

تأثير عصير أوراق الجرجير (*Eruca sativa*) في حث تشوهات رؤوس النطف لذكور الفئران البيض المعاملة بعقار Cyclophosphamide

الهام عبد الهادي خلف
معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية للدراسات العليا / جامعة بغداد / العراق
* العنوان الحالي : قسم علوم الأغذية / كلية الزراعة / جامعة الموصل / العراق .

الخلاصة

درس تأثير عصير أوراق الجرجير ٠.١ و ٠.٢٥ و ٠.٥ مللتر / حيوان على حث تشوهات رؤوس النطف في ذكور الفئران البيض عند تجريعه عن طريق الفم ، وكذلك درس تأثير المطفر Cyclophosphamide (Cp) على تشوه رؤوس النطف . إضافة الى دراسة تأثير التداخلات بين المطفر والعصير على حث التشوهات . أشار الى ان عصير الجرجير لا يحث التشوهات في حين حثها العقار Cp بشكل كبير وصلت الى الحالة الطبيعية وبقيت أعداد التشوهات مرتفعة حتى بعد ايام من التجريب . اما التداخلات مثل استعمال العصير قبل المطفر (J/Cp) (Cp+J) فقد ادت الى خفض التشوهات الى المستوى الطبيعي او بزيادة قليلة ولكن بدون فروق إحصائية معنوية على (P<0.01) ، اما معاملة الحيوانات بالعصير بعد (Cp/J) فقد ساعد في التخلص من التشوهات بشكل معتمد على الوقت ولكنها لم تصل الى قيم مقاربة للسيطرة السالبة وبدون فروق معنوية (P<0.01) ايام . وقد اختلفت انواع التشوهات الفاقدة للكلاب بشكل كبير والتي بقيت أكثر انواع التشوهات عددا عند معاملة الحيوانات بالمطفر والعصير سوية ، اما معاملة الحيوانات بالعصير قبل المطفر (J/Cp) فقد ادت الى انخفاض جميع انواع التشوهات بفروق معنوية مقارنة بالسيطرة الموجبة (P<0.01) واختفاء بعضها مثل النطف ذات الرأس العصوي . هرت معاملة الحيوانات بالعصير بعد المطفر (Cp/J) الى بقاء بعض التشوهات حتى بعد مرور ايام .

المقدمة

التلوث البيئي يمكن ان ينسحب الى الأجيال القادمة غير الموجودة في حالة التلوث وذلك بانتقال التشوهات والتأثيرات الوراثية الى الأجيال الناتجة ، ويمكن ان تنقرض بعض الانواع من بيئة ما عند التعرض لتراكيز غير مميّنة (Murty ، ١٩٨٨) . ويستعمل فحص تشوه رؤوس النطف لملاحظة التغييرات الحاصلة في الشكل الخارجي او المظهري الذي يعطي دليلا على التأثيرات السمية الوراثية التي تحدثها العوامل المطفرة والمسرطنة في المراحل المختلفة من عملية تكوين النطف Spermatogenesis (Wyrobek ، ١٩٨١) . وقد وجد ان معظم المواد التي تسبب التشوه في رؤوس النطف هي مواد مطفرة (Topham ، ١٩٨٠) وتكون زيادة التشوهات عادة مرتبطة باختزال الخصوبة وحصول العقم والامراض في الانسان والحيوان على حد سواء ، فالملوثات يمكن ان تحدث تغييرات في الخلايا الجنسية والجنسية (Furuhejm و اخرون ، ١٩٦٢ و Topham ، ١٩٨٠ ، ب و Barton ، ٢٠٠٣) . والتغييرات في النطف يمكن ان تكون على شكل قلة حركة النطف Asthenospermia والاعداد Hypospermia او زيادة في أعداد النطف غير الطبيعية (Teratospermia) (Wyrobek ، ١٩٨١) . وتعد ظاهرة وجود الأشكال غير الطبيعية هي الأكثر علاقة بالمسمات الخلوية والوراثية وتكون المقياس الأفضل لتحديد تأثيرات المسمات من طريقة حساب النطف وتحديد حركتها (Lanchranjan) .

ان التشوهات التي تحصل لرؤوس النطف توضح ان هناك ارتباطا بين التغييرات (التشوهات) والاضرار الوراثية اذ ان التشوهات يسيطر عليها جينيات خاصة بالصفات الجسمية واخرى مرتبطة بكموسوم الجنس (Bruce و Wyrobek ، ١٩٧٥) وهذه التشوهات تنقل الى الافراد الناتجة (Topham Bruce Hugenholtz) .

