**تأثیر مانکوزب بر تغییرات هیستومورفومتری تخمدان در موش‌های کوچک سفید آزمایشگاهی**

قدرت عبادی مناس1\*

1 استادیار گروه زیست شناسی ، دانشگاه فرهنگیان ، تهران ، ایران

پست الکترونیکی : Email:g.ebadi@cfu.ac.ir

نویسنده مسئول: قدرت عبادی مناس، استادیار گروه زیست شناسی ، دانشگاه فرهنگیان ، تهران ، ایران.

 ایمیل: Email:g.ebadi@cfu.ac.ir

**چکیده**

**مقدمه :** مانکوزب به عنوان یک قارچ‌کش، به طور گسترده‎ای برای محافظت از میوه‌ها، سبزیجات و محصولات زراعی استفاده می‌شود. این ماده اثرات سمی مختلف بر روی انسان دارد. هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات قرار گرفتن در معرض مانکوزب بر تخمدان موش‌های کوچک آزمایشگاهی بود.

**روش‌کار**: تعداد 24 موش نابالغ کوچک سفید آزمایشگاهی به طور تصادفی به دو گروه کنترل و مانکوزب تقسیم شدند که هر گروه شامل 12 موش بود. هر گروه به سه زیرگروه روزهای 17، 24 و 31 تقسیم شد. موش‌های گروه مانکوزب به مدت 14 روز، دوز 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم مانکوزب و موش‌های گروه کنترل به همان میزان آب مقطر را از طریق گاواژ به صورت روزانه دریافت کردند. در روز 28، موش‌ها برای جمع‌آوری تخمدان‌ها بیهوش و از تخمدان‌ها مقاطع میکروسکوپی تهیه و رنگ‌آمیزی شدند. بررسی هیستومورفومتری با شمارش و اندازه‌گیری فولیکول‌ها انجام گرفت.

**یافته‌ها**: یافته‌ها نشان داد که مانکوزب باعث کاهش تعداد فولیکول‌های بالغ و افزایش فولیکول‌های نابالغ می‌شود و همچنین باعث کاهش قطر انواع فولیکول‌های گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل می‌گردد.

 **نتیجه‌گیری :** مانکوزب به عنوان یک قارچ کش ، با تداخل در تکامل فولیکول‌ها، موجب کاهش باروری در موش‌های ماده می‌شود.

**واژگان کلیدی**: مانکوزب، هیستومورفومتری، تخمدان، فولیکول، باروری

**مقدمه**

مانکوزب یک کمپلکس پلیمری از نمک‌های روی و منگنز است که حاوی اتیلن دی‌تیوکاربامات بوده و دارای خاصیت قارچ‌کشی است. این ماده به طور گسترده‌ای در کشاورزی برای محافظت از میوه‌ها، سبزیجات و محصولات زراعی استفاده می‌شود و به دلیل هزینه کم، ۲۰٪ از بازار جهانی قارچ‌کش‌ها را به خود اختصاص داده است(1). میزان دوز کشنده (LD50) مانکوزوب برای موش‌های رت mg/kg. Bw 5000 است (2).

مانکوزب با اختلال در تنظیم اسمزی و متابولیسم سلول‌های قارچی، خاصیت قارچ‌کشی خود را اعمال می‌کند. با این حال، سمیت آن غیر‌اختصاصی بوده و باقی‌مانده‌های آن از طریق میوه‌ها و سبزیجات وارد بدن پستانداران شده و باعث اثرات سمی گسترده‌ای می‌شود. انسان‌ها همچنین می‌توانند از طریق آب آشامیدنی در معرض مانکوزب قرار گیرند (3). اگرچه این ماده برای مدت کوتاهی در محیط باقی می‌ماند، امّا مطالعات نشان داده که می‌تواند آپوپتوز را در سلول‌های عصبی هیپوتالاموس القا و باعث التهاب عصبی شود (4) مانکوزب می‌تواند با ایجاد اختلالات تیروئیدی و محور تیروئید-هیپوفیز و افزایش استرس اکسیداتیو در اندام‌های لنفاوی همراه باشد (5). مطالعات نشان داده مانکوزب با تغییرات ژنوتوکسیک و بدخیم در سلول‌های انسانی، خطر سرطان‌زایی را افزایش می‌دهد(6).

