

بررسی اثر تزریق داخل صفاقی عصاره های آبی و آلی به دانه (*Cydonia oblonga*) بر فاکتورهای بیوشیمیایی و خونی موش صحرایی

حسین حمزه ئی^۱، حامد علیزاده^۲، عطیه مهدوی^۳، نرمین جاور^۱

۱-آزمایشگاه تحقیقات فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

۲-دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، زنجان، ایران. Hamedalizadeh1986@yahoo.com

۳-دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه، زنجان، ایران.

۴-دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، گروه میکروبیولوژی، زنجان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۲ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: امروزه گیاهان دارویی کاربردهای وسیعی در حوزه های مختلف به خصوص در کنترل عفونت های میکروبی دارند اما احتمال بروز عوارض جانبی در تمامی مواد دارویی باعث ایجاد تگرگی های زیادی در استفاده از این مواد در حوزه های مختلف پزشکی شده است. این مطالعه در جهت روش ساختن بخشی از این ابهامات و با هدف بررسی اثر تزریق داخل صفاقی عصاره های آبی و آلی به دانه بر فاکتورهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک موش های صحرایی انجام شده است.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۱۵ سر موش صحرایی ماده نژاد اسپیرال به صورت تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند. گروه اول به عنوان گروه شم، گروه دوم به عنوان گروه کنترل و گروه های سوم تا پنجم به عنوان گروه های آزمون به ترتیب با عصاره های آبی، اتانولی و استونی به دانه تیمار گردیدند. تیمار موش ها به مدت ۱۰ روز ادامه یافت سپس موش ها در روز یازدهم با اتر بیهوده و خونگیری از قلب آن ها انجام شد. سپس پارامترهای بیوشیمیایی و خونی آن ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج این مطالعه تغییر چندانی در فاکتورهای بیوشیمیایی نشان نداد. فاکتورهای خونی شامل میزان گلوبول های سفید و جزئی هموگلوبین و درصد هماتوکربت نیز تغییر معنی داری نداشت. میزان پلاکت ها به میزان جزئی در موش های گروه تجربی افزایش نشان داد.

نتیجه گیری: تزریق داخل صفاقی عصاره های به دانه تاثیری بر فاکتورهای بیوشیمیایی و خونی موش ندارد.

واژه های کلیدی: به دانه، خون، فاکتورهای بیوشیمیایی، موش.

مقدمه

ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می شوند. چنان چه میزان طبیعی پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی خون و دامنه تغییرات آن در شرایط طبیعی یا فیزیولوژیک در دسترس باشد بررسی فاکتورهای خونشناسی و بیوشیمیایی می تواند نقش مهمی در تشخیص بیماری های عفونی، خونی و مسمومیت های موجود زنده ایفا کند (۳). گونه های مختلف به (*Cydonia oblonga*) منبع طبیعی بسیار خوبی از فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی هستند که جزء مواد موثره و درمانی گیاهان محسوب می شود. در حقیقت، میوه و دانه به، به عنوان یکی از مهم

تغییرات خصوصیات خون در پاسخ به شرایط زیست محیطی، پاسخی به استرس های محیطی است که می تواند به عنوان یک شاخص مهم زیستی مدنظر قرار گیرد. خون به عنوان یک بافت حیاتی سیال، شاخصی مهم از وضعیت سلامتی، اثرات محیط زیست و سیکل های رشد و تولید مثلی است (۱۰). خصوصیات هماتولوژی در یک موجود زنده می تواند شاخصی از شرایط طبیعی و غیرطبیعی محیط، مدنظر قرار گیرد (۱). خون به عنوان یکی از مهم ترین مایعات بیولوژیک بدن است که تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک،

۴۰ تا ۶۰ درصد و امکان دسترسی مدام به آب و غذا به صورت یکسان نگه داری شدند. قفس های نگهداری در هفته ۳ بار شسته و کف آن تراشه های ظریف چوب ریخته می شد. شیشه های آب روزانه کنترل و تمیز می شد. تغذیه از طریق غذای آماده مخصوص موش های آزمایشگاهی صورت می گرفت. کیت های اندازه گیری میزان کلسترول و تری گلیسیرید از شرکت Elitech و کیت های سایر فاکتورهای بیوشیمیایی از شرکت پارس آزمون ایران خریداری گردیدند. گیاه به در اوایل ماه مهر از باغات حومه شهرستان هشتگرد جمع آوری گردید و دانه های آن جدا و در سایه خشک گردیدند.