مستل من اطروحة ماجستير للباحثة الاولى
تاريخ تسلم البحث / / وقبوله / /

ويعد عقار Cyclophosphamide (Cp) في النطف التي تنتقل الى الجيل وغيره من الأجيال (Sotomayor) . من جهة ثانية تحوي الأغذية أليات فالبعض تكون مضادات تطفير مباشرة Desmutagens

واخرى تقلل من الضرر بعد حدوثه Bioantimutagens ، فالأولى تعمل خارج الخلايا والثانية تعمل داخل الخلايا (Kada وآخرون ، ١٩٨٦ ، Kohlmeier وآخرون ، ١٩٩٥) . وتعد نباتات العائلة الصليبية Cruciferae من النباتات المهمة الحاوية على العديد من المواد المضادة للتطفر أو التسرطن . وهدفت الدراسة الحالية الى دراسة تأثير عصير الجرجير (احد افراد العائلة الصليبية) على حث التشوهات ثران البيض وتأثيراته المضادة للتشوهات التي يحثها العقار Cp .

مواد البحث وطرقه

حيوانات التجربة : استخدمت ذكور الفئران السويسرية البيض *Mus musculus* Balb/C بمعدل عمر بين - ± غرام جهزت من قبل كلية العلوم / الحيوانات في أقفاص بلاستيكية بهيئة مجاميع وحسب حاجة التجربة في غرفة تراوح درجة حرارتها م وأعطيت العليقة الكاملة الخاصة بها والمحضرة محليا .

نباتات الجرجير : استعملت اوراق الجرجير المشتراة من أسواق بغداد وحضر منها العصير باعتماد طريقة (Lai وآخرون ، ١٩٨٠) ، اذ اخذت ١٠٠ غرام من الاوراق النظيفة المغسولة بماء الحنفية وفرمت يدويا ، ثم خلطت بالخلط الكهربائي (Blender من شركة China / Moulient) لمدة ٣ دقائق على السرعة المتوسطة ، ورشح الناتج خلال طبقات من الشاش الطبي ثم روق الناتج بالطرد المركزي (بسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة) لمدة ٢٠ دقيقة وعقم بالترشيح (0.22 µm Millipore filter) ، واستعمل طازجا لتجريب الحيوانات .

عقار Cyclophosphamide (Cp) : Germany / Asta حضر محلول خزين منه / ملتر وحضرت منه التراكيز المطلوبة لتجريب الحيوانات (Kumar Agrawal) .

تم تجريب الحيوانات بالنماذج فمويا بواسطة محقنة خاصة محورة لهذا الغرض .
محلول صبغة الايوسين : حضر باذابة ١ غم من صبغة الايوسين الصفراء (Eosin yellow stain / BDH ، England) في ١٠٠ ملتر من الماء المقطر واستعملت في تحضير وصيغ نطف الفئران (Bruce Wyrobek) .

محلول الملح الفسلجي Physiological saline : غرام من كلوريد الصوديوم في (McCance Harrigan) استخدم في تحضير النطف .

اختبار جرع العصير ونمط التجريب : استعملت ثلاث جرعات من عصير الجرجير ٠.١ و ٠.٢٥ و ٠.٥ ملتر / حيوان التأثيرات الوراثية وتشوهات رؤوس النطف ، وتم التجريب عن طريق الفم باستخدام محقنة خاصة حورت لهذا الغرض (والكميات المستعملة اعتمدت على تجارب اولية) .

وبمعدل ٣ فئران لكل جرعة من عصير الجرجير ، تم تجريعها يوميا ولمدة ٦ ايام متتالية ، وخصصت فئران اخرى للسيطرة السالبة حيث لم تعامل بأي مادة ، فيما تم تجريب ٣ فئران Cp (نر) بتركيز نهائي ٥٠ ملغم / كغم من وزن جسم الحيوان (Kumar و Agrawal) (وشرحت في اليوم التالي وعدت سيطرة موجبة) .

دراسة التداخل بين العصير النباتي والمطر :
المعاملة بالعصير قبل المطر (J / Cp) : فارة لهذه التجربة وقسمت الى مجاميع ، تم تجريب / حيوان من العصير باعتباره جرعة ملائمة (اعتمادا على تجارب اولية) .