گاتی و همکاران (2023) با بررسی تاثیر مانکوزب روی تخمک‌های موش در شرایط آزمایشگاهی و ارزیابی فراساختاری آن گزارش کرد مانکوزب به‌عنوان مختل‌کننده غدد درون‌ریز در شرایط آزمایشگاهی باعث تغییرات مورفولوژیکی در دوک‌های تقسیم و رشد سلولی می‌شود و سمیت وابسته به دوز آن موجب تغییراتی در تراکم کروماتین ، تشکیل حباب‌هایی غشایی ، واکوئله شدن سلول، تغییر میتوکندری و دیگر تغییرات سلولی می‌شود (7). لیو و همکاران (2017) نشان داد که مانکوزب گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش داده و باعث آپوپتوز سلولی و تغییرات اپی ژنتیکی غیرطبیعی می‌شود (8).

مطالعات نشان داده مانکوزب تأثیر منفی بر لانه‌گزینی جنین دارد (9) و زنانی که در معرض مانکوزب قرار می‌گیرند، ممکن است بیشتر در معرض خطر سقط جنین خودبه‌خودی باشند (10). یافته های بیانچی و همکاران (2020) آشکار کرد مانکوزب به‌عنوان قارچ‌کش پرکاربرد و با ماندگاری طولانی‌مدت در محیط، در بافت‌ها و مایعات بیولوژیکی تجمع یافته و برای سلامت باروری زنان خطرناک است (11).

مطالعات دال آگنول و همکاران (2021) مشخص کرد مانکوزب به‌طور بالقوه برای سلامتی مضر است و عمدتاً باعث مشکلات کبدی، کلیوی و ژنوتوکسیک می‌شود و با افزایش دوزهای آن، آسیب آنزیمی کبدی افزایش می‌یابد (12). کوون و همکاران (2018) نشان داده‌اند که در موش‌های نر، مانکوزب باعث کاهش وزن بدن، کاهش تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و اسپرم و اختلال در هورمون‌های غدد جنسی می‌شود (13). یافته های سوارز و همکاران (2023) نشان داد که مانکوزب موجب آسیب‌های کبدی و DNA کروموزومی در حیوانات آزمایشگاهی می‌شود (14). بائو و همکاران (2022) گزارش داده‌اند که موش‌های در معرض مانکوزب، کاهش وزن و افزایش مالون دی‌آلدئید و اختلالات هورمونی (FSH، LH) را تجربه کرده و این ماده موجب اختلال در زنجیره تنفسی میتوکندری، جداسازی فسفوریلاسیون اکسیداتیو، ایجاد استرس اکسیداتیو و نهایتاً آسیب به تخمدان و آپوپتوز در موش می‌شود (15). مطالعات پیشین نشان داده مانکوزب به‌عنوان یک مختل‌کننده غدد درون‌ریز رایج، با اختلال در عملکرد طبیعی هورمون‌های استروئیدی، ناهنجاری‌های تولید مثلی را در موش ایجاد می‌کند (16).

با این حال، بیشتر مطالعات فعلی بر آزمایش‌های فیزیولوژیکی مانکوزب تمرکز داشته و تا به حال مطالعه ای درباره تاثیر مانکوزب روی هیستومورفومتری تخمدان در موش‌های کوچک سفید آزمایشگاهی انجام نگرفته است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر مواجهه مکرر با مانکوزب بر روی تخمدان در موش‌های کوچک آزمایشگاهی انجام شد.

