي أعطت هذه التشوهات.

ان بعض التشوهات تكون على أوجها عندما تكون الفترة خمسة أسابيع ، وبعضها يكون التأثير منذ الأسبوع الأول هنا تكون التشوهات حصلت بفعل التأثير بدرجة الأساس في مرحلة الخلايا المنوية. وأن نسبة أستحثاث التشوهات تزداد بزيادة الجرعة وكذلك بالنسبه لفترة المعاملة أذ كانت أعلى نسبة تشوهات بعد الأسبوع الخامس على مرحلة سلف الخلايا النطفية كما بين جدول (٣) ، ومن الواضح لنا

أن عملية تكوين النطف تخضع لسيطرة وراثية محكمة يتحكم بها عدد من الجينات ، وهذا يؤكد أن للتراكيز المستخدمة قدرة عالية على التأثير على الجينات المسؤولة عن الشكل المظهري لرؤوس النطف .

أن النتائج التي تم التوصل أليها في هذه الدراسة دعمت ما توصل اليه العديد من الباحثين حول التأثير السلبي لبعض المستخلصات النباتية لقد وجد بأن لهذه النباتات القدرة العالية في خفض مستوى كل من Triglyceride (TG) و Total Cholesterol (TC) و High Density Lipoprotein – (HDL) cholesterol و Low Density Lipoprotein –cholesterol(LDL) [١٤] ، وأن لبعض المواد مثل Fatty acid-binding protein (FABP9) تأثير يعتمد بشكل أساس على التركيز المستعمل وفترة التعرض وله تأثير على تطور الشكل غير الطبيعي للنطف وعلى عملية تكوين النطف [١٥] ، كما وجد أن للمركبات الدوائية مثل Diazepam (DZ) ، Chlordiazepoxide (CDZ) و Nitrazepam (NZ) تأثير سمي من خلال زيادة قابلية أستحثاث التشوهات في رؤوس النطف بعد الأسبوع السادس [١٦] ، وفي تحديد العلاقة بين التشوهات في رؤوس النطف والوراثة وجد أن زيادة معدل التشوهات في رؤوس النطف لذكور الفئران ضرب Balb\c يقترن مع زيادة حالات التغيرات الكروموسومية للهيئة الكروموسومية Karyotype عند تعريض الفئران الى Polyvinyl alcohol و Polyvinyl pyrrolidone [١٧] ، كما وجد أن مادة Delvocid وهي من المواد الحافضة للأغذية قد أدت الى أستحثاث تشوهات في رؤوس النطف مع زيادة في حصول التغيرات الكروموسومية وتشكيل النويات الصغيرة [١٨] ، وفي أحدث الدراسات وجد أن الأشعاعات الراديوية Radiofrequency Radiation المنبعثة من أنظمة الأتصالات الحديثة Global system for mobile (GSM) تؤدي الى زيادة معدل التشوهات في رؤوس النطف [١٩] ، لذا وجب عند أستخدام النباتات الطبية التأكد من التاثيرات الجانبية السلبية عند أعتمادها لعلاج بعض الحالات المرضية .

جدول (١) تأثير المستخلص الكحولي لنبات الشبت على النطف في مرحلة الخلايا المنوية Spermatids بعد الأسبوع الأول من المعاملة.

المجموعة	الجرعةmg\ml	عدد الحيوانات	عدد النطف المفحوصة	SE ± M	مستوى الأختلاف ما بين حيوانات السيطرة والمعاملة بأختبارt-test
السيطرة		٥	٢٥٠٠	٠,٠٥±٤,٨٦	
I	٠,٥	٥	٢٥٠٠	٠,٣٦±٥,٢٢	N.S
II	١	٥	٢٥٠٠	٠,٤٧±٦,١٤	p<0.05
III	٢	٥	٢٥٠٠	٠,٦٣±٦,٥٢	p<0.05

المتوسط =M ، الخطأالقياسي =SE.

جدول (2) تأثير المستخلص الكحولي لنبات الشبت على النطف في مرحلة الخلايا الآمية Spermatocytes بعد الأسبوع الثالث من المعاملة.

المجموعة	الجرعةmg\ml	عدد الحيوانات	عدد النطف المفحوصة	SE ± M	مستوى الأختلاف ما بين حيوانات السيطرة والمعاملة بأختبارt-test
السيطرة		٥	٢٥٠٠	٠,١٥±٤,٥٥	
I	٠,٥	٥	٢٥٠٠	٠,٥٦±٦,٢٢	p<0.05
II	١	٥	٢٥٠٠	٠,٥٧±٦,٥٢	p<0.05
III	٢	٥	٢٥٠٠	٠,٧٦±٦,٧٣	p<0.05

المتوسط =M ، الخطأالقياسي =SE.

جدول (3) تأثير المستخلص الكحولي لنبات الشبت على النطف في مرحلة سلف الخلايا النطفية Spermatogonia بعد الأسبوع الخامس من المعاملة.