مجاميع :
المجموعة الاولى : فئران تم تجريعها بالعصير النباتي لمدة يومين ثم تم تجريعها بالمطر (ساعات من إعطاء الجرعة الثانية من العصير النباتي ثم تم تشريح / الحيوانات في اليوم الثالث) (Kumar Agrawal) .

المجموعة الثانية : فئران تم تجريعها بالعصير النباتي لمدة ايام ، ثم جرعت بالمطر بعد مرور ساعات من اخر جرعة للعصير النباتي ، وتم تشريحها في اليوم الخامس

المجموعة الثالثة : فئران تم تجريعها بالعصير النباتي لمدة ايام ، ثم جرعت بالمطر بعد مرور جرعة للعصير النباتي ، وتم تشريحها في اليوم السابع .

معاملة الحيوانات بالعصير والمطر سوية (J+Cp) :
العصير النباتي وحضن لمدة ٣ ساعات بدرجة حرارة ٣٧ م (الربيعي ، ٢٠٠٠) بحيث يكون تركيز العقار وجرعة العصير مكافئة للمعاملات الاخرى ، ثم تم تجريب الحيوانات بالنماذج الناتجة لمدة ٦ ايام . وفي الوقت نفسه تم تجريب ٣ فئران بالمطر للسيطرة الموجبة ٥٠ ملغم / كغم وزن الحيوان (Agrawal و

Kumar (، اما السيطرة السالبة فقد خصص لها مادة تم تشريح الحيوان

معاملة الحيوانات بالعصير بعد استعمال المطفر (Cp/J) : فأراً، تم تجريع منها المجموعة الاولى : ضمت 3 فئران تم تجريعها بالعصير (/ حيوان) وقسمت الى ثلاث مجاميع : من تجريعها بالمطفر واستمر التجريع بالعصير (0.25 / حيوان) لمدة يومين متتاليين وشرحت الحيوانات في اليوم الثالث . المجموعة الثانية : فئران تم تجريعها بالعصير بعد مرور ساعات من تجريعها بالمطفر واستمر التجريع بالعصير لمدة ايام متتالية وشرحت الحيوانات في اليوم الخامس . المجموعة الثالثة : فئران تم تجريعها بالعصير (/ حيوان) ايام متتالية وشرحت الحيوانات في اليوم السابع . فئران للسيطرة السالبة ، و فئران للسيطرة الموجبة التي جرعت بالمطفر وشرحت في اليوم التالي .

تأثير : فئران لتجريعها بالمطفر Cp (/ كغم وزن الحيوان ولمرة) وتم تشريح منها بعد مرور يومين ، و ايام و لبقية بعد ايام . بعد تشريح الحيوانات استخرجت النطف من البربخ Epididymis باستخدام طريقة (Wyrobek Bruce) :

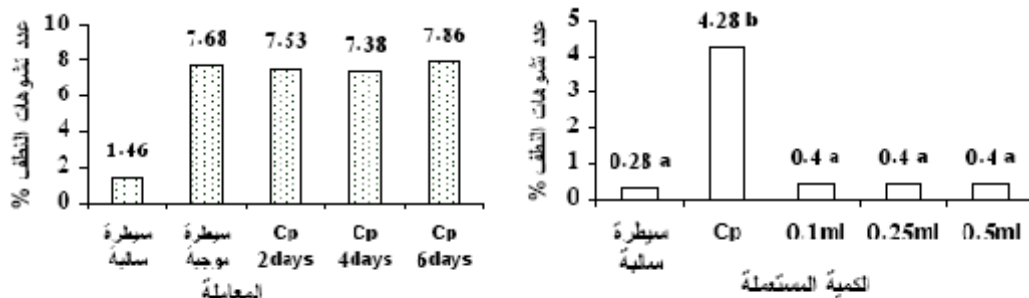
وضعت قطع البربخ في طبق بتري (Petri dish) حاوي على 5 ملتر من محلول الملح الفسلاجي وباستخدام شفرة حادة وملقط دقيق تم تقطيع البربخ الى قطع صغيرة جدا ووضع المحلول الحاوي على القطع في انابيب نظيفة لتستعمل لتحضير شرائح النطف .

فرشت قطرة من المستحضر الحاوي على النطف على شرائح زجاجية نظيفة وتركت لتجف على صفحة ساخنة (50° م) . صبغت الشرائح بصبغة الايوسين لمدة 2 - 3 دقائق ثم ازيلت الصبغة الزائدة

فحصت الشرائح بالمجهر الضوئي وباستعمال العدسة الشينية 40X ، وتم حساب النسبة المئوية لنشوهات النطف وذلك بفحص 1000 نطفة وقورنت أشكال تلك النطف مع الشكل الطبيعي لرأس نطفة الفأر (Balb/C) .

