

بررسی فعالیت کولین استرازی بافت‌های سیاه ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*, Keyserling, 1861) در حوضه گرگان‌رود به‌منزله شاخصی زیستی در پایش محیط زیست

- ❖ نیما شیرینی: دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
- ❖ علیرضا میرواقفی*: دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
- ❖ خلیل طالبی جهرمی: استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه تهران، ایران
- ❖ غلامرضا رفیعی: استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

چکیده

شاخص‌های زیستی سیستم‌های هشدار اولیه در مواجهه جانداران آبی با آلاینده‌ها هستند. در میان آن‌ها اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های استرازی و خصوصاً کولین استرازا در بافت‌های ماهی شاخصی برای مواجهه با آفت‌کش‌های فسفره آلی و کاربامات‌هاست و از این شاخص در مطالعات مختلف استفاده شده است. سیاه‌ماهیان از ایستگاه‌های تعیین شده در حوضه گرگان‌رود در چهار فصل صید شدند و از بافت‌های کبد، ماهیچه و مغز آن‌ها نمونه‌برداری شد. فعالیت ویژه و درصد مهارشدگی استرازهای عمومی (به روش ون اسپرن) و استیل کولین استراز (به روش المن) اندازه‌گیری شد. نتایج حاکی از آن بود که سطح آنزیمی هر سه بافت بین ایستگاه‌ها تفاوت معنی‌داری با هم داشت و بیشترین درصد مهارشدگی آنزیم‌های کولین استرازی در ایستگاه پایین دست (ایستگاه ۵) گرگان‌رود و در فصل تابستان به میزان ۳۸/۷۵، ۳۱/۰۱ و ۱۰/۶۲ درصد به ترتیب در بافت‌های کبد، ماهیچه و مغز مشاهده شد. بنابراین استفاده از استیل کولین استراز کبدی این گونه ماهی به دلیل مهارشدگی بیشتر نسبت به آنزیم سایر بافت‌ها، به‌منزله شاخصی زیستی در تعیین و درجه‌بندی آلودگی اکوسیستم‌های آب‌های جاری مورد پایش، توصیه می‌شود. همچنین بافت ماهیچه به علت وجود بوتیریل کولین استراز (در سنجش استرازهای عمومی)، که حساسیت بیشتری نسبت به مهارکننده‌ها دارد، می‌تواند در پایش محیط زیست به کار رود. بررسی این شاخص‌های آنزیمی در فصول مختلف سال نشان داد که بهتر است برنامه‌های پایش محیط زیست در فصول گرم سال و هم‌زمان با تقویم زراعی و سم‌پاشی زمین‌های کشاورزی انجام شود.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های استرازی، استیل کولین استراز، سیاه‌ماهی، شاخص‌های زیستی، گرگان‌رود.

۱. مقدمه

حوضه آبریز گرگان رود - قره سو در بخش جنوب شرقی دریای خزر واقع شده است و از شمال و شرق به حوضه رودخانه اترک و از جنوب به حوضه های آبریز کویر نمک و از جنوب غربی به حوضه رودخانه نكاء محدود است (Azarmdel et al., 2010). کل مساحت حوضه رودخانه گرگان رود یک میلیون و ۱۹ هزار و ۷۰۰ هکتار است که مساحتی نزدیک به ۴۸ درصد سطح استان گلستان را دارد و ۳۹ درصد آن را اراضی زراعی به مساحت ۳۹۷ هزار و ۶۸۴ هکتار تشکیل می دهد که همه ساله انواع محصولات زراعی در آن کشت و برداشت می شود و یکی از مناطق بسیار مهم مصرف انواع آفت کش های کشاورزی و کودهای شیمیایی است (Abyar & Kiani, 2001). یکی از بزرگ ترین مسائل زیست محیطی در بخش کشاورزی درباره رودخانه گرگان رود مصرف زیاد آفت کش ها و کودهای فوق است. در این مناطق از آب رودخانه های گرگان رود، قره سو و اترک برای آبیاری مزارع استفاده می شود؛ به طوری که از سالیان دور کشاورزان حاشیه رودخانه ها مستقیماً از آب رودخانه و برخی از کشاورزان پایین دست از زهاب مزارع بالادست برای آبیاری مزارع استفاده می کنند (ibid). بر اساس نتایج بررسی بقایای آزینفوس متیل و دیازینون در رودخانه های قره سو و گرگان رود استان گلستان، میزان این آفت کش ها در فصول مختلف سال متفاوت است و اختلاف معنی داری بین فصل تابستان و سایر فصول وجود دارد. به طوری که بیشترین مقدار حشره کش ها در هر دو رودخانه در این فصل مشاهده شد (Shayeghi et al., 2008).

