تأثیر علف کش رانداپ بر میزان هورمون تستوسترون ماهی قزل آلای رنگین کمان مولد نر (*Onchorhynchus mykiss*) در حوضه جنوبی دریای خزر

الهام محقق منتظری[1*]
مسعود فرخ روز لاشیدانی[2]
عباسعلی زمینی[3]
احسان یوسفی[4]
۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات، لاهیجان، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان،دانشکده منابع طبیعی،استادیار و عضو هیئت علمی گروه شیلات، لاهیجان، ایران
۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی،استادیار و عضو هیئت علمی گروه شیلات، لاهیجان، ایران
۴. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات، لاهیجان، ایران
* **نویسنده مسئول مکاتبات**
e.mohaghegh7@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۴/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۶/۳۰
کد مقاله: ۱۳۹۱۲۱۰۰۴
این مقاله برگرفته از پایان نامه می‌باشد.

چکیده

بررسی اثرات آسیب شناسی ناشی از سطوح پایین تر از حد کشندگی سم رانداپ بر بافت گناد و شاخص گنادی ماهیان قزل آلای رنگین کمان مولد نر *(Onchorhynchus mykiss)* حوضه جنوبی دریای خزر، در پاییز سال ۱۳۹۰، در مرکز تحقیقات علوم شیلاتی و فنون دریایی دکتر کیوان انجام شد. تعداد ۱۲۰ عدد ماهی با میانگین وزنی ۱۹۰ گرم در تیمارهای ۲۵ درصد، ۵۰ درصد و ۷۵ درصد از LC50 سم رانداپ مورد آزمایش قرار گرفتند. تیمار اول ۵ قسمت‌درهزار، تیمار دوم ۱۰قسمت‌درهزار و تیمار سوم ۱۵ قسمت‌درهزار از LC50 تعیین و یک جامعه کنترل بدون آلودگی در نظر گرفته شد. آزمایشات در دو دوره زمانی ۵ و ۱۰ روز انجام شد. در پایان روز پنجم و دهم از ماهیان پس از بیهوشی از سیاهرگ دمی در روزهای ۵ و۱۰ خونگیری صورت گرفت. پس از سانتریفوژ، میزان تستوسترون به روش رادیو ایمنو اسی (RIA) توسط کیت اسپکترا (Specteria) فتلا و با دستگاه گاما کانتردر پایان هر مرحله اندازه گیری شد.براساس نتایج در مرحله اول (۵روز) میزان هورمون در گروه شاهد ۲/۱۸b ± ۱۷/۳۳ و برای غلظت های ۲۵، ۵۰ و۷۵ درصد از LC50 به ترتیب ۲/۰۴a ± ۳/۰۲ ، ۰/۰۰۵۷a ± ۰/۱۷ ، ۰/۰۲۰a ± ۰/۰۵۷ ودر مرحله دوم (۱۰روز) در شاهد b ۷ ± ۱۲ و برای غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد از LC50 به ترتیب a ۰/۹۷ ± ۱/۸۹، ۰/۰۲۰a ± ۰/۴۰ ، a ۰/۰۳۵ ± ۰/۲۳ بوده است. در واقع میانگین میزان تستوسترون به ترتیب در شاهد بیش از غلظت های ۲۵ درصد، ۵۰ درصد و ۷۵ درصد در هر دو مرحله بوده ولی بر اساس آزمون T -Test به منظور مقایسه میانگین میزان تستوسترون اندازه گیری شده در نمونه برداری اول با دوم اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد (P>0.05). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سم از میزان هورمون کاسته می شود و این میزان می تواند برروی باروری و سایر فاکتورهای اسپرم شناختی و رفتاری تاثیرات منفی داشته باشد که بایستی در سایر تحقیقات مورد بررسی قرار گیرد.

واژگان کلیدی: دریای خزر، قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، تستوسترون،علف کش رانداپ

