

The effect of residual acetamiprid and dichlorvos in greenhouse cucumber on liver function and testicular germ cells on laboratory mice

Hamid Salehi Mishani¹, Alireza Jalalizand¹, Mehrdad Modaresi²

¹Department of Plant protection, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

²Department of Animal Science, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Abstract

Background: Pesticides are widely used around the world, especially in underdeveloped and developing countries. However, the effect of residual amounts of these compounds on the physiological processes of the body has always been discussed.

Materials and methods: In this experimental study, 27cucumber plants were sprayed with a concentration equal to twofold recommended dose (acetamiprid (50 g/l) and dichlorvos (4 ml/l)). After 24 hours, the residual amount was obtained and to evaluate the effect of these residues, 20 mice were divided into 4 groups. The control group and groups 1, 2 and 3 that received dichlorvos, acetamiprid, and combination of two pesticides respectively in drinking water.

Results: The residual pesticide in cucumber was obtained for acetamiprid 1.5 mg/kg and for dichlorvos 0.5 mg/kg. Their effect indicated a significant decrease in body weight and blood albumin levels ($p<0.01$) and an increase in liver enzymes (aspartate transaminase and alanine transaminase) and had changes in the number of testicular germ cells ($p<0.05$).

Conclusion: Liver disorders and reduced reproductive potential in male mice can be attributed to the addition of pesticides to their drinking water. Monitoring programs to evaluate the presence of residual pesticides in food should be done continuously and special attention should be paid to the management of consumption of these pesticides.

Keywords: *Crops, Chemical pesticides, Liver, Germ cells, Laboratory mice.*

Cited as: Salehi Mishani H, Jalalizand AR, Modaresi M. The effect of residual Acetamiprid and Dichlorvos in greenhouse cucumber on liver function and testicular germ cells on Laboratory mice. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 32(4): 368-378.

Correspondence to: Alireza Jalalizand

Tel: +98 9132067509

E-mail: arjalalizand@gmail.com

ORCID ID: 0000-0002-5448-4237

Received: 22 May 2022; **Accepted:** 28 Aug 2022

بررسی تاثیر باقیمانده سموم استامی پراید و دیکلرووس در خیار گلخانه‌ای بر عملکرد کبد و سلول‌های جنسی بیضه در موش کوچک آزمایشگاهی

حمید صالحی میشانی^۱، علیرضا جلالی زند^۱، مهرداد مدرسی^۲

^۱ گروه گیاه پزشکی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

^۲ گروه علوم دامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: سموم دفع آفات به طور گسترده در سراسر جهان به ویژه در کشورهای توسعه نیافته و در حال توسعه استفاده می‌شود. این در حالی است که تاثیر مقادیر باقیمانده این ترکیبات بر فرایندهای فیزیولوژیک بدن همیشه مورد بحث بوده است.

روش بررسی: در این پژوهش ۲۷ بوته ی خیار با غلظتی معادل دو برابر دوز توصیه شده (استامی پراید ۵۰ گرم در لیتر و دیکلرووس ۴ میلی لیتر در لیتر) سمپاشی شدند. پس از ۲۴ ساعت میزان باقی مانده آنها به دست آمد و برای بررسی تاثیر این بقایا، ۲۰ سر موش در ۴ گروه تقسیم شدند. گروه کنترل و گروه‌های ۱، ۲ و ۳ که به ترتیب از سم دیکلرووس و استامی پراید و گروه سوم ترکیبی از دو سم را در آب آشامیدنی دریافت کردند.

یافته‌ها: باقی مانده سموم برای استامی پراید ۱/۵ و برای دیکلرووس ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم خیار به دست آمد و تاثیر آنها نشان از کاهش معنی‌دار وزن بدن و میزان آلبومین خون ($p < 0/01$) و افزایش در آنزیم‌های کبدی (آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز) و تغییراتی در تعداد سلول‌های جنسی بیضه داشت ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: می‌توان پدیده آمدن اختلالات کبدی و کاهش پتانسیل تولید مثلی در موش‌های جنس نر را پی‌آمد اضافه نمودن سموم به آب آشامیدنی آنها دانست. از این رو پایش وجود باقی مانده سموم در مواد غذایی گذارهای ارزشمند است که باید پیوسته صورت گیرد و در کاربرد این سموم نگرش ویژه‌ای داشت.

واژگان کلیدی: محصولات زراعی، سموم شیمیایی، کبد، سلول‌های جنسی، موش آزمایشگاهی.

مقدمه

در کنار اعلامیه جهانی حقوق بشر، ماده ۱۱ میثاق بین‌المللی حقوق اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی، بر اهمیت حق داشتن غذای مناسب برای دستیابی به سطح استاندارد زندگی تأکید می‌کند. شایستگی در اینجا این ایده را شامل می‌شود که غذا نباید حاوی موادی باشد که برای سلامتی انسان خطرناک

است (۱). امنیت غذایی در بسیاری از کشورهای توسعه نیافته و در حال توسعه با تشدید روبه رو شده است و این امر باعث انگیزش تداوم شیوه‌های مطمئن که ریسک مربوط به به دست آوردن محصول را کاهش می‌دهد، می‌شود. یکی از رایج‌ترین این روش‌ها استفاده از سموم دفع آفات است (۲).

کاربرد سموم هر گاه با برنامه‌ریزی نامناسب، استفاده بیشتر از دوز توصیه شده، مخلوط کردن چندین سم، استفاده در بازه‌های زمانی کوتاه (پی در پی) و غیره باشد، می‌تواند موجب افزایش خطرات در معرض گذاری آنها گردد. هر سال حدود یک میلیون انسان تحت تاثیر مسمومیت حاد ناشی از تماس با آفت کش‌ها قرار دارند (۳، ۴). علاوه بر مرگ و میر، تماس

آدرس نویسنده مسئول: خوراسگان، دانشکده کشاورزی، گروه گیاه پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان،

علیرضا جلالی زند (email: arjalalizand@gmail.com)

ORCID ID: 0000-0002-5448-4237

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۳/۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۶/۶