شاخص های زیستی^۱ به منظور ارزیابی و پایش اکوسیستم های آبی از منظر وجود آلاینده ها به منزله پیش اخطار در تشخیص اولیه کاربرد دارند (Lam & Gray, 2003). اختصاصی ترین شاخص نسبت به آفت کش های فسفوره آلی تغییر در فعالیت کولین استرازی بافت های جانوری است (Ferrari et al., 2008; Varo et al., 2007). سازوکار آن در واقع مهار برگشت ناپذیر آنزیم کولین استراز با این گروه آفت کش هاست، به طوری که این ترکیبات همانند یک سوستر برای آنزیم رفتار می کنند (Varo et al., 2008). بر این اساس، جدا شدن باقی مانده ترکیب فسفره از آنزیم استراز آن چنان کند صورت می گیرد که آنزیم قادر به هیدرولیز کردن پیام رسان عصبی نیست، استیل کولین در شیار عصبی تجمع می یابد و انتقال عصبی به تدریج متوقف می شود (Moralev et al., 2003). از آنزیم کولین استراز، و به شکل عمومی آن از آنزیم های استراز نوع B، به منزله شاخص زیستی آفت کش های ارگانوفسفره و کاربامات، در پژوهش های متعدد و پایش های محیطی استفاده شده است (Ferenczy et al., 1997; Moralev et al., 2003; Ebrahimzade et al., 2004; Ferrari et al., 2007). ماهیان بررسی شده در حوضه رودخانه گرگان رود، متعلق به ۱۱ خانواده و ۲۴ جنس و ۳۰ گونه اند که در بین آن ها خانواده کپورماهیان دارای بیشترین فراوانی با میزانی حدود ۵۰ درصد است (Olomi, 2001). (Abdoli et al., 1999). در مطالعه ای لیمنولوژیک درباره گرگان رود و سرشاخه های آن که از سال ۱۳۷۵ تا ۱۳۷۸ و با الکتروشوکر انجام دادند،