التحليل الاحصائي : حللت البيانات باستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD) واستعمل لذلك النموذج GLM ضمن البرنامج الاحصائي الجاهز (SAS ، 1996) واختبرت الفروق المعنوية بين (Duncan) .

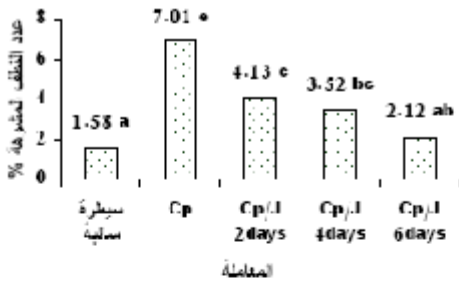
تعد الخلايا المتكاثرة والخلايا الجنسية اكثر حساسية وتأثرا بالملوثات مثل المواد المطفرة والمسرطنة من الخلايا الهاجرة والمتخصصة . والملوثات يمكن ان تؤثر على عملية التكاثر وربما فشلها وبالتالي اختفاء الاحياء من البيئات الملوثة وان كانت بتركيز لا تؤثر على تصرف الاحياء او عملت ايضاً (Murty ، 1988) . يوضح الشكل (1) التغييرات غير الطبيعية ونشوهات رؤوس النطف عند تجريع الحيوانات بالمطفر كسيطرة مقارنة بتجريع الحيوانات بثلاث جرعات من عصير الجرجير .



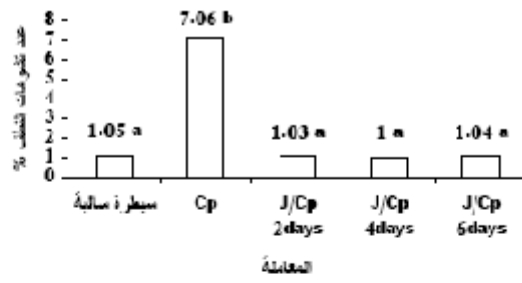
الشكل (2) : تأثير المطفر Cp في اعداد نشوهات النطف

الشكل (1) : تأثير كميات مختلفة من عصير الجرجير على عدد نشوهات النطف

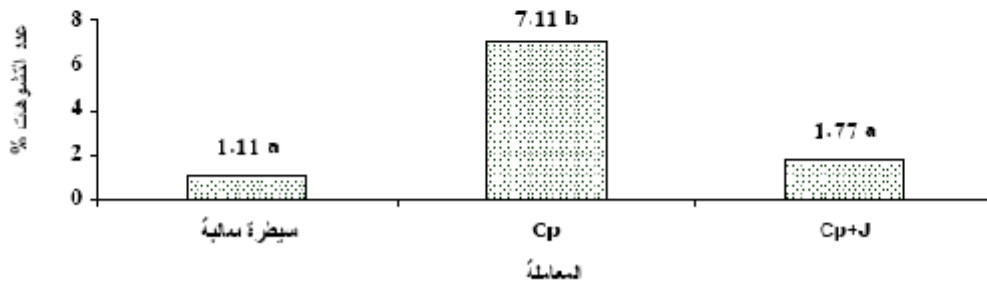
ويلاحظ ان C_p الى ظهور تشوهات وصلت الى % .
 ($P<0.01$) في حين ادى تجريع عصير الجرجير الى زيادة طفيفة بعدد التشوهات ولكنها
 أهمية من قيم السيطرة الموجبة () . اما الشكل () فيوضح تأثير
 تأثيره حتى بعد مرور أيام من التجريع . حظ ان عمليات الإصلاح الذاتي لم تقلح
 التشوهات الى الحالة الطبيعية وبقيت الفروق معنوية على مستوى احتمال ($P<0.01$) .
 اما معاملات التداخل المختلفة التي اجريت واستعمل فيها الجرجير لتجريع الحيوانات لمدة 6 ايام قبل
 اعطاء المطفر ، فقد حافظ فيها العصير على مستوى التشوهات بشكل مقارب للسيطرة السالبة كما موضح
 () وعند اعطاء المطفر اولا ثم اتباعه باستعمال الجرجير فهو كما موضح في الشكل () .
 فيلاحظ ان إعطاء العصير لم يستطع إصلاح التشوهات بشكل سريع وانما اختفت التشوهات بشكل
 ايام اذ أصبحت الفروق معنوية على مستوى احتمال ($P<0.01$) مقارنة بالسيطرة
 الموجبة وغير معنوية مقارنة بالسيطرة السالبة وان كانت بقيم أعلى قليلا منها .
 ويوضح الشكل () معاملة الحيوانات بالمطفر مع العصير ($J+Cp$) .
 ويظهر ان المعاملة ادت الى خفض التشوهات الى قيم اختلفت معنويا عن السيطرة الموجبة ولم تختلف
 معنويا عن السيطرة السالبة ($P<0.01$) قليلا بالنسب لها .



