

بررسی تغییرات برخی از هورمون‌های مولدین نر ماهی سفید (Kamensky, 1901) *Rutilus frisii kutum* در اثر غلظت‌های تحت کشنده سم دیازینون

مجید محمدنژادشوموشکی^{۱*}، مهدی سلطانی^۲، عیسی شریف پور^۳، محمد رضا ایمانپور^۴

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرگز، گروه شیلات، بندرگز، گلستان- ایران.

۲- گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران- ایران.

۳- گروه بهداشت و بیماری‌ها، موسسه تحقیقات شیلات ایران.

۴- گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان- ایران.

* نویسنده مسئول: majid_m_sh@bandargaziau.ac.ir

دریافت مقاله: ۲ مرداد ۹۰، پذیرش نهایی: ۱۰ بهمن ۹۰

Effect of sublethal concentrations diazinon on hormonal variable of *Rutilus frisii kutum* (Kamensky, 1901) male brood stocks

Mohammad Nejad Shamoushaki, M.^{1*}, Soltani, M.¹, Sharifpour, I.³, Imanpoor, M. R.⁴

¹Department of Fishery, Bandar Gaz Branch, Islamic Azad University, Bandar Gaz, Iran.

²Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

³Iranian Fisheries Research Organization P.O. Box 14155-6116, Tehran, Iran.

⁴Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Gorgan, Gorgan, Iran.

Abstract

The effects sublethal concentrations of diazinon on hormonal parameters of kutum (*Rutilus frisii kutum*, Kamensky, 1901) were studied under static water quality conditions at $15 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in winter and spring 2009. The effective physical and chemical parameters of water were $\text{pH} = 7-8.2$, $\text{dh} = 300 \text{ mg/L}$ (caco3), $\text{DO} = 7 \text{ ppm}$ and $T = 15 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$. The first test was primarily to determine the effects of acute toxicity (LC50 in 96 h) of the agricultural toxicant diazinon on kutum male brood stocks. For this purpose, 4 treatments were used to test toxicity; each treatment was repeated in 3 tanks with 9 fish per treatment and with 180 litres water capacity. The second stage of testing consists of treatments: LC0= 0 as experimental treatment, treatment 1 with a concentration of LC1= 0.107 mg/L, treatment 2 with concentration of LC5= 0.157 mg/L, treatment 3 with concentration of MAC value= 0.04 mg/L. Male brood stocks of kutum were treated with these concentrations for 45 days. Experiments were carried out under static conditions based on the standard method over 45 days. Our results show that long-term exposure to diazinon causes a decrease in the testosterone. In addition, diazinon also causes an increase in adrenaline ($p < 0.05$). There are no significant effects on cortisol and noradrenaline levels in kutum male brood stocks ($p > 0.05$). *Vet. Res. Bull.* 7, *Supplementary issue: 7-11, 2012.*

Keywords: Sublethal concentrations, Diazinon, Hormonal, *Rutilus frisii kutum* male brood stocks.

چکیده

در این تحقیق آزمایشات به صورت ساکن (Static) و بر اساس روش استاندارد TRC, 1984 به مدت ۴۵ شبانه روز در اکواریم‌هایی با حجم آب ۱۸۰ لیتر و پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب از جمله pH، سختی کل، اکسیژن محلول و درجه حرارت به ترتیب برابر $7-8.2$ ، سختی کل 300 mg/L (CaCo3)، اکسیژن بالای ۷ میلی‌گرم در لیتر و درجه حرارت 15 ± 2 درجه سانتیگراد انجام گردید. میزان LC50 در ۹۶ ساعت سم دیازینون برابر 0.107 میلی‌گرم در لیتر بدست آمد و مقادیر LC10، LC50، LC90 طی ۹۶ ساعت و میزان حداکثر غلظت مجاز (میزان LC50/96h تقسیم بر ۱۰) به ترتیب برابر 0.107 ، 0.157 ، 0.04 میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. سپس تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار شاهد، تیمار ۱ با غلظت 0.107 ، تیمار ۲ با غلظت 0.157 و تیمار ۳ با غلظت 0.04 میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. سپس تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار شاهد، تیمار ۱ با غلظت 0.107 ، تیمار ۲ با غلظت 0.157 و تیمار ۳ با غلظت 0.04 میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. نتایج نشان داد که دیازینون باعث کاهش میزان هورمون تستوسترون و افزایش هورمون آدرنالین می‌گردد و از این لحاظ تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مورد نظر مشاهده گردید ($p < 0.05$) اما هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان هورمون کورتیزول و نورآدرنالین در بین تیمارهای مورد بررسی مشاهده نگردید ($p > 0.05$). پژوهشنامه دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۷، شماره تکمیلی، ۷-۱۱.