مداوم با دوزهای پایین سموم با مجموعه‌ای از سندرم‌ها، و در دراز مدت، موجب تومورهای متعدد و اختلالات سیستم عصبی می‌گردد (۵، ۶). مشکلات تنوع زیستی (۷)، زیست محیطی مانند کیفیت آب (۸)، بهداشتی، سلامت موجودات و انسان (۹) از نگرانی‌های کاربرد آفت کش‌ها هستند. قرار گرفتن در معرض مواد غذایی باقیمانده حشره کش‌ها تقریباً پنج برابر بیشتر از سایر موارد است (۱۰). این موضوع به ویژه در کشورهای توسعه نیافته و در حال توسعه که فاقد منابع و تخصص لازم برای اجرای قوانین مربوط به بقایای آفت کش‌ها هستند نمود بیشتری دارد (۱۱). میزان حداکثر باقیمانده آفت کش‌ها در مورد محصولات گلخانه‌ای از اهمیت خاصی برخوردار است، زیرا شرایط بسته گلخانه‌ها فرار آفت کش‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این میان خیار به عنوان یکی از میوه‌های پر مصرف در جهان، در میان آلوده‌ترین میوه و سبزیجات به آفت کش قرار دارد. خیار توسط یک لایه محافظ طبیعی موم پوشانده شده است، هنگامی که سموم دفع آفات در این لایه پخش می‌شوند، شستشو آنها سخت‌تر می‌شود (۱۲). سموم نئونیکوتینوئیدی و ارگانوفسفره از سموم پر کاربرد برای این محصول در محیط گلخانه‌ای هستند. این آفت‌کش‌ها به وسیله تأثیر گذاشتن بر عملکرد طبیعی سیستم عصبی نقش خود را ایفا می‌کنند (۱۳، ۱۴). با بررسی‌های صورت گرفته دیکلرووس (Dichlorvos) از گروه ارگانوفسفره و استامی پراید (Acetamiprid) از گروه سموم نئونیکوتینوئیدها (Neonicotinoid) از سموم پر کاربرد در منطقه مورد مطالعه هستند، که بیش از دوز توصیه شده و با عدم رعایت دوره کارنس (Preharvest Interval (PHI)) (حداقل زمان بین آخرین کاربرد آفت کش و زمان برداشت محصول که بر روی بسته بندی آفت‌کش‌ها مشخص گردیده است) استفاده می‌شود. به همین منظور در بخش اول این پژوهش باقیمانده سم دیکلرووس و استامی پراید بر روی خیار گلخانه‌ای در دو برابر دوز توصیه شده مورد بررسی قرار گرفت.

برای بررسی تأثیر باقیمانده آفت‌کش‌ها در مواد غذایی بر سلامت، آنالیزهای بیوشیمیایی می‌تواند معیار مناسبی باشد. از این رو انجام آزمایشات خون به بررسی کیفیت عملکرد اندام‌های بدن کمک شایانی می‌نماید. در این میان کبد مهم‌ترین اندام بدن برای سم زدایی است و اختلال در کارکرد این اندام مشکلات جدی سلامتی پدید می‌آورد. آلبومین، پروتئین اصلی خون است که فقط در کبد سنتز می‌گردد. با اندازه گیری آلبومین اطلاعات ارزشمندی از کارکرد کبد و به واسطه آن از سلامتی نمایان خواهد شد. هپاتوسیت‌ها (سلول‌های

اصلی بافت کبد) حاوی مقادیر بالایی از آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و فسفاتاز قلیایی (ALP) هستند. با آسیب کبدی، این آنزیم‌ها به داخل پلاسما تراوش می‌کنند و اندازه گیری آنها می‌تواند برای تشخیص و کنترل آسیب کبدی و ارزیابی سلامت مورد بررسی قرار گیرد (۱۵). از سوی دیگر عوامل مهمی که در فرآیند تولید مثل در جنس نر دخالت دارند، سلول‌های جنسی بیضه هستند. تعداد این سلول‌ها در بیضه نقش مهمی در تولید مثل دارند. با ارزیابی تعداد این سلول‌ها در بیضه می‌توان تصویر مناسبی از عمل تولید مثل را نمایان ساخت (۱۶). بدین منظور در بخش دوم این پژوهش، تأثیر افزودن معادل باقی مانده سموم دیکلرووس و استامی پراید در خیار، به آب آشامیدنی موش‌های آزمایشگاهی نر نژاد Balb/C بر غلظت آلبومین، آنزیم‌های کبدی و سلول‌های جنسی بیضه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

آزمایشات مربوط به این پژوهش در دو بخش صورت گرفت. ابتدا بقایای سموم دیکلرووس و استامی پراید در خیار پس از ۲۴ ساعت اندازه گیری شد و در بخش دوم میزان بقایای به دست آمده به آب آشامیدنی موش‌ها افزوده و اثر آن بر عملکرد کبد و سلول‌های جنسی بیضه بررسی شد.

کشت گیاه خیار

رقم خیار به کار رفته در این پژوهش رقم ثنا بود که از رقم‌های پُر مصرف منطقه مورد مطالعه است. ابتدا از بذره‌های خیار برای تولید نشاء استفاده شد و پس از ۴۵ روز، انتقال نشاء‌ها به گلدان‌های اصلی در گلخانه‌ای به ابعاد ۲/۵×۲×۲۰ متر با دمای روزانه ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد و دمای شبانه ۱۸±۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ تا ۶۰ درصد، با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. از خاک زراعی منطقه جهت هر دو مرحله تولید نشاء و گلدان‌های اصلی استفاده شد. جنس گلدان‌ها پی وی سی با ارتفاع ۴۰ و قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر بودند. آبیاری گیاه به فاصله هر دو روز یک بار انجام گرفت.

تعیین دوز معادل

برای تعیین دوز معادل باقیمانده سموم استامی پراید و دیکلرووس در خیار گلخانه‌ای در کل از ۲۷ واحد آزمایشی (گلدان گیاه خیار) که در ۳ تیمار و سه تکرار و هرتکرار شامل سه گلدان استفاده شد. پس از میوه دهی بوته‌های خیار، سمپاشی با سمپاش برند

- گروه تیمار ۳ (ترکیبی): به صورت یک روز در میان معادل دوز سموم گروه ۱ و ۲ به صورت روزانه و به طور متناوب به آب آشامیدنی آنها افزوده شد (یک روز ppm ۵/۰ سم دیکلرووس و روز بعد ppm ۱/۵ سم استامی پراید).

اندازه گیری وزن بدن

قبل از شروع آزمایش و افزودن سموم به آب آشامیدنی گروه‌های تیماری، وزن بدن موش‌ها به دقت اندازه گیری شد و در پایان دوره ۶۰ روزه این کار تکرار شد.

خون گیری

با پایان دوره ۶۰ روزه و قرار گیری گروه‌های مختلف تیماری در معرض آب آشامیدنی مخلوط با سم از موش‌ها خون گیری شد. بدین منظور حیوان مورد نظر را بیهوش کرده و سپس با خواباندن حیوان به پشت با نوک انگشتان محل قلب مشخص شد و با سرنگ ۵ میلی‌لیتر به طور مستقیم از قلب حیوان خون گیری به عمل آمد. خون گرفته شده در لوله‌های آغشته به ماده ضد انعقادی ریخته شد و برای انجام آزمایشات نهایی به آزمایشگاه انتقال داده شد. در آزمایشگاه از کیت پارس آزمون و دستگاه اسپکت برای انجام آزمایشات بیوشیمیایی استفاده شد. همچنین برای ارزیابی رده‌های سلولی، بافت بیضه خارج و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شد و پس از تهیه اسلاید رده‌های مختلف سلولی با استفاده میکروسکوپ شمارش شد (۱۷). تمام مراحل نگهداری و خون گیری از موش‌ها با رعایت قوانین مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) ایران، کد IR.IAU.KHUISF.REC.1400.305 انجام شد.

