دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره دوم، شماره اول، بهار ۹۳
http://jair.gonbad.ac.ir

مطالعه اثر مکمل‌های ویتامین E سلنیوم و C بر فعالیت دفاع آنتی اکسیدانی و شاخص پراکسیداسیون لیپید قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه با غلظت تحت حاد دیازینون

محسن علی[۱]، علیرضا میرواقفی[۲]، هادی پورباقر[۳]، فرزاد اسدی جمنانی[۴]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[۲] دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع‌طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[۳] استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع‌طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[۴] استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ ارسال: ۹۳/۱/۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۶

چکیده

در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و سطح پراکسیداسیون لیپید طی استرس اکسیداتیو ایجاد شده در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در مواجهه با دیازینون و تأثیر ویتامین E سلنیوم و C بر کاهش اثرات نامطلوب آن مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه تعداد ۶۰ قطعه ماهی قزل آلا با میانگین وزنی ۱۸±۱۲۱ گرم به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند که شامل گروه‌های شاهد، تحت تیمار دیازینون (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر)؛ تحت تیمار ویتامین C (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) + دیازینون (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر)؛ تحت تیمار مکمل ویتامین E سلنیوم (سلنیوم ۰/۵ میلی‌گرم، ویتامین E ۱۰۰ میلی‌گرم، در هرکیلوگرم از جیره) + دیازینون(۰/۱ میلی گرم در لیتر) بودند. نمونه‌برداری از سرم خون ماهی‌ها در انتهای هفته دوم و چهارم جهت سنجش آنزیم‌های سوپر اکساید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، سطح آنتی اکسیدان کل (TAC) و شاخص مالون دی‌آلدهاید (MDA) صورت گرفت. طبق یافته‌ها، فعالیت آنزیم SOD در ماهی‌های تحت تیمار دیازینون (فاقد ویتامین) بطور معنی‌دار (P<۰/۰۵) پایین‌تر از گروه شاهد بود، ولی در گروه‌های ویتامین C و E سلنیوم در حد گروه شاهد حفظ شد. همچنین فعالیت آنزیم CAT به‌ترتیب در گروه‌های دیازینون (فاقد ویتامین)، ویتامین C، ویتامین E

*نویسنده مسئول: mani_a777@yahoo.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

سلنیوم نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار (P< ۰/۰۵) داشت، ولی این افزایش در گروه ویتامین E سلنیوم اختلاف کمتری با گروه شاهد داشت. همچنین ظرفیت آنتی اکسیدان کل TAC به‌ترتیب درگروه‌های ویتامین E سلنیوم و دیازینون (فاقد ویتامین) در بالاترین و پایین‌ترین سطح قرار داشت. از طرفی سطح شاخص MDA در گروه دیازینون (فاقد ویتامین) نسبت به گروه‌های دیگر بالاتر بود، درحالی که در گروه‌های ویتامین E سلنیوم و C تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. نتایج این پژوهش نشان داد مکمل‌های ویتامین E سلنیوم و C هر دو به عنوان آنتی اکسیدان در فرایند حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی از متابولیت‌های دیازینون عمل می‌کنند، ولی مکمل ویتامین E سلنیوم از توان آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به ویتامین C برخوردار بود. بطور کلی استفاده از مکمل‌های ویتامین مذکور در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان جهت افزایش دفاع آنتی اکسیدانی و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو طی مسمومیت ناشی از سموم ارگانوفسفره موثر به نظر می‌رسد.

***واژگان کلیدی*: اکسیژن فعال، استرس اکسیداتیو، آنزیم، رادیکال آزاد**

مقدمه

حضور سم ارگانوفسفره دیازینون در بسیاری از رودخانه‌های شمال و جنوب کشور، از مقادیر حاد (بیش از ۱میلی‌گرم در لیتر) در روزهای اولیه مصرف آن در فعالیت‌های مختلف کشاورزی تا مقادیر تحت حاد آن (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) پس از گذشت چندین ماه طی مطالعات متعدد صورت گرفته در سال‌های گذشته، تایید شده است. از جمله این منابع آبی می‌توان به صفارود، تجن، بابلرود، هراز، سیاهرود، قره‌سو، نکارود، گرگانرود، اترک واقع در استان‌های مازندران، گلستان و رودخانه‌های شاهپور، دالکی، مند در استان بوشهر اشاره کرد (Shayeghi *et al*., 2001; Shayeghi *et al*., 2007).

بطورکلی ماهی‌ها طی سه مسیر آبشش‌ها، پوست و دهان در مواجهه با دیازنیون قرار می‌گیرند که بعد از آن این سم به سرعت توسط خون به ارگان‌های دیگر از جمله کبد و کلیه رسیده و دستخوش فرآیندهای تجزیه‌ای و متابولیسم می‌شود ولی بخشی از دیازنیون طی فرآیندهای مذکور دچار تغییر شکل ساختاری و شیمیایی شده در پیکره موجود باقی می‌مانند (Mckim *et al*., 1994). فرآیند متابولیسم دیازینون در سلول‌های میکروزومال بافت کبـد قزل‌آلای رنگین‌کمان با تولید متابولیت‌های هیدروکسی پریمیدین، هیدروکسی دیازینون و هیدروکسی متیل دیازینون که دارای عامل هیدروکسیل هستند، همراه است (Fujii and Asaka, 1982; Keizer *et al*., 1995). در متابولیت‌های مذکور، یک گروه قطبی فعال مثل (OH^-) در مولکول ایجاد می‌شود که توانایی تشکیل ترکیبات مزدوج برای دفع شدن را داشته، از طرفی همین ترکیبات مستعد تبدیل شدن به رادیکال‌های آزاد اکسیژن شامل هیدروکسیل و سوپراکساید آنیون بوده که توانایی حمله و آسیب به اجزاء مختلف سلولی را داراست (Fujii and Asaka, 1982).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

نمونه بارز این آسیب‌ها واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون لیپیدها است که طی آن رادیکال‌های آزاد، الکترون را از لیپیدهای غشاء سلولی می‌ربایند و موجب آسیب به غشاء سلولی می‌شوند، که این روند به شکل یک واکنش زنجیره‌ای ادامه می‌یابد (Pereira *et al.*, 1995). از جمله محصولات این فرآیند تولید مالون دی‌آلدهاید (MDA) است که رابطه مستقیم با صدمات وارده به سلول در طی القاء استرس اکسیداتیو داشته و می‌تواند در ارزیابی این آسیب‌ها کمک شایانی نماید (Doba *et al*., 1985).