المجموعة	الجرعةmg\ml	عدد الحيوانات	عدد النطف المفحوصة	SE ± M	مستوى الأختلاف ما بين حيوانات السيطرة والمعاملة بأختبارt-test
السيطرة		٥	٢٥٠٠	٠,٠٥±٤,٣٦	
I	٠,٥	٥	٢٥٠٠	٠,٤٢±٦,٥٥	p<0.01
II	١	٥	٢٥٠٠	٠,٥٦±٧,١٣	p<0.01

III	٢	٥	٢٥٠٠	٠,٦٤±٧,٤٢	p<0.01

المتوسط =M ،الخطأ القياسي =SE.

المصادر

[1]. Gurinder, J.K. and Daljit, S.A.(2010) Bioactive potential of Anethum graveolens, Foeniculum vulgare and Trachyspermum ammi belonging to the family Umbelliferae - Current status. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 4(2): 87- 94

[2]. Linda, C.; Hemphill, L.; Lynne, C.; David, R.; Michael, F.; Craig, S.; Steven, R.; Jennifer, B.; Peter, M.; Peter, G.; Virginia, A. and Karen, E.(2006) Health benefits of herbs and spices: The past, the present, the future. M. J. A. 185: 1- 24.

[3].Yousef, M.I.(2005) Reproductive performance, blood testosterone, lipid peroxidation and seminal plasma biochemistry of rabbits as affected by feeding *Acacia saligna* under subtropical conditions. Food Chem Toxicol; 43:333–339.

[4].Abed, K.F. (2007) Antimicrobial activity of essential oils of some medicinal plants from Saudi Arabia. Saudi J. Biol. Sci. 14:53-60.

[5].Vasu, V.T.; Modi, H.; Thaikoottathil, .JV. and Gupta, S. (2005) Hypolipidaemic and antioxidant effect of *Enicostemma littorale* Blume aqueous extract in cholesterol fed rats. J. Ethnopharmacol; 101:277–82.

[6].Wahba, N.M.; Ahmed, A.S. and Ebraheim, Z.Z. (2010) Antimicrobial effects of pepper, parsley, and dill and their roles in the microbiological quality enhancement of traditional Egyptian Kareish cheese. Foodborne Pathog. Dis.7(4):411-418.

[7] .Justesen, U. and Knuthsen, P. (2001) Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. Food Chem. 73:245–250.

[8].Bruce,W.;Furrek,R. and Wyrobek,A.(1974)Abnormalities in the shape of murine sperm after acute testicular X-irradiation. Mutation Res.30:243-277.

[9]. Suter, K.(1975)Chemical induction of presumed dominant- lethal mutations in post copulation germ cells of mice relative sensitivity between pre and pst copulation germ cells to isoprogyl methane sulfonate.Mut.Res.75;355-364

[10].Pecevski,J.;Maric,N.;Sau kovic, N.; Radivojevic,D. and Green,S.(1978)An analysis of meiotic chromosomes of in bred male mice and their F1 sone after long-term treatment of sires with triethylene melamine . Mut.Res.54: 55-60

[11]. Powerantseva,M. and Ramaya,L . (1980)Efficiency of the abnormal sperm head test in detecting mutagenicity of different factors in mice .Mut.Res.74:233-237

[12].Yoshida , M.;Sasak,M. and Kauachi,T.(1980)Cytogenetic effects of quercetin on culture mammlian cells .Proc.Jap.Acad.Sci.56:443-447

[13]. Wyrobek,A . and Bruce,W .(1978)The induction of sperm shape abnormalities in mice and human "A Mellander and F .Serres (eds)" Chemical Mutagens .New York. Pp.5

[14].Suhad,A. Ahmed;Abbas,A.Mohammad; Sallal,A.Abduah and Ali,H. (2012) Dill Effect on Lipid Profile of Mice. Eng.and Technology J.Vol.30 (12):12-23
[15].Selvaraj,V.; Asano,A.;Page,J.;Kothapalli,K.;Foster,J.;Brenna,J.;Weiss,R. and Travis,A.(2010)Mice lacking FABP9\PERF15 develop sperm head abnormalities but are fertile.Dev.Biol.15;348(2):177-189.

[16].Kar, R.N. and Das,R.K.(1983)Induction of sperm head abnormalities in mice by three transquilizers. Cytobios.36(141):45-51
[17].Kishikawa,H. ;Tateno,H. and Yanagimachi,R.(1999)Chromosome analysis of Balb\C mouse spermatozoa with normal and abnormal head morphology. Biology of Reproduction .Vol.61(3):809-812
[18].Pinar Goc,R. and Fisun,K. (2010) Chromosome aberrations , micronucleus and sperm head abnormalities in mice treated with Delvocid a food preservative. Food and Chemicat. Toxicology .Vol.48(3):789-797.
[20]. Otitoloju,A.;Obe,A.;Adewale,O.;Otubanjo,O.and Osunklu,V. (2009) Preliminary study on the induction of sperm head abnormalities in mice,Mus musculus, Exposed to Radiofrequency Radiations from Global System for Mobile Communication base stations.Bull.Environ.Contam.Toxicol. Published online:9 October 2009.