مقدمه

استفاده از آفت کش ها در حال حاضر به میزان زیادی افزایش یافته است که یکی از عمده‌ترین مواد عامل مسمومیت ماهی به شمار می آیند. با توجه به اینکه آبزیان دارای سطوح تماس فیزیولوژیک بالا از جمله خون در آبشش با آب می باشند، بنابراین سموم سریعاً از طریق آبشش جذب خون شده و وارد اندام هایی مانند کبد، کلیه و گناد و برخی از اندام های دیگر می‌گردد (lashidani *et al.,* 2008). در چند دهه قبل کاربرد مطالعات سم‌شناسی محیطی بر روی مهره‌داران غیر پستاندار به سرعت توسعه پیدا نمود و برای اکوسیستم‌های آبی، ماهی، شاخص ارزیابی تأثیرات مضری که سموم در ترکیب با آب اکوسیستم‌ها می‌گذارد، گردید. رانداپ علف‌کشی از گروه اسیدفسفونیک (نمک ایزوپروپیل آمین) است که برای کنترل کلیه گیاهان هرز نازک برگ و پهن برگ (یکساله و چندساله) در باغات و زمین‌های زراعی و غیر زراعی بصورت مایع قابل حل در آب (SL41%) فرموله می‌شود و جزء سموم آلی و مصنوعی و سمی سیستمیک و عمومی است. در واقع علف کشی غیر انتخابی است که برای کنترل علف‌های هرز آبی در کانال ها، دریاچه‌ها و استخرها هم استفاده می شود. رانداپ از مهم‌ترین علف کش‌هایی می باشد که تاکنون توسعه پیدا کرده است و در سال ۱۹۷۱ به بازار معرفی شد و مصرف آن در

Archive of SID
www.SID.ir

سال‌های اخیر بطور فزاینده‌ای افزایش‌یافته است و این سم پس از یونیزه شدن در خاک با pH مناسب، بعنوان یک آنیون جذب سطحی اندام‌های مهم می‌شود (Giesy *et al.,* 2000). بر اساس مطالعات انجام شده مشخص شده است که رانداپ، حتی پس از چهار ماه از استفاده هم دراکوسیستم آبی یافت شده است (Frank, 1990). اطلاعات کمی در خصوص تأثیرات این سم بر روی ماهیان آب شیرین وجود دارد و ماهی قزل آلای رنگین‌کمان از مهم‌ترین ماهیان پرورشی در ایران محسوب می‌شود. ماهی قزل آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus mykiss)* از خانواده آزادماهیان *salmonidae* می‌باشد (وثوقی و همکاران، ۱۳۸۳). بسیاری از حشره‌کش‌ها و ترکیبات پلاستیکی و دیگر آلوده کننده‌های شیمیایی، شبیه هورمونهایی مانند استروژن عمل می‌کنند (lashidani *et al.,* 2008). محققان با بررسی‌های متعدد متوجه شدند که رابطه نزدیکی بین وجود مواد شیمیایی آفت‌کش‌ها در خون و پایین بودن میزان هورمون تستوسترون وجود دارد. تأثیرات این گونه ترکیبات شبه استرادیول بصورت تأثیر بر روی تولید مثل است که شاخص‌های تولید مثلی در ماهی نر مانند کیفیت اسپرم، تعداد اسپرم، وزن گناد و شاخص گنادی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Nielsen and Baatrup, 2006). بعضی از تئوری‌های محققان دلالت بر این دارد که کاهش سریع رشد وتوسعه بیضه و یا شاید شکل گیری تعداد سلول‌های سرتولی می‌تواند با حضور ترکیبات استروژنی ایجاد شود (Dalgaard *et al.,* 2002). بر اساس نتایج محققان، سموم شبه استروژنی می‌توانند میزان هورمون‌های استروئیدی را در Zebra Fish *(Danio rerio)* کاهش دهند (Anderson *et al.,* 2003). hued و همکاران (2012) تأثیرات سم رانداپ را بر روی آبشش، کلیه و فعالیت‌های جنسی Cyprinodontiformes ، بررسی و تغییرات بافتی را به وضوح مشاهده نمودند، هچنین فعالیت‌های جنسی نر برای لقاح کاهش یافت، همچنین بر اساس نتایج مطالعات lasheidani و همکاران (2008)، علف‌کش بوتاکلر، میزان هورمون تستوسترون ماهی سفید را از ۲/۷ نانوگرم در میلی‌لیتر به ۰/۳۱ در آلودگی زیاد و ۰/۴۵ در آلودگی کم کاهش داده است. عوامل محیطی با تأثیر خود بر هیپوتالاموس و سپس هیپوفیز باعث آسیب به بافت بیضه و تخمدان می شوند که بر روی آندروژن‌ها اثر میگذارد. تستوسترون یک آندروژن می‌باشد که توسط سلول‌های لیدیگ در بیضه ترشح می‌شود اما ترشح آن فقط هنگامی انجام می‌شود که این سلول‌ها توسط هورمون GTH (گنادوتروپین هورمون) از غده هیپوفیز تحریک شود و مقدار آن به طور مستقیم با مقدار هورمون GTH_1 افزایش می‌یابد، اما یک کنترل فید بکی توسط تستوسترون وبه طور مستقیم و ترشح GTH_1 و GTH_2 وجود دارد که با تأثیر بر روی ترشح هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) باعث کاهش GTH_1 و GTH_2 شده و میزان تستوسترون را کاهش می‌دهد. از طرف دیگر تستوسترون یک اثر فیدبک منفی ضعیفی به روی هیپوفیز قدامی داشته و ترشح GTH_1 را کاهش می‌دهد (Jobling *et al.,* 1998).

