ABSTRACT

Name: Tahany Gaber Mohammaden Mohammad

Title: 'Physicochemical Studies and Toxicological Effects of Some Emulsion Formulations and Their Applications as Pesticides'

This study conducted to investigated the effects of some essential oils on some phytopathogenic fungi, such as *Fusarium solani*; *Rhizoctonia solani*; *Sclerotium rolfsii*; *Botrytis cinerea*; *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*, which cause serious diseases on plants. The essential oils were formulated as soluble concentrates (SL), oil water emulsion (EW) and w/o/w double emulsion. The obtained formulations, characterized in terms of pH, surface tension, conductivity, flash point; centrifugation, rheological tests, and monitoring of the particle size to determine the optimal formulation. Checking, the long-term stability of the w/o/w double emulsion formulations was performed through the electrolyte release with time via the measured conductivity. Also, the antifungal activity was evaluated on the most stable prepared formulation. All prepared formulations are more effective than the corresponding their active ingredients according to the value of the effective concentrations (ppm) that causes 50% growth inhibition (EC_{50}) of all examined fungi. The thymol formulation (10%EW), exhibit high potential activity against all the tested phytopathogenic fungi. Hence, this leads us to evaluate the adverse effects of thymol formulation after acute and repeated oral toxicity studies for 28 days in male albino rats. Our results indicated that the median lethal dose value (LD_{50}) of thymol formulation (10% EW) in male albino rats is found to be 2462.23 mg/kg body weight.

In repeated oral dose toxicity studies, seventy two male rats were used and divided into six groups, each had 12 animals. The rats of group I was administrated normal saline (0.9 % NaCl) at a dose of 1.0 ml/kg body weight and served as control group. Group II was administrated 1/160 of the LD_{50} (15.39 mg/kg bw), while, group III administrated 1/80 of the LD_{50} (30.78 mg/kg bw) and group IV was administrated 1/40 of the LD_{50} (61.55 mg/kg bw) and group V was treated with 1/20 of the LD_{50} (123.11 mg/kg bw) and last group VI was administrated with 1/10 of the LD_{50} (246.23 mg/kg bw). Once daily oral dosing was carried out for 28 days.

Weekly, all animals were weighed to monitor body weight gain. After 28 days of treatment, all survival animals were sacrificed and some vital organs (i.e., brain, heart, kidneys, liver, lungs, spleen, testes and epididymis) were collected and weighed, in addition to certain organs, i.e. liver, kidneys, testes and thyroid glands were taken to histopathological examination. No obvious toxicity signs were noted at all dosage levels used and also there was no significant difference in body weight gain of experimental animals as well as the absolute and relative weights of

different organs did not change significantly in comparison with control group.

No haematological changes after 28 days of treatment were detected in all treated groups in comparison with those in control group at the end of the experiment. Dose dependent significantly increase in serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) activities of the rats treated with 123.11 and 246.23 mg/kg bw of thymol formulation after 28 days of treatment, this in turn, indicate to the ability of tested formulation to produce systemic effect in treated animals. However, there was a significant increase in hepatic malondialdehyde (MDA) level, which used as a marker of lipid peroxidation and this associated with a significant elevation in the hepatic glutathione content (GSH) at the same doses. Also, there was an elevation markedly in the concentrations of creatinine and blood urea nitrogen (BUN) and urea in rats treated only with 246.23 mg/kgbw for 28 days.

However, hypotriglycerdemia associated with reducing in the level of very low density lipoprotein (VLDL) and hypocholesterolemia and (TC/HDL) ratio, whereas, a significant elevation in the level of high density lipoprotein (HDL) was detected in rats treated with thymol formulation at the doses 123.11 and 246.23 mg/kgbw. Meanwhile, glucose levels did not significantly throughout the experimental period.

However, rats treated with thymol formulation at doses of 61.55, 123.11 and 246.23 mg/kgbw had a significant decrease in the concentrations of testosterone (T), follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH). The same trend was noticed only in the level of triiodothyronine (T3) at the same doses, whereas the level of thyroxine (T4) unaffected throughout the experimental period. The extent of histopathological findings of liver, kidney, testes and thyroid gland, was in a dose-dependent manner. The no-observed adverse effect level (NOAEL) for repeated oral dose toxicity study for 28 days is considered to be 30.78 mg/kgbw in male albino rats.