**روش کار**

**حیوانات**

در این مطالعه، 24 موش ماده کوچک سفید آزمایشگاهی از نژاد Balb/C از حیوان‌خانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه شدند. موش‌ها به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط در آزمایشگاه نگهداری شدند. سپس به طور تصادفی به دو گروه کنترل و مانکوزب تقسیم شدند که هر کدام شامل 12 موش بودند. گروه‌های کنترل و مانکوزب هرکدام به سه زیرگروه (کنترل روز 17، کنترل روز 24، کنترل روز 31 و مانکوزب روز 17، مانکوزب روز 24 و مانکوزب روز 31) تقسیم شدند(17). مانکوزب با خلوص 80 درصد (CAS: 8018-02-15) از شرکت ایندوفیل شیمی هند تهیه شد. موش‌های گروه مانکوزب به صورت روزانه و به مدت 14 روز، دوز 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم مانکوزب با خلوص 96 درصد(14) و موش‌های گروه کنترل به همان میزان آب مقطر از طریق گاواژ دریافت کردند. تمام موش‌ها در شرایط نوری 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی و در اتاقی با دمای 25-30 درجه سانتی‌گراد، همراه با دسترسی آزاد به مواد غذایی و آب نگهداری شدند. موش‌های ماده در آغاز آزمایش در سن 6 هفتگی بودند. معیار خروج حیوانات در این مطالعه، بیمار شدن موش‌ها در طول انجام آزمایش بود. در طی انجام آزمایشات بر روی حیوانات، تمام اصول و موازین اخلاقی مرتبط با کار با حیوانات در دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه رعایت شد.

نمونه برداری از موش‌ها در روزهای 17، 24 و 31 از شروع آزمایش انجام شد. پس از 14 روز گاواژ، مصرف مانکوزب قطع گردید، سپس مصادف با روزهای 15، 22 و 29 از شروع آزمایش، به هر یک از موش‌های گروه کنترل و مانکوزب، 10 واحد PMSG (گنادوتروپین سرم مادیان آبستن) به صورت درون‌صفاقی تزریق شد. 48 ساعت بعد از تزریق هورمون، موش‌ها بوسیله زایلازین (mg/kg.BW20 ) و کتامین (mg/kg.BW50) بیهوشی عمیق شدند سپس تخمدان‌ها خارج و در فیکساتیو فرمالدئید قرار گرفتند (17).

از نمونه‌ها، مقاطع بافتی تهیه و با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شد. در این رنگ‌آمیزی، انواع فولیکول‌ها، تعداد و اندازه فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه، ثالث و گراف در گروه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. برای شمارش و اندازه‌گیری فولیکول‌ها، برش‌های سریالی از تخمدان تهیه شد و فولیکول‌های حاوی اووسیت با هسته مشخص در تمام مقاطع شمارش گردید. در مواردی که هسته دیده نمی‌شد، در مقطع بعدی شمارش ادامه یافت.

برای اندازه‌گیری قطر فولیکول‌ها و تخمدان از عدسی چشمی مدرج استفاده شد. سپس عدد به‌دست‌آمده در ضریب مخصوص عدسی شیئی ضرب شده و اندازه نهایی بر حسب میکرومتر محاسبه گردید. فولیکول‌ها به انواع بدوی، اولیه، ثانویه، ثالث و گراف تقسیم‌بندی شدند.

**ملاحظات اخلاقی**

تمام پروتکل‌هاي آزمایشی مطابق با دستورالعمل‌هاي مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه ارومیه

 (Ref: IR-UU-AEC.91.8.22.12-2022) انجام شده است.

**آنالیز آماری**

برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه 19 استفاده شد. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون دانکن مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به‌صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شدند و مقدار 05/0 > p به‌عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

**یافته ها**

نتایج تحقیق نشان داد که بین قطر و میانگین تعداد فولیکول‌های بدوی و اولیه در گروه مانکوزب و گروه کنترل تفاوت معناداری وجود ندارد (05/0 < p) (جدول 1و2). همچنین، مشخص شد که تعداد فولیکول‌های ثانویه در روزهای 17، 24 و 31 در گروه مانکوزب نسبت به گروه کنترل به‌صورت معناداری افزایش یافته است ، درحالی‌که قطر فولیکول‌های ثانویه در این روزها، گروه مانکوزب در مقایسه با کنترل کاهش معناداری داشته است (05/0 > p) (جدول 1و2).

