Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.9 / NO.1 / Year: 2017
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

دراسة فعالية المستخلص المائي لإكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* في تقليل سمية مبيد الكلوربيريفوس على معايير خصوبة الجرذان البيض

جميلة كاظم عبد الحسن

كلية طب الاسنان/جامعة القادسية

الخلاصة :

هدفت الدراسة إلى معرفة دور مستخلص اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* في مقاومة سمية مبيد الكلوربيرفوس على الكفاءة التناسلية لذكور الجرذان البيض ودراسة معايير الخصوبة كمعالم النطف ومستويات الهرمونات (Testosterone (T) , Follicle Stimulating Hormone (FSH), Luteinizing hormone(LH) وكذلك الصورة النسجية للخصى . تضمنت التجربة استخدام (40) ذكراً بالغاً تم توزيعها عشوائيا إلى (4) مجاميع بصورة متساوية , كل مجموعة (10) حيوانات. جرعت مجموعة السيطرة (C) بالماء المقطر, وجرعت المجموعة الثانية (T1) بمبيد الكلوربيرفوس بتركيز (20) ملغم/كغم من وزن الجسم , وجرعت المجموعة الثالثة (T2) بالمستخلص المائي لإكليل الجبل (100) ملغم/كغم, وجرعت المجموعة الرابعة (T3) مبيد الكلوربيرفوس بتركيز (20) ملغم/كغم والمستخلص لإكليل الجبل (100) ملغم/كغم لمدة 60 يوم . في نهاية مدة التجربة تم تشريح خمسة حيوانات بعد أخذ نماذج الدم لغرض الحصول على المصل لتقييم مستويات هرمونات الشحمون الخصوي والمحفز للجريب واللوتيني, ثم شرحت الحيوانات واستؤصلت الخصى وتم أخذ ذيل البربخ لدراسة معالم النطف , أما الحيوانات الخمسة المتبقية من كل مجموعة عزلت لغرض إجراء اختبار الخصوبة عليها كما استخدمت اربعين انثى وذلك لدراسة قدرة الذكور على الإخصاب وإحداث الحمل. أظهرت نتائج التحليل الإحصائي حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) لمستويات الهرمونات (T , FSH, LH) وانخفاض معنوي ($P<0.05$) لمعالم النطف المدروسة لمجموعة المبيد (T1) مقارنة مع مجموعة السيطرة وبقية المجاميع المعاملة التي كانت نتائجها متباينة بفروق قريبة كما اكدت نتائج الدراسة النسجية هذه التأثيرات.

يستنتج من الدراسة ان المعاملة بالمستخلص المائي لإكليل الجبل قد سمحت بتقليل وتحسين سمية مبيد الكلوربيريفوس على معالم النطف ونسبة تركيز الهرمونات المدروسة.

الكلمات المفتاحية: الكلوربيريفوس ، اكليل الجبل ، الهرمونات ، الجرذان .

المقـــــدمة Introduction

الكلورباريفوس chlorpyrifos مبيد حشري فسفوري عضوي organophosphorus insecticide وهو يستخدم بشكل واسع كمبيد للحشرات (1) ، ويستخدم بصورة واسعة في مجال الزراعة فضلاً عن استخدامه في المنازل (2). ان استخدام هذه المبيدات للسيطرة والقضاء على الحشرات الطفيلية الضارة ادى الى حصول حالات من التسمم نتيجة الاستعمال غير الصحيح أو التعرض غير المقصود لهذه المبيدات (3), ان التاثير السمي للكلورباريفوس يتمثل في تثبيط نشاط خميرة الكولين استراز في الجهاز العصبي (4) مؤدياً الى تجمع الناقل العصبي الاستيل كولين بمستويات عالية تؤدي الى ظهور علامات التسمم نتيجة فرط التحفيز للجهاز الكوليني الفعل والذي يشمل علامات التسمم المسكارينية والنيكوتينية ، مع تأثيرات سمية على مستوى الجهاز العصبي المركزي متضمناً ايضاً زيادة توليد الجذور الحرة وارتفاع حالة الإجهاد التأكسدي في خلايا وأنسجة الجسم (5). تعد النباتات الطبية والمواد الفعالة المستخلصة منها عاملاً مساعداً مهماً وللنباتات دور مهمٌ في خدمة الإنسان وذلك لكونها مصدراً مهماً للعديد من الأدوية والمستحضرات الطبية (6) و تكمن أهمية النباتات الطبية لاحتوائها على مواد فعالة يمكن استعمالها كمادة دوائية في علاج الإنسان والحيوان (7) فنبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* هو من النباتات الطبية العطرية وهو نبات عشبي دائم الخضرة من العائلة الشفوية (8) يمتلك إكليل الجبل فوائد كثيرة فهو يستعمل لكونه يمتلك تأثيرات وقائية للجسم وأن هذه الفعالية المضادة للأكسدة تأتي من كونه يحتوي كمية كبيرة من المركبات

الفينولية Phenolic Compounds والفلافونيدات Flavonoids وأحماض طبيعية تعطيه خواصاً معقمة ومضادة للالتهاب وفعالية مضادة للأكسدة ومضادة للتسرطن (9) وحماية خلايا الجسم والـ DNA من ضرر الجذور الحرة (10).

إن الهدف من الدراسة الحالية هو تحديد الدور الوقائي لمستخلص اكليل الجبل ضد تأثيرات مبيد الكلوربيرفوس على معالم النطف والحالة النسجية للخصى ومستوى تراكيز الهرمونات المدروسة.