الاسم : تهانى جابر محمدين محمد

''العنوان: دراسات فيزوكيميائية و التأثيرات السامة لبعض مستحضرات المستحلب و تطبيقاتها كمبيدات آفات''

أجريت هذه الدراسة للتعرف على تأثير بعض الزيوت العطرية على بعض الفطريات الممرضة للنباتات مثل الفيوزاريم سولانى و الريزوكتونيا سولانى و الاسكلوروشيم رولفزياى و البوتوريتس سينيريا و الاسبرجلس نيجر و الاسبرجلس فلافس وقد تم تجهيز هذه الزيوت فى صورة مستحضرات سائلة و مستحلبات و مستحضرات W/O/W emulsion . المستحضرات التى تم الحصول عليها اجريت لها بعض الإختبارات للتعرف على مواصفتها مثل قياس درجة الحموضة و التوتر السطحى و القدرة على التوصيل و نقطة الوميض وكذلك اختبار تأثير الطرد المركزى و أيضا اللزوجة و تقدير حجم الجزيئات وذلك لتحديد المستحضر الأمثل للإستخدام حيث تم فحص ثبات المستحضر W/O/W على المدى الطويل من خلال اطلاق اليكتروليت بمرور الوقت وذلك من خلال قياس درجة التوصيل الكهربى.

تم تقييم الكفاءة الابادية للمستحضرات المجهزة الأكثر ثباتا و قد أظهرت كل المستحضرات المجهزة كفاءة عالية مقارنة بالمادة الفعالة فيما يتعلق بالتركيز النصفى المثبط فى كل الفطريات محل الدراسة و قد أظهر مستحضر الثيمول كفاءة عالية ضد الفطريات الممرضة المختبرة ومن ثم فقد تم اختيار هذا المستحضر لإجراء دراسات السميةالمختلفة عليه للتعرف على الآثار الضارة التى قد تنشأ عنه و كذلك درجة الأمان الخاصة به و ذلك من خلال تقدير السمية الحادة عن طريق الفم و أيضا دراسة السمية متعددة الجرعات عن طريق الفم لمدة ٢٨ يوم على ذكور الجرذان البيضاء و قد أشارت النتائج أن قيمة الجرعة النصفية المميته لمستحضر الثيمول (١٠ % مستحلب) عن طريق الفم كانت٢٤٧٦,٣٤ ملجم/كجم من وزن الجسم لذكور الجرذان البيضاء. أما بالنسبة لدراسة السمية متعددة الجرعات عن طريق الفم فقد تم استخدام اثنا و سبعون جرذا قسمت الى ٦ مجموعات كل مجموعة بها ١٢ حيوان. المجموعة الأولى تعتبر مجموعة ضابطة (كونترول) و هذه المجموعة تم تجريعها بمحلول (٠,٩% كلوريد الصوديوم و الجرعة ١ مل/كجم من وزن الجسم) أما المجموعة الثانية فقد تم معاملتها بجرعة تساوى ١/١٦٠ من قيمة الجرعة النصفية المميتة (١٥,٣٩ ملجم/كجم من وزن الجسم) أما المجموعة الثالثة فقد تم معاملتها بجرعة تساوى ١/٨٠ من قيمة الجرعة النصفية المميتة (٣٠,٧٨ ملجم/كجم من وزن الجسم) المجموعة الرابعة تم اعطائها جرعة تساوى ١/٤٠ من قيمة الجرعة النصفية المميتة (٦١,٥٥ ملجم/كجم من وزن الجسم) بينما المجموعة الخامسة تم معاملتها بجرعة تساوى ١/٢٠ من قيمة الجرعة النصفية المميتة (١٢٣,١١ ملجم/كجم من وزن الجسم) أما بالنسبة للمجموعة الأخيرة فقد معاملتها بجرعة تساوى ١/١٠ من قيمة الجرعة النصفية المميتة (٢٤٦,٢٣ ملجم/كجم من وزن الجسم) و كان تجريع الحيوانات مرة واحدة يوميا لمدة ٢٨ يوم و كان يجرى وزن الجسم كل أسبوع للتعرف على معدل النمو فى حيوانات التجارب. بعد ٢٨ يوم من المعاملة تم ذبح الحيوانات كلها و تم تجميع بعض الأعضاء الهامة فى الجسم مثل المخ