تحلیل داده‌ها

تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS، نسخه ۲۲، انجام شد. مقایسه میانگین بین گروه‌ها، توسط آنالیز واریانس یک طرفه و برای گروه‌بندی تیمارها، از روش LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ درصد اطمینان استفاده شد.

یافته‌ها

جدول ۱ داده‌های دستگاه کروماتوگرافی از باقیمانده سموم استامی پراید و دیکلرووس در دو برابر دوز توصیه شده در خیار را نشان می‌دهد. با توجه به حداکثر مجاز باقیمانده این سموم، نتایج از بالاتر بودن حد مجاز آنها دلالت دارد. این مقدار برای دیکلرووس و استامی پراید به ترتیب

سی‌سا (SeeSa) با حجم ۲/۵ لیتر صورت گرفت. هر سم با غلظت دو برابر دوز توصیه شده و یک تیمار شاهد (آب) بود. تیمار اول، گروه کنترل، که در آن گلدان‌های خیار آبپاشی شدند. تیمار دوم واحدهای آزمایشی بودند که با غلظت دو برابر دوز توصیه شده (۵۰ گرم در لیتر) سم استامی پراید سم پاشی شدند. تیمار سوم گلدانهایی بودند که با غلظتی معادل دو برابر دوز توصیه شده (۴ میلی لیتر در لیتر) سم دیکلرووس سم پاشی شدند.

بیست و چهار ساعت پس از سمپاشی گلدان‌ها، از هر گلدان یک عدد خیار (سه عدد در هر تکرار) برداشت شد و در داخل کیسه‌های پلاستیکی مجزا قرار گرفت و پس از برچسب زدن، نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه هر سه خیار مربوط به یک تکرار با دستگاه مخلوط کن، مخلوط و بقایای سموم در نمونه حاصل با روش کروماتوگرافی اندازه گیری شد. در این پژوهش از سم دیکلرووس با فرمولاسیون مایع امولسیون شونده (Emulsifiable concentrate (EC)) و درجه خلوص ۵۰ درصد با دوره کارنس ۳ روز و سم استامی پراید با فرمولاسیون پودر قابل حل در آب (Water soluble powder (SP)) و درجه خلوص ۲۰ درصد با دوره کارنس ۱۴ روز از شرکت گل سنگ که در منطقه کاربرد فراوانی دارد استفاده شد.

آزمایش‌های بیوشیمیایی

در این بخش از داده‌های باقیمانده سموم استامی پراید و دیکلرووس در خیار که با دستگاه کروماتوگرافی به دست آمد استفاده شد. این داده‌ها نشان از باقیمانده بالاتر از حد مجاز سموم طبق استاندارد کدکس (Codex) دارد که این میزان برای دیکلرووس ppm ۵/۰ و برای استامی پراید ppm ۱/۵ بود. از این رو معادل همین مقدار سم در آب آشامیدنی موش آزمایشگاهی استفاده شد. در همین راستا ۲۰ سر موش آزمایشگاهی نژاد Balb/C از پژوهشکده رویان اصفهان تهیه شد. وزن متوسط موش‌ها بین ۳۰ تا ۳۵ گرم و سن ۱۰ تا ۱۲ هفته بودند که برای سازگاری با محیط برای یک ماه در لابراتوار حیوانات در قفس‌های استاندارد و شرایط 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد، ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت 40 ± 10 قرار گرفتند. غذا و آب به صورت روزانه در اختیار آنها قرار گرفت.

موش‌ها به شکل تصادفی در چهار گروه پنج تایی بصورت زیر تقسیم شدند:

- گروه کنترل: در آب آشامیدنی این گروه هیچ سمی افزوده نشد.
- گروه تیمار ۱ (دیکلرووس): میزان ppm ۵/۰ سم دیکلرووس به صورت روزانه به آب آشامیدنی آنها افزوده شد.
- گروه تیمار ۲ (استامی پراید): میزان ppm ۱/۵ سم استامی پراید به صورت روزانه به آب آشامیدنی آنها افزوده شد.

۰/۵۱±۰/۰۰۵ و ۱/۵۱±۰/۰۰۵ ppm است ($p<0/01$). بنابراین از همین مقدار غلظت سم در آب آشامیدنی موش‌ها استفاده شد.

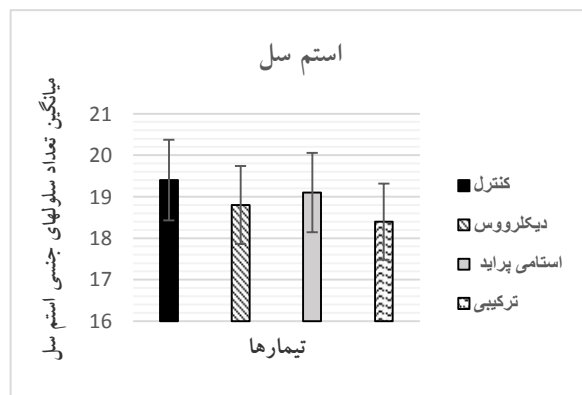
جدول ۱. آنالیز دستگاه کروماتوگرافی از باقیمانده سموم استامی پراید و دیکلرووس در دو برابر دوز توصیه شده در خیار گلخانه‌ای پس از ۲۴ ساعت.

تیمارها	میزان باقی مانده سموم در خیار	طبق آنالیز دستگاه (ppm)	باقیمانده (ppm)
کنترل	-	۰/۰۱±۰/۰۰*	-
استامی پراید (۵۰ گرم در لیتر)	۵۰	۱/۵۱±۰/۰۰۵ [†]	۰/۳
دیکلرووس (۴ میلی لیتر در لیتر)	۴	۰/۵۱±۰/۰۰۵ [†]	۰/۰۵
سطح معناداری داده‌ها (p)	-	۰/۰۰۰۱	-

* میانگین ± انحراف معیار؛ [†] تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($P<0/01$)
ppm یا Part Per Million: بخش در میلیون

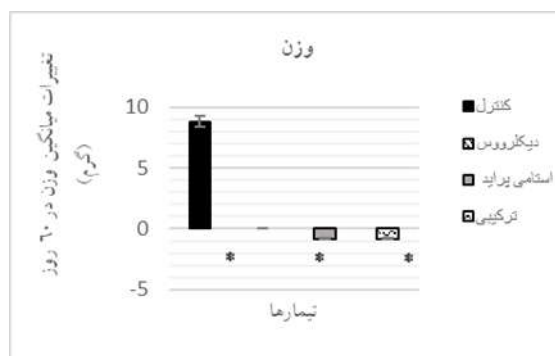
آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز می‌گردد. همچنین گروه ترکیبی با دو گروه دیگر تیماری (دیکلرووس و استامی پراید) تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$).