المواد وطرق العمل Materials and methods

حيوانات التجربة :

تم استخدام (40) ذكرا و (40) انثى من الجرذان البيض من النوع *Rattus norvegicus* ، بعمر (60) يوم وزعت الحيوانات على أقفاص بلاستيكية مغطاة بأغطية معدنية مشبكه وتم توفير الظروف الملائمة من درجة حرارة(22-25) مْ ومدة إضاءة وظلام (12-12) ساعة وقد اعطيت الحيوانات الماء والعليقة بشكل مستمر *ad libitum* طيلة ايام التجربة والبالغة 60 يوم.

تصميم التجربة Experimental Design

وزعت حيوانات التجربة الى (4) مجاميع :

مجموعة السيطرة (C) : أعطيت ماء مقطر طيلة مدة التجربة.

مجموعة المعاملة الأولى (T 1) : اعطيت مبيد الكلوربيرفوس بجرعة 20 ملغم/كغم من وزن الجسم (11).

مجموعة المعاملة الثانية(T2) : اعطيت المستخلص المائي لإكليل الجبل بجرعة 100 ملغم/كغم من وزن الجسم (12).

مجموعة المعاملة الثالثة(T3) : اعطيت مبيد الكلوربيرفوس بجرعة 20 ملغم/كغم , بعدها جرعت بالمستخلص المائي لإكليل الجبل 100 ملغم/كغم من وزن الجسم.

تحضير المستخلص المائي لإكليل الجبل

اتبعت طريقة (13) في تحضير المستخلص المائي لإكليل الجبل.

المعايير المدروسة :

دراسة معالم النطف البربخية:

تركيز النطف Sperms concentration

تم حساب عدد النطف التي تم جمعها من راس البربخ في 10 حقول مجهريه اختيرت بشكل متعرج ثم تم حساب تركيز النطف (نطفة/مليلتر) بضرب المعدل الحسابي للنطف المحسوبة في العامل المضاعف (1) مليون (14).

Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.9 / NO.1 / Year: 2017
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

حركة النطف Sperms Motility

حسبت النسبة المئوية للنطف المتحركة باستخدام بطريقة (15) وحسب المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للنطف المتحركة} = \frac{\text{عدد النطف المتحركة}}{\text{العدد الكلي للنطف}} \times 100$$

النطف الحية Sperms Viability

استخدمت طريقة (16) لحساب النطف الحية , وفق المعادلة:

$$\text{النسبة المئوية للنطف الحية} = \frac{\text{عدد النطف الحية(غير المصبوغة)}}{\text{العدد الكلي للنطف(المصبوغة وغير المصبوغة)}} \times 100$$

النطف السوية Normal Sperms

تم حساب 200 نطفة على الأقل لحساب النسبة المئوية للنطف السوية (16)وفق المعادلة الآتية :

$$\text{النسبة المئوية للنطف السوية} = \frac{\text{عدد النطف السوية}}{\text{العدد الكلي للنطف(السوية وغير السوية)}} \times 100$$

القياسات النسجية

اشتملت دراسة التغيرات النسجية لمقاطع الخصى بإتباع الخطوات التي وصفها (17).

قياس الهرمونيات Hormonal assays

تم قياس هرمونات الشحمون الخصوي , واللوتيني والمحفز للجريب باستخدام تقنية الاليزا ELISA وحسب التعليمات من شركة Monobind – Inc.

التحليل الاحصائي

تم تحليل نتائج الدراسة احصائياً لمعرفة الفروق المعنوية بين معدلات المعايير المدروسة في المجاميع المختلفة وقد بنيت مستوى الاحتمال عند 5% واستخدام تحليل التباين الأحادي (ANOVA) لهذا الغرض تبعه استخدام (LSD) لمعرفة الفروق المعنوية بين المتوسطات.

النتائج والمناقشة Results and Discussion

التغيرات الحاصلة في معالم النطف:

اشارت نتائج التحليل الاحصائي الى حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف المتحركة والنطف الحية والنسبة المئوية للنطف السوية لذكور الجرذان المعاملة بمبيد الكلوربيرفوس (T1) عند المقارنة مع السيطرة وبقية المجاميع (T2وT3 وT4). واتفقت هذه النتائج مع (20,19,18). بينما لم تختلف معدلات مجموعة السيطرة ومعدلات مجموعة (T3,T2) وهذا مطابق لما اتوصل اليه (23,22,21) , جدول(1)