نتایج همچنین نشان داد که تعداد فولیکول‌های ثالث در روز 17 گروه مانکوزب نسبت به گروه کنترل به‌صورت معناداری افزایش یافته است (05/0 > p)، درحالی‌که تعداد فولیکول‌های ثالث در روزهای 24 و 31 گروه مانکوزب در مقایسه با کنترل کاهش یافته است (جدول 1). در هر سه گروه روز 17، 24 و 31، قطر فولیکول‌های ثالث مانکوزب درمقایسه با گروه کنترل کاهش یافته اما فقط در گروه روز 17 معنادار است (05/0 > p) (جدول 2). نتایج پژوهش نشان داد که تعداد و قطر فولیکول‌های گراف در هر سه روز 17، 24 و 31 در گروه مانکوزب نسبت به گروه کنترل به ‌صورت معناداری کاهش یافته است (05/0 > p) (جدول 2).

جدول 1. نتایج آماری میانگین تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه، ثالث و گراف در گروه‌های مختلف کنترل و آزمایش (Mean ± SE)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| گروه | تعداد فولیکول بدوی | تعداد فولیکول اولیه | تعداد فولیکول ثانویه | تعداد فولیکول ثالث | تعداد فولیکول گراف |
| کنترل 17 | 5/4±556a | 2/7±98a | 1/9±67a | 5/6±28a | 8/6±56a |
| مانکوزب17 | 1/2±549a | 8/4±116a | 3/5±85b | 8/2±54b | 9/2±15b |
| کنترل 24 | 42/7±649a | 9/1±102a | 6/2±71a | 2/5±25a | 4/7±57a |
| مانکوزب24 | 5/6±625a | 5/4±109a | 4/3±86c | 3/7±19a | 8/3±48c |
| کنترل 31 | 9/5±636a | 5/4±112a | 7/8±62a | 9/4±27a | 0/5±61a |
| مانکوزب31 | 3/4±630a | 5/4±106a | 5/6±77a | 6/6±21a | 3/9±54d |

در هر ستون، حروف مشابه بین تمام گروه‌ها نشان‌دهنده عدم تفاوت معنادار و حروف غیرمشابه نشانگر تفاوت معنادار بین آنها است. در گروه‌های هر روز:

 a. نشان‌دهنده عدم تفاوت معنادار بین گروه‌ کنترل و مانکوزب همان روز است.

 b. نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌ کنترل و مانکوزب روز 17، و مانکوزوب روزهای دیگر است.

c. نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌ کنترل و مانکوزب روز 24، و مانکوزب روزهای دیگر است.

d. نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌ کنترل و مانکوزب روز 24، و مانکوزب روزهای دیگر است.

جدول 2. نتایج آماری مربوط به اندازه قطر فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه، ثالث و گراف در گروه‌های مختلف کنترل و آزمایش (Means ± SE).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| گروه | قطر فولیکولهای بدوی(میکرومتر) | قطر فولیکولهای اولیه(میکرومتر) | قطر فولیکولهای ثانویه(میکرومتر) | قطر فولیکولهای ثالث(میکرومتر) | قطر فولیکولهای گراف(میکرومتر) |
| کنترل 17 | 5/0±25/13a | 2/2±13/46a | 1/5±21/154a | 5/6±62/249a | 8/6±68/411a |
| مانکوزب17 | 6/0±11/14a | 6/1±36/48a | 3/1±52/124b | 8/2±89/201b | 6/1± 45/355b |
| کنترل 24 | 3/0±21/15a | 9/1±51/50 a | 6/2±01/162a | 9/2±16/246a | 4/6± 65/425 a |
| مانکوزب24 | 5/0±35/15a | 1/2± 63/47a | 4/2±23/150ac | 3/7±7/241ab | 8/3±71/380ab |
| کنترل 31 | 9/0±11/16a | 2/3±14/49a | 7/6±81/160a | 1/4±22/255a | 6/5± 41/421 a |
| مانکوزب31 | 3/0±63/15a | 5/1±42/48a | 5/7±64/148ac | 6/6±65/251ac | 3/8± 78/408ab |

در هر ستون، حروف مشابه بین تمام گروه‌ها نشان‌دهنده عدم تفاوت معنادار و حروف غیرمشابه نشانگر تفاوت معنادار بین آن‌هاست. در بین گروه‌های هر روز:

 a. نشان‌دهنده عدم تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و مانکوزب در روز مذکور است.

b. نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و مانکوزب در روز 17 است.

 ac. نشان‌دهنده عدم تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و مانکوزب روز مذکور و تفاوت معنادار با گروه مانکوزب در روزهای دیگر است.

 ab. نشان‌دهنده عدم تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و مانکوزب مذکور و تفاوت معنادار با مانکوزب در روز 17 است.