از طرفی ماهی‌ها نیز دارای مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که از جمله آن‌ها می‌توان به آنزیم‌های اختصاصی دفاع آنتی اکسیدانی شامل سوپر اکساید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) اشاره کرد که به همراه تعداد دیگری از آنزیم‌ها مجموعه‌ای از دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی را تشکیل می‌دهند و نقش حذف رادیکال‌های آزاد را بر عهده دارند (Halliwell and Gutteridge, 1990). در این میان آنزیم سوپراکساید دیسموتاز (SOD) اولین خط دفاعی علیه استرس‌های اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های سوپر اکساید آنیون (O_2^-) محسوب می‌شود (Mc Cord and Fridovich, 1969). از طرفی آنزیم کاتالاز (CAT) نیز جزء آنتی اکسیدان‌های معمول در سلول موجودات هوازی است و مکانیسم عمل آن تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن است (Aebi, 1984). با وجود تمامی مکانیسم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی مذکور ظرفیت سلول‌ها برای تولید این گونه آنزیم‌ها محدود بوده و در معرض قرارگیری ماهیان با مقادیر تحت حاد انواع آلاینده‌ها در طولانی مدت حیات آن‌ها را بطور جدی تهدید می‌کند. در چنین شرایطی ترکیبات آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی که از جمله مهم‌ترین آن‌ها ویتامین هستند اثرات ضد اکسیداتیو خود را با جلوگیری از شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد و همچنین مهار آن‌ها اعمال می‌کنند (Attia and El- Demerdash, 2002).

ویتامین E یک ویتامین محلول در چربی و یک آنتی اکسیدان اصلی و مهم در جلوگیری از فرآیند پراکسیداسیون لیپید است که با استقرار در غشاء سلولی وظیفه حفاظت این ساختار مهم در برابر رادیکال‌های آزاد پراکسیل (ROO^-) تولید شده از اکسیداسیون چربی‌ها را بر عهده دارد (Di Giulio and Meyer, 2008).

از جمله عوامل آنتی اکسیدانی دیگر ویتامین C یا اسید آسکوربیک است که تأمین مقادیر مورد نیاز این ویتامین در اکثر ماهی‌ها، وابسته به دریافت آن از منابع غذایی است (Moreau *et al*., 1999). طی پژوهش‌های صورت گرفته، افزودن ویتامین C به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند سبب خنثی سازی و احیای رادیکال‌های آزاد O_2^-، OH^- و H_2O_2 شده و از آسیب‌های حاصل از استرس‌های اکسیداتیو جلوگیری به عمل آورد (Verlhac and Gabaudan, 1998).

علاوه بر ویتامین‌ها، سلنیوم از جمله عناصری است که می‌تواند نقش مؤثری در فرآیند حذف رادیکال‌های آزاد ایفا کند. به نوعی سلنیوم را جزو آنتی اکسیدان‌های غیر مستقیم نامیده‌اند. چرا که نقش

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

یک کوفاکتور را برای آنتی اکسیدان گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) ایفاء می‌کند. به عبارتی این عنصر به عنوان یک میکرونوترنیت در تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) با آنزیم GPX همکاری می‌کند. بدین صورت که محتویات آنزیمی GPX را افزایش داده و سلول‌ها را از آسیب‌های جدی ناشی از عدم تجزیه هیدروژن پراکسایدها محافظت می‌کند (Bell *et al*., 1986). از طرفی ترکیب ویتامین E و سلنیوم به عنوان یک ماده غذایی، مکمل یکدیگر عمل کرده و در فعالیت‌های خود عمل محافظت از غشاهای بیولوژیک در برابر اکسیداسیون لیپیدها را بر عهده دارند (Bell *et al*., 1987). همچنین این دو عامل آنتی اکسیدانی (E و سلنیوم) اثر هم افزایی در مسمومیت زدایی حاصل از هیدرو پرواکسایدها ایفا می‌کنند (Bell *et al*.,1985).

بطورکلی تمامی عوامل آنتی اکسیدانی موجود در بدن موجود زنده چه آنزیم‌های درون سلولی و چه ترکیبات مغذی آنتی اکسیدانی (عوامل غیر آنزیمی) همگی تحت عنوان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) نامیده می‌شوند (Mahfouz *et al*., 2009). به‌عبارتی این فاکتور بیوشیمیایی بیانگر میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کل موجود زنده جهت از بین بردن رادیکال‌های آزاد است (Miller *et al*., 1993).

طبق مطالعات صورت گرفته میزان بهینه سلنیوم مورد نیاز در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان معادل ۰/۱۵-۰/۳۸ میکروگرم در هر گرم (که معادل ۰/۱۵-۰/۴ میلی‌گرم در هر کیلوگرم) از جیره در شرایط طبیعی پرورش در نظر گرفته شده است (Hillton *et al*.,1980). از طرفی میزان ویتامین E مورد نیاز در جیره قزل‌آلا بر طبق پژوهش‌های قبلی صورت گرفته معادل ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره است (Watanabe *et al*., 1981). همچنین مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره برای تیمارها با توجه به مطالعات و پژوهش‌های قبلی انجام شده توسط ورلهاک و همکاران (Verlhac *et al*., 1998) تعیین شد.

اما آن‌چه به عنوان ضرورت طرح مذکور مطرح می‌باشد این است که، اکوسیستم‌های آبی هر چند به عنوان محیط هدف برای سموم کشاورزی مد نظر نیستند، ولی نتایج مطالعات پایشی حاکی از حضور آلاینده‌هایی مثل دیازینون در آب‌های سطحی است. در چنین شرایطی با توجه به اینکه بسیاری از منابع آبی سطحی مورد استفاده مزارع پرورشی، می‌تواند حاوی سموم پر مصرفی مثل دیازینون باشد این امر می‌تواند برای ماهی‌های در معرض، تهدیدی جدی محسوب شود. هدف این مطالعه بررسی و مقایسه اثرات دو ماده آنتی اکسیدانی با قابلیت افزوده شدن به جیره این گونه پرورشی جهت کاهش تأثیرات نامطلوب رادیکال‌های آزاد حاصل از متابولیسم دیازینون بر مکانیسم‌های بیوشیمیایی قزل‌آلای رنگین‌کمان است.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، از دیازینون به شکل امولسیون ۶۰ درصد، به صورت محلول در زایلون ۴۰ درصد استفاده شد. سپس برای تهیه غلظت تحت حاد (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) دیازینون، محلول استوک ppt ۱۰دیازینون تهیه شد (Koprucu *et al*., 2006). این مقدار از دیازینون بر اساس ۰/۱ میزان LC_{50} آن در نظر گرفته شد (Eisler, 1986). از مکمل ویتامین، ویتامین E و سلنیوم به شکل محلول خوراکی یک لیتری حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم سلنیوم (سلنیت سدیم) و ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین E در هر لیتر استفاده شد. ویتامین C مورد نیاز به شکل پودر پوشش‌دار و پایدار در آب با ساختار شیمیایی ال- آسکوربات-۲- فسفات تهیه شد. همچنین از دستگاه اسپکتروفتومتر Unico مدل UV-2100، حمام بخار یا بن ماری، سانتریفیوژ Genofuge مدلM۱۶ در طی فرآیند سنجش استفاده شد.