وقد يفسر الانخفاض في تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف المتحركة والحية في مجموعة المبيد (T1) إلى الضرر الذي لحق بأنسجة الخصى مما نتج عنه تثبيط عملية تكوين النطف (24) ويعود سبب ذلك الى انخفاض مستوى هرمون التستوستيرون الذي له الدور المؤثر في عملية تكوين النطف وانقسام الخلايا الجرثومية في الخصى إضافة إلى دوره المؤثر في عملية نضج النطف (24), ما يفسر أن لهذه المركبات ومن بينها الكلوربيرفوس قد يكون لها تأثيراً على عملية تكوين النطف من خلال تأثيرها على مستوى الغدة النخامية حيث تخلق وتفرز الهرمونات المحرضة للقند (25). ومن المحتمل ان يكون سبب تشوه النطف من تأثير زيادة الجذور الحرة بفعل المبيد (26). كذلك انخفاض انزيمات الاكسدة وارتفاع الاجهاد التأكسدي (27). أما نتائج المجموعة المعاملة بالمستخلص (T2) أو المجموعة العلاجية المبيد والمستخلص (T3) فقد اظهرت تحسن وزيادة تكوين النطف, وتعود اسباب ذلك الى إضافة المستخلص بشكل مفرد أو بالتآزر مع المبيد حيث ادت الاضافة بفعل المركبات الفعالة للنبات الى زيادة نشاط الخصى والخلايا البينية على تحويل الكولسترول الى أندروجينات وبالتالي زيادة إنتاج وتحسين حالة النطف حيث تزيد الدهون والزيوت الطيارة من مستويات تخليق الهرمونات الجنسية في حين تعمل الفينولات وهي من مضادات الأكسدة على زيادة معدلات الخصوبة لكسحها الجذور الحرة (28).تسبب زيادة كبيرة في معدل انتاج الهرمون اللوتيني LH وهرمون محفز الجريب FSH ، بحيث كانت كافية في تحفيز زيادة عدد الخلايا الجرثومية وزيادة معدلات انقسامها منتجة بذلك زيادة في معدل انتاج النطف (29).ويعزى عدم تأثر أو تشوه النطف الى مضادات الأكسدة التي تتركز في المستخلص المائي والكحولي لإكليل الجبل حيث تعمل كمضادات الأكسدة على كسح أنواع الأوكسجين الفعال (ROS) (30).

جدول (1) يوضح تأثير الكلوربيرفوس والمستخلص المائي لإكليل الجبل على معالم النطف لذكور الجرذان البيض.

المعايير / المجاميع	تركيز النطف (مليون/مل)	النسبة المئوية للنطف المتحركة	النسبة المئوية للنطف الحية	النسبة المئوية للنطف السوية
C	91.02±0.23 a	71.12±0.32 a	75.12±0.25 a	77.20±0.32 a
T1	32.14±0.51 b	30.11±0.58 b	31.56±0.42 b	33.21±0.31 b
T2	88.21±0.22 a	70.12±0.17 a	74.22±0.24 a	77.12±0.12 a
T3	87.02±0.33 a	69.22±0.41 a	74.01±0.21 a	76.14±0.15 a

- الأرقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي.
- الأحرف المختلفة توضح وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية ($P< 0.05$) بين المجاميع.
- الأحرف المتشابهة توضح عدم وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية ($P> 0.05$) بين المجاميع.
- C : مجموعة السيطرة.
- T1: عوملت بمبيد الكلوربيرفوس 20 ملغم /كغم من وزن الجسم.
- T2: عوملت بإكليل الجبل 100 ملغم/ كغم من وزن الجسم.
- T3: عوملت بمبيد الكلوربيرفوس 20ملغم /كغم وإكليل الجبل 100 ملغم/ كغم من وزن الجسم.

التغيرات الهرمونية :

أوضحت نتائج التحليل الإحصائي في جدول (2) حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدلات هرمونات الشحمون الخصوي والمحفز للجريب و اللوتيني في مجموعة (T1) المعاملة بالكلوربيرفوس مقارنة مع معدلات مجاميع السيطرة والمجاميع البقية . وقد اتفقت هذه النتائج مع دراسات أخرى (33,32,31). وقد يعزى هذا الانخفاض إلى الضرر الذي أصاب أنسجة الخصى بشكل عام وخلايا لايدك بشكل خاص نتيجة التجريع بالكلوربيرفوس من جهة أو تأثيره على مستوى الغدة النخامية أو تحت المهاد من جهةٍ أخرى (34). وقد يعود ذلك إلى ان للمركبات

العضوية الفسفورية تأثيراً سلبياً على خلايا لايدك على تخليق هرمون التستوستيرون (35). وقد فسر ذلك بأن الكلوربيرفوس تسبب في ضرر كل من الخلايا الجرثومية والجسمية في الخصى المتمثلة بالمستقبلات الموجودة على اسطح خلايا لايدك وسرتولي وقد أدى ذلك إلى خفض مستوى هرمون التستوستيرون وهرمون اللوتيني والمحفز للجريب (36).

أما نتائج المجموعة المعاملة بالمستخلص (T2) أو المجموعة العلاجية المبيد والمستخلص (T3) فيعود سبب ذلك الى عمل مستخلص إكليل الجبل على زيادة مستوى الهرمونات المنبه للمناسل التي تعمل على زيادة هرمونات الشحمون الخصوي واللوتيني والمحفز للجريب (37), فقد أشار(38) بان المستخلص الكحولي لأوراق نبات إكليل الجبل يعمل على زيادة تنبيه الغدة النخامية لإفراز الهرمونات المنبه للمناسل ومن ثم زيادة إفراز هذه الهرمونات (39). ومن الممكن أن تفسر هذه الزيادة في إفراز هذه الهرمونات من خلال زيادة مضادات الأكسدة كالكلوتاثيون وانخفاض المالونداليديهايد وقلة الجذور الحرة عند إعطاء المستخلص (40).

جدول (2) يوضح تأثير مبيد الكلوربيرفوس والمستخلص المائي لإكليل الجبل على مستويات هرمون الشحمون الخصوي (ng/ml) والهرمون المحفز للجريب (FSH) (mIu/ml) والهرمون اللوتيني (LH) (mIu/ml) لذكور الجرذان البيض.