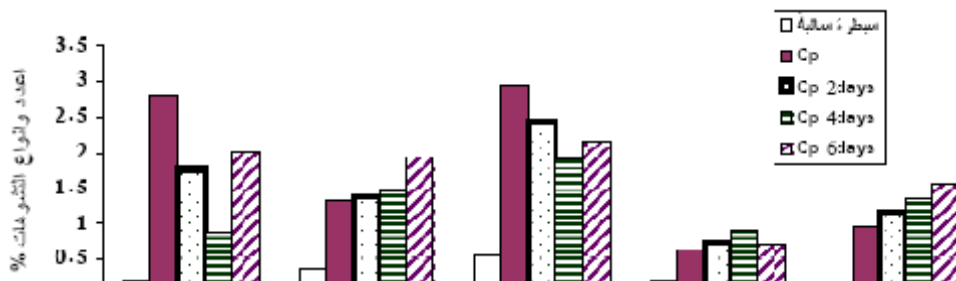
الشكل (4) : تأثير معاملة الحيوانات بالجرجير بعد معاملة بالمطفر (Cp/J) في اعداد تشوهات التلطف



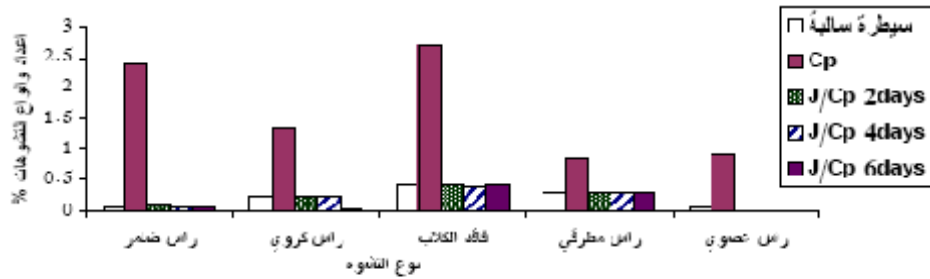
الشكل (3) : تأثير معاملة الحيوانات بالجرجير قبل المعاملة بالمطفر (J/Cp) في اعداد تشوهات التلطف



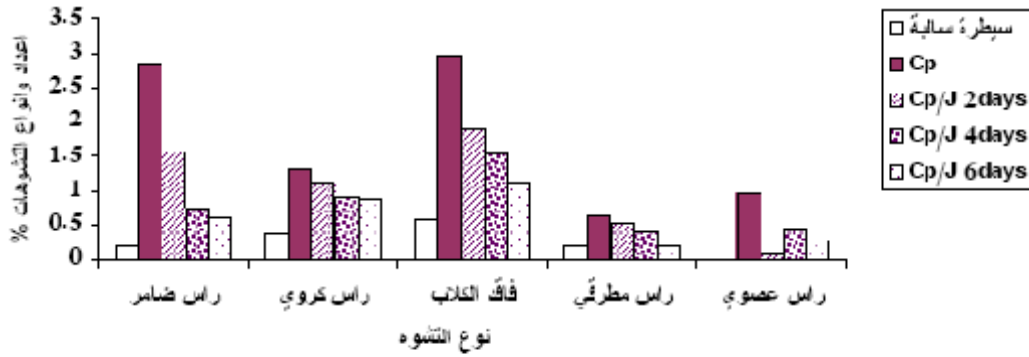
ويوضح الشكل (5) تأثير معاملة الحيوانات بالجرجير قبل المعاملة بالمطفر (Cp+J) في اعداد تشوهات التلطف
 ويلاحظ انه على مدى أيام كانت كل انواع التشوهات (الرأس الضامر ، والرأس المطرفي ، والتلطف
 ت الرأس الكروي والأخرى ذات الرأس العصوي) هي ذات قيم مرتفعة وتختلف
 معنويا عن السيطرة السالبة على مستوى احتمال ($P<0.01$) ، واغلب انواع التشوهات لم تختلف معنويا عن
 قيم السيطرة . الشكل (7) فيوضح تأثير اعطاء المطفر مع العصير ($J+Cp$) على انواع واعداد
 تشوهات رؤوس النطف . يوضح الشكل ان بعض انواع التشوهات قد انخفضت اعدادها ربما الى قيم اقل من
 السيطرة السالبة كما في الرأس المطرفي . اما بقية أنواع التشوهات فبقيت مرتفعة وهي التي شكلت الارتفاع
 البسيط المسجل في الشكل () .