مشخصات ماهی‌های مورد مطالعه، شرایط نگهداری و تیماربندی آن‌ها: تعداد ۶۰ قطعه ماهی قزل آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۱۸±۱۲۱ گرم و میانگین طولی۱/۶±۲۲/۹ سانتی‌متر به ۴ مخزن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری منتقل شدند. دوره آداپتاسیون ماهی‌ها، ۷ روز در نظر گرفته شد. روزانه به میزان ۱۰درصد از حجم کل مخازن تعویض آب صورت می‌گرفت. میانگین دما در کل دوره ۱±۱۲/۵ درجه سانتی‌گراد، میانگین pH آب معادل ۰/۱±۷/۸، میزان اکسیژن محلول معادل۰/۵± ۸ و میزان سختی آب ۱۶±۲۰۵ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم اندازه‌گیری شد. جهت تیماربندی، ماهی‌ها به ۴ گروه ۱۵ قطعه‌ای شامل گروه‌های: کنترل، تحت تیمار دیازینون (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر)، تحت تیمار ویتامین C به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره + دیازینون (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر)، گروه تحت تیمار ویتامین E سلنیوم (سلنیوم ۰/۵ میلی‌گرم + ویتامین E ۱۰۰ میلی‌گرم، در هر کیلوگرم از جیره) + دیازینون (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) تقسیم شدند. گروه‌های مذکور به مدت چهار هفته تحت آزمایش قرار گرفتند و میزان جیره دریافتی معادل ۲٪ وزن بدنی آن‌ها در نظر گرفته شد. نمونه‌برداری نیز در انتهای هفته‌های دوم و چهارم صورت گرفت.

تهیه سرم خون از نمونه‌ها: به منظور بیهوشی ماهی‌ها، از محلول پودر گل میخک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. خون‌گیری توسط سرنگ ۲ سی سی از ناحیه کمان خونی ساقه دمی انجام شد. جهت جداسازی سرم از سانتریفوژ با تنظیم (۴۵۰۰ دور در ۱۵ دقیقه) استفاده شد. سپس نمونه‌ها بلافاصله به فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند.

سنجش آنزیم سوپراکساید دیسموتاز (SOD): جهت سنجش فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز، فرآیند اتواکسیداسیون پیروگالول (Pyrogallol) در حضور هیدروژن پراکساید (H_2O_2) مورد بررسی قرار گرفت. در این فرآیند از سطح آنزیم سوپراکساید دیسموتاز موجود در سرم طی اتواکسیداسیون پیروگالول

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

کاسته می‌شود، سپس با توجه به کاهش جذب نوری در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر این سنجش صورت گرفت (Marklund, 1974).

سنجش آنزیم کاتالاز (CAT): جهت سنجش آنزیم کاتالاز، سرم خون نمونه‌ها با محلول پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به مدت ۱۰ دقیقه (در دمای اتاق) در مجاورت هم قرار گرفتند. سپس از محلول آمونیوم مولیبدات جهت توقف فرآیند اکسیداسیون جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. بر اساس این روش هر چقدر میزان فعالیت این آنزیم در سرم بیش‌تر باشد جذب نوری نمونه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل در طول موج ۴۱۰ نانومتر کاهش می‌یابد (Goth, 1991).

روش سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (TAC): جهت سنجش سطح آنتی اکسیدان کل از روش FRAP (Ferric-Reducing Ability of Plasma Assay) استفاده شد (Koracevic *et al*., 2001). در این روش محلول استاندارد شده کمپلکس Fe-EDTA با پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در طی واکنش فنتون (Fentone) رادیکال‌های هیدروکسیل تولید کرده، سپس اکسیژن فعال حاصله موجب آزاد شدن تیوباربیتوریک اسید (TBA) که یک اسید واکنش‌پذیر است، می‌شود. سپس با توجه به مجموع آنتی اکسیدان‌های موجود در نمونه سرم مورد آزمایش تولید (TBA) مهار شده، به‌طوری که کاهش جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر به دنبال کاهش تولید رنگ صورت می‌گیرد.

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپید (LPO) با استفاده از شاخص مالون دی آلدهاید (MDA): سنجش شاخص (MDA) بر اساس میزان مهار تیوباربیتوریک اسید (TBA) توسط MDA موجود در سرم صورت می‌گیرد. بطوری که هر چقدر سطح MDA افزایش یابد میزان مهار (TBA) بیشتر شده در نتیجه، رنگ کمتری در محلول تولید می‌شود و جذب نوری نیز کاهش می‌یابد (Ledwozyw *et al*., 1986).

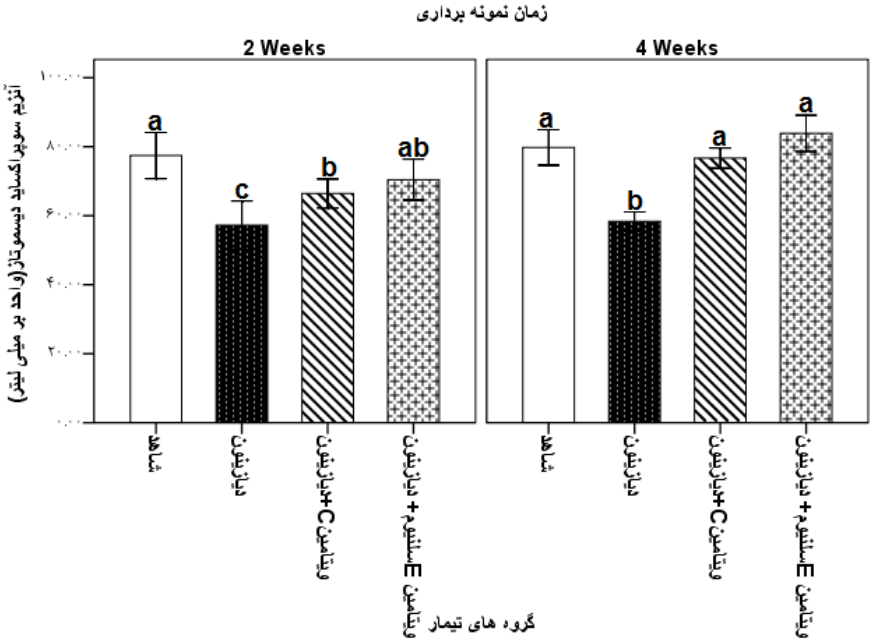
تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری به روش آنالیز واریانس یک طرفه و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون آماری توکی (Tukey) در سطح اطمینان ۹۵ درصد و سطح معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) انجام شد. میانگین داده‌ها (Mean±S.D) با استفاده از نمودار میله‌ای و با نرم افزار EXCEL 2007 رسم و اختلاف بین تیمارها با حروف الفبای انگلیسی نشان داده شد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