۲. مواد و روش‌ها

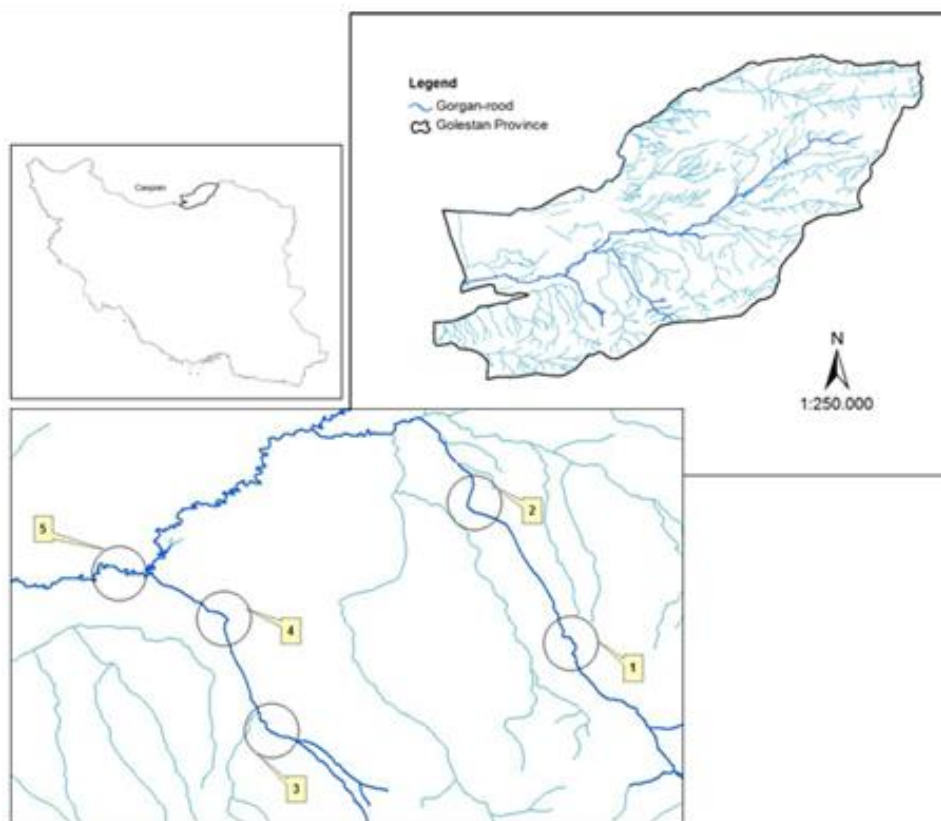
۱. مکان‌های نمونه‌برداری

پنج ایستگاه در منطقه مورد بررسی بر اساس وجود زمین‌های کشاورزی و رهاشدن پساب حاصل از آن‌ها به داخل رودخانه تعیین شدند. ایستگاه‌های مورد بررسی در این حوضه شامل ایستگاه یک و دو به ترتیب بالادست و پایین‌دست زیرشاخه زرین‌گل بودند که در بین دو شهر علی‌آباد کتول و خان‌بین با طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۵۷ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۵۲ دقیقه قرار دارد و دارای ناحیه جلگه‌ای وسیعی است. ایستگاه یک قبل از روستای زرین‌گل (سرخ‌محله) قرار گرفته که از ناحیه‌ای جنگلی - کوهستانی عبور می‌کند و ایستگاه دو پس از روستا واقع شده و بیشتر این منطقه را زمین‌های زراعی تشکیل می‌دهد. ایستگاه‌های سه و چهار به ترتیب بالادست و پایین‌دست زیرشاخه محمدآباد است که در شرق علی‌آباد کتول با طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۴۵ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۲ دقیقه قرار دارد و دارای ناحیه کوهستانی نسبتاً وسیع‌تر و وسعت کمتر زمین‌های زراعی نسبت به زیرشاخه زرین‌گل است. همچنین بیشترین تراکم مزارع پرورش ماهی قزل‌آلا (به تعداد سه مزرعه) را در این استان در خود جای داده است. ایستگاه سه پیش از روستای فاضل‌آباد قرار گرفته و ایستگاه چهار که از بین زمین‌های کشاورزی می‌گذرد (پس از روستا). ایستگاه پنج از شاخه اصلی رودخانه گرگان‌رود قبل از ورود به شهر آق‌قلا با طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۳۹ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۴۱ دقیقه قرار داشت.

Capoeta capoeta gracilis (Keyserling, 1861) را

فراوان‌ترین ماهی این حوضه اعلام کردند که پراکنش بسیار وسیعی دارد. بنابراین با توجه به فراوانی، سازگاری با شرایط محیطی و بتتوپلاژیک‌بودن (Samaee et al., 2006)، این گونه می‌تواند شاخص مناسبی برای پایش‌های زیستی باشد.