این تحقیق در ادامه‌ی تحقیقات اخیر آلاینده‌ها و آلودگی‌های محیطی بر آزاد ماهیان صورت گرفته است. در تحقیق حاضر اثرات حاد سم رانداپ (گلایفوزیت) بر قزل‌آلای رنگین کمان مورد آزمایش قرار گرفت. با توجه به وجود مزارع برنج حتی در مناطق کوهپایه‌ای امروزه پساب مزارع کشت برنج به رودخانه‌های بالا دست هم راه یافته است و با توجه به مصرف بی رویه رانداپ در مزارع برنج شمال ایران،احتمال ورود این سم به اکوسیستم های آبی پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان زیاد است. بنابراین انجام تحقیق و بررسی بر روی اثرات رانداپ بر ماهی قزل آلا بسیار مهم می باشد. بنابراین هدف از این تحقیق، با توجه به عدم وجود تحقیقات کافی در زمینه ی اثرات این سم بر روی باروری ماهیان و با توجه به مصرف گسترده در مزارع برنج، بررسی تأثیرات سمی علف‌کش رانداپ بر ماهی قزل آلای رنگین کمان مولد نر، با تأکید بر تعیین میزان تغییرات هورمون تستوسترون در دو مرحله زمانی بوده است.

مواد و روش ها

تعداد۱۲۰ قطعه ماهی مولد قزل آلای رنگین کمان نر با میانگین وزنی ۱۹۰گرم، در پاییز۱۳۹۰، از کارگاه دوهزار تنکابن به سالن تکثیر و پرورش مرکز تحقیقات علوم شیلاتی و فنون دریایی دکتر کیوان انتقال و جهت آداپتاسیون به مدت پنج روز (lashidani *et al.,* 2008) در وان های ۲۰۰۰ لیتری با جریان آب ورودی و خروجی، با کیفیت مطلوب آب از لحاظ فاکتورهای فیزیکوشیمیایی، همراه با