واژه‌های کلیدی: غلظت‌های تحت کشنده، دیازینون، هورمون، مولدین ماهی سفید.



مقدمه

اراضی زیر کشت استان گلستان در منطقه حوزه آبریز رودخانه گرگانرود قرار دارد که یکی از مناطق بسیار مهم مصرف انواع سموم دفع آفات نباتی و کودهای شیمیایی است و یکی از بزرگترین مسائل زیست محیطی در بخش کشاورزی در ارتباط با رودخانه گرگانرود مصرف زیاد سموم و کودهای کشاورزی می باشد (۴). از میان سموم حشره کشی که در استان گلستان مصرف می شود، دیازینون به علت مصرف بالایی که دارد به عنوان سم مورد آزمایش انتخاب شد. بر اساس اطلاعات بدست آمده از سازمان جهاد کشاورزی استان گلستان میزان مصرف سم دیازینون در سال ۱۳۸۱ در استان گلستان ۲۳ تن بوده است. با توجه به مطالب مطروحه فوق و با توجه به اینکه اغلب رودخانه های محل مهاجرت، تخم ریزی و پرورش اولیه لاروی، ماهیان مهاجر آب شیرین به طور خاص در مجاورت اراضی کشاورزی مصرف کننده سم دیازینون (حوضه گرگانرود و محل صید مولدین ماهی سفید) به عنوان سم آفت کش قرار داشتند، آثار این سم روی برخی از فاکتورهای هورمونی مولدین نر ماهی سفید مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

در این آزمایش تقریباً ۱۵۰ عدد مولد نر ماهی سفید مورد نیاز توسط تعاونی های صیادی از طریق صید پره از دهانه رودخانه گرگانرود در محل ایستگاه خواجه نفس و شبه جزیره میانکاله در اواخر بهمن و اوایل اسفند ماه سال ۱۳۸۸ تهیه و در ۳ مرحله و هر بار ۵۰ عدد ماهی با تانکر مجهز به کپسول اکسیژن به سالن و نیرو (بخش آبی پروری) دانشگاه منابع طبیعی گرگان (پردیس) منتقل شدند. سپس ماهیان برای سازگار شدن با محیط آزمایش به مدت یک هفته در داخل تانک های پرورشی (ونیرو) نگهداری شدند. هر یک از و نیروها به صورت جداگانه به سیستم هوادهی مجهز شدند تا سطح اکسیژن آب در حد استاندارد قرار گیرد. پارامترهای مؤثر فیزیکی و شیمیایی آب از جمله pH، سختی کل، اکسیژن محلول و درجه حرارت کنترل گردید که به ترتیب در دامنه متوسط $pH=7-8/2$ ، $DH=300\text{mg/l(Caco3)}$ ، اشباعی بیش از $DO=7\text{ Ppm}$ و $T=15\pm 2$ (°C) قرار داشتند. سپس در مرحله اول آزمایش ابتدا اثرات سمیت حاد LC50 96h سم کشاورزی دیازینون (امولوسیون ۶۰ درصد) روی مولدین نر ماهی سفید تعیین گردید که به همین منظور تعداد ۳۶ عدد از این مولدین نر با وزن متوسط $157/06 \pm 613/33$ گرم جدا شده و