در مزارع شمال ایران از آفت‌کش‌های فسفره آلی (به‌ویژه دیازینون) به مقیاس وسیعی استفاده می‌شود (Abyar & Kiani, 2001). این حشره‌کش‌ها به همراه آب ناشی از بارش‌های طبیعی یا آبیاری زمین‌های زراعی به سایر منابع آب شیرین به‌ویژه رودخانه‌ها راه می‌یابد و به طور مستقیم با مصرف آب شیرین، یا غیرمستقیم از طریق زنجیره‌های غذایی، به انسان منتقل می‌شود (Shayeghi et al., 2008). در حال حاضر کنترلی بر سرنوشت آفت‌کش‌های مصرف‌شده در مزارع اعمال نمی‌شود. از این رو پایش این سموم در اکوسیستم‌های آب شیرین الزامی است. مطالعه حاضر در نظر دارد فعالیت آنزیم Acetylcholinesterase (AChE) و استرازهای عمومی (نوع B) بافت‌های سیاه‌ماهی در این حوضه را در ایستگاه‌های تعیین شده بررسی کند. همچنین درباره زمان مهارشدگی آنزیم پس از مواجهه احتمالی با آفت‌کش در فصول مختلف و تقویم زراعی منطقه نیز مطالعه شده است تا سازوکار استفاده از این شاخص، تعیین و بافت مناسب به منظور پایش محیطی انتخاب شود. چنین مطالعه‌ای می‌تواند امکان استفاده از آنزیم‌های استراز بافتی این سیاه‌ماهی (*C. capoeta gracilis*) را به‌منزله شاخص تشخیص سموم فسفره آلی در فصل مناسب مشخص کند.



شکل ۱. موقعیت مکانی گرگان‌رود و ایستگاه‌های مورد استفاده در پژوهش

کمک الکتروشوکر (با قدرت ۱/۷ کیلووات، جریان مستقیم با ولتاژ ۳۰۰-۲۰۰ ولت) انجام گرفت. از تمامی ماهیان صیدشده، نمونه‌هایی از سه بافت مغز، کبد و عضله اسکلتی (از بخش زیرین باله پشتی) جدا شدند و پس از اندازه‌گیری وزن به سرعت داخل فلاسک ازت مایع (هفت لیتری) گذاشته شدند و به آزمایشگاه سم‌شناسی منتقل شدند. در آنجا بافت‌های حاصل با کمک محلول بافر فسفات (۰/۱ مولار با pH هفت و حاوی ۱ درصد تریتون ایکس ۱۰۰) به صورت دستی هموژن شد، سپس روشن‌شده حاصل از سانتریفیوژ نمونه‌ها جدا شد تا به منزله منبع آنزیم استفاده شود (Ellman *et al.*, 1961).

این ایستگاه در مسیر جریان به فاضلاب شهری و روستایی (به ویژه فاضلاب شهری شهرستان گنبد کاووس) آلوده می‌شود (Shapouri *et al.*, 2010). موقعیت مکانی حوضه مورد بررسی در شکل ۱ نشان داده شده است.

۲.۲. صید ماهیان، نمونه برداری از بافت‌ها و

تهیه روشن‌شده^۱

صید سیاه‌ماهی از ایستگاه‌های یک، دو، سه و چهار در همه فصول به جز فصل زمستان به وسیله تور سالیک پرتابی ریزچشمه همچین دام (ابزار انتظاری) انجام شد، اما در ایستگاه پنج در همه فصول صید به

1. Supernatant

۲.۴. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

اثبات نرمال بودن داده‌های به‌دست‌آمده با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف^۵ انجام گرفت و با توجه به نرمال بودن و همگنی، واریانس داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه^۶ با هم مقایسه شد. سپس مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن^۷ با میزان خطای نوع اول ۰/۰۵ ارزیابی شد.