يوضح الشكلان () تأثير تجريع الحيوانات بعصير الجرجير قبل اعطائها المطفر (J/Cp) واعطاء الحيوانات الجرجير بعد تجريعها بالمطفر (Cp/J) على انواع وأعداد التشوهات على التوالي .



الشكل (٨) : تأثير اعطاء الجرجير قبل المعاملة بالمطفر في انواع تشوهات النطف واعدادها



الشكل (٩) : تأثير اعطاء الرجزر بعد معاملة الحيوانات بالمطفر (Cp/J) في انواع تشوه النطف واعدادها

لاحظ ان تجريع الحيوانات بالعصير اولاً قد هيا الفرصة لإعاقه ظهور انواع مختلفة من التوشوات فهي اما قريبة من السيطرة السالبة وبدون فروق معنوية او اخفائها كما في حالة الرأس العصوي وبطبيعة الحال بقيت التوشوات ذات فروق معنوية على مستوى احتمال ($P < 0.01$) مقارنة بالسيطرة الموجبة . اما المعاملة بالعصير بعد المطفر وهي وان ادت الى التقليل من حدة التوشوات ولكنها لم تصل بها الى مستويات الحالة الطبيعية وبقي البعض منها ذات فروق معنوية على مستوى احتمال ($P < 0.01$) مقارنة الطبيعية (السيطرة السالبة) .

الكيمائية و الفيزيائية ، وهناك عدة آليات لإصلاح DNA التي يمكن ان تكون محدودة ويمكن التغلب عليها باستمرار التعرض للمواد الملوثة وبالتالي تؤدي الى الاضرار بالانسان او الحيوانات التي تتعرض لها (Legator و Rinlus ، ١٩٨١) ولذلك كانت مجاميع الخطر (Risk groups) الذين يتعرضون للتلوث أثناء عملهم عرضة لاختزال الخصوبة وحصول العقم ، كما ان زيادة تشوه رؤوس النطف تؤدي الى الإجهاد في حالة حصول الحمل (Prival و اخرون ، ١٩٧٧) .

وبصورة عامة تمتاز المركبات الموجودة في العائلة الصليبية والتي تعمل كمضادات للتطهير او مضادات للسرطنة مثل Isothiocyanates ومركبات الاندول مثل Indole -3 - carbinol وغيرها بانها تعمل كمواد غالقة اذ تمنع وصول المسرطنات الى الخلايا المستهدفة عن طريق منع التنشيط الانزيمي للمواد الضارة وذلك بتثبيطها للطور الانزيمي الاول وخاصة Cytochrome P450 وفي الوقت نفسه تزيد من فعالية انزيمات الطور الثاني خاصة انزيم Glutathion - S - transferase كما انها تثبط نمو الخلايا السرطانية وذلك بوقفها للدورة الخلوية ، كما انها تعمل على وقف غزو الخلايا السرطانية للبيئة للأعضاء السليمة أي تثبيط ظاهرة الانبثاث Metastasis ، فضلا عن عملها على إزالة الخلايا الخبيثة بتحفيزها الاستماتة Apoptosis ، وتثبيط مرحلة البدء والتعزيز (Promotion) لعملية التسرطن ، فضلا عن عملها كمواد كاسحة للجذور وتقوم بإزالة الجذور الحرة للمواد المسرطنة او المطفرة عن طريق فعاليتها المضادة للأكسدة . ويمكن ان تعمل بشكل غير مباشر وذلك بتغيير ايض الهرمونات وخاصة هرمون الاستروجين (Keek و Finley ، ٢٠٠٤) . ويمتاز نبات الجرجير باحتوائه على الكلوروفيل الذي له دور كبير في تثبيط بعض المطفرات مثل المركب Benzo [a] pyrene (Lai و اخرون ، ١٩٨٠) ، كما ان أليافه تعمل على عرقلة امتصاص المطفرات في الأمعاء بالارتباط بشكل تساهمي وتكوين المعقدات وبذلك تمنع المطفر من إحداث الضرر في المواد الوراثية (Keek و Finley ، ٢٠٠٤) . وعصير الجرجير يمثل خليطا من المواد التي عمل بعضها بمثابة مثبطات تطهير مباشرة واخرى عملت كمضادات تطهير حيوية تعمل داخل الخلايا وتحد من تأثير المواد المكسرة للكروموسومات ومن هذه المركبات Indole -3 - carbinol و Allyl-isothiocyanate وهما من المركبات الفعالة لنبات الجرجير اذ اظهرا فعالية تثبيطية عالية ضد المطفر Benzo [a] pyrene (Bap) و Cp بخفضها نسب التوشوات الكروموسومية والنوى الصغيرة لخلايا نقي عظام الفئران البيض عند تجريعها بالمركبات قبل المطفر او ممزوجة مع المطفرات (Shukla)