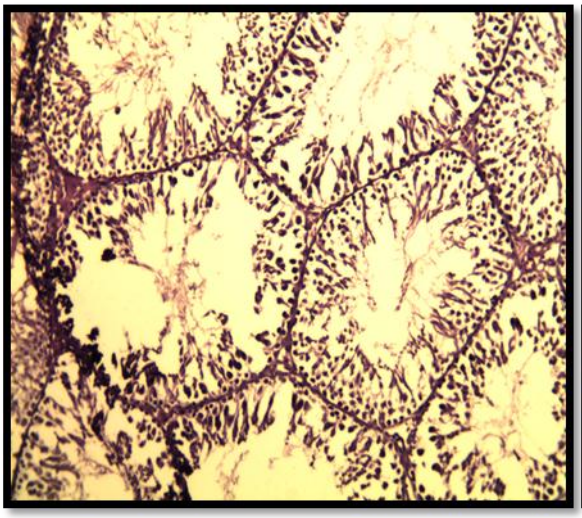
الهرمونات / المجاميع	Testosterone(ng/ml)	LH(mIu/ml)	FSH(mIu/ml)
C	3.17±0.18 a	1.83±0.22 a	1.18±0.44 a
T1	1.12±0.25 b	0.84±0.22 b	0.69±0.15 b
T2	3.02±0.58 a	1.81±0.42a	1.21±0.42 a
T3	2.91±0.11 a	1.79±0.52 a	1.66±0.36 a

- الأرقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي.
- الأحرف المختلفة توضح وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية ($P< 0.05$) بين المجاميع.
- الأحرف المتشابهة توضح عدم وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية ($P> 0.05$) بين المجاميع.
- C : مجموعة السيطرة.
- T1: عوملت بمبيد الكلوربيرفوس 20 ملغم /كغم من وزن الجسم.
- T2: عوملت بإكليل الجبل 100 ملغم/ كغم من وزن الجسم.
- T3: عوملت بمبيد الكلوربيرفوس 20ملغم /كغم وإكليل الجبل 100 ملغم/ كغم من وزن الجسم.

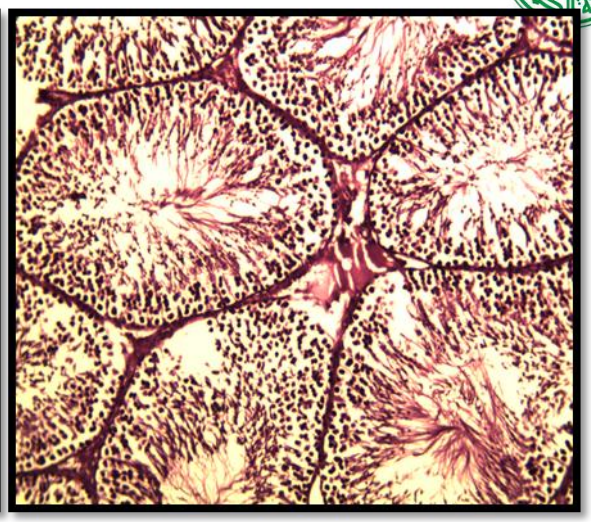
الدراسة النسجية :

التغيرات النسجية المرضية في الخصى:

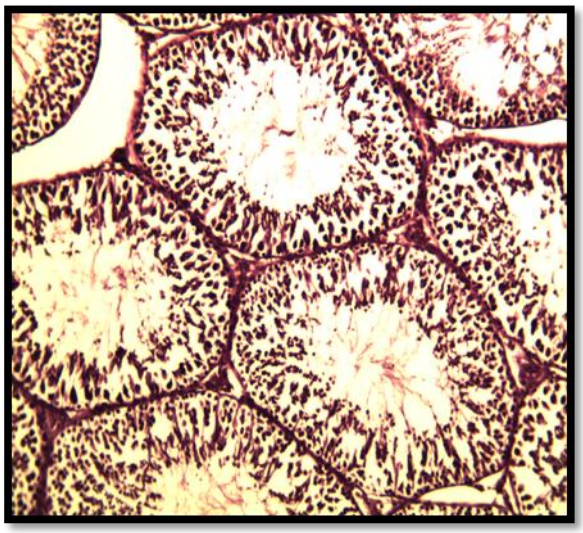
سببت معاملة الحيوانات بمبيد الكلوربيرفوس (T1) تنكس وتنخر النبيبات المنوية وقلة أعداد خلايا لايدك وأقطار أنويتها صورة (2) مقارنة مع نتائج السيطرة صورة (1) وهذا يتفق مع (42,41). في حين لم تختلف الحالة النسجية لبقية مجاميع التجربة حيث ظهرت اقطار النبيبات بصورة طبيعية حاوية على التكوين الكامل لمراحل تكوين النطف مع تكاثر خلايا لايدك (صور 3 و 4) وتتماثل هذه النتائج مع ما جاءت به دراسات اخرى (44,43).