و القلب و الكلى و الكبد و الرئة و الطحال و الخصيتين و كذلك البربخ حيث تم وزنها بالاضافة إلى أن هناك أاعضاء مثل الكبد و الكلى و الخصيتين بالإضافة إلى الغدة الدرقية تم أخذها لإجراء الفحص النسيجى المرضى عليها و قد اشارت النتائج إلى عدم ظهور أى أعراض تسمم واضح أثناء المعاملة و كذلك لم تحدث اختلافات معنويا فى أوزان الحيوانات وأيضا فى أوزان الأعضاء سواء كانت الأوزان المطلقة أو النسبية مقارنة بالمجموعة الضابطة و قد أشارت النتائج أيضا إلى عدم ظهور اختلافات معنوية فى معايير صورة الدم المختلفة فى جميع المجموعات المعاملة مقارنة بالمجموعة الضابطة بعد ٢٨ يوم من المعاملة بينما كان هناك زيادة معنوية ملحوظة فى نشاط انزيمات النقل الأمينى و هى الألنين أمينو ترانسفيريز(ALT)والأسبارتات أمينو ترانسفيريز (AST) و كذلك انزيم الفوسفاتيز القاعدى(ALP) فى سيرم الدم مع زيادة الجرعة وذلك عند معاملة ذكور الجرذان البيضاء بالجرعات ١٢٣,١١ و ٢٤٦,٢٣ ملجم/كجم من وزن الجسم من مستحضر الثايمول لمدة ٢٨ يوم و هذا بدوره يشير إلى قدرة المستحضر على إحداث تأثير جهازى فى الحيوانات المعاملة.كذلك كان هناك زيادة معنوية فى مستوى المالون داى الديهيد (MDA) فى أنسجة الكبد كدلالة على أكسدة الليبيدات فى خلايا الكبد قد ارتبط بزيادة معنوية فى محتوى الجلوتاثيون فى أنسجة الكبد عند معاملة الجرذان بنفس الجرعات السابقة. من ناحية أخرى كان هناك زيادة معنوية فى تركيز الكرياتينين و اليوريا نيتروجين فى الدم و اليوريا فى حالة الحيوانات التى عوملت فقط بالجرعة ٢٤٦,٢٣ ملجم/كجم من وزن الجسم من ناحية أخرى حدث نقص فى مستوى الجليسريدات الثلاثية (TG) و الليبو بروتين منخفض الكثافة جدا(VLDL) و أيضا حدث نقص فى نسبة الكوليستيرول (TC) و نقص فى نسبة الكوليستيرول إلى الليبو بروتين عالى الكثافة(TC/HDL-Ch) فى حين حدث زيادة معنوية فى الليبو بروتين عالى الكثافة(HDL) و ذلك فى الجرذان التى تم معاملتها بالتركيزات ١٢٣,١١ و ٢٤٦,٢٣ ملجم/كجم من وزن الجسم بينما لم يحدث تأثير معنوى فى مستوى الجلوكوز. من ناحية أخرى فإن الحيوانات التى عوملت بالتركيزات ٦١,٥٥ و ١٢٣,١١ و ٢٤٦,٢٣ ملجم/كجم من وزن الجسم فقد أظهرت النتائج حدوث نقص معنوى فى تركيز هرمون التستوستيرون(T) و كذلك الهرمون اللوتينى (LH) والهرمون المنشط لحويصلة جراف (FSH) و كذلك حدث نقص معنوى فى مستوى هرمون الترای أيودوثيرونين (T3) فقط عند المعاملة بنفس الجرعات السابقة بينما لم يتأثر هرمون الثيروكسين(T4) خلال فترة المعاملة. أما بالنسبة للفحص النسيجى المرضى للكبد و الكلى و الخصيتين و الغدة الدرقية فقد كانت درجتها تزيد مع زيادة الجرعة التى عوملت بها الحيوانات.

كما أشارت النتائج الى أن مستوى الجرعة الذى لم يحدث أى تأثيرات ضارة ملحوظة (NOEAL)للحيوانات المعاملة بالجرعات المتعددة عن طريق الفم لمدة ٢٨ يوم كانت ٣٠,٧٨ ملجم/كجم من وزن الجسم .