رودخانه های شمال ایران به علت دارا بودن آب شیرین، محیط مناسبی برای مهاجرت ماهیان دریا جهت تکثیر طبیعی، ماهیگیری و نیز یکی از منابع تأمین پروتئین مورد نیاز مردم سواحل دریای خزر می باشد. از طرفی افزایش روز افزون جمعیت، تقاضای فزاینده مصرف ماهی، آلودگی محیط زیست آبیان و صید بی رویه، موجب کاهش ذخایر ماهیان سفید شده است. لذا برای حفاظت از نسل این ماهیان، تکثیر مصنوعی نیز به شدت مورد توجه بسیاری از کارشناسان قرار گرفته است. در چند دهه اخیر به علت استفاده از آب رودخانه ها برای کشاورزی و آلودگی آب به انواع سموم کشاورزی، فاضلاب های شهری و صنعتی، وجود سدهای انحرافی و پل، رودخانه ها برای مهاجرت ماهیان رود کوچ مناسب نیستند (۵). ماهی سفید بانام علمی (*Rutilus frisii kutum*) (Kamensky, 1901) از خانواده کپور ماهیان، یکی از مهمترین و با ارزش ترین ماهیان استخوانی تجاری و اقتصادی دریای خزر است (۱۰). بارسیدن به سن بلوغ و فرارسیدن فصل تولید مثل این ماهیان به تدریج از نواحی عمیق دریا به سوی نواحی کم عمق و سواحل دریا حرکت می کنند و تخم ریزی طبیعی در نواحی بالا دست رودخانه صورت می پذیرد (۱۱). از طرفی سموم و آفت کش ها در حال حاضر از عمده ترین موارد مسمویت ماهی هستند که ممکن است در غلظت کم، تاثیر مستقیمی روی ماهی نداشته باشند ولی در طولانی مدت روی مراحل اولیه تکامل ماهی موثر باشند به هر حال آفت کش ها در بیشتر موارد منجر به آسیب ماهیان می شوند (۳). ماهیان یکی از مهمترین موجودات آبی می باشند که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند و به همین دلیل جهت انجام آزمایشات زیست سنجی در بعد وسیعی از آنها استفاده می گردد (۱). حساسیت گونه های مختلف ماهی به مواد سمی متفاوت متغیر است از این رو آزمایشات سم شناسی بر روی ماهیان مختلف صورت می گیرد (۹). دیازینون نیز از نوع آفت کش های ارگانوفسفره است (۱۲). این سم جزو سموم تماسی و نفوذی بوده و در مواردی سیستمیک کم دوام است (۲). ویژگی های بیوشیمیایی خون به عنوان یکی از مهمترین شاخص های وضعیت فیزیولوژیک ماهی قلمداد می شود (۸). تغییرات پروفیل شیمیایی خون، در واقع بازتاب تغییر در پروسه متابولیسم و بیوشیمیایی ماهی است که به طور عمده ناشی از تاثیر آلاینده ها می باشد. حدود از



نتایج

پس از انجام آزمایش‌های ابتدایی به منظور یافتن محدوده غلظت سم دیازینون بر روی مولدین نر ماهی سفید سرانجام محدوده غلظت‌های ۰/۲ تا ۱ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید. آنگاه بر اساس آزمایش‌های انجام گرفته مقادیر LC10، LC50 و LC90 در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت دیازینون بر روی مولدین نر ماهی سفید اندازه‌گیری شدند، که بر این اساس LC50 در ۹۶ ساعت این سم بر روی مولدین نر ماهی سفید ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز (MAC value) این سم نیز ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید. سپس در مرحله دوم آزمایش ۴ تیمار: LC0=۰ به عنوان تیمار شاهد، تیمار شماره ۱ با غلظت LC1=۰/۱۰۶، تیمار شماره ۲ با غلظت LC5=۰/۱۵۷ و تیمار شماره ۳ با غلظت MAC value=۰/۰۴ تشکیل گردید و ماهیان مولد سفید نر برای مدت ۴۵ روز تحت تاثیر غلظت‌های فوق قرار گرفتند.