تهیه عصاره ها

دانه های به پس از خشک شدن در سایه با آسیاب برقی پودر و ۱۰۰ گرم از آن جدا گانه با آب مقطر، اتانول ۹۹/۶ درصد و استون خالص به نسبت ۱:۱۰ وزنی- ۲۴ حجمی مخلوط گردیدند. مخلوط های حاصل پس از ۲۴ ساعت با گاز استریل ۴ لایه ای صاف و برای جدا کردن ناخالصی های موجود در عصاره ها، با دور ۲۵۰۰ در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ گردیدند (دستگاه سانتریفوژ یخچال دار مدل ROTIX DA ۵۰ HETTICH) برای تغییظ از دستگاه روتاری تقطیر در خلا استفاده شد. عصاره های حاصل با استفاده از فیلترهای میکروبی ۰/۴۵ میکرونی استریل و در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد برای استفاده های بعدی در میکروتیوب های استریل نگه داری شدند (۱۳، ۴).

روش کار

موش ها به صورت تصادفی به ۵ گروه ۵ تایی تقسیم شدند و هر گروه در قفس جدا گانه و در شرایط یکسان نگه داری شدند. گروه اول به عنوان گروه شم هیچ گونه تیماری را دریافت نکردند، گروه دوم به عنوان گروه کنترل با نرمال سالین تیمار شدند، گروه های سوم تا

ترین منابع برای سلامتی انسان است که دارای ویژگی های آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبیالی است. این خصوصیات باعث شده است که از میوه به در طب سنتی به طور گسترده ای استفاده شود. از طرفی مطالعات قبلی نشان داده است به دانه اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی دارد. اخیراً خواص ضد قارچی این گیاه نیز ثابت شده است. اما تاکنون هیچ مطالعه ای در رابطه با اثرات جانبی احتمالی این گیاه انجام نشده است (۷، ۴). مطالعات گذشته در خصوص کاربرد تزریق داخل صفاقی عصاره های به دانه در کنترل عوامل عفونی میکروبی نشان داده است که تزریق داخل صفاقی عصاره های به دانه می تواند باعث کاهش قابل توجه میزان کلونیزاسیون عوامل پاتوژن میکروبی گردد به طوری که این ویژگی توجه بسیاری از پژوهشگران فعال در زمینه مقاومت های دارویی میکرووارگانیسم ها را به خود جلب نموده است (۶، ۵، ۴). حال با توجه به مزیت های گیاهان دارویی از جمله دانه به، در حوزه مقابله با عوامل پاتوژن میکروبی، بررسی اثرات جانبی تزریق داخل صفاقی آن ضروری به نظر می رسد. بنابراین، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر تزریق داخل صفاقی عصاره های آبی، اتانولی و استونی به دانه بر فاکتورهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک موش های صحرایی انجام گرفت.