شکل ۲ نشان می‌دهد که تأثیر سموم دیکلرووس و استامی پراید در دو برابر دوز توصیه شده بر سلول جنسی Stem Cell با وجود کاهش، از معنی‌دار نبودن آن بین گروه‌های تیماری دلالت دارد ($p>0/05$).

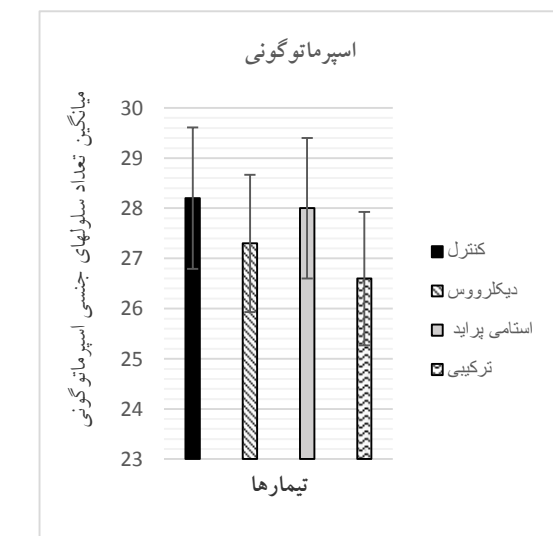


شکل ۲. تأثیر سموم دیکلرووس و استامی پراید بر تعداد سلول‌های جنسی Stem Cell در موش آزمایشگاهی پس از ۶۰ روز

شکل ۱ تغییرات وزن موش‌ها در اثر افزودن باقیمانده سموم به آب آشامیدنی را نشان می‌دهد. نتایج بیان می‌دارد که گروه کنترل نسبت به تیمارهای دیگر در سطح ۹۹٪ اطمینان اختلاف معنی‌داری داشته و کاهش وزن موش‌ها در اثر سموم پدیدار شده است (مقدار تغییر وزن گروه تیماری دیکلرووس صفر است).



شکل ۱. تغییرات وزن موش‌ها بعد از ۶۰ روز مصرف آب آشامیدنی حاوی معادل باقیمانده سموم استامی پراید و دیکلرووس در خیار. * تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($P<0/01$)

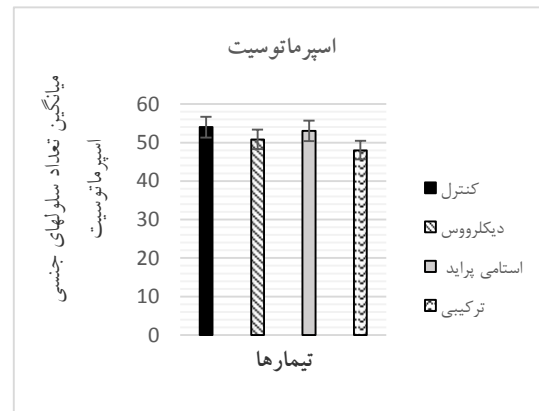


شکل ۳. تأثیر سموم دیکلرووس و استامی پراید بر تعداد سلول‌های جنسی اسپرماتوگونی در موش آزمایشگاهی پس از ۶۰ روز

شکل ۳ بررسی تعداد سلول‌های جنسی اسپرماتوگونی نشان از کاهش آن دارد، گرچه این کاهش از نظر آماری، از معنی‌دار نبودن آن بین گروه‌های تیماری دلالت داشت ($p>0/05$).

جدول ۲ نشان می‌دهد که سموم دیکلرووس و استامی پراید در دو برابر دوز توصیه شده موجب کاهش میزان آلبومین خون ($p<0/01$) و افزایش در غلظت آسپاراتات

شکل ۴ آخرین سلول جنسی مورد بررسی سلول‌های جنسی اسپرماتوسیت بودند که نشان از کاهش آن دارد گرچه این کاهش از نظر آماری از معنی‌دار نبودن آن بین گروه‌های تیماری دلالت داشت ($p > 0.05$).



شکل ۴. تأثیر سموم دیکلرووس و استامی پراید بر تعداد سلول‌های جنسی اسپرماتوسیت در موش آزمایشگاهی پس از ۶۰ روز

بحث

نتایج بخش باقی مانده سموم برای استامی پراید ۱/۵ و برای دیکلرووس ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم خیار به دست آمد که افزودن معادل این باقی مانده به آب آشامیدنی موش‌های آزمایشگاهی باعث کاهش وزن، میزان آلبومین و افزایش آنزیم‌های کبدی (آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز) و تغییراتی در تعداد سلولهای جنسی بیضه شد.

کشاورزان هنگامی که با مشکلات آفات روبه‌رو می‌شوند و یا با هدف دستیابی به محصول با کیفیت‌تر، استفاده از دوز بالاتر سموم، افزایش سمپاشی‌ها و مخلوط نمودن ترکیبات مختلف را یک راه حل کلی می‌دانند (۱۸). از این رو در بیشتر موارد باقیمانده سموم بر روی محصولات کشاورزی به ویژه سبزیجات، با باقیمانده سم بیش از حد مجاز به دست مصرف کننده می‌رسد. بر اساس نتایج بخش اول این پژوهش، باقیمانده سموم استامی پراید و دیکلرووس در خیار گلخانه‌ای پس از ۲۴ ساعت در دو برابر دوز توصیه شده بالاتر از حد مجاز تعیین شده کدکس (Codex alimentarius) و سازمان ملی استاندارد (international food standards) و سازمان ملی استاندارد (Iranian National Standards Organization Pesticides) بود (جدول ۱). در همین راستا، باقیمانده سم ایمداکلوپراید و سه سم دیگر در سبزیجات مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بیان از سطوح باقیمانده سموم بین ۰/۵ تا ۱ میلی گرم بر کیلوگرم در سبزیجات داشت در صورتی که محدودیت تعیین شده برای ایمداکلوپراید و تیوفنوزاید ۰/۰۲، آونکتین ۰/۱ و هگزاتیازوکس ۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم بود (۱۹). طی پژوهشی دیگر میوه‌ها و سبزیجات مورد بررسی از نظر باقیمانده سموم کریوفوران و کلرپایریفوس بالاتر از حداکثر مجاز باقیمانده شناسایی شدند (۲۰). باقی ماندن سموم، بالاتر از حد مجاز در محصولات کشاورزی در کشورهای توسعه نیافته و در حال توسعه به علت افزایش جمعیت و نیاز غذایی، عدم آموزش تولید کنندگان و انگیزه‌های مالی، نبود نهادهای نظارتی و عدم رعایت دوره کارنس سموم، امکان بروز بیشتری دارد (۲). برای مثال در ایران در کاوشی که در سطح میدانهای سبزی و میوه فروشی به منظور ارزیابی باقیمانده سموم