وقد وجد ان بعض المواد والفيتامينات ، E , C , A ة او متداخلة تقلل من حدوث تشوهات رؤوس النطف المستحثة في الفئران البيض باستعمال العقاقير () . اضافة الى ان بعض

النباتات تحوي على مثبطات مباشرة مثل المستخلصات المائية والكحولية لنبات حبة البركة (*Nigella sativa*) والنومي بصرة (*Citrus auratifolia*) والهيل (*Elettaria cardamomum*) وهر كفاءة عالية ضد التطفير تجاه العقار Methorexat Cp وقللت من تشوهات رؤوس النطف عند الفئران البيض بالمستخلصات قبل المطفر او العقار (حسن) كما هو الحال مع نبات الجرجير الموضحة في الشكلين () () .

EFFECT OF ROCKET (*ERUCA SATIVA*) ON INDUCTION OF SPERM ABNORMALITIES IN WHITE MICE

Ilham A. Khalaf

Zahra M. Al-Khafaji*

Institute of Genetic Engineering & Biotechnology for Postgraduate Studies / University of Baghdad / IRAQ .

* Present address : Dept. of Food Science / University of Mosul / IRAQ.

ABSTRACT

The effect of rocket (*Eruca sativa*) leave juice on induction of sperm - head abnormalities was studied using the white mice males , the effect of cyclophosphamide (Cp) on such abnormalities was studied as well . In addition to studying the effect of different combinations between the plant juice and the mutagen (Cp) . The results indicated that rocket juice 0.1 , 0.25 , 0.5ml / animal administrated orally had no effect on induction of sperm - head abnormalities , while Cp induced abnormalities in order of 5 times the background level , which remain unrepaired even after 6 days . The combinations such as using the juice before the mutagen (J/Cp) or using the juice with the mutagen (J+Cp) were able to lower the abnormalities almost to the baseline level (i.e., the negative control) or slightly higher but , without statistical significance ($P<0.01$) . Treatment of animals with juice after mutagen (Cp/J) was able to restore the normality in manner depending on time and reaching the normal starting baseline after 6 days. Types of abnormalities were different and Cp induced sperms without hooks at high level , which also represented the highest abnormalities when animals treated with mutagen and juice simultaneously . The J/Cp treatment was able to reduce all types of abnormalities compared to the positive control and was statically significant ($P<0.01$) and some abnormalities were disappeared such as the rod – head shaped sperm . (Cp/J) treatment resulted in persistence of some abnormalities even after 6 days .

حسن ، مفيد قائد () . استخدام بعض المستخلصات النباتية لتثبيط التأثير العقاقير
دكتوراه ، كلية العلوم / قسم علوم الحياة ، جامعة بابل –
الربيعي ، فرحة عبد () . دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفير لبعض النباتات الطبية العراقية
في الفئران البيض . رسالة ماجستير ، كلية التربية ابن الهيثم / قسم علوم الحياة /

الكناني ، ابتسام بداي (٢٠٠٥) . دور فيتامين A , C , E في تعديل التأثيرات المناعية والوراثية لعقار
الايبتيسيد في الفأر الأبيض *Mus musculus* . ماجستير ، كلية التربية ابن الهيثم / قسم علوم
الحياة ، جامعة بغداد –

Agrawal, R. and S. Kumar (1998) . Preventive of cyclophosphamide induced micronucleus formation in mouse bone marrow by indole -3- carbinol . Food Chem. Toxicol. 36 : 9758 – 977 .