Table of Contents

	Page
Table of Contents	**i**
Abstract	
acknowledgement	
List of Tables	**vii**
List of Figures	**xi**
Introduction and aim Of The Work	**1**
Chapter I	
Review and Literature Survey	
I.1.Essential oils……	**5**
I.1.1. Historical use of essential oils……..	**5**
I.1.2. Current use of essential oils……	**6**
I.1.3. Composition of Essential oils……..	**7**
I.1.3.1. Eucalyptus oil……..	**7**
I.1.3.2.Eugenol……..	**9**
I.1.3.3. Marjoram oil……..	**9**
I.1.3.4. Linalool……..	**10**
I.1.3.5. Thymol……..	**11**
I.1.3.6. Saponins……..	**12**
I.2.Why formulation**?** ……..	**15**
I.3.Composition of pesticides formulations. ……	**15**
I.4. formulation Types. ……..	**17**
I.4.1.Conventional formulations. ……...	**18**
I.4.1.1. Granules (GR) …….	**18**
I.4.1.2. Pellets (P) ……..	**19**
I.4.1.3. Wettable powders (WP) …….	**19**
I.4.1.4. Soluble powders (SP) ……	**20**
I.4.1.5. Dust (D) ……..	**21**
I.4.1.6. Solution concentrates (SL) ……...	**21**
I.4.1.7. Emulsifiable concentrates (EC) ……	**22**
I.4.1.8. Suspension Concentrates (SC) ……	**23**
I.4.2.New generation formulations……	**25**
1.4.2.1. Emulsions……..	**25**
1.4.2. 1. 1. Emulsion formation. ……..	**26**
1.4.2.1.2. Classification of Emulsions……	**26**
1.4.2. 1. 3. Emulsion Stability…….	**28**
1.4.2.1.3.1. Creaming and Sedimentation……	**29**
1.4.2.1.3.2. Flocculation……..	**29**
1.4.2.1.3.3. Coalescence. ……..	**30**
1.4.2.1.3.4. Phase Inversion…….	**30**

1.4.2.1.3.5. Ostwald ripening. ……. **32**
1.4.2.2. Some Application of Emulsions. …… **32**
1.4.2.3. Some formulations of new generation. …… **33**
1.4.2.3.1. Concentrated Emulsion (CE) …… **33**
1.4.2.3.2. Microemulsions (ME) …… **34**
1.4.2.3.3. Suspoemulsions (SE) …… **35**
1.4.2.3.4. Multiple Emulsions (W/O/W) emulsion. **35**
1.4.2.3.4.1. Preparation of Multiple Emulsions. … **36**
1.4.2.3.4.2. Applications of multiple emulsions… **37**
1.4.2.3.4.3. Stability of Multiple Emulsions…… **38**
1.4.2.3.4.4. Multiple emulsion pressure properties…….. **39**
1.4.2.3.4.4.1. Osmotic Pressure…… **39**
1.4.2.3.4.4.2. Laplace Pressure…… **40**
1.4.2.3.4.4.3. Balance between Laplace Pressure and Osmotic Pressure…….. **41**
1.4.2.3.5. Water dispersible granules (WG). ….. **42**
1.4.2.3.6. Controlled-release formulations. …… **43**
1.4.2.3.7. Capsule suspension (CS) …… **44**
1.4.2.3.8. Seed treatments DS, WS, LS, FS…… **44**
1.4.2.3.9. Bioenhancement…… **45**
1.5. Toxicological Effects of thymol substance…… **46**
I.6.Non-Clinical Toxicity Studies…… **53**
I.6.1.Types of Toxicological Studies…… **53**
I.6.1.1. Single dose toxicity Studies. …….. **54**
I.6.1.2. Repeated dose toxicity Studies…… **54**
I.6.2.Pathological tests in non-clinical toxicity studies…… **54**
I.6.2.1.Morphologic Pathology…….. **55**
I.6.2.2.Haematology…….. **56**
I.6.2.3.Clinical Chemistry…….. **56**
I.6.2.4.Lipid Metabolism …….. **60**
I.6.2.4.1.Cholesterol…….. **60**
I.6.2.4.2.High-density lipoprotein (HDL-C) …… **60**
I.6.2.4.3.Low-density lipoprotein (LDL) …… **61**
I.6.2.4.4.Triglyceride**……**…….. **61**
I.6.2.5. Oxidative Stress Status. …… **62**