مواد و روش ها

تهیه مواد مورد نیاز

- ۱۵ سر موش صحرایی ماده نژاد اسپیرال به وزن ۲۵۰- ۲۰۰ گرم از موسسه تحقیقات سرم و واکسن سازی رازی کرج تهیه گردید. حیوانات پس از انتقال به محل انجام آزمایش به منظور سازگاری با محیط جدید یک هفته در شرایط عادی نگه داری شدند. حیوانات در شرایط دمایی ۲۳-۲۵ درجه سانتی گراد و تحت شرایط نوری استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی

LDL توسط دستگاه Prestige 24i Premium و فاکتورهای خونی شامل میزان گلوبول های سفید، گلوبول های قرمز، پلاکت ها، هموگلوبین و درصد هماتوکریت توسط دستگاه اتوآنالیزور Sysmex KX 21N و میزان آنزیم لاكتات دهیدروژناز با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری غیر مستقیم اندازه گیری شد (۲). آنالیز آماری نتایج حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ۱۸ و با آزمون آماری LSD مورد آنالیز قرار گرفت. مقدار معنی دار $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

تحلیل آماری نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره های به دانه بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی موش های صحرایی تاثیری ندارد (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج فاکتورهای بیوشیمیایی در موش های رت در گروه های مختلف مورد مطالعه بر حسب میلی گرم بر دسی لیتر

LDL	HDL	تری گلیسیرید	کلسترول	گلوکز	پارامترها گروه ها
۱۶/۳±۰/۵۷	۴۲/۶±۰/۵۷	۸۸/۳±۱/۱۵	$۶/۵ \times 10^9 \pm ۱۰۵۰۴۰$	۱۶۸/۵±۱۲	شم
۱۵/۶±۰/۵۷	۴۶/۳±۱/۱۵	۸۴/۳±۱/۵۲	$۶/۲ \times 10^9 \pm ۳۸۹۳۹۷$	۱۷۳/۳±۱۴	کنترل
۱۹±۲	۴۸±۵	۷۹/۹±۹/۲۴	$۶/۹ \times 10^9 \pm ۲۸۹۰۲۴$	۱۱۸/۵±۱۱	عصاره آبی
۲۰±۳	۵۰±۱۳	۸۳/۲±۵	$۷/۲ \times 10^9 \pm ۳۲۴۰۵۴$	۱۲۴/۳±۹	عصاره آتانولی
۱۹±۱	۴۶±۱۲	۶۹±۱۴	$۶/۴ \times 10^9 \pm ۱۸۶۵۳۳$	۱۲۱/۶±۸	عصاره استونی

درصد هماتوکریت گروه های آزمون با گروه های کنترل وجود ندارد (جدول ۲).

پنجم به عنوان گروه های آزمون به ترتیب با عصاره های آبی (200mg/ml)، آتانولی (100mg/ml) و استونی (200mg/ml) به دانه تیمار گردیدند. تیمار موش ها به مدت ۱۰ روز و هر روز یک بار در میان سیکل روشناصی (ساعت ۱۲ ظهر) انجام گردید. تیمار بدین ترتیب بود که پس از گرفتن و مهار موش ها ۱ میلی لیتر از تیمار مورد نظر به صورت داخل صفاقی به آن ها تزریق می شد. در روز یازدهم موش ها در اتر بیهوش شدند و سپس با شکافتن قفسه سینه و با کمک سرنگ ۵ میلی لیتری از قلب حیوانات خونگیری به عمل آمد. نمونه های خونی تهیه شده به لوله های هپارینه ریخته و بلا فاصله برای اندازه گیری پارامترهای مورد نظر به آزمایشگاه مربوطه منتقل شد. فاکتورهای بیوشیمیایی شامل گلوکز، کلسترول، تری گلیسیرید، کلسترول HDL و کلسترول

جدول ۱- نتایج فاکتورهای بیوشیمیایی در موش های رت در گروه های مختلف مورد مطالعه بر حسب میلی گرم بر دسی لیتر

آنالیز یافته های حاصل از بررسی فاکتورهای خونی مشخص نمود که تفاوت معنی داری بر میزان گلوبول های سفید، گلوبول های قرمز، پلاکت ها، هموگلوبین و

