



**Ain Shams University
College for Women
Arts, Science and Education
Zoology Department**

**POSSIBLE PROTECTIVE EFFECT OF GRAPE SEED
OIL ON METHOMYL AND IMIDACLOPRID
TOXICITY ON MALE RATS**

THESIS

Submitted for the degree of Doctor of Philosophy (Ph.D.) in zoology

By

**Doaa Moeen Yussef Shafei
(B.Sc. M.Sc.)**

Supervisors

Prof. Dr. Afnan M. Amer

Prof. Dr. Nadia H. Ismail

**Professor of Physiology, Zoology
Department, Women's college for
Arts, Science and Education, Ain
Shams University.**

**Professor of Embryology, Zoology
Department, Women's college for
Arts, Science and Education, Ain
Shams University.**

Dr. Elham H. A. Ali

**Ass. Prof of Physiology, Zoology Department, Women's college for Arts,
Science and Education, Ain Shams University.**

2015



**College for Women
Arts, Science and Education
Zoology Department**

APPROVAL SHEET

Name: Doaa Moeen Yussef Shafei

Title: Possible Protective Effect of Grape Seed Oil on Methomyl and Imidacloprid Toxicity on Male Rats

Scientific degree: Ph.D.

Supervisors

Prof. Dr. Afnan M. Amer

Professor of Physiology, Zoology Department, Women's college for Arts, Science and Education, Ain Shams University.

Prof. Dr. Nadia H. Ismail

Professor of Embryology, Zoology Department, Women's college for Arts, Science and Education, Ain Shams University.

Dr. Elham H. A. Ali

Ass. Prof of Physiology, Zoology Department, Women's college for Arts, Science and Education, Ain Shams University.

(Committee in charge)

Date: / /



**College for Women
Arts, Science and Education
Zoology Department**

QUALIFICATION

Name: Doaa Moeen Yussef Shafei

Scientific Degree: Ph.D

Department: Zoology.

College: Women's college for Arts, science and education.

University: Ain shams

Graduation: 1998



كلية البنات للآداب والعلوم والتربية
قسم علم الحيوان

إمكانية التأثير الوقائي لزيت بذر العنب من السمية الناتجة من إستخدام الميثوميل والإميداكوبريد على ذكور الجرذان

رسالة مقدمة للحصول على
درجة دكتوراه الفلسفة في العلوم
(علم الحيوان)

مقدمة من

دعاء م.ع.ي.ن يوسف شافعـى

ماجستير علوم قسم علم الحيوان
كلية البنات - جامعة عين شمس

تحت إشراف

أ.د. / نادية حسين إسماعيل
أستاذ علم الأجنة قسم علم الحيوان
كلية البنات للآداب والعلوم و التربية
جامعة عين شمس

أ.د. / أنان مصطفى أحمد عـامر
أستاذ علم وظائف الأعضاء قسم علم الحيوان
كلية البنات للآداب والعلوم و التربية
جامعة عين شمس

أ.م.د. / إلهام حسن أحمد على
أستاذ مساعد علم وظائف الأعضاء قسم علم الحيوان
كلية البنات للآداب والعلوم و التربية
جامعة عين شمس

قسم علم الحيوان
كلية البنات - جامعة عين شمس

2015



كلية البنات للآداب والعلوم والتربية
قسم علم الحيوان

رسالة دكتوراه

أسم الطالبة : دعاء معين يوسف شافعى
عنوان الرسالة : إمكانية التأثير الوقائي لزيت بذر العنب من السمية الناتجة من
إستخدام الميثوميل والإميداكلوبريد على ذكور الجرذان
أسم الدرجة : دكتوراه فى فلسفة العلوم (علم الحيوان)
لجنة الأشراف

أ.د./ أفينان مصطفى أحمد ع-م-ر
أستاذ علم وظائف الأعضاء قسم علم الحيوان
كلية البنات للآداب و العلوم و التربية - جامعة عين شمس

أ.د./ نادية حسين إسماعيل
أستاذ علم الأجنة قسم علم الحيوان
كلية البنات للآداب و العلوم و التربية - جامعة عين شمس

أ.م.د./ إلهام حسن أحمد على
أستاذ مساعد علم وظائف الأعضاء قسم علم الحيوان
كلية البنات للآداب و العلوم و التربية - جامعة عين شمس

الدراسات العليا	تاريخ المنح
ختم الأجازة	/ /
موافقة مجلس الكلية	موافقة مجلس الجامعة
/ /	/ /



كلية البنات للآداب والعلوم والتربية
قسم علم الحيوان

اسم الطالبة: دعاء معين يوسف شافعى

الدرجة العلمية: دكتوراه فى فلسفة العلوم (علم الحيوان)