I.6.2.6.Key events in achieving male fertility…… 64
I.6.2.6.1.Physiology of the Male Reproductive System… 64
I.6.2.6.2.Testosterone. ……. 66
I.6.2.6.3.Gonadotropin hormones……. 66
I.6.2.7.Thyroid Hormone. …… 69

Chapter II
Materials and Methods
I. Materials

I.1. General Chemicals……. 70
I.2. Surface Active Agents. …… 71
I.3. Essential oils…….. 72
I.4. Chemicals for biological activity study. ……. 72
I.5. Chemicals for toxicological study. ……... 73
I.6. Phytopathogenic Fungi……. 74
I.7. Experimental animals. …….. 75

II. Methods

II.1. Preparation of Soluble Concentrate Formulations (SL) …….. 75
II.2. Preparation of Concentrated Emulsion Formulations (EW). 75
II.3. Preparation of double Emulsions Formulations (W/O/W) 76
II.4. Characteristics of Prepared Formulations…… 76
II.4.1. Visual Inspection. …….. 76
II.4.2. Dilution and emulsion Stability. ……. 76
II.4.2.1. Dilution Stability of SL Formulations…… 76
II.4.2.2. Emulsion Stability of EW Formulations…… 77
II.4.3. Storage Stability. ……. 77
II.4.3.1. Stability at 4°C……. 78
II.4.3.2. Stability at 45°C……..… 78
II.4.3.3. Stability at 54°C…… 78
II.4.3.4. Stability at 0°C…… 78
II.4.3.5. Freeze-thaw cycles…… 78
II.4.3.6. Post-Centrifugation Stability…… 79
II.5.Measurement of some physical properties of prepared formulations…… 79
II.5.1. Persistence Foam…….. 79
II.5.2. pH Measurement…… 79
II.5.3. Surface Tension…… 80
II.5.4. Electrical Conductivity…… 80
II.5.5. Flash Point……. 80
II.5.6. Rheological Measurements…… 80

II.5.7. Globule Size……. **81**
II.6. Evaluation of Antifungal Activity…… **81**
II.6.1. Laboratory Experiment…… **81**
II.6.1.1. Effect of Different Concentrations of Tested Essential oils and Their Formulations on The Linear Growth of Some Phytopathogenic Fungi. **81**
II.6.2. Greenhouse Experiment……. **82**
II.6.2.1. Preparation of Pathogen Fungus inculum…… **82**
II.6.2.2. Preparation of Soils and Trays…… **83**
II.6.2.3. Planting…… **83**
II.6.2.4. Experimental Design…… **83**
II.7. Toxicological Studies…….. **84**
II.7.1. Acute Oral Toxicity Study…… **84**
II.7.1.1. Determination of median lethal dose (LD_{50}) value **84**
II.7.1.2. Clinical Observation…….. **85**
II.7.2. Repeated Dose Oral Toxicity Study…… **85**
II.7.2.1. Experimental Design…… **86**
II.7.2.2. Blood Samples Preparation…… **87**
II.7.2.3. Samples Tissue Collection and Storage……. **87**
II.7.2.4. Samples Tissue preparation for histopathological examination…… **87**
II.7.2.5. Clinical Pathology…….. **88**
II.7.2.5.1. Haematological Measurements…… **88**
II.7.2.5.1.1. Erythrocyte Count (RBCs)…… **88**
II.7.2.5.1.2. Blood Haemoglobin concentration. …… **88**
II.7.2.5.1.3. Packed Cell Volume…… **89**
II.7.2.5.1.4. The Wintrobe Erythrocytic Indices…… **89**
II.7.2.5.1.4.1. Mean Corpuscular Volume …… **89**
II.7.2.5.1.4.2. Mean Corpuscular Haemoglobin ……. **89**
II.7.2.5.1.4.3. Mean Corpuscular Concentration……. **89**
II.7.2.5.1.5. White Blood Cells Count…… **90**
II.7.2.5.1.6. Absolute Differential Leukocyte Counts…. **90**
II.7.2.5.1.7. Blood Platelets Count…….. **90**
II.7.2.5.2. Clinical Blood Biochemical Measurements …… **91**
II.7.2.5.2.1. Hepato-cellular health assessment measurements **91**
2.7.2.5.2.1.1. Serum aminotransferases (Alanine and Aspartate) activity…….. **91**
II.7.2.5.2.2. Hepato-biliary Health assessment Measurements… **91**
II.7.2.5.2.2.1. Serum Alkaline Phosphatase activity……... **91**
II.7.2.5.2.2.2. Serum glutamyl-transpeptidase (γ-GT) activity. **92**
II.7.2.5.2.3. Serum Total Protein concentration…….. **92**
II.7.2.5.2.4. Serum Albumin Concentration……. **92**
II.7.2.5.2.5. Calculated Serum Globulin Concentration…… **93**