شکل 1. تصویر میکروسکوپی از تخمدان موش در گروه مانکوزب (A) و گروه کنترل (B): در گروه مانکوزب، عدم اتصال اووسیت به سلول‌های تاجی شعاعی، بهم‌ریختگی لایه اپی‌تلیوم تخمدان و اختلال در سلول‌های لایه گرانولوزا قابل مشاهده است.1ـ فولیکول اولیه 2ـ فولیکول ثانویه 3ـ فولیکول گراف 4ـ اووسیت

**بحث**

اختلالات غدد درون‌ریز محیطی می‌توانند به محور تخمدان هیپوفیز هیپوتالاموس اثر بگذارند و با مختل کردن عملکرد فیزیولوژیکی تخمدان، باعث القای تغییرات مورفولوژیکی در سیستم تولید مثل شوند (15). مانکوزب به عنوان یک مختل‌کننده غدد درون‌ریز محیطی رایج شناخته می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که مانکوزب می‌تواند اثرات مضری بر انسان و حیوانات داشته باشد (12).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در گروه‌های مانکوزب و کنترل، میانگین تعداد فولیکول‌های بدوی و اولیه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. با توجه به این که مانکوزب اثر نامطلوبی بر روی رشد سلول‌ها دارد و از طرفی چون این نوع فولیکول‌ها در حال رشد نیستند، لذا مانکوزب بر روی آن‌ها کمتر از سایر فولیکول‌ها تأثیر گذاشته است. در راستای نتایج حاصل، هوشیاری و همکاران (2015) در مطالعه‌ای که تاثیر عصاره سداب بر روی قطر و تعداد فولیکول‌های تخمدان موش‌های سوری را بررسی کردند گزارش دادند که با توجه به حالت استراحت فولیکول‌های بدوی و اولیه، عصاره سداب تأثیری بر آن‌ها نداشته است (17).

سلول‌های گرانولوزای فولیکول بیشتر از سایر سلول‌ها به هورمون PMAG حساس هستند. نتایج تحقیق نشان داد که میانگین تعداد فولیکول‌های ثانویه در گروه مانکوزب در روزهای 17 و 24 افزایش معناداری نسبت به گروه‌های کنترل دارد. دلیل احتمالی این افزایش، آسیب به گیرنده‌های هورمونی در غشای سلول‌های گروه مانکوزب و عدم واکنش فولیکول‌های ثانویه به هورمون در این گروه است. سلول‌های فولیکولی گروه کنترل به هورمون واکنش خوبی نشان داده‌اند، بنابراین فولیکول‌ها با سرعت زیاد رشد کرده و به فولیکول‌های گراف تبدیل شده‌اند؛ در حالی که در گروه مانکوزب، رشد کم بوده و فولیکول‌ها در این مرحله باقی مانده‌اند. مطابق این نتایج، ، گاتی و همکاران (2023) با بررسی تاثیر مانکوزب روی تخمک‌های موش در شرایط آزمایشگاهی گزارش کردند مانکوزب با تغییراتی در دوک‌های تقسیم سلولی ، موجب کاهش تقسیم و رشد سلولی می شود (7).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میانگین تعداد فولیکول‌های ثالث در روز 17 به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است، در حالی که در گروه‌های روز 24 و 31 تفاوت معناداری با گروه کنترل مشاهده نشد. این امر نشان‌دهنده عادی شدن روند رشد فولیکول‌هاست. همچنین، نتایج تحقیق حاکی از کاهش معنادار تعداد فولیکول‌های گراف در هر سه روز 17، 24 و 31 نسبت به گروه کنترل بود که دلیل آن آسیب به سلول‌های فولیکول و کاهش رشد و ورود آنها به مرحله گراف است.