Archive of SID

www.SID.ir

هوادهی آب، رهاسازی شدند. ماهیان در دوره ی آداپتاسیون یک بار در روز غذادهی شدند. برخی از پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ، نظیر pH، دما و اکسیژن محلول(Fairchild *et al.*, 2009) ، سختی آب توسط دستگاه هایpH متر دیجیتال مدل eco ساخت کشور چین، اکسیژن متر و ترمومتر مدل EUTECH /ecoscan DO6 ساخت سنگاپور، کیت سختی سنج مدل واحب Vaheb ساخت کشور ایران اندازه‌گیری شدند. طول دوره‌ی آزمایش، ۲ مرحله زمانی ۵ روزه بوده است که به منظور مشاهده تغییرات هورمونی در طول دوره آزمایش که ده روز بوده ،یک تیمار زمان هم تعریف شد تا مشاهده گردد ماهی پس از قرار گرفتن در برابر سم رانداپ چه میزان تغییرات خواهد داشت،همچنین با این فرضیه احتمال سازگاری فیزیولوژیک و یا عدم سازگاری مشخص شد.به منظور انجام آزمایش،تعداد ۸ عدد ماهی در داخل هر وان ۵۰۰ لیتری که ۴۰۰ لیتر آن آبگیری شده بود، در سه گروه تیماری بر اساس غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد (lashidani *et al.*, 2008) از LC50 سم رانداپ و یک گروه شاهد با سه تکرار صورت پذیرفت. ۴۸ ساعت قبل از انتقال ماهیان و همچنین در طول دوره آزمایش ماهیان غذادهی نشدند. پس از تهیه محلول استوک، با محاسبات دقیق (OECD) میزان غلظت سمی را که برای هر تیمار مورد نیاز بود، محاسبه شد که بر اساس غلظت‌های به دست آمده در تیمار اول ۵ قسمت‌درهزار، تیمار دوم ۱۰ قسمت‌درهزار و تیمار سوم ۱۵ قسمت‌درهزار از LC50 سم رانداپ تعیین و داخل وان‌ها وارد شد. در پایان روزهای ۵ و ۱۰ بعد از قرار گیری ماهیان در معرض سم، از هر تیمار ۳ عدد ماهی بصورت تصادفی صید و داخل محلول پودر گل میخک تا بیهوشی (۱–۲ دقیقه) قرار گرفتند و خون-گیری از سیاهرگ دمی پس از بی‌هوشی انجام شد. لوله‌های حاوی نمونه خون سریعاً به آزمایشگاه منتقل و پس از سانتریفوژ ۳۰۰۰ RPM دور به‌مدت ۲۰ دقیقه توسط دستگاه مدل labofuge200 شرکت سازنده Heraeus sepatech آلمان، اندازه‌گیری هورمون تستوسترون، با واحد نانوگرم در میلی لیتر، به روش رادیو ایمنو اسی(RIA) (lashidani *et al.*, 2008)، بر اساس واکنش رقابتی بین هورمون موجود در نمونه و هورمون نشاندارشده با ید رادیواکتیو ۱۲۵، جهت اتصال به آنتی بادی ضد هورمون در فاز جامد، صورت پذیرفت. پرتودهی حاصل از این اتصال با دستگاه گاما کانتر مدل LKB ساخت فنلاند مورد اندازه گیری قرار گرفت. میزان پرتودهی در این واکنش‌ها با غلظت هورمون در نمونه نسبت عکس دارد. برای کالیبر کردن و کنترل تست‌های فوق از استانداردها و کنترل تجاری استفاده شد. بر اساس آزمون Shapiro-wilk با توجه به اینکه داده های مربوط به میزان هورمون تستوسترون در هر دو مرحله نرمال بوده ان ، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه(ANOVA)، در سطح اطمینان ۹۵ درصد جهت مقایسه بین تیمارهای مختلف و آزمون توکی (Snedecor and Cochran, 1967) جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده گردید. جهت مقایسه بین مرحله اول (پنج روز) و دوم (۱۰ روز) ازآزمون T – Test (Snedecor and Cochran, 1967) و جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. اختلافات معنی دار آماری در سطح اطمینان $P<0.05$ بیان شد و برای تجزیه و تحلیل آماری و رسم نمودارهای هیستوگرام ، نرم افزارهای SPSS 13 و Excel 2007 مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج

میانگین اکسیژن و دما و میزان pH در نمونه برداری اول به ترتیب ۱± ۵ /۱۲ میلی‌گرم در لیتر ، ۱ ± ۱۱/۱ درجه سانتی گراد و ۱ ± ۷/۲ و در نمونه‌برداری دوم به ترتیب ۱± ۶ /۱۲ میلی گرم در لیتر، ۱ ± ۱۱/۳ درجه سانتی‌گراد و۱ ± ۷/۲ اندازه‌گیری شد که در مقایسه بین قبل از اضافه نمودن سم و بعد از آن، تفاوتی در میزان این فاکتورها مشاهده نگردید.

Archive of SID

www.SID.ir

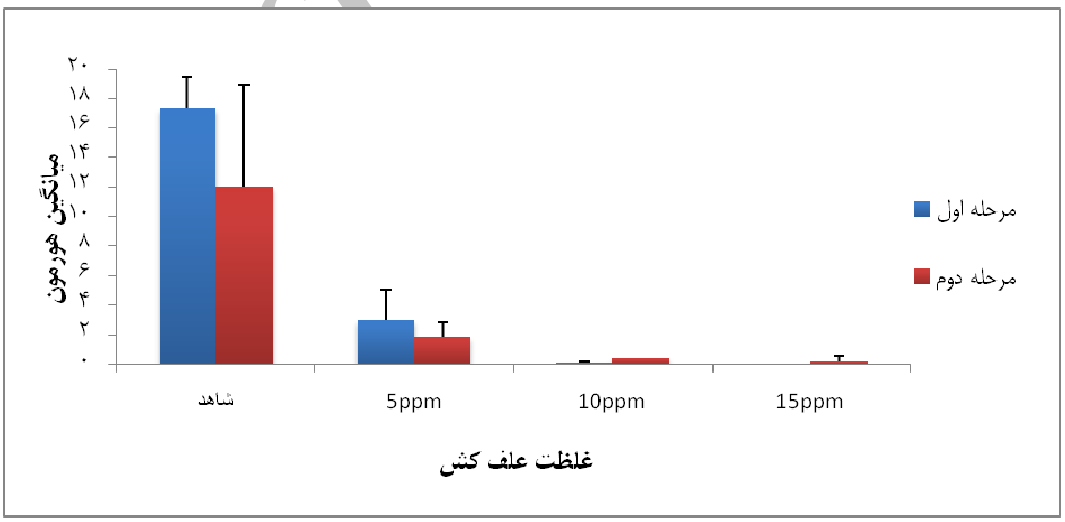
بر اساس مشاهدات صورت گرفته، در تیمار ۵ قسمت‌درهزار در مرحله اول(۵روز)، مولدین دارای اسپرم با حجم زیادی بودند و تحرک خوبی داشتند در حالیکه کاهش تحرک و رنگ پریدگی ماهیان در تیمار غلظت ۱۵ قسمت‌درهزار مشاهده گردید. در ۵ روز دوم آزمایشات، تحرک ماهیان و حجم اسپرم در هر ۳ تیمار بسیار کاهش پیدا نمود، بنابراین فرضیه سازگاری با سم رانداپ تأیید نشد.