II.7.2.5.2.6. Serum Albumin / Globulin (A/G) ratio (Calculated)… **93**
II.7.2.5.2.7. Bilirubin Concentration……. **93**
II.7.2.5.2.7. 1.Serum total Bilirubin Concentration……
II.7.2.5.2.7. 2.Serum Conjugated Bilirubin Concentration… **93**
II.7.2.5.3.7. 2.Serum Un-conjugated Bilirubin Concentration **94**
II.7.2.5.2.8. Kidney Function Measurements…… **94**
II.7.2.5.2.8.1. Serum Urea nitrogen concentration…… **94**
II.7.2.5.2.8.2. Serum Creatinine Concentration…… **94**
II.7.2.5.2.8.3. Serum Urea Concentration. (Calculated)…… **94**
II.7.2.5.2.9. Glucose and Lipid Profile assessment.. **95**
II.7.2.5.2.9.1. Plasma Glucose Concentration…….. **95**
II.7.2.5.2.9.2. Serum Triacylglycerol concentration…… **95**
II.7.2.5.2.9.3. Serum Total Cholesterol concentration…. **96**
II.7.2.5.2.9.4. Very-Low density lipoprotein-Cholesterol (VLDL-cholesterol) Concentration. (Calculated)……. **96**
II.7.2.5.2.9.5. Serum High Density Lipoprotein-Cholesterol (HDL-Ch) concentration…….. **96**
II.7.2.5.2.10. Hepatic oxidative Stress measurements…. **97**
II.7.2.5.2.10.1. Hepatic Lipid peroxidation (LPO) …….. **97**
II.7.2.5.2.10.2. Hepatic Total Glutathione (GSH) Content measurements…… **98**
II.7.2.5.2.11. Male Reproductive Function Measurements. **99**
II.7.2.5.2.11.1. Semen Analysis……. **98**
II.7.2.5.2.11.2. Sperm Count……. **98**
II.7.2.5.2.11.3. Sperm Motility…….. **99**
II.7.2.5.2.11.4. Male Reproductive Hormones Measurements…… **99**
II.7.2.5.2.11.4. 1.Serum testosterone level……... **99**
II.7.2.5.2.11.4.2. Serum luteinizing hormone level. **100**
II.7.2.5.2.11.4.3.Serum follicle-stimulating hormone (FSH) **100**
II.7.2.5.2.11.5. Thyroid Function Measurements……. **100**
II.7.2.5.2.11.5.1. Serum Thyroxine (T_4) level……... **101**
II.7.2.5.2.11.5.2. Serum tri-iodothyronine (T_3) Level. **101**
II.7.2.5.2.12. Statistical Analysis…… **102**

Chapter III

Results and Discussion

III.1. Preparation of different types of formulations…… **103**
III.2. Characterization of prepared formulations…… **108**
III.2.1. Visual Inspection…….. **108**
III.2.2. Dilution and Emulsion Stability……..
III.2.3. Foam test……. **109**