جدول ۲. تأثیر سموم دیکلرووس و استامی پراید بر تست‌های عملکردی کبد در موش آزمایشگاهی پس از ۶۰ روز نوشیدن آب حاوی سم

گروه‌ها	آلبومین (g/dl)	فسفاتاز قلیایی (IU/L)	آسپارات آمینوترانسفراز (IU/L)	آلانین آمینوترانسفراز (IU/L)
کنترل	$2.96 \pm 0.25^{\dagger}$	263 ± 49.07	155.6 ± 31.04	41.8 ± 5.06
دیکلرووس	$1.86 \pm 0.11^*$	259 ± 51.92	$229 \pm 37.47^{**}$	$56.2 \pm 4.26^{**}$
استامی پراید	$2 \pm 0.22^*$	212.8 ± 40.38	$263.8 \pm 73.57^{**}$	$58.4 \pm 7.43^{**}$
ترکیبی	$1.6 \pm 0.14^{***}$	265 ± 63.13	$337.8 \pm 40.73^{***}$	$68 \pm 8.06^{***}$
p-value	۰/۰۰۰۱	۰/۳۵۷	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

† میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ * تفاوت معنی دار با گروه کنترل ($P < 0.01$)؛ ** تفاوت معنی دار با گروه کنترل ($P < 0.05$)؛ *** تفاوت معنی

دار با گروه کنترل، دیکلرووس و استامی پراید ($P < 0.05$)

g/dl: gram per deciliter

IU/L: International units per liter

کاربایل و دیازینون در خیار و گوجه فرنگی صورت گرفت، بیان داشت که باقیمانده سموم بیشتر از حداکثر مجاز باقی مانده است. این مقدار برای خیار ۰/۳۷ و گوجه فرنگی ۰/۷۲ میکروگرم بر گرم به دست آمد (۲۱). در اکثر کشورهای توسعه نیافته و در حال توسعه وضعیت به همین روال است. ژوزف و همکارانش (۲۲) با روش‌های مختلف کروماتوگرافی باقیمانده ۹۹ سم را در ۱۲ محصول کشاورزی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که ۱۲ سم از موارد ممنوعه و ۲۱ سم بیشتر از حد مجاز تعیین شده از اتحادیه اروپا بودند.

با وجود آنکه سازمان بهداشت جهانی (WHO) تمرکز بسیاری در جهت سلامت مواد غذایی دارد، اما در بیشتر کشورهای توسعه نیافته و در حال توسعه قوانین باقی مانده سموم بر روی مواد غذایی کمتر رعایت می‌گردد. از آنجایی که اثرات باقیمانده سموم در مواد غذایی در انسان بلافاصله نمایان نمی‌شود و در طی عمر (از باروری تا مرگ و حتی پس از مرگ با پیامدهای ارثی) این اثرات تأثیر گذار خواهند بود (۲۳)؛ از این رو می‌توان اثرات بیوشیمیایی باقیمانده سموم در مواد غذایی را روی سلامتی و کیفیت زیست بعضی از پستانداران مثل موش آزمایشگاهی به عنوان یک نمونه شبه انسانی مورد بررسی قرار داد. بر اساس نتایج بخش دوم این پژوهش، اثر باقیمانده سموم دیکلرووس و استامی پراید در دو برابر دوز توصیه شده بر روی موش کوچک آزمایشگاهی، موجب کاهش وزن گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه شاهد شد (شکل ۱). این کاهش وزن با در معرض گذاری موش‌ها با آفت کش‌های دیازینون و مالاتیون نیز مشاهده شده است (۲۴، ۲۵). شاخص وزن می‌تواند به عنوان ابزاری سودمند در بهبود درک فیزیولوژی اثر مواد گوناگون (در اینجا سموم) در بدن استفاده گردد. بدین روی می‌توان استرس اکسیداتیو بوجود آمده از در معرض گذاری سموم را موجب از بین رفتن لیپیدها و پروتئین‌ها دانست که موجب کاهش وزن احتمالی موش‌ها می‌گردد (۲۶، ۲۷).

برای درک بهتر خطرات سلامتی در اثر در معرض گذاری سموم، انجام آنالیزهای مربوط به عملکرد کبد می‌تواند تصویر روشن‌تری از سلامتی را نمایان سازد. زیرا کبد بزرگ‌ترین اندام حیاتی بدن است که نقش مهمی در حفظ هومئوستازی متابولیک (پایداری سوخت و ساز) و ایجاد تعادل در محیط داخلی بدن ایفا می‌نماید. بنابراین اختلال در عملکرد کبدی به عنوان یک مشکل جدی سلامتی در نظر گرفته می‌شود (۲۸). در این زمینه ارزیابی آلومین، پروتئین اصلی خون، و آنزیم‌های کبدی پلاسما نقش مهمی دارند. با آزمایش آلومین

می‌توان اطلاعات ارزشمندی از وضعیت بیماری‌ها کبد به دست آورد. آلومین فراوان‌ترین پروتئین منفرد پلاسمای طبیعی است که معمولاً تا دو سوم کل پروتئین پلاسما را تشکیل می‌دهد. به همین دلیل کاهش سطح آلومین به خاطر اختلال در سنتز (مثل سوء تغذیه، سوء جذب و اختلال در عملکرد کبد) یا به دلیل از دست دادن آن (مانند آسیب نفروپاتی از دست دهنده پروتئین) منجر به عدم تعادل شدید فشار انکوتیک داخل رگی می‌شود (۱۵). در این پژوهش افزودن سموم دیکلرووس و استامی پراید به آب آشامیدنی موش‌ها موجب کاهش آلومین سرم در تمامی گروه‌های تیماری گردید. همچنین تیمار سوم (ترکیبی) تفاوت معنی‌داری با دو گروه دیگر دریافت کننده سم نشان داد (جدول ۲). کاهش آلومین در پژوهش‌هایی که موش‌ها را در معرض سموم پیرتروئید و دیازینون قرار دادند نیز مشاهده شده است (۲۹، ۳۰). می‌توان دلایل احتمالی کاهش آلومین را آسیب کبدی و اختلالات کبدی دانست (۳۱). با کاهش شرایط بیمارستان بستری شده در بیمارستان از شایع بودن کاهش آلومین سرم در آنها آگاه می‌شویم که این موضوع یکی از مهم‌ترین پارامترهای پیش آگاهی از سیروز است و معمولاً به آسیب اولیه کبد اشاره دارد (۱۵). همچنین ممکن است با ایجاد اکسیداسیون در اثر ورود سموم به بدن، آلومین به عنوان یک آنتی اکسیدان (۳۲) مصرف گردد که موجب کاهش سطح پروتئین خون (هایپوپروتینمیا) می‌شود و با نتایج پژوهش‌های گذشته (۳۳) مطابقت دارد. این گزاره می‌تواند تا حدی به لکوپنی لنفوسیتی اشاره داشته باشد (۳۴)؛ از این رو می‌توان سم وارد شده به بدن را علت کاهش ایمنی بدن دانست (۳۵).

آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و فسفاتاز قلیایی (ALP) آنزیم‌هایی هستند که در کبد وجود دارند و به علت اینکه اولین نشانه‌های آسیب کبدی میزان این آنزیم‌ها را در خون تحت تأثیر قرار می‌دهد، به آنزیم‌ها کبدی معروف شده‌اند. آسپارات آمینو ترانسفرازها به طور طبیعی در انواع مختلف بافت‌ها از قبیل کبد، قلب، ماهیچه، کلیه و مغز قرار دارد. آلانین آمینوترانسفرازها در بسیاری از بافت‌ها یافت می‌گردد، اما بیشترین غلظت آن در کبد است. بنابراین این آنزیم را می‌توان به عنوان شناساگر ویژه موقعیت کبدی دانست. فسفاتاز قلیایی آنزیمی است که در بسیاری از بافت‌ها از جمله کبد، استخوان، کلیه و روده وجود دارد، اما فسفاتاز قلیایی عمدتاً در کبد و مغز استخوان تولید می‌شود. آسیب هر کدام از این بافت‌ها موجب آزاد شدن

آنزیم‌های موجود در آنها و ورود آن به خون می‌گردد (۳۶). بر اساس نتایج بخش دوم این پژوهش، افزودن سموم دیکلرووس و استامی پراید در دو برابر دوز توصیه شده موجب افزایش ALT و AST می‌گردد و در میزان ALP تغییر معنی‌داری صورت نمی‌گیرد. همچنین تیمار سوم (ترکیبی) تفاوت معنی‌داری با دو گروه دیگر دریافت‌کننده سم نشان داد (جدول ۲). افزایش ALT و AST با در معرض گذاری موش‌ها برای بررسی سمیت کبدی در پژوهش‌های دیگر نیز مشاهده شده است (۳۷، ۳۸). در پژوهش‌های کارتیک و دیوید (۳۹) و جاسیوال و همکارانش (۴۰) که موش‌ها به ترتیب در معرض سم فیپرونیل و سم کربوفوران قرار گرفتند، نتایج با افزایش آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز همراه بود. معمولاً آنزیم‌های کبدی خودشان را در مقادیر پایین در خون نشان می‌دهند؛ بنابراین اگر سلول‌های کبدی آسیب ببینند انتظار می‌رود که برخی از آنزیم‌ها به داخل خون تراوش کنند و میزان آنها افزایش یابد (۴۱، ۴۲). عواد و همکارانش (۴۳) دریافتند که آسیب سلولی با نشت آنزیم ارتباط دارد. بنابراین، افزایش این آنزیم‌ها در خون ممکن است ناشی از اختلال عملکرد کبد و اختلال در بیوسنتز این آنزیم‌ها با تغییر در نفوذپذیری غشای کبدی باشد (۴۴، ۴۵، ۴۶).

وظیفه اصلی بیضه ساخت سلول‌های جنسی است که قادرند اطلاعات ژنتیکی را از نسلی به نسل دیگر منتقل سازند. سلول‌های جنسی در داخل بیضه در مراحل جنینی به صورت سلول‌های اولیه به وجود آمده و در قبل و بعد از تولد ابتدا به اسپرماتوگونی و سپس به اسپرماتوسیت، اسپرماتید و در نهایت سلول‌های بالغ جنسی یعنی اسپرم تمایز می‌یابند (۴۷). بررسی نتایج این پژوهش بیان می‌دارد که سموم دیکلرووس و استامی پراید در دو برابر دوز توصیه شده موجب کاهش سلول‌های جنسی بیضه (استم سل، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت) می‌گردد (شکل‌های ۲، ۳ و ۴)، گرچه از نظر آماری این کاهش معنی‌دار نبود. در همین راستا جهرمی و همکارانش (۴۸) اثر آفلاتوکسین بر سلول‌های جنسی بیضه موش صحرایی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج بیان داشت که سلول‌های زایا با کاهش روبر بوده است، اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود. تأثیر سموم به عوامل مختلفی از جمله دوز و مدت زمان در معرض گذاری آنها بستگی دارد (۴۹). در پژوهشی که بال و همکارانش (۵۰) از تأثیر حشره کش نئونیکوتینوئیدی بر روی موش‌های صحرایی نر انجام دادند، نتایج نشان داد که در دوزهای پایین روند کاهشی فاکتورهای تولیدمثلی معنی‌دار نگردیده است و با افزایش دوز حشره کش، این روند شدیدتر و

معنی‌دار شده است. در تایید این تحقیقات پژوهش‌ها بیان می‌دارد که در معرض گذاری طولانی مدت با آفت کش‌ها اثرات آنها را از جمله تأثیر بر عملکرد تولید مثلی را بهتر نمایان می‌سازد (۵۱، ۵۲). با توجه به روند تغییرات تعداد سلول‌های جنسی بیضه در این پژوهش، می‌توان آن را در این جهت توصیف کرد. از این رو روند کاهشی تعداد سلول‌های جنسی را می‌توان در نتیجه تخریب رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک در داخل لوله‌های اسپرم ساز دانست که موجب می‌گردد تعداد آنها در واحد سطح کاهش یابد (۵۳). چنین استنباط می‌شود این سموم با توقف تقسیم میتوزی و القای مرگ سلولی باعث کاهش سلول‌های ژرمینال می‌گردند. با توجه به اینکه این سلول‌ها در فرآیند اسپرماتوژنیز بسیار ضروری هستند، لذا کاهش این سلول‌ها، لزوماً رده‌های سلولی مثل اسپرماتوگونی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۵۴). سموم کشاورزی از دو مسیر باعث اختلال در روند اسپرماتوژنیز می‌گردند. یا با تأثیر مستقیم بر روی بافت بیضه و آتروفی نمودن سلول‌ها و مرگ آنها و یا با اختلالاتی که در روند ترشح هورمون‌های جنسی پدید می‌آورند، فرآیند تولید اسپرم را دچار آسیب می‌سازند (۵۵، ۵۶). کاهش تحرک اسپرم، اختلال در بلوغ و آسیب DNA از جمله عواملی هستند که به کاهش میزان باروری در جنس نر منجر می‌شود (۵۲).