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق و مقایسه میانگین میزان تستوسترون در شاهد، در مرحله اول به ترتیب بیش از غلظت های ۵ قسمت‌درهزار، ۱۰ قسمت‌درهزار و ۱۵ قسمت‌درهزار بوده است و در واقع همانگونه که در شکل ۱ برای مرحله اول مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت سم در تیمارها نسبت به گروه شاهد کاهش شدیدی در میزان هورمون تستوسترون مشاهده گردید که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد ($P<0.05$) و مقایسه میانگین میزان تستوسترون در مرحله دوم به ترتیب در شاهد بیش از غلظت‌های ۵ قسمت-درهزار، ۱۰ قسمت‌درهزار و ۱۵ قسمت‌درهزار بوده و این اختلاف بین شاهد با تیمارها از یک روند کاهشی تبعیت می‌کند ($P<0.05$). بر اساس نمودار ۱ مقایسه بین میانگین میزان تستوسترون اندازه‌گیری شده در نمونه‌برداری اول با دوم در هر یک از تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P>0.05$).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین میزان هورمون تستوسترون در نمونه برداری اول و دوم در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول۱: مقایسه میانگین میزان هورمون تستوسترون در نمونه برداری اول و دوم

غلظت سم	نمونه برداری اول	نمونه برداری دوم
۵ppm	نانوگرم بر میلی لیتر $۳/۰۲ \pm ۲/۰۴^{a}$	نانوگرم بر میلی لیتر $۱/۸۹ \pm ۰/۹۷^{a}$
۱۰ppm	نانوگرم بر میلی لیتر $۰/۱۷ \pm ۰/۰۰۵۷^{a}$	نانوگرم بر میلی لیتر $۰/۴۰ \pm ۰/۰۲۰^{a}$
۱۵ppm	نانوگرم بر میلی لیتر $۰/۰۵۷ \pm ۰/۰۲۰^{a}$	نانوگرم بر میلی لیتر $۰/۲۳ \pm ۰/۰۳۵^{a}$
شاهد	نانوگرم بر میلی لیتر $۱۷/۳۳ \pm ۲/۱۸^{b}$	نانوگرم بر میلی لیتر ۱۲ ± ۷^{b}



شکل۱: مقایسه میانگین میزان هورمون تستوسترون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Onchorhynchus mykiss) در نمونه‌برداری اول و دوم در حوضه جنوبی دریای خزر (پاییز ۱۳۹۰)

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

در مبحث مطالعات هورمونی در ماهی اصولاً به محور جنسی هیپوتالاموس – هیپوفیز – گناد اشاره می شود که در ابتدا با تأثیرپذیری از شرایط محیطی توسط هیپوتالاموس و ترشح هورمون‌های لازم، دستورات برای ترشح هورمون‌های هیپوفیزی صادر و این محور آغاز به فعالیت می کند. جهت انجام اسپرماتوژنز چندین هورمون نقش اساسی دارند که تستوسترون از مهمترین این هورمون‌ها می‌باشد و توسط سلول‌های لیدیگ واقع در فضای بین سلول‌های بیضه ترشح می‌شود و برای رشد و تقسیم سلول‌های ژرمینال و تشکیل اسپرماتوزوئید ضروری می‌باشد. مطالعات بسیاری بر روی ماهیان انجام گردیده که مشخص کرده است که تولید مثل ماهیان نسبت به آلودگی‌های محیط بسیار حساس می‌باشد و در نهایت باعث تغییرات اندوکرینی در ماهی‌ها می‌شود (jobling *et al.*, 1998) . آلودگی‌ها با تأثیر بر محور هیپوتالاموس – هیپوفیز –گناد، باعث اختلال در روند این محور و هورمون‌ها می شوند. مطالعات اخیر آزمایشگاهی و صحرایی نشان می-دهد که علف کش‌ها می توانند باعث تأثیرات غیر قابل انتظاری در ماهی‌ها شوند و در نهایت ورود مواد آلاینده به اکوسیستم‌های آبی اثرات سوء بر روی آبزیان خواهند گذاشت. بهبود کیفیت مولدین و کنترل تولید مثل به عنوان بازتاب‌های تکنولوژی زیستی مدرن می‌تواند ما را در دستیابی به تقاضای روز افزون و در حال رشد آبزی پروری در جهان کمک کند.