نتایج

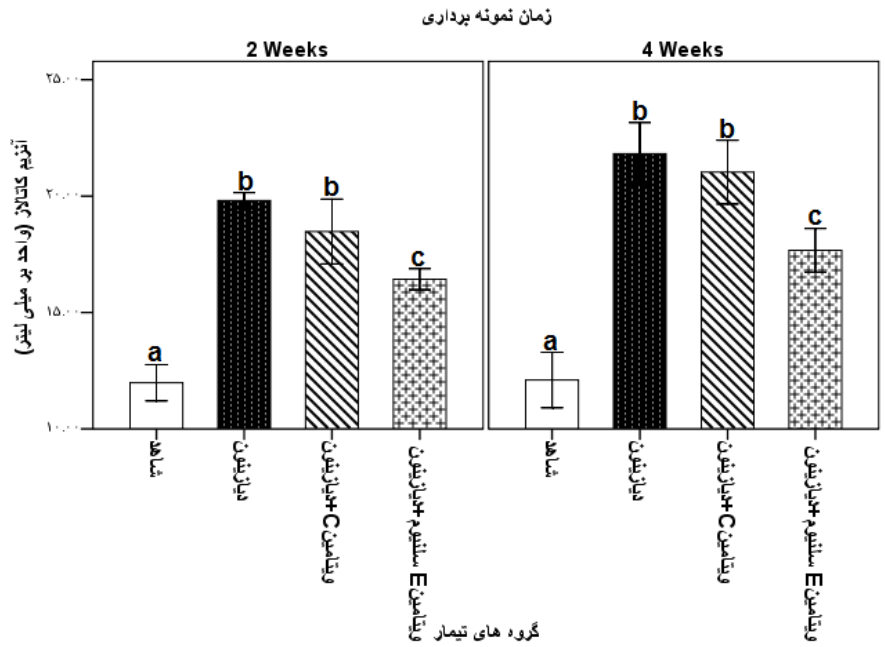
بررسی سطح فعالیت آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز (SOD): نتایج بدست آمده از تأثیر دیازینون بر سطح فعالیت آنزیم SOD در انتهای هفته دوم و چهارم نشان داد که سطح این آنزیم در ماهی‌های تحت تیمار دیازینون (فاقد و یتامین) نسبت به گروه شاهد دارای کاهش معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) (شکل ۱). از طرفی، ماهی‌های تحت تیمار ویتامین C و دیازینون سطح فعالیت SOD در هفته دوم را در سطح بالاتری از گروه دیازینون (فاقد ویتامین) نشان دادند. علاوه بر این در گروه مذکور در هفته چهارم سطح SOD در سطح گروه شاهد حفظ شد. همچنین سطح فعالیت SOD در ماهی‌های تحت تیمار ویتامین E سلنیوم و دیازینون تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نداشت (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه تغییر سطح فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز (SOD) در سرم خون ماهی‌های گروه‌های شاهد، تحت تیمار دیازینون، ویتامین C و دیازینون، ویتامین E سلنیوم و دیازینون، در انتهای هفته‌های دوم و چهارم. تعداد ۵ قطعه ماهی از هر گروه نمونه‌برداری شدند. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) و حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

بررسی سطح فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): طبق یافته‌ها، تأثیر دوز تحت حاد دیازینون در هفته دوم و چهارم موجب افزایش سطح فعالیت CAT در گروه تحت تیمار دیازینون دیازینون (فاقد ویتامین) نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵) (شکل۲). از طرفی ماهی‌های تحت تیمار ویتامین C همچون گروه فاقد ویتامین و در معرض سم با افزایش معنی‌دار CAT نسبت به گروه شاهد مواجه شدند. به عبارتی دیگر بین گروه‌های دیازینون و ویتامین C تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (شکل۲). ولی ماهی‌های تحت تیمار ویتامین E سلنیوم و دیازینون، کاهش معنی‌دار سطح CAT نسبت به دو گروه دیگر در معرض دیازینون را نشان دادند (P<۰/۰۵) (شکل۲).

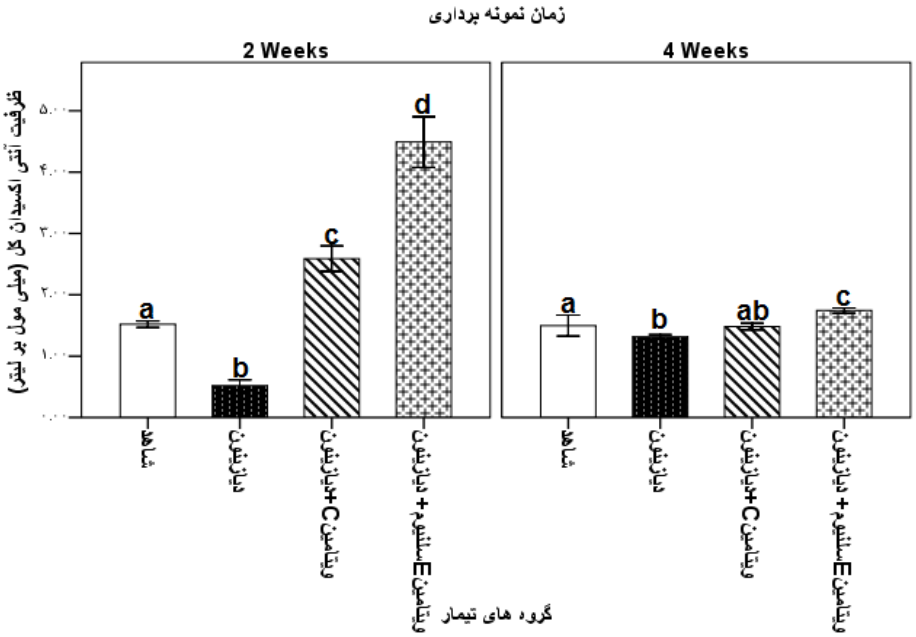


شکل۲- مقایسه تغییر سطح فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در سرم خون ماهی‌های گروه‌های شاهد، تحت تیمار دیازینون، ویتامین C و دیازینون، ویتامین E سلنیوم و دیازینون، در انتهای هفته‌های دوم و چهارم. تعداد ۵ قطعه ماهی از هر گروه نمونه‌برداری شدند. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) و حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است.