Barton, T. and A. Wyrobek; F. Hill; B. Robaire and B . Hales (2003). Numerical chromosomal abnormalities in rat epididymal spermatozoa following chronic cyclophosphamide exposure . Biol . Rep. 69 : 1150 – 1157 .

- Duncan , D. (1955) . Multiple range and multiple F- test . *Biometric* 11 : 1- 42 .
- Felkner , I . (Ed.) (1981) . *Microbial Testers : Probing Carcinogenesis*. Marcel Dekker Inc. : New York , Basel .
- Furuhjelm , M. ; B. Johnson and C. Lagergen (1962) .The quality of human semen in spontaneous abortion . *Int . J . Fert .* 7 : 17 – 21 .
- Grobstein, C. (1982). *Diet, Nutrition, and Cancer*. Nutrition Academy Press : Washington .
- Harrigan , W. and M . McCance (1976) . *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology* . Academic Press : London , New York .
- Hugenholtz , A . and W . Bruce (1979) . Radiation – induced heritable sperm abnormalities in mice . *Environ . Mutag .* 1 : 127 – 128 .
- Kada , T. ; T. Inoue ; K. Morita and M. Namiki (1986). *Dietary Desmutagens . In " Genetic Toxicology of the Diet " I*. Knudsen (Ed.) , Alan , R. Liss . Inc. : New York .
- Keek , A . and W . Finley (2004) . Cruciferous vegetables : cancer protective mechanism of glucosinolate hydrolysis products and selenium . *Integrative Cancer Ther.* 3: 5–12.
- Kassie , F . ; B . Pool-Zobel ; W. Parzefall and S . Knasmuller (1999) . Genotoxic effects of benzyl isothiocynatate , a natural chemoprotective agent . *Mutagenesis* 14 : 595 – 604 .
- Kohlmeier, L . ; N. Simonsen and K. Mottus (1995) . *Environmental Health Issues . Environ. Health Perspect .* 103 : 1 – 11 .
- Lai, C.; M. Butler and T. Matney (1980). Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content . *Mut. Res.* 77 : 245 – 250 .
- Lancrajan , I . ; H . Popescu ; O . Gavanescu ; I . Klepsch and M . Serbanescu (1975) . Reproductive ability of workmen occupationally exposed to lead. *Arch. Environ. Health* 30 : 396 – 401 .
- Legator , M . and S . Rinkus (1981) . Mutagenicity Testing problems in Application . *In " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens "*. H. Stich and R. San (Eds.) . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .
- Murty , A. (1988) . *Toxicity of Pesticides to Fish . vol II* . CRC Press Inc. Boca Roton , Florida .
- Prival , M . ; E . McCoy ; R . Gutter and H . Rosenkranz (1977) . Tris (2,3-dibromopropyl) phosphate : mutagenicity of a widely used flame retardant . *Science* 195 : 76 – 78 .
- Shukla , Y . ; B . Svivastara , ; A . Arora and L . Chauhan (2004) . Protective effects of indole – 3 – carbinol on Cyclophosphamide induced clastogenecity in mouse bone marrow cells . *Human Experimental Toxicol .* 23 : 245 – 250 .
- Sotomayor , B. (1979) . Spermatid head abnormalities in translocations heterozygote from EMS-or CAP – treated sires . *Environ . Mutag .* 1 : 129 .
- Stich , H and R. San (Eds.) (1981) . *Short – Term Tests for Chemical Carcinogens* . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .
- Topham , J . (1979) . A sensitive hybrid for the detection of sperm head abnormalities and its potential for the detection of transmissible mutations in mice. *Environ. Mutag.* 1:126 -128 .
- Topham , J . (1980a) . The detection of carcinogen induced sperm head abnormalities in mice . *Mut . Res .* 69 : 149 – 155 .
- Topham , J . (1980b) . Do induced sperm head abnormalities in mice specifically identify mammalian mutagens rather than carcinogens . *Mut . Res .* 74 : 379 -387 .
- Wyrobek , A . (1981) . Methods for Human and Murine Sperm Assays. *In " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens "*. H. Stich and R. San (Eds.) . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .
- Wyrobek , A . and W . Bruce (1975) . Chemical induction of sperm abnormalities in mice. *Proc . Natl . Acad . Sci .* 72 : 4425 – 4429 .