۳. نتایج

۳.۱. فعالیت ویژه و درصد مهارشدگی

استرازهای عمومی

نتایج آنالیز واریانس داده‌های فعالیت ویژه استراز عمومی بافت‌های کبد، ماهیچه و مغز ماهیان صیدشده از ایستگاه‌ها نشان می‌دهد که با احتمال ۹۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P < 0.05$). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها حاکی از این است که بالاترین سطح فعالیت آنزیمی در هر سه بافت کبد، ماهیچه و مغز در ایستگاه سوم به ترتیب به میزان 2.185 ± 0.32 ، 2.96 ± 0.23 و 7.93 ± 0.27 بر حسب O.D./min/mg protein مشاهده شد که نشان‌دهنده کمترین درصد مهارشدگی و به معنای آلودگی کشاورزی کمتر در این ایستگاه است. جداول مربوط به مقایسه میزان فعالیت ویژه (جدول ۱) و درصد مهارشدگی (جدول ۲) استرازهای عمومی تیمارها در بافت‌های مختلف، همچنین نمودارهای مقادیر فعالیت آنزیم‌های استرازی به تفکیک در بافت‌های کبد، ماهیچه و مغز در تیمارها در ذیل آورده شده است (شکل ۲).

۲.۳. سنجش پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌های

استراز عمومی و استیل کولین استراز

میزان غلظت پروتئین کل بافت‌ها با روش (Lowry *et al.* 1951) در طول موج ۵۴۰ نانومتر به وسیله دستگاه الایزا (Biotek Elx 808) تعیین شد. در این روش از فولین به‌منزله معرف رنگی استفاده شد. سپس از روی منحنی حاصل و معادله خط آن غلظت پروتئین موجود در نمونه بافت‌ها به دست آمد. اندازه‌گیری میزان فعالیت ویژه کولین استرازی با روش (Ellman *et al.* 1961) در طول موج ۴۲۰ نانومتر به وسیله دستگاه الایزا انجام شد. بدین منظور، مخلوط رونشین (آنزیم)، بافر فسفات ۰/۱ مولار، معرف رنگی DTNB و استیل تیوکولین آیداید، به هر تیوب افزوده شد و در نهایت حجم ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نهایی به هر یک از چاهک‌های میکروپلیت انتقال پیدا کرد و میزان جذب در یک دقیقه (O.D./min) با دستگاه خوانده شد. همچنین فعالیت ویژه استرازهای عمومی با روش (Van 1998) در طول موج ۴۲۰ نانومتر و با کمک معرف رنگی فست بلو^۱ و سوبسترای آلفا نفتیل استات^۲، به وسیله دستگاه ذکرشده سنجش شد. فعالیت ویژه آنزیمی استیل کولین استراز، بر اساس نانومول استیل تیوکولین هیدرولیزشده در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین^۳ هر بافت، و برای استرازهای عمومی بر اساس جذب در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین^۴ هر بافت بیان شد. همچنین درصد مهارشدگی آنزیم‌های هر تیمار محاسبه شد.