بررسی سطح ظرفیت آنتی اکسیدان کل (TAC): نتایج بدست آمده در انتهای هفته دوم و چهارم در ماهی‌های تحت تیمار دیازینون (فاقد ویتامین)، کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) سطح TAC را نسبت به گروه شاهد نشان داد (شکل۳). همچنین بررسی‌های انجام شده بر روی تأثیر ویتامین C بر ظرفیت

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

آنتی‌اکسیدان کل نشان داد. در انتهای هفته دوم سطح TAC دارای افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به گروه تحت تیمار دیازینون (فاقد ویتامین) و گروه شاهد بود. در حالی‌که در انتهای هفته چهارم تغییر معنی‌داری بین گروه‌های ویتامین C با گروه‌های دیازینون (فاقد ویتامین) و شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵). از طرفی ماهی‌های تحت تیمار ویتامین E سلنیوم و دیازینون، در انتهای هفته دوم و چهارم افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) سطح TAC را نسبت به گروه‌های دیگر نشان دادند (شکل۳).

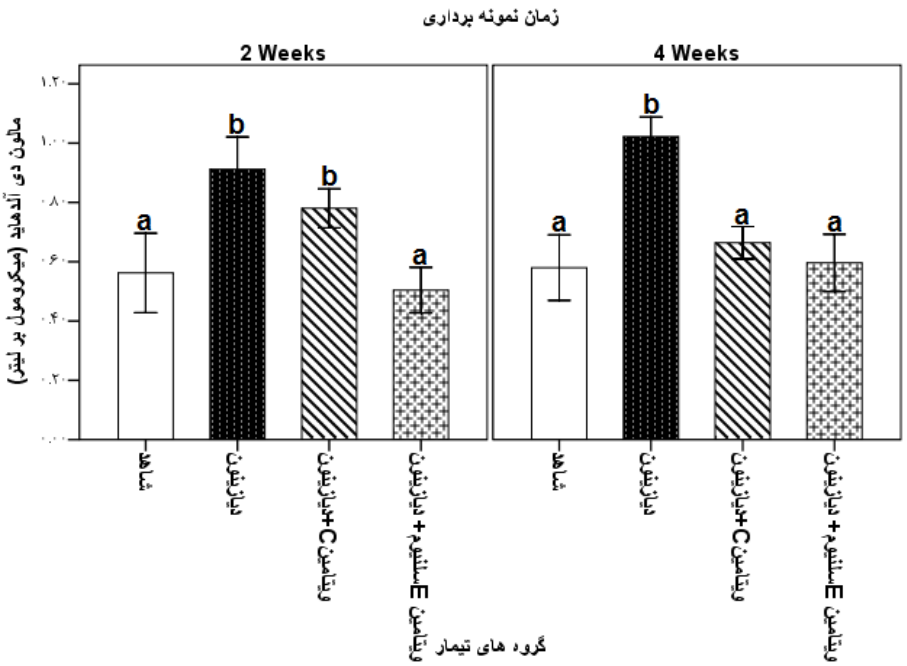


شکل۳- مقایسه تغییر سطح فعالیت آنتی اکسیدان کل (TAC) در سرم خون ماهی های گروه‌های شاهد، تحت تیمار دیازینون، ویتامین C و دیازینون، ویتامین E سلنیوم و دیازینون، در انتهای هفته‌های دوم و چهارم. تعداد ۵ قطعه ماهی از هر گروه نمونه‌برداری شدند. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) و حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است.

بررسی سطح شاخص مالون دی‌آلدهاید (MDA) طی فرآیند پراکسیداسیون لیپید: یافته‌های هفته دوم و چهارم نشان داد القاء دیازینون سبب افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) سطح MDA در گروه تحت تیمار دیازینون (فاقد ویتامین) نسبت به گروه شاهد می‌شود (شکل۴). همچنین سطح MDA در ماهی‌های تغذیه شده با ویتامین C در انتهای هفته دوم افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد نشان داد، ولی در پایان هفته چهارم تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان نداشت. از طرفی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

سطح MDA در ماهی‌های تغذیه شده با مکمل ویتامین E سلنیوم در انتهای هفته‌های دوم و چهارم در سطح گروه شاهد حفظ شد (شکل۴).



شکل ۴- مقایسه تغییر سطح شاخص مالون در آلدهاید (MDA) در سرم خون ماهی‌های گروه‌های شاهد، تحت تیمار دیازینون، ویتامین C و دیازینون، ویتامین E سلنیوم و دیازینون، در انتهای هفته‌های دوم و چهارم. تعداد ۵ قطعه ماهی از هر گروه نمونه‌برداری شدند. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) و حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده در انتهای هفته دوم و چهارم در گروه تحت تیمار دیازینون (فاقد ویتامین) نشان داد القاء دیازینون (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) می‌تواند منجر به کاهش سطح فعالیت آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز (SOD) شود. دلیل کاهش این آنزیم را می‌توان به افزایش میزان رادیکال‌های سوپر اکساید آنیون (O_2^-) حاصل از متابولیسم دیازینون نسبت داد.

طی مطالعه‌ای قزل‌آلای رنگین‌کمان در مواجهه با غلظت‌های ۰/۵-۱ میلی‌گرم در لیتر دیازینون در طی مدت ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت با کاهش سطح SOD مواجه شد، که دلیل آن مصرف این آنزیم در جهت حذف رادیکال‌های سوپر اکساید آنیون ذکر شده است (Isik and Celik, 2008).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

همچنین سنجش آنزیم کاتالاز (CAT) نشان می‌دهد ماهی‌های تحت تیمار دیازینون در هر دو زمان نمونه‌برداری پس از مواجهه با سم دچار افزایش سطح آنزیم کاتالاز شده‌اند که می‌تواند نشان دهنده افزایش مقادیر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) حاصل از فعالیت آنزیم SOD باشد.