بر اساس مشاهدات در این تحقیق، علف کش رانداپ به علت جذب در خون ماهی به عنوان یک استروژن طبیعی باعث ایجاد تأثیراتی در ترشح تستوسترون می‌شود و مقادیر تستوسترون در تیمارهای غلظت‌های ۱۰، ۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر لیترسم، در پریود زمانی اول و دوم در مقایسه با تیمار شاهد کاهش بسیار چشم‌گیری داشته است (شکل ۱) و در غلظت ۱۵میلی‌گرم در لیتر بیشترین کاهش را نشان داده است درصورتیکه در مقایسه بین پریود زمانی اول و دوم تفاوت معنی دار آماری مشاهده نشد. Hued و همکاران (۲۰۱۲) تأثیرات سم رانداپ را بر روی آبشش، کلیه و فعالیت های جنسی کپورماهیان، بررسی و تغییرات بافتی را به وضوح مشاهده نمودند، همچنین بر اساس نتایج، فعالیت‌های جنسی‌نر جهت لقاح کاهش پیدا نمود و در تحقیق حاضر نیز این نتیجه به دست آمد که ماهیان در دوزهای بالاتر خصوصاً در ۵ روز دوم آزمایش، تحرک کمتر، گناد کوچکتر و اسپرم‌های کمتری خصوصاً در پریود زمانی دوم داشتند و همچنین بر اساس نتایج آزمایشی ۱۴ روزه(۲ مرحله۷ روزه) که توسط Neskovik و همکاران (۱۹۹۶) از اثرات سم رانداپ بر تغییرات هیستوپاتولوژی آبشش، کلیه و کبد ماهی کپور*(Cyprinus carpio)* انجام شد، آسیب‌های مختلفی در بافت‌های ذکر شده در مقایسه با گروه شاهد ، مشاهده گردید که بر اساس نتایج اثرات آسیب بافتی در ۷ روز دوم بیشتر بوده است در حالیکه در تحقیق حاضر تفاوت معنی‌داری در میزان تستوسترون، بین دو مرحله مشاهده نشد که این تفاوت ممکن است به علت تفاوت در گونه ماهی، سن ماهی، فاکتور مورد آزمایش و کیفیت فیزیکوشیمایی آب باشد. مطالعه ای توسط Jiraungkoorskula و همکاران (۲۰۰۲) بر روی تأثیرات بافتی رانداپ بر ماهی تیلاپیا *(Oreochromis niloticus)* انجام شد که بر اساس نتایج، محققان، آسیب های بافتی در آبشش، کبد و کلیه این ماهی نیز مشاهده نمودند. با توجه به نتایج ذکر شده تأثیر این سم بر میزان هورمون تستوسترون ماهی قزل‌آلای مولد نر جهت بررسی روند رسیدگی جنسی صورت پذیرفت که مشاهده شد رانداپ بر این هورمون جنسی به ترتیب از غلظت‌های کم به زیاد،اثر کاهشی دارد و بر مکانیسم چرخه سلولی اثر می‌گذارد.

Andersonو همکاران (۲۰۰۳) تأثیر سموم شبه استروژنی در اسپرماتوژنز Zebra Fish *(Danio rerio)* را بررسی نمود و کاهش معنی‌دار تا ۹۰ درصد در میزان هورمون‌های استروئیدی از جمله تستوسترون در این گونه مشاهده گردید که در تحقیق حاضر هم روند کاهشی تستوسترون را از غلظت‌های کم تا زیاد مشاهده نمودیم. کاهش شکل گیری سلول‌های سرتولی می‌تواند باعث کاهش تولید اسپرم شود که در نتیجه عمل کردن هورمون‌های مخالف جنسیت‌نر (استروژن) است (Atanassova *et al.*, 2005). در نتایج تحقیق حاضر