نتایج حاصل از بررسی هورمون‌های مختلف خون ماهیان مورد آزمایش نشان داد که در بین تیمارهای مختلف از لحاظ میزان هورمون تستوسترون و آدرنالین اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده می‌گردد ($p < 0.05$) ولی از لحاظ میزان هورمون کورتیزول و نورآدرنالین در بین تیمارهای مختلف هیچگونه اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نمی‌گردد ($p > 0.05$). و افزایش غلظت سم دیازینون باعث کاهش میزان هورمون تستوسترون و آدرنالین در ماهیان مولد نر سفید می‌شود بطوریکه بیشترین مقدار تستوسترون و آدرنالین در ماهیان شاهد و کمترین مقدار آنها به ترتیب در بالاترین غلظت سم در تیمار ۳ می‌باشد. همچنین بیشترین مقدار آدرنالین در ماهیان تیمار ۳ و کمترین مقدار آنها در ماهیان شاهد می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش غلظت سم دیازینون در دراز مدت باعث کاهش میزان هورمون تستوسترون و افزایش هورمون آدرنالین در ماهیان مولد نر سفید می‌شود اما هیچ تاثیری در میزان هورمون‌های کورتیزول و نورآدرنالین نمی‌گذارد.

تغییرات بیوشیمیایی خون بازگوکننده تغییرات در متابولیسم و فرایندهای بیوشیمیایی موجودات زنده است که در نتیجه اثرات آلاینده‌های مختلف می‌تواند باشد. اگر زمان

برای انجام آزمایش تشخیص سمیت در ۴ تیمار و ۳ تکرار با ۳ عدد ماهی در هر تکرار و در داخل ۱۲ و نیرو (۳ عدد و نیرو برای هر تیمار و ۹ عدد ماهی در هر تیمار) قرار داده شدند. سپس در مرحله دوم آزمایش پس از محاسبه غلظت‌های کشنده سم دیازینون (۱۴) تیمارهای آزمایش شامل: LC0 به عنوان تیمار شاهد، LC1، LC5 و MAC value (میزان LC5096h تقسیم بر ۱۰) (۱۳) تشکیل گردید که هر کدام از تیمارها با ۳ تکرار و ۳ عدد مولد نر ماهی سفید (۹ عدد ماهی در هر تیمار) در داخل ۱۲ و نیرو (هر تیمار ۳ و نیرو) وارد گردیدند. در ادامه به مقدار مورد نیاز هر تیمار، در داخل و نیروها سم دیازینون محاسبه و مولدین نر به مدت ۴۵ روز تحت تاثیر غلظت‌های مذکور سم دیازینون قرار گرفتند. در مرحله سوم آزمایش بعد از طی دوره تحت تاثیر قرار دادن مولدین در معرض سم دیازینون، طول کل، طول استاندارد و وزن مولدین نر بوسیله تخته بیومتری و ترازو اندازه‌گیری و در دفترچه بیومتری ثبت گردید و در نهایت مولدین با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک بیهوش شده و سپس با استفاده از قطع ورید ساقه دمی خونگیری انجام گرفته و در ظرف مخصوص ریخته شد. سپس لوله‌های حاوی خون جهت جداسازی سرم در آزمایشگاه تحت سانتریفوژ با دور ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند. در ادامه هورمون‌های خون توسط دستگاه‌های مختلف در آزمایشگاه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری هورمون‌ها پس از جداسازی سرم خون ماهیان از دستگاه Anthos2020 و به روش EIISA و برای اندازه‌گیری هورمون آدرنالین و نورآدرنالین از دستگاه EIISA reader مدل Stat fax استفاده گردید. برای تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها از نرم افزار SPSS 13 و برای رسم نمودارها از برنامه Excel 2003 استفاده گردید. داده‌ها ابتدا جهت اطمینان از نرمال بودن با آزمون کلموگوروف - اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) بررسی شد سپس در صورت نرمال بودن داده‌های مورد بررسی با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ابتدا اختلاف کلی بین میانگین‌ها مشخص و سپس با آزمون دانکن (Duncan) گروه‌ها از یکدیگر تفکیک گردیدند و در مواقعی که داده‌ها نرمال نبودند، از آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس (Kruskal-Wallis) جهت مقایسه تیمارها، و از آزمون من-ویتنی (Mann-Whitney) برای مقایسه جفتی بین تیمارها استفاده شد.