طی پژوهشی القاء دوز تحت حاد سموم آترازین (Atrazin) و کلرپیریفوس (Chlorpyrifos) بر بافت کبد و آبشش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پس از گذشت ۴۰ روز باعث افزایش سطح فعالیت CAT شد و دلیل آن تحریک و تولید این آنزیم در مواجهه با افزایش مقادیر یون‌های سوپر اکساید آنیون ذکر شد (Xing *et al*., 2012).

بطورکلی می‌توان چنین استدلال کرد که نوع خاص متابولیسم دیازینون موجب تولید اکسی رادیکال‌های آزاد شده که در نهایت می‌تواند منجر به کاهش سطح SOD و افزایش سطح CAT می‌شود. از دیگر یافته‌های این پژوهش کاهش سطح آنتی اکسیدان کل TAC در هر دو زمان نمونه‌برداری در سرم خون ماهی‌های تحت تیمار دیازینون (فاقد ویتامین) نسبت به گروه شاهد بود. کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل می‌تواند ناشی از فرآیندهای پاک‌سازی و مهار رادیکال‌های آزاد توسط عوامل آنزیمی و غیر آنزیمی سیستم دفاع آنتی اکسیدانی و مصرف این عوامل در داخل سلول‌ها باشد.

نتایج مطالعه‌ای نشان داد تأثیر غلظت‌های تحت حاد دیازینون بر سلول‌های هپاتوسیت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب کاهش سطح TAC می‌شود که دلیل آن تولید بیش از اندازه رادیکال‌های آزاد در طول فرآیند سم‌زدایی ذکر شده است (Banaee *et al*., 2011).

در مجموع می‌توان چنین استدلال کرد که با افزایش فرآیندهای اکسیداتیو توسط گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز کاهش می‌یابد (Monterio *et al*., 2006).

همچنین در پژوهش حاضر جهت بررسی میزان پراکسیداسیون لیپید، شاخص مالون دی آلدهاید (MDA) مورد سنجش قرار گرفت. آنالیز داده‌ها افزایش سطح MDA را در گروه تحت تیمار دیازینون (فاقد ویتامین) نسبت به گروه شاهد در هر دو زمان نمونه‌برداری نشان دادند. افزایش سطح این شاخص می‌تواند بیانگر بالارفتن سطح پراکسیداسیون لیپید در سلول‌های در معرض سم به دلیل تولید رادیکال‌های هیدروکسیل OH به عنوان یک اکسید کننده قوی و عامل کلیدی در شروع فرآیند اکسیداسیون لیپیدها باشد.

در یک پژوهش تاثیر ۰/۱ میلی‌گرم دیازنیون طی زمان‌های ۱۵ و ۳۰ روز بر بافت‌های عضله و کلیه ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) منجر به افزایش سطح شاخص MDA شد (Durmaz *et al*., 2006). بطور کلی تجزیه دیازینون می‌تواند با تولید اکسی رادیکال‌های آزاد از جمله یون‌های سوپر اکساید آنیون و رادیکال قوی هیدروکسیل موجبات افزایش سطح MDA را فراهم آورد. علت این افزایش را

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

می‌توان به تجزیه لیپیدهای غشاء سلول ضمن مواجهه با رادیکال‌های هیدروکسیل تولید شده از متابولیت‌های این سم دانست (Hazarika, 2003; Valavanidis *et al*., 2006).

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر در سطح فعالیت SOD در ماهی‌های تغذیه شده با مکمل ویتامین E سلنیوم در هر دو زمان نمونه‌برداری تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد ایجاد نشد. همچنین سطح SOD در ماهی‌های تحت تیمار ویتامین C در هفته چهارم تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نداشت. دلیل نتایج مذکور را می‌توان به ویژگی آنتی اکسیدانی هر دو مکمل در خنثی سازی رادیکال‌های سوپر اکساید آنیون تولید شده در پروسه متابولیزه شدن سم دانست.

تأثیر ویتامین E افزوده شده به جیره در مواجهه با سمیت مزمن آترازین در گربه‌ماهی آفریقایی ماده (*Clarias gariepinus*) در بافت کبد سبب کاهش سطح SOD در ماهی‌های تحت تیمار آترازین شد که دلیل آن عملکرد مشابه این ویتامین و آنزیم مذکور و نهایتاً تعدیل فعالیت آن ذکر شد (Kadry *et al*., 2012).

طی تحقیقات انجام شده ویتامین C دارای توانایی دهندگی الکترون بوده به‌طوری که به عنوان احیا کننده گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) عمل می‌کند و دارای نقش تعدیل کننده‌ای برفعالیت دفاع آنتی اکسیدانی خواهد داشت (Sies and Stahl,1995).

همچنین ماهی‌های تحت تیمار ویتامین E سلنیوم و دیازینون، در انتهای هفته دوم و چهارم، کاهش معنی‌دار سطح CAT را نسبت به دو گروه دیگر در معرض دیازینون (گروه فاقد ویتامین،گروه ویتامین C) نشان دادند که می‌تواند به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب مذکور در تجزیه هیدروژن پراکساید بوده که همسو با فعالیت کاتالاز است. همچنین ساختار آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) که در ساختار خود نیازمند سلنیوم است نیز وظیفه مشابه آنزیم کاتالاز را بر عهده دارند.

از طرفی ماهی‌های تحت تیمار ویتامین C و دیازینون در هفته‌های دوم و چهارم همچون گروه دیازینون (فاقد ویتامین) با افزایش معنی‌دار CAT نسبت به گروه شاهد مواجه شدند. علت این افزایش احتمالاً عدم توانایی ویتامین C در تجزیه ملکول‌های هیدروژن پراکساید است. چرا که افزایش سطح CAT نشان دهنده افزایش مقادیر پراکسید هیدروژن طی فرآیند سم‌زدایی در داخل سلول است.

در مطالعه مشابهی استفاده از سیلی مارین به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدانی موجب کاهش سطح آنزیم کاتالاز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تیمار دیازنیون شد، که علت آن دفع متابولیت‌های دیازینون توسط سیلی مارین ذکر شده است (Banaee *et al*., 2011). نتیجه این بررسی مشابه نتایج بدست آمده از تأثیر ویتامین E سلنیوم در مطالعه حاضر است.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

از طرفی تأثیر لیکوپن (Lycopene) به عنوان یک ماده‌ی کاروتنوئیدی بر القاء استرس‌های اکسیداتیو سم ارگانوفسفره کلروپیریفوس در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus Carpio*) موجب افزایش سطح کاتالاز شد (Ural, 2013). نتیجه این بررسی مشابه نتایج بدست آمده از تأثیر ویتامین C است.