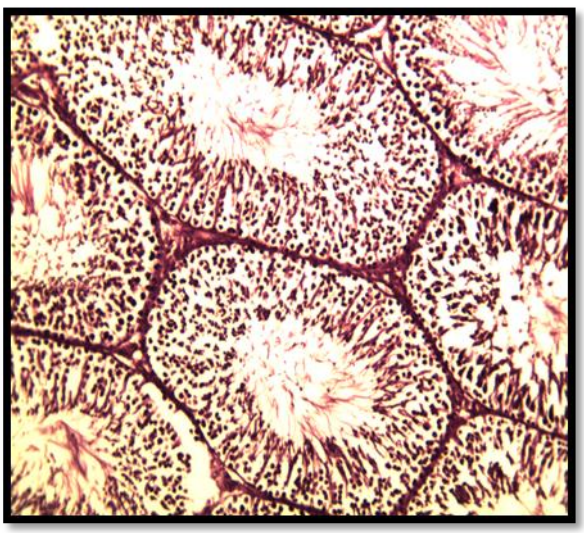
تبين نبيب منوي لخصية جرذ من مجموعة السيطرة (1)صورة تظهر فيه اكتمال عملية تكوين النطف مع اقطار طبيعية للنبيبات المنوية.(H&E, 40X)



تبين نبيب منوي لخصية جرذ من مجموعة المبيد (2)صورة تظهر فيه تثبيط عملية تكوين النطف مع اقطار صغيرة T1( ) للنبيبات المنوية. (H&E, 40X)



تبين نبيب منوي لخصية جرذ من مجموعة (3)صورة تظهر فيه اكتمال مراحل تكوين النطف T2المستخلص ( ) وتكاثر خلايا لايدك مع اقطار طبيعية للنبيبات المنوية. (H&E, 40X)



تبين نبيب منوي لخصية جرذ من مجموعة المبيد (4)صورة تظهر فيه تحسن عملية تكوين النطف مع T3والمستخلص ( ) اقطار طبيعية للنبيبات المنوية. (H&E, 40X)

بينت النتائج حصول تنخر وتلف في انسجة خصى الجرذان المعاملة بمبيد الكلوربيرفوس (T1) وكذلك حصول احتقان في الأوردة وقد يعزى ذلك الى تراكم المادة السمية للمبيد في النبيبات والذي ربما يؤدي الى تغير نفوذية غشاء الخلية نتيجة تأثيره على دخول وخروج الايونات (45). ومن الممكن ان يعزى السبب الحاصل الى التأثير السمي للمبيد على طبقة الخلايا الدهنية للنسيج بتأثير الجذور الحرة والإجهاد التأكسدي(46)

أما نتائج المجموعة (T2) أو المجموعة العلاجية المبيد والمستخلص (T3) فكانت متفقة مع ما أشارت أليه بحوث ودراسات استخدمت فيها المستخلصات النباتية في تثبيط سمية المبيدات على مستوى أنسجة الجسم (47) , وقد يعود

ذلك الى زيادة مستويات انزيمات الاكسدة وبالتالي كبح الاجهاد التأكسدي (48), وقد يعزى سبب الى زيادة مستوى الهرمون اللوتيني LH وFSH الذي سببه المستخلص المائي لإكليل الجبل والذي بدوره يؤثر على خلايا لايدك والتي تستجيب اليه بإفراز هرمون الشحمون الخصوي, وهذا الأخير يكون وجوده ضروريا لعملية نشأة النطفة من ثم يحفز زيادة في انتاج النطف و من ثم زيادة معنوية في اقطار النبيبات المنوية وبالتالي تحسن عملية تكوين ونضج النطف (49).

تجربة الخصوبة

أشارت نتائج الجدول (3) إلى حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في النسبة المئوية للحمل ومعدل أعداد المواليد المعاملة بالكلوربيرفوس (T1) مقارنة مع مجموعة السيطرة وبقية المجاميع وهذا يتطابق مع (51,50) , بقية المجاميع لم تختلف معنوياً مع السيطرة ولم تظهر فروق معنوية ($P>0.05$) عند مقارنتها مع بعضها البعض. وجاءت هذه النتائج متفقة مع (52)

جدول (3) : يوضح تأثير مبيد الكلوربيرفوس والمستخلص المائي لإكليل الجبل على خصوبة ذكور الجرذان البيض.

المجاميع	نسبة الحمل (%)	أعداد المواليد
C	%100 a	12.02±0.22 a
T1	%20 b	4.91±0.32 b
T2	%100 a	11.01±0.29 a
T3	%90 a	11.51±0.24 a

- الأرقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي.
- الأحرف المختلفة توضح وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية ($P< 0.05$) بين المجاميع.
- الأحرف المتشابهة توضح عدم وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية ($P> 0.05$) بين المجاميع.
- C : مجموعة السيطرة.
- T1: عوملت بمبيد الكلوربيرفوس 20 ملغم /كغم من وزن الجسم.
- T2: عوملت بإكليل الجبل 100 ملغم/ كغم من وزن الجسم.
- T3: عوملت بمبيد الكلوربيرفوس 20 ملغم /كغم وإكليل الجبل 100 ملغم/ كغم من وزن الجسم.

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى أن معاملة ذكور الجرذان بالكلوربيرفوس (T1) سبب انخفاض القدرة على الخصوبة ممكن ان يفسر ذلك بان الكلوربيرفوس قد أدى إلى الإخلال في إفراز الهرمونات التكاثرية عن طريق انخفاض مستوى الهرمونات المنبه للمناسل وبالتالي احدث خلل في تكوين النطف ونضجها (53). كذلك تأثير الإجهاد ألتأكسدي والجذور الحرة يعمل على حدوث ضرر في الـ DNA وتشوه النطف وبالتالي تقليل معدل الخصوبة (54).