نتایج تحقیق مشخص کرد که میانگین قطر فولیکول‌های بدوی و اولیه در گروه‌های مختلف تفاوت معناداری با یکدیگر ندارند، که دلیل احتمالی آن عدم وجود تقسیمات سلولی در فولیکول‌های بدوی و اولیه است. همچنین، میانگین قطر فولیکول‌های ثانویه، ثالث و گراف در هر سه گروه مانکوزب نسبت به گروه کنترل کاهش یافته، ولی این کاهش معنادار نیست. نتایج اندازه‌گیری فولیکول نشان می‌دهد که در زمان مصرف مانکوزب، رشد و تقسیم سلولی کاهش یافته و به ‌تبع آن، تعداد لایه‌های سلولی گرانولوزا کمتر شده و در نتیجه، قطر فولیکول در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته است. در راستای این نتایج گریش و ردی. (2017) گزارش کرد مانکوزب با اختلال در اتصالات سلولی بافت بیضه در موش های رت نر موجب کاهش کاهش تقسیم سلولی و باروری در موش می شود(18).

**نتیجه گیری**

بنابراین، بر اساس نتایج تحقیق حاضر، می‌توان گفت که مانکوزب تأثیر بیشتری بر روی فولیکول‌های فعال‌تر نسبت به فولیکول‌های غیرفعال دارد و می‌تواند موجب کاهش باروری در موش‌ها شود.

**سپاسگزاری**

پژوهشگر بر خود لازم می‌داند از مسئول محترم آزمایشگاه جنین و بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، آقای علی کریمی، تقدیر و تشکر کند.

**حامی مالی**

این مطالعه هیچ‌گونه حمایت مالی از هیچ سازمانی دریافت نکرده است.

**مشارکت نویسندگان**

نویسندگان معیارهاي استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادهاي کمیته بین المللی ناشران مجلات پزشکی( ICMJE) را داشتند.