القسم التابع له: قسم علم الحيوان

اسم الكلية: كلية البنات للآداب والعلوم والتربية

الجامعة: عين شمس

سنة التخرج: 1998

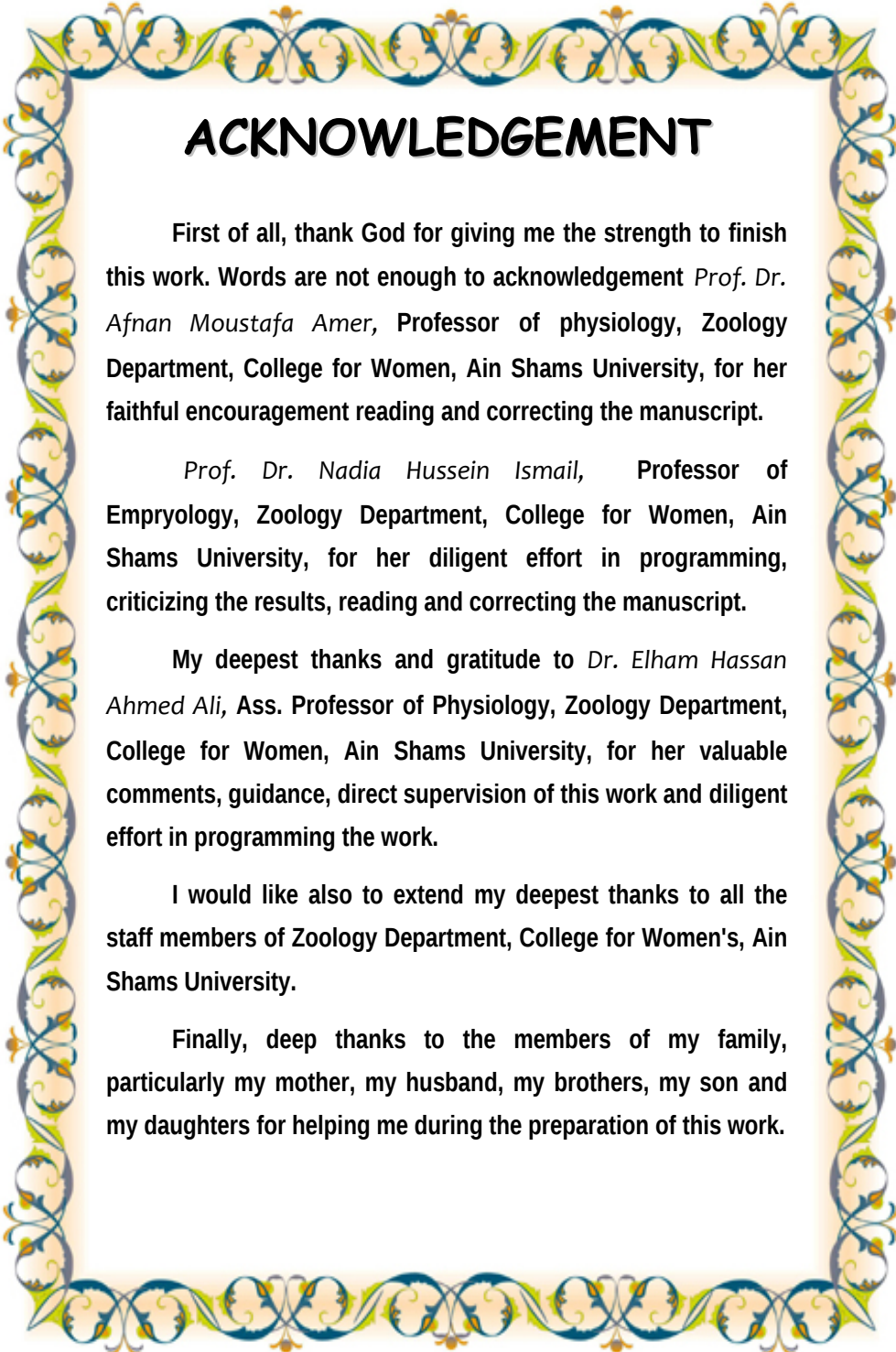
سنة المنح: 2015

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا
مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ
الْحَكِيمُ﴾

صدق الله العظيم

البقرة .. آية رقم ٢٢٢



ACKNOWLEDGEMENT

First of all, thank God for giving me the strength to finish this work. Words are not enough to acknowledgement *Prof. Dr. Afnan Moustafa Amer*, Professor of physiology, Zoology Department, College for Women, Ain Shams University, for her faithful encouragement reading and correcting the manuscript.

Prof. Dr. Nadia Hussein Ismail, Professor of Empryology, Zoology Department, College for Women, Ain Shams University, for her diligent effort in programming, criticizing the results, reading and correcting the manuscript.

My deepest thanks and gratitude to *Dr. Elham Hassan Ahmed Ali*, Ass. Professor of Physiology, Zoology Department, College for Women, Ain Shams University, for her valuable comments, guidance, direct supervision of this work and diligent effort in programming the work.

I would like also to extend my deepest thanks to all the staff members of Zoology Department, College for Women's, Ain Shams University.

Finally, deep thanks to the members of my family, particularly my mother, my husband, my brothers, my son and my daughters for helping me during the preparation of this work.