إن اعطاء مستخلص إكليل الجبل أدى إلى زيادة مستوى الكلوتاثيون وبفضل امتلاكه الفعالية المضادة للأكسدة (55). ولاحتواء مستخلص إكليل الجبل على المواد الفينولية أدى إلى التقليل من التأثير السمي للكلوربيرفوس إذ

يحتوي نبات إكليل الجبل على كميات كبيرة من المركبات الفينولية والفلافونيدات ومن خلال تنشيط إفراز الـ (FSH و LH) وفر ذلك حماية للنطف وساعد على حماية الجهاز التناسلي من الاجهاد التاكسي مما يزيد من كفاءة الخصوبة(56)

References **المصادر**

1. **Mahaboob, S. K. and Gurjot, K. (2007).** Subacute oral toxicity of chlorpyriphos and protective effect of green tea extract. Pesticide Biochemistry and Physiology., Vol. 89 :118–123.
2. **Petrelli, G. and Mantovani, A. (2002).** Environmental risk factors and male fertility and reproduction. Contraception. 65: 297.
3. **Umosen, A. J. ; Ambali, S. F. ; Ayo, J. O. ; Mohammed, B. and Uchendu, C. (2012).** Alleviating effects of melatonin on oxidative changes in the testes and pituitary glands evoked by subacute chlorpyrifos administration in Wistar rats. Asian Pacific J. of Tropical. Biomedicine. 2:645-650.
4. **Dutta, A. L. and Sahu, C. R. (2013).** Protective effect of *Emblica officinalis* on Chlorpyrifos (An organophosphate insecticide) induced male reproductive system in rats. Int. J. of Pharm. and Bio. Sci. 4(1): 49-56.
5. **D'Cruz, S. C. ; Vaithinathan, S. ; Jubendradass, R. and Mathar, P. P. (2010).** Effects of plants and plant products on the testis. Asian J. of Andrology., Vol. 12: 468–479.
6. **Beutner, S.; Bloedorn, B.; Frixel, S.; Blanco, I.H.; Hoffmann, T.; Martin, H.; Schmidt, M.; Schulke, I.; Sell, S.; Ernst, H.; Noack, P.; Mayer, B.; Ruck, C.; Haremza, S.; Stahl, W. and Walsh, R. (2001).** Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of β carotene in antioxidant functions., J. Sci. Food and Agri., 81: 559-568.
7. **Bown,D.(1995**). Encyclopaedia of Herbs and their Uses, Dorling Kindersley London, 12- 19.
8. **Al-Sereiti ,M.R.;Abu-Amer K.M. and Sen P.(1999).** Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indi. J. Exp. Biol.*, 37:124- 130.
9. **Ana , C. A. S. ; Marcelo ,R .and Gabriel, F. (2005).** Physico-chemical evaluation of *Rosmarinus officinalis* L.essential Oils. *Biol. and Technol. an Inter. J.*, 48(6) :1035-1039.
10. **Atsumi, T. and Tonosaki,K. (2007).** Effect free radicals on cortisoll and rosemay activity.*Sychiat. Res*., 150: 89-96.
11. **Dutta, A. L. and Sahu, C. R. (2013).** Protective effect of *Emblica officinalis* on Chlorpyrifos (An organophosphate insecticide) induced male reproductive system in rats. Int. J. of Pharm. and Bio. Sci. 4(1): 49-58.
12. **Heidari-Vala, H. ; Hariry, R. E. ; Sadeghi, M. R. ; Akhondi, M. and Heideri, M. (2012).** Evaluation of an Aqueous-Ethanolic Extract from *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) for its Activity on the Hormonal and Cellular Function of Testes in Adult Male Rat. Iranian. J. Pharm. Res., 12(2):445-451.

13. **Sato, T. ; Ose, 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(3): 283-290 .
14. **Hinting, A. (1989).** Methods of semen analysis in: Assessment of Human Sperm Fertilizing ability. Ph.D. Thesis by Hinting, A., University of Michigan State.
15. **Levine, R.J.; Brown, M.H.; Bell, M.; Shue, F.; Greenberg, G.N. and Brodson, B.L. (1992).** Air-conditioned Environments do not prevent deterioration of human semen quality during the summer. *Fertil. Steril*., 57: 1065- 1083.
16. **Bambe, K. (1998).** Evolution of acrosomal integrity of boar spermatozoa by bright field microscopy using an Eosin–Nigrosin stain. Theriogenology., 29: 1245-1251.
17. **Woods, J. and Ellis, M. (1994).** Laboratory histopathology: a complete references. Churchill living Stone., pp: 321-322.
18. **Zidan, N. A. (2009).** Evaluation of the reproductive toxicity of Chlorpyrifos and Diazinon and Profenofos pesticides in male rats. Int. J. of Pharm.5(1): 51-57.
19. **Olorunshola, K. V. ; Achie, L. N. and Akpomiemie, M. L. (2011).** Ascorbic Acid Ameliorates Toxic Effects of Chlopyrifos on Testicular Functions of Albino Rats. British J. of Pharm. ad Toxicol. 2(5): 262-269.
20. **El medany, A. ; Aida, G. ; Yieldez, B. ; Abdullah, A. ; Jamila, E. and Sanaa, S. (2012).** Evaluation Of Effect Of Dimethoate Intoxication On Male Rat Reproductive Performances. International Journal of Pharmacology & Toxicology Science., 2(3): 32-49.
21. **Castillejos, L. ; Calsamiglia, S. ; Martin-Tereso, J. and Ter-Wijlen, H. (2007).** Essential rosemary oils of health .*J.Clin.Invest*.,10:1016-1040.
22. **Hijazi, M. M. ; Khatoon, N. ; Azmi, M. A. ; Rajput, M. T. ; Perveen, R. ; Naqvi, S. N. and Rasgid, M. (2015).** Effects of *Camellia sinensis* L. (green tea) extract on the body and testicular weight changes in adult Wistar rat. Pak. J. Pharm. Sci. 28(1):249-253.
23. **Abdul Rahman, S. ; Dawood, N. F. S. ; Basha, S. S. and Kamarzaman, S. (2013).** Protective Effect of Black Seed *Nigella sativa* (L.) Against Cyclophosphamide-Induced Toxicity on Reproductive and Acrosomal Function in Mice. Middle-east J. of Sci. Res.17(7): 955-964.
24. **Salama, A. k. ; Osman, K. A. and Omran, O. A. (2013).** Pesticides-induced oxidative damage: Possible *in vitro* protection by antioxidants. J. of Toxicol. And Environmental health Sci.,5(5): 79-85.
25. **Madhumathi, S. ; Alagu, G. M. and Pannerselvam, R. (2013).** Carbaryl induced testicular toxicity in male rats and protective effect of Mucuna pruriens L. Int. J. of Pharm. and Bio. Sci., 4(3): 493-502.
26. **Dutta, A. L. and Sahu, C. R. (2013).** Protective effect of *Emblica officinalis* on Chlorpyrifos (An organophosphate insecticide) induced male reproductive system in rats. Int. J. of Pharm. and Bio. Sci., 4(1): 49-58.