از دیگر یافته‌های این پژوهش، افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) سطح آنتی اکسیدان کل TAC در ماهی‌های تحت تیمار ویتامین E سلنیوم و دیازینون نسبت به گروه‌های دیگر است که می‌تواند گویای ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتر این ترکیب در مقایسه با گروه‌های دیگر باشد، چرا که این مکمل ترکیبی از دو آنتی اکسیدان با تأثیر فزاینده در دفاع آنتی اکسیدانی است. همچنین افزودن ویتامین C به جیره توانست موجب افزایش معنی‌دار سطح TAC نسبت به گروه‌های دیازینون (فاقد ویتامین) و شاهد شود، ولی در مقایسه با ویتامین E سلنیوم بطور معنی‌دار در سطح پایین‌تر قرار گرفت.

طبق پژوهشی که توسط وینستون و همکاران (Winston *et al*., 1998) انجام گرفت مشخص شد ویتامین E، اسید آسکوربیک (ویتامین C)، یوریک اسید و گلوتاتیون، در حدود ۷۰ درصد از سهم آنتی اکسیدانی کل را به خود اختصاص می‌دهند. نتایج این مطالعه نشان دهنده سهم قابل توجه ویتامین E و C را از ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل نشان می‌دهد.

با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعات صورت گرفته هر چقدر سطح TAC افزایش یابد توانایی ماهی جهت خنثی سازی و مهار رادیکال‌های آزاد نیز افزایش می‌یابد (Karaoz *et al*., 2002). ویتامین E و عنصر سلنیوم هر دو از اجزاء مهم در دفاع آنتی اکسیدانی هستند و سهم اساسی و مهمی از میزان (TAC) را به خود اختصاص می‌دهد در نتیجه بدیهی است که بالاترین سطح TAC را در نتایج تحقیق حاضر نشان دهند.

در بررسی سطح شاخص مالون دی آلدهاید MDA تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های تغذیه شده با مکمل ویتامین E سلنیوم و گروه شاهد مشاهده نشد. همچنین سطح این شاخص در ماهی‌های دریافت کننده ویتامین C در انتهای هفته دوم افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد نشان داد، ولی در پایان هفته چهارم میزان این شاخص در سطح گروه شاهد حفظ شد.

بر اساس مطالعات صورت گرفته ویتامین E یک آنتی اکسیدان قوی در جلوگیری از شکل‌گیری لیپید هیدروپروکسایدهای ناشی از فرآیند پراکسیداسیون لیپید است (Bell *et al*., 1985). همچنین سلنیوم نیز به عنوان بخش مهمی از آنزیم GPX مسئول کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش فرآیند مخرب مذکور است (Rotruck *et al*., 1973).

طی یک بررسی تأثیر ویتامین E افزوده شده به جیره در مواجهه با سمیت مزمن آترازین در گربه ماهی آفریقایی ماده (*Clarias gariepinus*) در بافت کبد سبب کاهش سطح MDA در ماهی‌های تحت تیمار آترازین شد (Kadry *et al*., 2012).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

در یک جمع‌بندی کلی می‌توان گفت از میان فاکتورهای بیوشیمیایی سنجش شده، آنزیم SOD به دلیل این‌که به عنوان اولین سد دفاع اختصاصی آنتی اکسیدانی در مواجهه با رادیکال‌های سوپر اکساید آنیون است و از طرفی چون دارای نوسان سریع و حساسیت بالاتری نسبت به آنزیم کاتالاز طی مواجهه با دیازینون است، جهت پایش یک اکوسیستم آبی مناسب‌تر به نظر می‌رسد. همچنین هر چند بررسی سطح آنتی اکسیدان کل جهت ارزیابی کلی از وقایع اکسیداتیو در یک سیستم بیولوژیک مناسب است ولی تفسیر تغییرات ایجاد شده درسطح این فاکتور بیوشیمیایی در شرایط پیچیده اکولوژیک به دلیل فاکتورهای متعدد دشوار است. از طرفی سنجش MDA به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید که محصول مواجهه غشاء سلول با رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل حاصل ازمتابولیسم دیازینون است، می‌تواند شاخص مناسبی جهت سنجش مقادیر آسیب‌های وارده به آبزی در محیط زیست آن باشد.

حال با توجه به احتمال حضور دیازینون در آب‌های جاری و اثرات مخرب ناشی از این‌گونه ترکیبات استفاده از مکمل ویتامین E سلنیوم می‌تواند به عنوان یک عامل آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی، موجب تعدیل سطح فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT در سطح گروه شاهد شده و از طرفی موجبات افزایش سطح آنتی اکسیدان کل (TAC) را نیز فراهم آورد. همچنین سنجش شاخص MDA، نشان داد مکمل ویتامین E سلنیوم می‌تواند به شکل کاملاً مؤثری موجب کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید شود. از طرفی استفاده از ویتامین C نیز می‌تواند تا حدودی سبب تعدیل سطح فعالیت آنزیم‌های SOD شود. همچنین ویتامین C با اثر بخشی کمتری نسبت به مکمل ویتامین E سلنیوم می‌تواند موجب افزایش سطح آنتی اکسیدان کل (TAC) و همچنین کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید شود.

این پژوهش نشان می‌دهد به کارگیری یک ماده مناسب مثل مکمل ویتامین E سلنیوم در جیره غذایی ماهی قزل آلا، در فصول زراعی که احتمال حضور دیازینون در آب‌های جاری بیشتر است جهت افزایش دفاع آنتی اکسیدانی ضروری و مفید به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر با استفاده از امکانات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران و آزمایشگاه آذر تهران به انجام رسید. با تشکر از تمامی کسانی که ما را در انجام این طرح یاری کردند.

منابع

Aebi H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymolgy, 105: 121-126.

Attia A.M., El-Demerdash F.M. 2002. Potent protective effects of melatonin on cypermethrin induced oxidative damage in rats in vivo. Journal Pest Control Environmental Science, 10: 91–104.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

Banaee M., Sureda A., Mirvaghefi A.R., Ahmadi K. 2011. Effects of Diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Pesticide Biochemistry and Physiology, 99:1–6.

Bell J.G., Adron J.W., Cowey C.B. 1986. Effect of selenium deficiency on hydroperoxide stimulated release of glutathione from isolated perfused liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri*), British Journal of Nutrition, 5(5):421-428.

Bell J.G., Cowey C.B., Adron J.W., Pirie B.J.S. 1987. Some effects of selenium deficiency on enzyme activities and indices of tissue peroxidation in Atlantic salmon parr (*Salmo salar*). Aquaculture, 65: 43-54.

Bell J.G., Cowey C.B., Adron J.W., Shanks A.M. 1985. Some effect of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidaion in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). British Journal of Nutrition, 53: 149-157.