جدول ۱ - مقدار متوسط هورمون های مولدین نر ماهی سفید در تیمارهای مختلف. حروف لاتین غیرمشترک نشاندهنده معنی دار بودن می باشد ($p < 0.05$).

هورمون	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	شاهد
تستوسترون a	۱/۱۱±۰/۱۱ (ng/ml)	۰/۹۳±۰/۲۵ ^a	۰/۸۴±۰/۱۶ ^a	۱/۶۲±۰/۴۳ ^b
کورتیزول (ng/ml)	۵۲/۳۳±۲۶/۳۶ ^a	۴۹/۷۱±۲۳/۷۱ ^a	۳۳/۱۷±۲۸/۱۷ ^a	۳۵/۰۸±۲۰/۱۶ ^a
آدرنالین ab	۱۲/۲۵±۶/۳ (pgr/ml)	۱۲/۹۵±۳/۵۹ ^{ab}	۱۳/۳۷±۳/۶۸ ^b	۸/۲۹±۲/۹۷ ^a
نورآدرنالین (pgr/ml)	۳۴/۱۱±۶/۲۸ ^a	۳۱/۸۹±۸/۴۳ ^a	۳۱/۶۲±۱۲/۶۶ ^a	۲۴/۹۶±۶/۳۷ ^a

محیطی، تغذیه ای، بیماری، تولید مثلی و غیره و نیز ارتباط آنها با تغییراتی که می تواند در هر کدام از پارامترهای خونی، بافتی، هورمونی و... بگذارد، بسیار کم می باشد و در حقیقت می توان گفت که اینگونه بررسی ها در کشور ما در چند سال اخیر شروع شده و در حد بسیار محدود می باشد، در حالیکه علی رغم وجود و تنوع بسیار زیاد ماهیان در آب های کشور چه در آب های دریایی و چه آب های داخلی و نیز با توجه به اهمیت بسیار زیاد ماهیان در تامین پروتئین حیوانی و نیز ارزش تغذیه ای، پزشکی و... امید می رود که محققین کشور در بخش های مختلف شیلات، محیط زیست، دامپزشکی، زیست شناسی، صنایع غذایی و... به بررسی جامعتری در خصوص تغییرات خونی، هورمونی، آنزیمی و بافتی ماهیان باارزشی همچون ماهی سفید، کپور ماهیان پرورشی، قزل آلا، ماهیان خاویاری و غیره بپردازند. به هر حال نتایج این تحقیق نشان می دهد که سم دیازینون حتی در غلظت های غیرکشنده ولی در طولانی مدت باعث ایجاد تغییرات در میزان هورمون های ماهی سفید می گردد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس پاسندی مدیرکل محترم شیلات استان گلستان، جناب آقای مهندس یحیایی معاونت محترم صید اداره کل شیلات استان گلستان که در تهیه و انتقال ماهی کمک نمودند، از جناب آقایان میربازل، فرزاد و سرکار خانم ها میر خسروی و عامری که در کار آزمایشگاهی کار کمک نمودند و همچنین از جناب آقای مهندس ماهی صفت که کار آماری این تحقیق را انجام دادند و کلیه عزیزانی که در انجام کار ما را یاری فرمودند نهایت سپاسگزاری و تشکر را داریم.

منابع

۱. اولای، ی. ۱۳۶۹. آلودگی ناشی از فضولات خانگی، شهری، کشاورزی، صنعتی و طبیعی، ساختار و نقش تالاب انزلی در

تماس با ارگانوفسفات ها زیاد باشد، استیل کولین باعث انقباض ماهیچه ها و ترشح آدرنالین از غده آدرنال می شود و بی قراری نیز مشاهده می گردد (۷).

تستوسترون در بیضه ها سنتز می شود و در رشد اندام های جنسی و بلوغ نقش دارد. کم کاری بیضه ها موجب اختلال سنتز تستوسترون می شود (۶). که کاهش هورمون تستوسترون در ماهی می تواند به دلیل آسیب رسیدن به بیضه ها توسط دیازینون باشد.