Archive of SID

www.SID.ir

هم ثابت شد که میزان هورمون تستوسترون در خون ماهیان قزل‌آلای نری که در معرض سم قرار داده شدند، کـاهش یافتـه بـود. بهمنـی وهمکاران در سال ۱۳۸۶ تأثیر اسمولاریته که می‌تواند با آلودگی هم اضافه شود را بر تعداد سلول‌های اسپرماتوزوئید ماهی سفید (*Rutilus kutum*) محاسبه و کاهش میزان هورمون‌های استروئیدی را مشاهده نمودند. جاذب نیکو و همکـاران (۱۳۷۵)، اثـرات سـموم بوتـا کلـر و مالاتیون را روی مرگ و میر ماهی سیم را مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند که میـزان هورمـون تستوسـترون در اثـر اسـترس از ۷/۱۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر به ۷/۲ کاهش می‌یابد. lasheidani و همکـاران(2008) در تحقیقـی مشـابه، تـأثیر بوتـاکلر را در میـزان هورمـون تستوسترون و بافت گناد ماهی سفید مورد مطالعه قرار داد و به این نتیجه دست یافت کـه میـزان هورمـون تستوسـترون از ۲/۷ نـانوگرم در میلی لیتر به ۰/۳۱ در آلودگی زیاد و ۰/۴۵ در آلودگی کم کاهش یافته است که در تحقیق حاضر کاهش میزان هورمون را از غلظت‌های کم به زیاد علف‌کش، در مقایسه با شاهد مشاهده شد. در تحقیقی که Fairchild و همکاران (۲۰۰۹) انجام دادند، ارزیابی اثرات حـاد و مـزمن اثرات خطرات زیست محیطی علف‌کش کلوپیرالید بر روی بالغین و نوزادان نر قزل‌آلای رنگین‌کمان *(Rainbow trout)* انجام شـد کـه بر اساس نتایج، باعث کاهش وزن و تحرک کمتر و کاهش حجم اسپرم در ماهیان بالغ قزل‌آلای رنگین‌کمـان گردیـده اسـت کـه در نتـایج مشابه در تحقیق حاضر، کاهش حجم اسپرم و کاهش تحرک مشاهده گردید. Jobling و همکاران (1998) نیز، تحقیقی مشـابه بـر روی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus)* انجام دادند و سپس تحقیقی مشابه توسط Schultc بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان هم انجام شـد و بـر اساس نتایج، میزان هورمون تستوسترون در هر دو ماهی کلمه و قزل‌آلای رنگین‌کمان، کاهش یافت (Schultz *et al*., 2003) .

بنابر نتایج بدست آمده در این تحقیق فرض اینکه که علف کش رانداپ باعث کاهش میزان هورمون تستوسترون در ماهیان قـزل آلای مولد نر در هر ۲ مرحله می شود به اثبات رسید. ولی فرض اینکه در ۲ پریود زمانی اثرات متفاوتی بر میزان هورمـون داشـته باشـد معنـی‌دار نبود، بنابراین با در معرض سم قرار دادن ماهیان قزل‌آلای نر و خاصیت شبه استروژنی آن میزان هورمون تستوسترون آن‌ها در مقایسـه بـا تیمارهای شاهد به میزان چشمگیری کـاهش مـی‌یابـد. بـا توجـه بـه نتـایج بدسـت آمـده و بـر اسـاس اطلاعـات و آمـار دریـافتی از اداره جهادکشاورزی استان گیلان که سم رانداپ از سال۱۳۷۰ تا ۱۳۹۰ به میزان۱۰۰-۵۰ تن در سال به استان وارد و بنا به درخواست کشاورزان بطور گسترده مورد مصرف قرار می گیرد، بهتر است غلظت‌های مورد استفاده کشاورزان با دقت عمل بیشتری مورد محاسبه قرار گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله، از زحمات و همکاری های ارزشمند جناب آقایان دکتر حبیب وهـاب زاده، دکتـر هـادی ارشـاد لنگـرودی، دکتـر محمدرضا رحیمی بشر، مهندس بهادر حکیمی، مهندس علی محمدی، مهندس اشکانی، مهندس محمد پوردهقانی، مهندس جلیل جلیل پور و خانم مهندس پریسا حسینی و خانم مهندس فاطمه زهرا کیانی صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایند.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

بهمنی، م.، پیراسته، س.، برادران نویری، ش.، کاظمی، ر.، کوچینتین، پ.، ۱۳۸۶. اثرات اسمولاریته بـر میـزان اسـپرماتوکریت و ارتبـاط آنتعـداد سلول های اسپرماتوزوئید در مولدین نر ماهی سفید *Rutilus kutum* حوضه جنوبی دریای خزر ،مجله علمی شیلات ،سال شانزدهم ،شماره ۲. ۱۲صفحه.