27. **El-Kashoury, A. A. (2009).** Influence of Subchronic Exposure of Profenofos on Biochemical Markers and Microelements in Testicular Tissue of Rats. Nature and Science., 7(2):16-29.
28. **Cheung,S. and Tai,J.(2007)**. Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis. Oncol.Res*., 1 (7): 525-531.
29. **Fahim,F.A.; EsmatA, .Y.; FadelH,.M. and HassanK,.F.(1999).** Studies on the effect of *Rosmarinus officinatis L* . on experimental hepatotoxicity and mutagenesis.*J.Food Sci. Nutr.*, 50: 413-427.
30. **Akunna, G. G. ; Saalu, C. L. ; Ogunmodede, O. S. and Bello, A. (2012).** Aqueous Extract of Date Fruit (*Phoenix Dactylifera*) Protects Testis against Atrazine-induced Toxicity in Rat.World J. life Sci. and Med. Res.,2(2): 100-108.
31. **Shivaraj, D. ; David, M. and Ravi, K. B. (2011).** Spermatotoxicity evaluation of deltamethirin and chlorpyriphos ec by oral gavage in wister rats. Int. J. Pharm. Bio. Sci., Vol. 2(4): 261-268.
32. **El-Kannishy, S. M. ; El-Baz, R. M. ; Abd El-Gawad, S. S. ; MArzook, H. F. ; Hassan, S. A. and Metwali, A. A. (2011).** Sperm nuclear deoxyribonucleic acid denaturation in diazinon/diazoxon sprayer men. J. of American Sci.,7(6):470-475.
33. **Navarro, E. and Bustos, E. (2014)**. Effects of Malathion on Cellularity and Sperm Differentiation in Testis and Epididymis of Adult Rats. Int. J. Morphol., 32(1):119-124.
34. **Madhumathi, S. ; Alagu, G. M. and Pannerselvam, R. (2013).** Carbaryl induced testicular toxicity in male rats and protective effect of Mucuna pruriens L. Int. J. of Pharm. and Bio. Sci.,4(3): 493-502.
35. **El-Gerbed, M. S. (2013).** Histopathological and ultrastructural effects of methyl parathion on rat testis and protection by selenium. : J. of App. Pharm. Sci., 3(1)53-63.
36. **Fattahi, E. ; Parivar, K. ; Gholam, S. ; Jorsaraei, A. and Moghadamnia, A. (2009).** The effects of diazinon on testosterone, FSH and LH levels and testicular tissue in mice. Iranian J. of Reproductive Med.,7(2): 59-64.
37. **Faixova, Z. (2008).** Biological effects of (*Rosmarinus officinalis L*.). *Folia. Veterinaria*., 52 (3-4): 135-139.
38. **Farag, M.E. (2007).**Influence of using some medicinal plants as feed additives on the performance carcass characteristics and blood constituents of grown male Gimmizah chickens.Msc.Thesis, Fac. Agric.(Saba Basha), Alex. Univ.
39. **Altinterim, B. (2014).** Effects of Herbs on Hypothalamic-PituitaryGonadal (HPG) Axis and Hypothalamic-PituitaryAdrenal (HPA) Axis. ACU Sağlık Bil. Derg., (3):179-181.
40. **Idris, M. H. ; Budin, S. B. ; Osman, M. and Mohamed, J. (2012).** Protective effect of Hibiscus calyx extract against streptozotocin induced sperm damage in diabetic rats. EXCLI J.11:659-669.
41. **Parashanthi, N. ; Narayana, K. ; Nayanatara, A. Chandra, H. H. ; Bairy, K .L. and D'Souza, U. A. (2006).** The reproductive toxicity of the organophosphate

pesticide O, O-dimethyl O-4-nitrophenyl phosphorothioate (methyl parathion) in the male rat. Folia Morphol., 65(4): 309–321.