**تعارض منافع**

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

**منابع**

1. Runkle J, Flocks J, Economos J, et al. A systematic review of MCZ as a reproductive and developmental hazard. Environmental International.2017; 99:.29–42.
2. European Food Safety Authority (EFSA), Abdourahime H, Anastassiadou M, Arena M, Auteri D, Barmaz S, Brancato A, Bura L, Carrasco Cabrera L, Chaideftou E, Chiusolo A. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance mancozeb. EFSA Journal. 2020 Dec;18(12):e05755.
3. Yin DaChuan YD, Qi JinYu QJ, Deng YuXia DY, Gao GuoPing GG, Du Hui DH, Chen FangZheng CF, Deng Xun DX. Inhibiting mechanism of two fungicides on Rhizoctonia solani. *Journal of Shenyang Agricultural University*.2017.
4. Morales-Ovalles Y, Miranda-Contreras L, Peña-Contreras Z, Dávila-Vera D, Balza-Quintero A, Sánchez-Gil B, Mendoza-Briceño RV. Developmental exposure to mancozeb induced neurochemical and morphological alterations in adult male mouse hypothalamus. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2018 Dec 1; 64:139-46.
5. Bano F, Mohanty B. Thyroid disrupting pesticides mancozeb and fipronil in mixture caused oxidative damage and genotoxicity in lymphoid organs of mice. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2020 Oct 1; 79:103408.
6. Perocco P, Alessandra Santucci M, Campani AG, Forti GC. Toxic and DNA‐damaging activities of the fungicides mancozeb and thiram (TMTD) on human lymphocytes in vitro. Teratogenesis, carcinogenesis, and mutagenesis. 1989; 9(2):75-81.
7. Gatti M, Belli M, De Rubeis M, Khalili MA, Familiari G, Nottola SA, Macchiarelli G, Hajderi E, Palmerini MG. Ultrastructural evaluation of mouse oocytes exposed in vitro to different concentrations of the fungicide Mancozeb. Biology. 2023 May 10; 12(5):698.
8. Yu LI, Ya-Long WA, He SW, Ming-Huang CH, Zhang Z, Xian-Pei FU, Bin-Bin FU, Bao-Qiong LI, Yan-Hong LI, Qi ZQ, Wang HL. Protective effects of resveratrol against mancozeb induced apoptosis damage in mouse oocytes. Oncotarget. 2016 Dec 21;8(4):6233-45.
9. Akthar I, Wang Z, Wijayagunawardane MP, Ratnayake CJ, Siriweera EH, Lee KF, Kodithuwakku SP. In vitro and in vivo impairment of embryo implantation by commonly used fungicide Mancozeb. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2020 Jun 18;527(1):42-8.
10. Arbuckle TE, Lin Z, Mery LS. An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. Environmental health perspectives. 2001 Aug;109(8):851-7.
11. Bianchi S, Nottola SA, Torge D, Palmerini MG, Necozione S, Macchiarelli G. Association between female reproductive health and mancozeb: Systematic review of experimental models. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2020 Apr;17(7):2580.
12. Dall'Agnol JC, Pezzini MF, Uribe NS, Joveleviths D. Systemic effects of the pesticide mancozeb-A literature review. European Review for Medical & Pharmacological Sciences. 2021 Jun 1;25(11).
13. Kwon D, Chung HK, Shin WS, Park YS, Kwon SC, Song JS, Park BG. Toxicological evaluation of dithiocarbamate fungicide mancozeb on the endocrine functions in male rats. Molecular & Cellular Toxicology. 2018 Jan;14:105-12.
14. Suarez Uribe ND, Pezzini MF, Dall’Agnol J, Marroni N, Benitez S, Benedetti D, Da Silva J, Cerski CT, Dallegrave E, Macedo S, De Oliveira SC. Study of liver toxicity and DNA damage due to exposure to the pesticide Mancozeb in an experimental animal model–A pilot model. European Review for Medical & Pharmacological Sciences. 2023 Jul 1;27(13).
15. Bao J, Zhang Y, Wen R, Zhang L, Wang X. Low level of mancozeb exposure affects ovary in mice. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2022 Jul 1;239:113670.
16. Joshi SC, Gulati N, Gajraj A. Evaluation of toxic impacts of mancozeb on testis in rats. Asian Journal of Experimental Sciences. 2005; 19(1): 73-83.
17. Hoshyari A, Najafi G, Sadrkhanlo R. & Zarei L .Effects of Ruta graveolens (RG) aqueous extract on diameter and number of different ovarian follicles in mice.2015. Studies in Medical Sciences, 26(6), pp.504–12.
18. Girish BP, Reddy PS. Forskolin ameliorates mancozeb‐induced testicular and epididymal toxicity in Wistar rats by reducing oxidative toxicity and by stimulating steroidogenesis. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology. 2018 Feb;32(2):e22026.

**The Effect of Mancozeb on Histomorphometric Changes in the Ovaries Balb/c Mice**

Ghodrat ebadimanas 1\*

1 Assistant professor, Department of Biology Education, Farhangian University, Tehran, Iran

**Corresponding Author**. Department of Biology Education, Farhangian University, Tehran, Iran,Email: ebadimanas@gmail.com ; g.ebadi@cfu.ac.ir

**Abstract**

**Introduction:** Mancozeb is a fungicide widely used to protect fruits, vegetables, and crops. It has various toxic effects on humans. The aim of the present study was to investigate the effects of mancozeb exposure on the ovaries of laboratory mice.

**Methods:** Twenty-four immature laboratory mice were randomly divided into two control and mancozeb groups, each group containing 12 mice. Each group was divided into three subgroups of days 17, 24, and 31. Mice in the mancozeb group received a dose of 100 mg/kg mancozeb for 14 days, and mice in the control group received the same amount of distilled water by gavage daily. On day 28, mice were anesthetized to collect ovaries, and microscopic sections were prepared and stained from the ovaries. Histomorphometric examination was performed by counting and measuring follicles.

**Results:** Findings showed that mancozeb exposure resulted in a decrease in the number of mature follicles, an increase in immature follicles, and a reduction in follicle diameter in the experimental group compared to the control group.

**Conclusions:** Mancozeb disrupts follicle development, potentially leading to reduced fertility in female mice.

**Keywords:** Mancozeb, histomorphometry, ovary, follicle, fertility