نورآدرنالین و آدرنالین از قسمت مرکزی یا مغزی غدد فوق کلیوی ترشح می شوند و برای مقابله و مقاومت در برابر شوک های عصبی کوتاه اثر و یا طولانی اثر ضروری می باشند. هرگاه جاندار با خطر ناگهانی روبه رو شود و عکس العملی با اصطلاح جنگ و گریز لازم باشد، این اعمال مستلزم هماهنگی سریع، گسترده و بسیار پیچیده ای در افزایش فعالیت اندام های (مغز، عضلات، قلب، کبد و...) است که دارای نقش مهم و حیاتی در مقابله با خطر می باشند که آدرنالین هورمون اصلی است و در قسمت مرکزی غدد فوق کلیوی سنتز می شود و از جریان خون به بافت هدف می رسد (۷). آدرنالین پس از ترشح با پیوند ضعیف با آلبومین از مسیر پلازما به کبد رفته و از آنجا به عضلات راه می یابد (۷). اگر زمان تماس با ارگانوفسفات ها زیاد باشد استیل کولین باعث انقباض ماهیچه ها و ترشح آدرنالین از غده آدرنال می شود و بی قراری نیز مشاهده می گردد (۷). که با توجه به نتایج بررسی های سمیت که علایم بی تابی، اضطراب همراه با حرکات عصبی در ماهیان سفید تحت تاثیر سم دیازینون مشاهده گردید می توان افزایش آدرنالین را به این دلیل نسبت داد. ضمن اینکه در خصوص اثر دیازینون بر میزان هورمون های آدرنالین، نورآدرنالین، تستوسترون و کورتیزول هیچ مطالعه ای در ماهیان یافت نشد. اصولاً مطالعه در زمینه فاکتورهای خونی، فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون، هورمون ها، آنزیم ها و مطالعات بافت شناسی و همچنین بررسی اثر عوامل مختلف



- مقابل آنها. اسناد مرکز تحقیقاتی شیلات استان گیلان، شماره ۲، ص ۳۸.
۲. خانجانی، ع و پورمیرزا، م. ۱۳۸۰. سم شناسی، چاپ اول، دانشگاه بوعلی سینا، ص ۱۵۲-۱۵۳-۱۶۲-۱۶۴.
۳. شریف روحانی، م. ۱۳۷۴. تشخیص، پیشگیری و درمان بیماری‌ها و مسمومیت‌های ماهی (ترجمه). معاونت تکثیر و پرورش شیلات ایران، ص ۲۵۶.
۴. کیابی، ب. ۱۳۷۸. اکوسیستم‌های تالابی و رودخانه‌های استان گلستان، چاپ اول، ص ۶۹-۶۸.
۵. لالوئی، ف و طبری، م. ۱۳۸۲. بررسی مهاجرت ماهیان خاویاری به رودخانه‌های تجن و گانرود در سال‌های ۷۴-۱۳۷۰. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، سال دوازدهم، ص ۱۳۳-۱۳۸.
۶. محمدیها، ح. ۱۳۷۷. بیوشیمی بالینی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم. ص ۸۲۶.

7. Ciesielski, S., Loomis, D. (1994) Pesticides exposures cholinesterase depression and symptom among north Carolina migrant farm workers. *American Journal of Public Health*, **84**:446-451.
8. Edsall, C.C. (1999) A blood chemistry profile Forlake trout, *Animal Health*, **11**:81-86.
9. Finney, D. (1971) Probite analysis. *Cambridge university*, **1-33**. chem:465-489.
10. Holchik, J. (1995) New fata on the ecology of kutum, *Rutilus frissi kutum* (Nordman,1840) From the Caspian Sea. *Ecology of fresh water fish*, **4**:175-179.
11. Kuliev, Z. M. (1997) Carps and perches of the southern and middle Caspian (structure of the population, ecology, sidtribution and measures for population restocking). Athor abstract of the dissertation for the doctors degree. Baku. pp. 14.
12. Robert, T.R., Hutson, D.H. (1998) Metabolic pathways of Agrochemicals, part 2: Insecticides and fungicides; The Royal Scochem. Cambridge. 1475.
13. T.R.C, (1984) O.E.C.D. Guidelines for testing of chemicals. Section 2. Effects on biotic systems: 1-39.
14. USEPA, (1985) Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. (3rd ed.) Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring.