شكر وتقدير

تتقدم الطالبة بالشكر للسادة الأساتذة

أ.د. / أفنان مصطفى ع-امر

أستاذ علم وظائف الأعضاء قسم علم الحيوان
كلية النبات للآداب و العلوم و التربية
جامعة عين شمس

أ.د. / نادية حسين إسماعيل

أستاذ علم الأجنة قسم علم الحيوان
كلية النبات للآداب و العلوم و التربية
جامعة عين شمس

أ.م.د. / إلهام حسن على

أستاذ مساعد علم وظائف الأعضاء قسم علم الحيوان
كلية النبات للآداب و العلوم و التربية
جامعة عين شمس

CONTENTS

Title	Page
LIST OF ABBREVIATIONS.....	i
LIST OF TABLES.....	ii
LIST OF FIGURES.....	vi
ABSTRACT.....	a
INTRODUCTION.....	1
AIM OF THE WORK.....	7
REVIEW OF LIREATURE.....	8
Toxic action of imidacloprid insecticide.....	8
Effect of methomyl on brain and male fertility	10
Effects of grape seed oil.....	15
Testes oxidative stress.....	18
Serum hormones and sperm count.....	18
Histological studies.....	20
MATERIALS AND METHODS.....	23
Experimental animals.....	23
Housing of the animals.....	23
Management of animals.....	23
Chemicals.....	24
A) Methomyl.....	24
B) Imidacloprid.....	24
C) Grape seeds oil.....	25

Title	Page
Experimental design.....	31
Preparation of tissues for biochemical assays.....	32
Biochemical investigations.....	32
A) Brain (Cortex and hippocampus).....	32
B) Testes.....	33
Determination of Glutathione–S-Transferase (GST):	33
Principle of assay.....	33
Determination of glutathione peroxidase (GPX).....	33
Determination of superoxide dismutase (SOD).....	33
Measurement of malondaldehyde (MDA).....	34
Sodium nitrite (NO ₂).....	34
Acetyl cholinesterase (AChE) activity.....	35
Preparation of samples for biochemical investigations	36
Serum investigations.....	36
1) Testosterone.....	36
2) Follicle stimulating hormone FSH.....	37
3) Luteinizing hormone LH.....	38
The sperm count.....	38
Histological examination.....	39
Sample preparation.....	39
Staining of the sections.....	39
Statistical analysis.....	40

Title	Page
RESULTS.....	41
Biochemical investigations.....	41
A) Brain cortex.....	41
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on Glutathione S-transferase GST (μ mole/g) in brain cortex of rats.....	41
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on Glutathione peroxidase GPX activity (mg/g) in brain cortex of rats.....	44
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on Superoxide dismutase SOD activity (U/g) in brain cortex of rats.....	47
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on Malondaldehyde content (MDA) (nmole/g) in brain cortex of rats.....	50
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on sodium nitrite NO ₂ content in brain cortex of rats.....	53
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on Acetyl cholinesterase AchE activity (mMole/g wt tissue) in brain cortex of rats.....	56
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on Na ⁺ K ⁺ ATPase activity (uMole Pi/g wt tissue/h) in brain cortex of rats.....	59

Title	Page
B) Brain hippocampus.....	62
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on Glutathione S-transferase activity GST (umole/g wt tissue) in brain hippocampus of rats.....	62
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on GPX activity (mg/g wt tissue) in brain hippocampus of rats.....	65
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on SOD activity (U/g wt tissue) in brain hippocampus of rats.....	68
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on MDA content (nmole/g) in brain hippocampus of rats.....	71
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on sodium nitrite NO ₂ content in brain hippocampus of rats.....	74
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on AchE activity in brain hippocampus of rats.....	77
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on Na ⁺ K ⁺ ATPase activity in brain hippocampus of rats.....	80

Title	Page
C) Testis.....	83
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on Glutathione S-transferase activity GST (μ m Conj. CDNB/min./mg tissue) in testis of rats.....	83
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on GPX activity (mg/g wt tissue) in testis of rats.....	86
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on SOD activity (U/g wt tissue) in testis of rats.....	89
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on MDA content (nmole/g) in testis of rats.....	92
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on NO ₂ content (mMole NaNO ₂ /g) in testis of rats.....	95
Serum investigations.....	98
1) Testosterone.....	98
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on serum testosterone level (ng/ml) of rats.....	98

Title	Page
2) Follicle stimulating hormone FSH.....	102
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on serum follicle stimulating hormone FSH level (uIU/ml) of rats.....	102
3) Luteinizing hormone LH.....	105
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil G on serum Luteinizing hormone LH level (uIU/ml) of rats.....	105
Sperm count.....	108
Effect of methomyl or imidacloprid with or without grape seed oil (G) on sperm count (million/g wt tissue) of rats.....	108
Histological examination for testis of rat.....	111
Testis of treated rats.....	112
DISCUSSION.....	127
Brain (cortex & hippocampus).....	127
Methomyl and Imidacloprid: Effect of oxidative stress marker (GST, GPX, SOD, MDA).....	127
Nitrite.....	132
Acetyl cholinesterase (AChE).....	133
Testes.....	140
1- Oxidative Stress.....	140
2- Serum hormones and Sperm count.....	144
Histological study	148