استفاده بی رویه و ناآگاهانه از آفت کش‌ها (به ویژه در کشورهای توسعه نیافته و در حال توسعه) با اصول اکولوژیکی مغایرت دارد و می‌تواند منشا مشکلات بسیاری گردد. هر چند استفاده از آفت کش‌ها باعث افزایش محصولات کشاورزی شده است، اما مقداری از این سموم همراه با مواد غذایی وارد بدن انسان می‌شود. بنابراین ضروری است برنامه‌های پایش وجود باقی‌مانده سموم در مواد غذایی در راستای اطمینان از حداکثر مجاز باقی‌مانده سموم و میزان دریافت این مواد از طریق رژیم غذایی به طور مستمر انجام شود. بر اساس نتایج این پژوهش افزودن معادل باقی مانده سموم دیکلرووس و استامی پراید به دست آمده در خیار، به آب آشامیدنی موش‌های آزمایشگاهی باعث کاهش وزن و آلبومین و افزایش آنزیم‌های کبدی (آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز) و تغییراتی در تعداد سلول‌های جنسی بیضه گردید. از این رو، می‌توان اضافه کردن این سموم به آب آشامیدنی موش‌ها را علت پدید آمدن اختلالات کبدی و کاهش پتانسیل تولید مثلی در جنس نر دانست. بنابراین پیشنهاد می‌گردد در مدیریت کاربرد آنها نگاه ویژه‌ای صورت گیرد.

REFERENCES

1. United Nations. Mobilizing Countries to Beat Back 'Voracious' Desert Locust Threat in East Africa. Available from: <https://news.un.org/en/audio/2020/02/1057121>.
2. Sarkara S, Dias J, Keeley J, Mohring N, Jansen K. The use of pesticides in developing countries and their impact on health and the right to food. Belgium: Policy Department for External Relations Directorate General for External Policies of the Union; 2021.
3. Eddleston M. Poisoning by pesticides. *Medicine* 2020; 48: 214-217.
4. Jia ZQ, Zhang YC, Huang QT, Jones AK, Han ZJ, Zhao CQ. Acute toxicity, bioconcentration, elimination, action mode and detoxification metabolism of broflanilide in zebrafish, *Danio rerio*. *J Hazard Mater* 2020;394:122521.
5. Bertero A, Chiari M, Vitale N, Zanoni M, Faggionato E, Biancardi A, Caloni F. Types of pesticides involved in domestic and wild animal poisoning in Italy. *Sci Total Environ* 2020;707:136129.
6. Owens K, Feldman J, Kepner J. Wide Range of Diseases Linked to Pesticides, Database supports policy shift from risk to alternatives assessment. *Pestic and You* 2010;30: 13-21.
7. El Nemr A, Ed. Impact, Monitoring and Management of Environmental Pollution. Hauppauge, New York: Nova Science Publishers, Inc; 2011. p. 638.
8. Sjerps RMA, Kooij PJF, van Loon A, Van Wezel AP. Occurrence of pesticides in Dutch drinking water. *Chemosphere* 2019; 235:510-518.
9. Warra AA, Prasad MNV. African perspective of chemical usage in agriculture and horticulture—their impact on human health and environment. Prasad MNV, Ed. *Agrochemicals Detection, Treatment and Remediation Pesticides and Chemical Fertilizers*. New York: Elsevier; 2020. P.401-436.
10. Juraske R, Mutel CL, Stoessel F, Hellweg S. Life cycle human toxicity assessment of pesticides: comparing fruit and vegetable diets in Switzerland and the United States. *Chemosphere* 2009;77:939-45.
11. Zikankuba VL, Mwanyika G, Ntwenya JE, James A. Pesticide Regulations and their Malpractice Implications on Food and Environment Safety. *Cogent Food & Agriculture* 2019;5:1-15.
12. Environmental Working Group (EWG). EWG's 2021 Shopper's Guide to Pesticides in Produce™. Over 90 Percent of Non-Organic Citrus Fruits Contain Fungicides Linked to Cancer and Hormone Disruption. Available from: <https://www.ewg.org/news-insights/news-release/out-now-ewgs-2021-shoppers-guide-pesticides-producetm>.
13. Buszewski B, Bukowska M, Ligor M, Staneczko-Baranowska I. A holistic study of neonicotinoids neuroactive insecticides-properties, applications, occurrence, and analysis. *Environ Sci Pollut Res Int* 2019;26:34723-34740.
14. Nguyen TT, Rosello C, Bélanger R, Ratti C. Fate of Residual Pesticides in Fruit and Vegetable Waste (FVW) Processing. *Foods* 2020 ;9:1468.
15. McPherson R, Pincus M, Eds. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 23rd Ed. New York; Elsevier; 2017.
16. Mostofi FK, Spaander P, Gingor K. Consensus on pathological classification of testicular germ cell tumors. *Prog Clin Biol* 1990: 357,267-276.
17. Kouchesfahani HM, Parivar K, Eds. *General Histological Embryological and Zoological Microtechniques*. First Ed. Tehran: Al-Hosein Co: 2001. pp: 48-49.
18. Thorburn C. The Rise and Demise of Integrated Pest Management in Rice in Indonesia. *Insects* 2015 17;6:381-408.
19. Dong J, Gong X, Zhang L, Wang H. Determination of imidacloprid, tebufenozide, avermectins and hexythiazox in vegetables by QuEChERS-HPLC. *Chinese Journal of Analysis Laboratory* 2008;S481.8.
20. Yawar Latif STH, Sherazi M, Bhanger I. Assessment of pesticide residues in commonly used vegetables in Hyderabad, Pakistan. *Ecotoxicol Environ Saf* 2011;8:2299-2303.
21. Amrollahi H, Pazoki R, Imani S. Pesticide Multiresidue Analysis in Tomato and Cucumber Samples Collected from Fruit and Vegetable Markets in Tehran, Iran. *Middle East J Rehabil Health Stud* 2018;6:e64271.
22. Galani JHY, Houbraken M, Wumbei A, Djeugap JF, Fotio D, Spanoghe P. Evaluation of 99 Pesticide Residues in Major Agricultural Products from the Western Highlands Zone of Cameroon Using QuEChERS Method Extraction and LC-MS/MS and GC-ECD Analyses. *Foods* 2018;7:184.