Di Giulio R.T., Meyer J.N. 2008. Reactive oxygen species and oxidative stress. In: Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. (Eds.), the Toxicology of Fishes. CRC Press, Boca Raton, FL. P: 273–324.

Doba T., Burton G.W., Ingold K.U. 1985. Antioxidant and co-antioxidant activity of vitamin C. The effect of vitamin C, either alone or in the presence of vitamin E or a water-soluble vitamin E analogue, upon the peroxidation of aqueous multilamellar phospholipid liposomes. Biochimica et Biophysica Acta, 835(2):298–303.

Durmaz H., Sevgiler Y., Uner N. 2006. Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to Diazinon in *oreochromis niloticus*. Pesticide Biochemistry and Physiol., 84: 215-26.

Eisler R. 1986. Diazinon Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. U.S. Fish and Wildlife Service, Washington, DC. Biological Report, 85:1-9.

Fujii Y., Asaka S. 1982. Metabolism of diazinon and Diazoxon in fish liver preparations. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 29: 455-460.

Goth L. 1991. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clinica Chimica Acta, 196: 143-152.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. 1990. The antioxidants of human extracellular fluids. Archives of Biochemistry and Biophysics Journal, 280(1): 1–8.

Hazarika A., Sarkar S.N., Hajare S., Kataria M., Malik J.K. 2003. Influence of Malathion pretreatment on the toxicity of anilofos in male rats: a biochemical interaction study. Toxicology, 185:1–8.

Hillton J.W., Hodson P.V., Slinger S.J. 1980. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of nutrition, 110: 2527-2535.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

Isik I., Celik I. 2008. Acute effects of methyl parathion and Diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Pesticide Biochemistry and Physiology, 92: 38–42.

Kadry S.M., Marzouk M.S., Amer A.F., Hanna M.I., Azmy A.H., Hamed H.S. 2012. Vitamin E as antioxidant in female african catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to chronic toxicity of Atrazine. Egyption Journal Aquatic Biology and Fisheries, 16(2): 83-98.

Karaoz E., Gultekin F., Akdogan M., Oncu M., Gokcimen A. 2002. Protective role of melatonin and a combination of vitamin C and E on lung toxicity induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. Experimental and Toxicological Pathology. 54(2): 97–108.

Keizer J., D'Agostino G., Nagel R., Volpe T., Gnemi P., Vittozzi L. 1995. Enzymological differences of AChE and diazinon hepatic metabolism: correlation of in vitro data with the selective toxicity of Diazinon to fish species. Science of The Total Environment, 171: 213- 220.

Koprucu S.S., Koprucu K., Ural M.S., Ispir U., Pala M. 2006. Acute toxicity of organophosphorous pesticide Diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis*). Pesticide Biochemistry and Physiology, 86: 99–105.

Koracevic D., Koracevic G., Djordjevic V., Andrejevic S., Cosic V. 2001. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids, Journal of Clinical Pathology, 54: 356-361.

Ledwozyw A., Michalak J., Stepien A.K., Adziolka A. 1986. The relationship between plasma triglycerides, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. Clinica Chimica Acta., 155: 275-284.

Mahfouz R., Sharma R., Sharma D., Sabanegh E., Agarwal A. 2009. Diagnostic value of the total antioxidant capacity (TAC) in human seminal plasma. Fertility and Sterility, 91: 805–811.

Marklund S., Marklund G. 1974. Involvement of the superoxyde anion radical in the auto oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxyde dismutase. European Journal of Biochemistry, 47: 469-474.

McCord J.M., Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein. Journal of Biological Chemistry, 244: 6049–6055.

McKim J.M., Nichols J.W. 1994. Use of physiologically based toxicokinetic models in a mechanistic approach to aquatic toxicology. In: Aquatic Toxicology: Molecular, Biochemical, and Cellular Perspectives. Malins D.C. Ostrander G., Boca Raton FL (Eds). Lewis Publishers, p. 469-520.

Miller N.J., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science, 84:407-412.

Monteiro D.A., Almeida J.A.D., Rantin F.T., Kalinin A.L. 2006. Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion). Comparative Biochemical and Physiological, 141: 143-149.

Moreau R., Dabrowski K., Czesny S., Chila F. 1999. Vitamin C- Vitamin E interaction in juvenile lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*), a fish able synthesize ascorbic acid. Journal of Applied Ichthyology, 15: 205-257.

Pereira B., Rosa L.F., Safi D.A, Bechara E.J., Curi R. 1995. Hormonal regulation of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rat macrophages. Biochemical Pharmacology, 50:2093-2098.

Rotruck J.T., Pope A.L., Ganther H.E., Swanson A.B., Hafeman D.G., Hoekstra W. G. 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science, 179: 585-590.

Shayeghi M., Darabi H., Abtahi H., Sadeghi M., Pakbaz F., Golestaneh S.R. 2007. Assessment of persistence and residue of Diazinon and Malathion in three Rivers (Mond, Shahpour and Dalaky) of Bushehr Province; 2004-2005. Iranian South Medical Journals, 10(1):54-60.

Shayeghi M., Shahtaheri J., Selseleh M. 2001. Organophosphorus insecticides residue in Mazandaran River and waters (Iran). Iranian Journal of Public Health, 30 (3-4):115-119.

Sies H., Stahl W. 1995. Vitamins E and C, Betacarotene, and other Carotenoids as antioxidants. The American Journal Clinical Nutrition, 62:1315-1321.

Ural M.S. 2013. Chlorpyrifos-induced changes in oxidant antioxidant status and haematological parameters of *Cyprinus carpio*: Ameliorative effect of Lycopene. Chemosphere. 90: 2059-2064.

Valavanidis A., Vlahogianni T., Dassenakis M., Scoullos M. 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicology and Environmental Safety, 64(2):178-189.

Verlhac V., Obach A., Gabaudan J., Schüep W., Hole R. 1998. Immunomodulation by dietary vitamin C and Glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology, 8: 409-424.

Watanabe T., Takeuchi T., Wada M. 1981. Dietary lipid levels and a-tocopherol requirement of carp. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 47: 1585-1590.

Winston G.W., Regoli F., Dugas A.J., Fong J.H., Blanchard K.A. 1998. A rapid G.C. assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids, Free Radical. Biology and Medicine, 24: 480-493.

Xing H., Li S., Wong Z., Gao X., Xu S., Wang X. 2012. Oxidative stress response and histopathological changes due to Atrazine and Chlorpyrifos exposure in common carp. Pesticide Biochemistry and Physiology, 103(1): 74-80.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]