42. **Ali, K. ; Reza, N. G. ; Syamak, S. ; Aref, H. ; Ehsan, H. ; Leila, R. ; Mohammad, B. ; Davoud, K. and Esmaiel, G. (2011).** Protective Effect of Selenium on Diazinon Induced Determination Impact on the Testes in Mature Male Rats. Global Veterinaria., 7 (4): 370-380.
43. **El medany, A. ; Aida, G. ; Yieldez, B. ; Abdullah, A. ; Jamila, E. and Sanaa, S. (2012).** Evaluation Of Effect Of Dimethoate Intoxication On Male Rat Reproductive Performances. International Journal of Pharmacology & Toxicology Science., 2(3): 32-49.
44. **Heikal, T. M. ; El-Sherbiny, M. ; Hassan, S. ; Arafa, A. and Ghanem, H. (2013).** Antioxidant effect of selenium on hepatotoxicity induced by chlorpyrifos in male rats. Int. J. Pharm. Pharm. Sci., 4(4): 603-609.
45. **Shittu, M. ; Ambali, S. ; Ayo, J. O. ; Fatihu, M. Y. Sulaiman, M. M. and Yaqub, L. (2013).** Evaluation of chronic chlorpyrifos-induced reproductive toxicity in male wistar rat: protective effects of vitamin C. J. Exp. Integr. Med.3(1):23-30.
46. **Megraj, K. V. ; Raju, K. ; Balaraman, R. and Meenakshisundaram. (2011).** Biological Activities of Some Indian medicinal plants. J. of Advanced Pham. Education & Research., 1:12-44.
47. **Sanjukta, D. and Ghosh, S. (2012).** In vitro effect on the antioxidative properties of crude extract of Chenopodium album in presence of the organophosphate, acephate. Int. Food. Res. J., 19(3): 1033-1039.
48. **Al-Attar, A. M. and Abu-Zeid, I. M. (2013).** Effect of Tea (Camellia sinensis) and Olive (Olea europaea L.) Leaves Extracts on Male Mice Exposed to Diazinon. BioMed. Research. Int.,6:1-6.
49. **Heikal, T. M. ; Mossa, A. H. ; Ibrahim, Abdel-Hamid. (2014).** Oxidative damage and reproductive toxicity associated with cyromazine and chlorpyrifos in male rats: the protective effects of green tea Extract. Ress. J. of Envi. Toxicol. 8(2): 58-67.
50. **El-Shahat, AR. ; Attia, G. ; Abdel-Raheim, M. ; and El Saed, M. (2009).** Altered Testicular Morphology and Oxidative Stress Induced By Cadmium In Experimental Rats And Protective Effect Of Simultaneous Green Tea Extract. Int. j. morphol., 27(3):757-764.
51. **Fenkci,V.(2003).** Decreased total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome Maycontribute to the risk of cardiovasculardisease.*Fertil.Steril.*,80:123–127.
52. **Fraczek, M. ; Szkutnik, D. ; Sanocka, D. and Kurpisz, M. (2001).** Peroxidation components of sperm lipid membranes in male infertility.*Ginekol. Pol*., 72(2),73-79.
53. **Fridovich,I.(1997).**Superoxide anion radical,superoxide dismutases,and related matters. *J. Biol. Chem.*, 272: 18515–18517.
54. **Ahmed, M. M. and Zaki, N. (2009).** Assessment the Ameliorative Effect of Pomegranate and Rutin on Chlorpyrifos-ethyl-Induced Oxidative Stress in Rats. Nature and Science.,7(10): 49-61.

55. **Carratu, B. Federici, E. ; Gallo, F. R. ; Geraci, A. ; Guidotti, M. ; Mulatri, G. ; Palazzino, G. and Sanzini, E. (2010).** Plants and parts of plants used in food supplements: an approach to their safety assessment. Ann. Ist. super Sanita.,46(4): 370-388.
56. **Nahed, S. K. and Ezzat, B. (2011).** Prophylactic effect of green tea and Nigella sativa extracts against fenitrothion-induced toxicity in rat parotid gland. archives of oral biology.,56:1339–1346.

Abstract

The study aimed to find out the role of extract *Rosmarinus officinalis* to resist the toxic pesticide Chlorpyrifos on reproductive efficiency of male rats and some fertility standards as a study of sperm parameters and the concentration of hormones. The experiment has involved the use of (40) male adults were distributed randomly to (4) groups equally, each group (10) animals. control group (C) administered with distilled water, and first group (T1) gavage pesticide Chlorpyrifos concentration (20) mg / kg of body weight, and second group (T2) administered aqueous extract *Rosmarinus officinalis* (100) mg / kg, and Third group (T3) administered pesticide Chlorpyrifos a concentration of 20 mg / kg and extract of rosemary (100) mg / kg for 60 days. At the end of the experiment were dissected five animals after taking blood samples for the purpose of obtaining serum to assess hormone levels Testosterone and stimulating follicle and LH, then animals explained and eradicated the testes , The tail of the epididymis was taken to study sperm parameters, while the remaining five animals from each group were isolated for the purpose of fertility test them and to study the male's ability to fertilization and cause pregnancy. The results of the statistical analysis obtain significant decrease ($P < 0.05$) levels of hormones (T, FSH, LH) and a significant decrease ($P < 0.05$) for the parameters of sperm studied for a pesticide (T1) compared with the control group and the rest of the treatment results were mixed differences close totals.

Conclude from this study that the aqueous extract of *Rosmarinus officinalis* treatment has allowed to reduce toxicity and improve the pesticide chlorpyrifos on sperm parameters and the concentration of the hormones studied.

……

Key words: Chlorpyrifos, *Rosmarinus officinalis*, Hormones, Rats.