III.2.4. Storage Stability…… **109**
III.2.4.1. Storage at 4°C…….. **109**
III.2.4.1. Storage at 45°C…… **109**
III.2.4.1. Storage at 54°C…… **110**
III.2.4.1. Storage at 0°C …….. **110**
III.2.5. Freeze-thaw cycles …….. **110**
III.2.6. Post-Centrifugation Stability…… **110**
III.2.7. Some physical properties of prepared formulations…. **110**
III.2.8. Stability and multiplicity assessment of double emulsions……. **120**
III. 2.9. Globule Size…… **125**
III.3. Antifungal activity…… **127**
III.3.1. Laboratory Experiment…….. **127**
III.3.1.1. Preliminary screening of the antifungal activity of essential oils. ……. **127**
III.3.1.2. Effect of tested essential oils and their formulations on the liner growth of tested phytopathogenic fungi……. **128**
III.3.1.3. Greenhouse experiment. ……. **183**
III.3.1.3.1. Effect of tested formulation on the certain plant growth parameters. …… **183**
III.4. Toxicological Impact of Thymol formulation (10 % EW) on male albino rats. ……. **189**
III.4.1. Acute Oral Toxicity Study…….. **189**
III.4.2. (28-day repeated oral dose toxicity study). …… **195**
III.4.2.1. Body and organ weights change. …… **195**
III.4.2.2. Haematology and Clinical Blood Biochemistry Assessment. …….. **198**
III.4.2.2.1. Haematological Parameters Assessment……. **198**
III.4.2.2.2. Liver Function Assessment. …… **200**
III.4.2.2.3. Kidney function assessment. …… **205**
III.4.2.2.4. Plasma Glucose and lipid profile assessment. … **210**
III.4.2.2.5. Hepatic oxidative stress status assessment… **218**
III.4.2.2.6. Male Reproductive function assessments. … **224**

SUMMARY AND CONCLUSION **235**
REFERENCES **246**
Appendix **310**
ARABIC SUMMARY

List of Abbreviations

Eos	Essential oils
FDA	Food and drug administration
FIFRA	Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act
FFDCA	Federal Food, Drug, and Cosmetic Act
USEPA	United States Environment Protection Agency
FAO	Food and Agricultural Organization
ERMA	Environmental Risk Management Authority
FEMA	Flavor Extract Manufactures Association
GCPF	Global Crop Protection Federation
GRAS	Generally Recognized as Safe
BPPD	Biopesticides and Pollution Prevention Division
ADI	Acceptable daily intake
ai	Active ingredient
GR	Granules
TB	Tablets
P	Pellets
WP	Wettable powders
SP	Soluble Powders
D	Dust
SL	Solution concentrates
EC	Emulsifiable concentrates
SC	Suspension concentrates
O/W	Oil in water
O1/W/O2	Oil –in-water-Oil
W/O	Water in oil
$W_1/O/W_2$	Water-in-oil-water
HLB	Hydrophilic-Lipophilic Balance
CPI	Catastrophic phase inversion
EW or CE	Oil in water emulsion or Concentrated Emulsion
ME	Microemulsions
WG	Water dispersible granules
CS	Capsule suspension
DS	Powder for dry seed treatment
WS	Water- slurryable powder for seed treatment
FS	flowable suspension for seed treatment
MIC	Minimum inhibitory concentration
HDPE	high-density polyethylene
MIC	Minimum inhibitory concentration
B. cinerea	*Botrytis cinerea*
R.solani	*Rhizoctonia solani*
F. solani	*Fusarium solani*
S. rolfsii	*Sclerotium rolfsii*
A .niger	*Aspergillus niger*

A .flavus	*Aspergillus flavus*
EC_{50}	The effective concentration (ppm) that causes 50% growth inhibition.
LD_{50}	Median Lethal dose.
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development
RBC_s	Erythrocyte count
HGb	Haemoglobin concentration
PCV	packed cell volume
MCV	Mean corpuscular volume
MCH	Mean corpuscular haemoglobin
MCHC	Mean corpuscular haemoglobin concentration
WBC_s	Total leukocyte count
NEU	Neutrophils
LYM	lymphocytes
Pt	Platelets count
ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartate aminotransferase
TP	Total Protein
Ab	Albumin
G	Globulin
A/G ratio	Albumin/globulin
T. Bili	Total bilirubin
BC	Conjugated bilirubin
BU	UnConjugated bilirubin
ALP	Alkaline phosphates
γ-GT	Glutamyl-transpeptidase
BUN	Blood urea nitrogen
Cr	Creatinine
MDA	Hepatic malondialdehyde
LPO	Hepatic lipid peroxidation
Glu	Glucose
TAG	Triacylglycerol
TC	Total cholesterol
LDL	Low density-lipoprotein
ILDL	Intermediate low density-lipoprotein
VLDL	Very low density-lipoprotein
HDL-C	High density lipoprotein-cholesterol
StAR	steroidogenic acute regulatory protein
GSH	glutathione
MDA	Malondialdehyde
T	Testosterone
FSH	Follicle-stimulating hormone
LH	Luteinizing hormone
T_4	Thyroxine
T_3	Tri-iodothyronine
H&E	Hematoxylin and eosin