جاذب نیکو، ا.، ۱۳۷۵.بررسی اثرات سموم بوتا کلر ،مالاتیون روی مرگ و میر ماهی سیم ،پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات به راهنمای دکتـر اسـما عیلـی، ۶۵ص.

وثوقی، غ.، مستجیر، ب.،۱۳۸۳.ماهیان آب شیرین،تهران،انتشارات دانشگاه تهران،۳۱۷صفحه.

Andersen, L., Holbech, H., Gessbo, A., Norrgren, L. and Petersen, G.I., 2003.Effects of exposure to 17_-ethinylestradiol during early development on sexual differenciation and induction of vitellogenin in zebrafish (*Danio rerio*).Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol. (134), pp:365–374.

Hued,A.C., and Oberhofer,S., 2012 . Exposure to a Commercial Glyphosate Formulation (Roundup_)Alters Normal Gill and Liver Histology and Affects Male Sexual Activity of Jenynsia multidentata (*Anablepidae*, *Cyprinodontiformes*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology (2012) 62:107–117.DOI 10.1007/s00244-011-9686-7

Atanassova, N.N., Walker, M., McKinnell, C., Fisher, J.S. and Sharpe, M., 2005. Evidence that androgens and oestrogens, as well as follicle stimulating hormone,can alter Sertoli cell number in the neonatal rat. J. Endocrinol.pp: 184.

Dalgaard,M.,Pilegaard,K. and ladefard,O.,2002. In utero exposure to diethylstilboestrol or 4-n-nonjlphenol in rats:number of sertoli cells,diametr and length of seminiferous tubules estimated by sterological methods.Pharmacol toxical 90.59.65

Fairchild, J.F.,Feltz, K.P., Allert, A.,Sappington,L.S.,Nelson,K.J. and Valle J., 2009. An ecological risk assessment of the exposure andef fects of 2,4-D acid to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).Archiv Environ Contam Toxicol 56:754–760

Frank ,R.,1990. Contamination of rural ponds with pesticide, 1971-1985, Ontario, Canada. Bull Environ Contam Toxicol 44,401-9

Giesy, J.P., Dobson ,S. and Solomon,K.R., 2000. Ecotoxicological Risk Assessment for Roundup Herbicide. Reviews of Environmental Contamination & Toxicology 167.pp 35-120.

Jobling,S.,Nolan.,Tylor,C.R.,Brighty,G. and Sumpter,J.P.,1998.Widespread sexual disr uption in wild fish (Roach)Environ, technol, 32,2496-2506 .

Lashidani,M,F.,Nezami,Sh.,Kivan,A.,Jamili,Sh. And Falakroo,K.,2008 . Effects of butachlor on density, volume and number of abnormal sperms in *Rutilus frisii kutum*1901.Research journal of environmental science,Vol:3 .pp:456-469.

Neskovic,N.K.,Poleksic,V.,Elezovic,I.,Karan,V. and Budimir,M.,1996. Biochemical and histopathological effects of glyphosate on carp, *Cyprinus carpio* L. Bull Environ Contam Toxicol 56,pp. 295-302

Nielsen,L. and Baatrup,E.,2006.Quantitve studies on the effects of environmental estrogen on the testiss of the guppy (*Poecilia reticulate)*.Aquatic toxicology. DK-8000-Denmark.80.pp. 140-148.

OECD., 1998a. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Revised Test Guideline 425,Acute Oral Toxicity, Up-and-Down Procedure. OECD, Paris. Available:http://www.oecd.org//ehs/test/health.htm [cited October 1, 2001].

Schultz, I.R., Skillman, A., Nicolas, J., Cyr, D.G. and Nagler, J.J., 2003. Short-term exposure to 17 alpha-ethynylestradiol decreases the fertility of sexually maturing male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).Environmental toxicology and chemistry /SETAC 2003;22(6),pp.1272-80.

Servizi, J.A., Gordon, R.W.and Martens, D.W., 1987. Acute toxicity of Garlon 4 and Roundup herbicides to salmon, Daphnia, and trout. Environ. Contam. Toxicol. (39):pp.15–22.

Snedecor,G.and Cochran ,W.G., 1967 .Statistical Methods, 6th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA,376PP.

Jiraungkoorskula,W., Upathama,E.S., Kruatrachuea,M.and Sahaphongc,S., 2002. Histopathological Effects of Roundup, a Glyphosate Herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).Science Asia 28 (2002) :pp.121-127.

Archive of SID

www.SID.ir