جدول ۲- نتایج فاکتورهای خونی در موش های رت در گروه های مختلف مورد مطالعه

درصد هماتوکریت	هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	پلاکت (در هر میکرولیتر)	گلوبول قرمز (در هر میکرولیتر)	گلوبول سفید (در هر میکرولیتر)	پارامترها گروه ها
۳۶/۲±۰/۲۵	۱۳/۱±۰/۲	$۴۹۸ \times 10^3 \pm ۳۶۰۵$	$۶/۵ \times 10^9 \pm ۱۰۵۰۴۰$	$۲۳/۱ \times 10^9 \pm ۱۶۸۰$	شم
۴۰/۱±۰/۱۱	۱۳/۴±۰/۲	$۴۴۶ \times 10^3 \pm ۷۲۱۱$	$۶/۲ \times 10^9 \pm ۳۸۹۳۹۷$	$۲۰/۵ \times 10^9 \pm ۱۵۷۰$	کنترل
۳۹/۶±۰/۸۸	۱۲/۹±۰/۵	$۵۶۸/۱ \times 10^3 \pm ۱۳۶۵^*$	$۶/۷ \times 10^9 \pm ۳۱۰۰۵۴$	$۲۰ \times 10^9 \pm ۳۴۵۶$	عصاره آبی
۳۸/۴±۰/۶۶	۱۳±۰/۲	$۵۸۰/۵ \times 10^3 \pm ۱۲۹۹^*$	$۶/۹ \times 10^9 \pm ۱۶۶۵۳۳$	$۲۱ \times 10^9 \pm ۴۸۷۹$	عصاره آتانولی
۳۸/۸±۰/۳۳	۱۳/۲±۰/۰۵	$۶۱۲/۶ \times 10^3 \pm ۱۳۸۰^*$	$۷/۱ \times 10^9 \pm ۳۵۱۱۸۸$	$۲۱ \times 10^9 \pm ۵۵۶$	عصاره استونی

*نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه های کنترل

بحث و نتیجه گیری

زخم های سوختگی ناشی از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دست یافتند (۷). با توجه به این موارد و اهمیت اثرات دیگر عصاره های به دانه بر فاکتورهای خونی و بیوشیمیابی در این مطالعه اثر تزریق داخل صفاقی عصاره های آبی و آلی به دانه در موش های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری یافته های مربوط به پارامترهای بیوشیمیابی که در جدول ۱ نشان داده شده است مشخص نمود که هیچکدام از عصاره های مورد استفاده تاثیر معنی داری بر میزان گلوكز خون موش ها نشان ندادند. میزان کلسترول و میزان تری گلیسرید نیز هیچ تغییری در گروه های تیمار شده با عصاره ها در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. تغییر معنی داری در میزان کلسترول بد (HDL) و میزان کلسترول خوب (LDL) نیز ملاحظه نشد. در مجموع تحلیل نتایج حاصل از بررسی اثر عصاره های به دانه بر فاکتورهای بیوشیمیابی ذکر شده نشان می دهد که عصاره های به دانه تاثیر مخربی بر پارامترهای بیوشیمیابی ندارند و لذا نگرانی های موجود در این زمینه برطرف می شود. تا کنون اثر تزریق داخل صفاقی عصاره های به دانه بر فاکتورهای بیوشیمیابی خون موش های صحرایی انجام نشده است اما مطالعات مشابهی در این زمینه صورت گرفته است. تحقیقات اخیر روی مکمل های غذایی و گیاهان دارویی مورد استفاده در طب سنتی حاکی از آن است که ترکیبات موجود در آن ها از جمله فیرهای غذایی، ویتامین ها، فلاونوئیدها، استرون ها و دیگر ترکیبات آنتی اکسیدانی، علاوه بر کاهش چربی خون می توانند در مهار اکسیداسیون LDL و حذف رادیکال آزاد اکسیژن نقش داشته و با تاثیر بر سیستم ایمنی و بهبود اختلالات متابولیسمی بدن در بهبود این بیماری احتمالاً موثر باشند (۹، ۱۱). نتایج مربوط به تاثیر عصاره های به دانه بر فاکتورهای هماتولوژیک موش صحرایی که در جدول ۲ ذکر شده است نشان داد که میزان گلوبول