24. Galani JHY, Houbraken M, Wumbei A, Djeugap JF, Fotio D, Spanoghe P. Evaluation of 99 Pesticide Residues in Major Agricultural Products from the Western Highlands Zone of Cameroon Using QuEChERS Method Extraction and LC-MS/MS and GC-ECD Analyses. *Foods* 2018;7:184.
25. Ibrahim AR, Abdelbasset Ibrahim M. Malathion induced testicular toxicity and oxidative damage in male mice: the protective effect of curcumin. *Egypt J Forensic Sci* 2018;70:1-13.
26. Slimen S, Saloua EF, Najoua Gh. Oxidative stress and cytotoxic potential of anticholinesterase insecticide, Malathion in reproductive toxicology of male adolescent mice after acute exposure. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17:522-530.
27. Abdel-Tawab, H Mossa, Tarek, M., Heikal. Enayat Abdel Aziz Omara. Physiological and histopathological changes in the liver of male rats exposed to paracetamol and diazinon. *Asian Pac J Trop Biomed* 2012;1683-S1690.
28. Sankhala LN, Tripathi SM, Bhavsar SK, Thaker AM, Sharma P. Hematological and immunological changes due to shortterm oral administration of acephate. *Toxicol Int* 2012; 19:162-6.
29. Mukherji A, Bailey SM, Staels B, Baumert TF. The circadian clock and liver function in health and disease. *J Hepatol* 2019; 71:200–211.
30. Liu H. Hussain SH. Ali D, Al Omar S. Shalik U. Alghamdi H and Maddu N. Induced alteration of rat erythrocyte membrane with effect of pyrethroid based compounds. *Saudi J Biol Sci* 2020:273669–3675.
31. Assaraj QSH, Alattar HA, Farid AS, Fararah KM. Influence of Lactoferrin on immune response in rats intoxicated by diazinon. *Benha Veterinary Medical Journal* 2018; 34; 169-181.
32. Roche M, Rondeau P, Singh NR, Tarnus E, Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett* 2008;582:1783-7.
33. Ambali SF, Ayo JO, Ojo SA, Esievo KA. Ameliorative effect of vitamin C on chronic chlorpyrifos-induced erythrocyte osmotic fragility in Wistar rats. *Hum Exp Toxicol* 2011;30:19-24.
34. Goel A, Danni V, Dhawan DK. Role of zinc in mitigating the toxic effects of chlorpyrifos on hematological alterations and electron microscopic observations in rat blood. *BioMetals* 2006;19: 483-492.
35. Rabideau CL. Pesticide mixtures induce immunotoxicity: potentiation of apoptosis and oxidative stress. MSc Thesis. Blacksburg, Virginia: Virginia Polytechnic Institute and State University; 2001.
36. Davis LM, Pei Z, Trush MA, Cheskin LJ, Contoreggi C, McCullough K. Bromocriptine reduces steatosis in obese rodent models. *J Hepatol* 2006; 45: 439-44.
37. Elgaml ASH, Hassan W, Abdelaziz S, Hashish E. Parkinsonia aculeata L. aqueous extract alleviated the hepatotoxicity induced by acetaminophen in albino rats. *Compar Clin Pathol* 2020;29:1-7.
38. Abdelazeim SA, Shehata NI, Aly HF, Shams SGE. Amelioration of oxidative stress-mediated apoptosis in copper oxide nanoparticles-induced liver injury in rats by potent antioxidants. *Sci Rep* 2020;10:10812.
39. Kartheek RM, David M. Assessment of fipronil toxicity on wistar rats: A hepatotoxic perspective. *Toxicol Rep* 2018;5:448-456.
40. Jaiswal K, Gupta V, Siddiqi N, Pandey R, Sharma B. Hepatoprotective Effect of Citrus limon Fruit Extract against Carbofuran Induced Toxicity in Wistar Rats. *Chinese J Biol* 2015;1- 10.
41. Lasram MM, Lamine AJ, Dhoub IB, Bouzid K, Annabi A, Belhadjmida N, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against malathion-induced liver damages and immunotoxicity in rats. *Life Sci* 2014;107:50-8.
42. Ojezele, Matthew Obaineh, Abatan, Oluwole Matthew. Toxicological effects of chlorpyrifos and methidathion in young chickens. *African J Biochem Res* 2009;3: 048-051.
43. Awad ME, Abdel-Rahman MS, Hassan SA. Acrylamide toxicity in isolated rat hepatocytes. *Toxicol In Vitro* 1998;12:699-704.
44. Ilavenil S, Al-Dhabi NA, Srigopalram S, Ock Kim Y, Agastian P, Baru R, Choi KC, Valan Arasu M. Acetaminophen Induced Hepatotoxicity in Wistar Rats--A Proteomic Approach. *Molecules* 2016;21:161.
45. Khan SM, Sobti RC, Kataria L. Pesticide-induced alteration in mice hepato-oxidative status and protective effects of black tea extract. *Clin Chim Acta* 2005;358:131-8.
46. Meyer SA, Kulkarni AP. Hepatotoxicity. In: Hodgson E, Smart RC, Eds. *Introduction to Biochemical Toxicology*. 3rd Ed. New York: Wiley and Sons; 2001. p: 487-490.

47. Mostofi FK, Spaander P, Gingor K. Cousensus on pathological clasihication of testicular germ cell tumors. *Prog Clin Biol* 1990;357:267-276.
48. Nikoosirjahromi M, Ranjbar R, Khaksarmahabadi M, Morovati H, Najafzadehvarzi H. Effects of Curcumin on Histologic Lesions of Testis Induced by Aflatoxin B1 in Rat Offspring before and after Puberty. *Sci J Ilam Uni Med Sc*. 2017;24: 41-53. [In Persian]
49. Aslam F, Khan A, Khan MZ, Sharaf S, Gul ST, Saleemi MK. Toxico-pathologicalchange induced by p-NP in broiler chicks; their attenuation with vitamin E and selenium. *Exp Toxicol Pathol* 2010;62:441-50.
50. Bal R, Türk G, Tuzcu M, Yılmaz Ö, Kuloğlu T, Baydaş G, et al. Effects of the neonicotinoid insecticide, clothianidin, on the reproductive organ system in adult male rats. *Drug Chem Toxicol* 2013;36:421-9.
51. Arıcan EY, Gökçeoğlu Kayalı D, Ulus Karaca B, Boran T, Öztürk N, Okyar A, et al. Reproductive effects of subchronic exposure to acetamiprid in male rats. *Sci Rep* 2020;10:8985.
52. D'Occhio MJ, Hengstberger KJ, Johnston SD. Biology of sperm chromatin structure and relationship to male fertility and embryonic survival. *Anim Reprod Sci* 2007;101:1-17.
53. Recio-Vega R, Ocampo-Gómez G, Borja-Aburto VH, Moran-Martínez J, Cebrian-Garcia ME. Organophosphorus pesticide exposure decreases sperm quality: association between sperm parameters and urinary pesticide levels. *J Appl Toxicol* 2008;28:674-80.
54. Joshi SC, Mathur R, Gulati N. Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicol Ind Health* 2007;23:439-44.
55. Mnif W, Ibn Hadj Hassine A, Bouaziz A, Bartegi A, Thomas O, Roig B. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *Int j Environ Res Public Health* 2011;8:2265-303.
56. Mandal TK, Das NS. Testicular gametogenic and steroidogenic activities in chlorpyrifos insecticide-treated rats: a correlation study with testicular oxidative stress and role of antioxidant enzyme defence systems in Sprague-Dawley rats. *Andrologia* 2012;44:102-15.