طی چند دهه اخیر در اکثر کشورها میزان استفاده مردم از درمان های جایگزین و مخصوصاً گیاه درمانی و مکمل های غذایی جهت بهبود انواع بیماری ها از جمله زیادی چربی خون، افزایش یافته است. یکی از مشکلات مهم پیش روی پزشکان و همچنین مصرف کنندگان گیاهان دارویی عدم اطلاعات کافی در زمینه سلامتی دارو و تأثیر آن بر بیماری می باشد (۱۴). خوشبختانه طی ۳۰ سال گذشته تحقیقات بسیار گسترده ای روی اثربخشی گیاهان دارویی مورد استفاده در طب سنتی انجام شده که کارآیی یا عدم کارآیی آنها را به اثبات می رساند (۸). اگر چه گیاهان دارویی اثرات بسیار سودمندی را بر بدن می توانند داشته باشند ولی این بدان معنی نیست که توصیه ای به مصرف آن ها باشد. گیاهان دارویی می توانند تاثیر گسترده ای بر متابولیسم بدن یا متابولیسم داروهای مصرفی توسط بیماران داشته و می توانند موجب بیماری ثانویه شده یا بیماری ثانویه را تشدید و یا تداخل دارویی خطروناک ایجاد نماید. لذا توصیه می شود بیماران بدون مشورت پزشک معالج از هیچ گونه گیاه دارویی یا فرآورده های گیاهی جهت درمان بیماری خود استفاده نکنند (۹).

گیاه به نیز در طب سنتی به عنوان یک یک گیاه دارویی در بسیاری از موارد مورد استفاده قرار می گیرد. مهم ترین اثرات دارویی گزارش شده برای این گیاه عبارت است از: قابض، مقوی قلب، ضد نفخ، نرم کننده ی داخلي و خارجي - که بیشتر به دانه به مربوط می شود- ادرارآور، بنداورنده خون ریزی، موثر در درمان بیماری های سینه ای و مقوی عمومی بدن. (کتاب صالحی). از طرفی در سال های اخیر خاصیت ضد عفونی دانه های به نیز بر انواع باکتری های گرم مثبت و منفی ثابت شده است. علیزاده و همکاران همچنین در مطالعه ای که در سال ۱۳۹۱ انجام شد به اثر ترمیمی عصاره های به دانه بر

همکاران نیز در سال ۱۳۸۸ نشان دادند که عصاره گیاه تاج خروس می‌تواند باعث کاهش میزان چربی خون در موش‌های صحرایی شود.^(۳)

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره‌های به دانه اثر مخربی بر روی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی موش رت ندارند و می‌توان تا حدودی به عدم جود اثرات جانبی و عوارض ناخواسته این گیاه دارویی امیدوار شد.

تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان مقاله از کارکنان مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی زنجان و آقای احسان نوری کمال تشکر و قدردانی را به عمل می‌آورند.

های سفید خون، گلوبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین در گروه‌های تیمار شده با عصاره‌های به دانه تفاوت معنی داری با گروه‌های کنترل نداشته است. اما میزان پلاکت‌ها در گروه‌های تیماره شده با عصاره‌آبی، اتانولی و استونی به دانه افزایش یافته است. در مطالعه‌ای که توسط نقش و همکاران در سال ۱۳۹۰ انجام شد نتایج نشان داد که تزریق داخل صفاقی نانوذرات نقره در غلظت ۴۰۰ ppm باعث افزایش شدید گلوبول‌های سفید خون می‌شود^(۱۲). بابایی نژاد و همکاران در سال ۱۳۹۲ اثر عصاره میخک را بر پارامترهای خونی در ماهی بررسی کردند و دریافتند که عصاره میخک می‌تواند باعث افزایش میزان گلوبول‌های قرمز خون می‌شود^(۱). قینی و

منابع

- ۱-بابایی نژاد، لیلا، بحر کاظمی، معصومه، سعیدی، علی اصغر، خان زمانی محمدی، مهدی. ۱۳۹۲. بررسی اثرات دو ماده بی‌هوشی لیدوکائین، سدیم بی‌کربنات و ماده‌ی بی‌هوشی گیاهی عصاره گل میخک بر پارامترهای خونی و میزان هورمون کورتیزول در مولدهای نر ماهی سفید دریای مازندران. فصلنامه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی دوم: ۲۹-۲۲.
- ۲-رضویان، سید محمد حسین، صفرپور، الهام، روشنایی، کامبیز، یزدیان، محمدرضا، حیدریه، نسرین. ۱۳۸۹. بررسی تغییرات برخی پارامترهای بیوشیمیائی و هماتولوژیک در خون موش‌های صحرائی نژاد ویستار به موازات مصرف خوراکی نانوذرات نقره. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل. دوره ۱۳، شماره ۱، ۲۷-۲۲.
- ۳-قینی، محمد حسین، روغنی، مهرداد، موسوی، سید قاسم، انصاری، فربیا، شرایلی، مریم. ۱۳۸۸. بررسی اثر مصرف خوراکی گیاه تاج خروس در کاهش قند و چربی خون در موش صحرایی ماده. دانشور. دوره ۱۶، شماره ۲۹-۸۵.
- ۴-Alizadeh, H., Rahnema, M., Nasiri Semnani, Sh., Ajalli, M. (2014). Synergistic antifungal effects of quince leaf's extracts and silver nanoparticles on *Aspergillus niger*. Journal of Applied Biological Sciences, 8(3); 10-13.
- ۵-Alizadeh, H., Rahnema, M., Nasiri Semnani, Sh., Ajalli, M., Rostamkhani, R. (2013). Effect of *Cydonia oblonga* seed's extract and silver nanoparticles on wound healing in mice infected with *Staphylococcus aureus*. Journal of Zabol University of Medical Sciences and Health Services, 5(1);32-38.
- ۶-Alizadeh, H., Rahnema, M., Nasiri Semnani, Sh., Hajizadeh, N. (2013). Detection of compounds and antibacterial effect of quince (*Cydonia oblonga miller*) extracts in vitro and in vivo. Journal of Biologically Active Products from Nature, 3(5-6); 303-309.
- ۷-Hou, L., Zhou, B., Yang, L., Liu, Z.L. (2004). Inhibition of human low density lipoprotein oxidation by flavonols and their glycosides. Chem. Phys. Lipids, 129; 209-219.
- ۸-Jamalzadeh, H.R., Keyvan, A., Ghomi, M., Oryan, S. (2008). An assessment of

hematological and serum biochemical indices in *Salmo trutta caspius*. Iranian Scientific Fisheries Journal, 17(3), 47-54.

9.Mennen, L.I., Sapinho, D., Bree, A., Arnault, N., Bertrais, S., Galan, P., Hercberg, S. (2004). Consumption of foods rich in flavonoids is related to a decreased cardiovascular risk in apparently healthy French women. *J. Nutr.*, 134; 923-926.

10.Mohammadnejad Shamoushaki, M. (2013). The determination of some hematological parameters and blood serum enzymes in *Cyprinus carpio*, *Hypophthalmichthys molitrix* and *Ctenopharyngodon idella*. *Journal Animal Physiology and Development*, 6(2); 35-40. (Persian)

11.Naghsh, N., Mashayekh, A.M., Khodadadi, S. (2013). Effects of silver nanoparticle on lactate dehydrogenase activity and histological changes of heart tissue in male wistar rats. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 2(4); 303-307.

12.Shapouri, R., Nasiri Semnani, Sh., Alizadeh, H. (2013). Antimicrobial effect of *Xhantaria elegans* sp. extracts on *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* in vitro and in animal models. *Journal of Zabol University of Medical Sciences and Health Services*, 5(3); 39-46.

13.Venkateswara, R.J., (2006). Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86; 78-84.