1. Fast blue reagent
2. α -Naphthyle acetate
3. nmol hydrolyzed ASCh /min/mg protein
4. OD/min/mg protein

5. Kolmogorov-Smirnov
6. ANOVA
7. Duncan Test

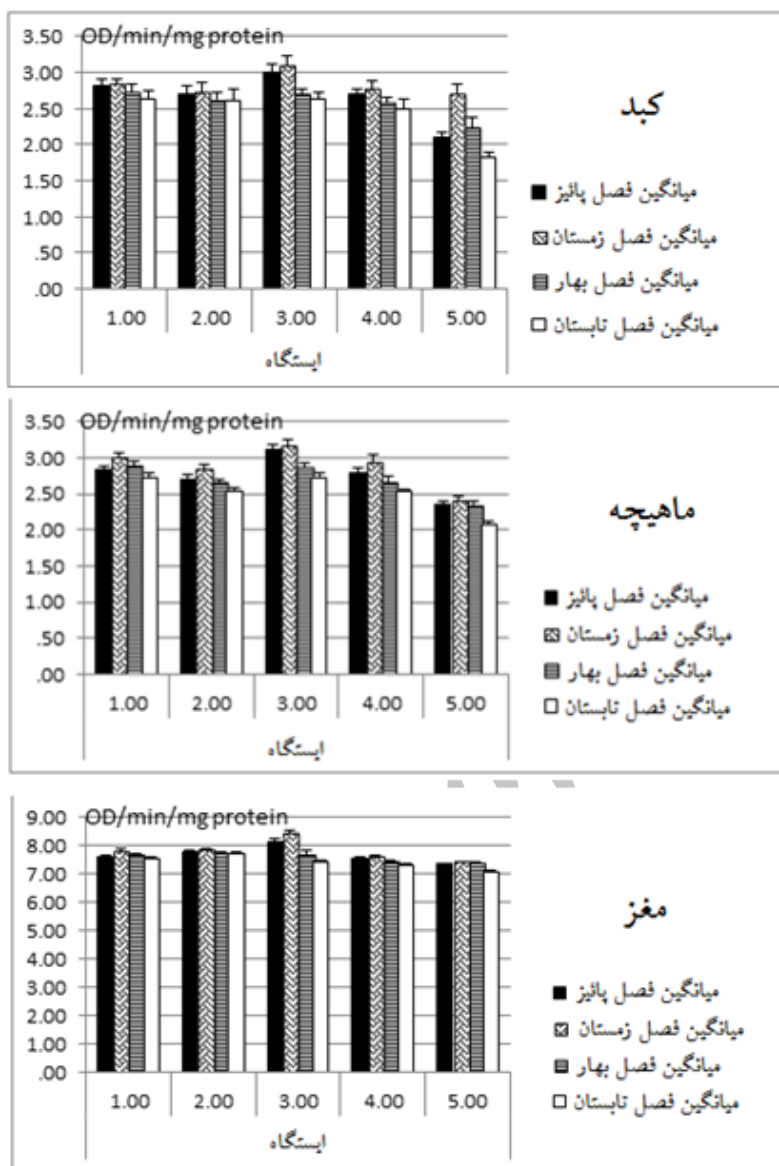
جدول ۱. مقایسه میزان فعالیت استراز عمومی تیمارها (میانگین \pm انحراف معیار) در بافت‌های مختلف

تیمار	فصل					تیمار
	ایستگاه ۱	ایستگاه ۲	ایستگاه ۳	ایستگاه ۴	ایستگاه ۵	
باز	پاییز	۲/۸۱±۰/۲۹ ^a	۲/۱±۰/۲ ^d	۲/۶۹±۰/۲۶ ^c	۳±۰/۳۴ ^c	۲/۷±۰/۳۸ ^b
	زمستان	۲/۷۱±۰/۳۴ ^e	۲/۷۳±۰/۴ ^b	۳/۱±۰/۴۲ ^c	۲/۷±۰/۳۷ ^d	۲/۷±۰/۳۴ ^e
	بهار	۲/۲۵±۰/۴۱ ^e	۲/۵۸±۰/۲ ^d	۲/۶۹±۰/۲۶ ^c	۲/۶±۰/۳۴ ^b	۲/۷±۰/۳۷ ^a
	تابستان	۱/۸۳±۰/۱۴ ^d	۲/۵±۰/۴۲ ^c	۲/۶۳±۰/۲۶ ^a	۲/۶±۰/۴۶ ^b	۲/۶±۰/۳۳ ^a
	کل	۲/۴۷±۰/۲۷ ^e	۲/۶±۰/۳۱ ^d	۲/۸۵±۰/۳۲ ^c	۲/۶±۰/۳۹ ^b	۲/۷±۰/۳ ^a
باز	پاییز	۲/۳۶±۰/۱۳ ^e	۲/۸±۰/۲۳ ^d	۳/۱۲±۰/۲۲ ^c	۲/۷±۰/۲۲ ^b	۲/۸±۰/۱۴ ^a
	زمستان	۲/۴۱±۰/۱۶ ^e	۲/۹±۰/۳۴ ^d	۳/۱۶±۰/۲۸ ^c	۲/۸±۰/۲۲ ^b	۳±۰/۱۹ ^a
	بهار	۲/۳۴±۰/۲۱ ^c	۲/۶۵±۰/۲۲ ^b	۲/۸۶±۰/۲۱ ^a	۲/۶±۰/۱۲ ^b	۲/۸±۰/۲۳ ^a
	تابستان	۲/۰۸±۰/۱۱ ^c	۲/۵±۰/۱۱ ^b	۲/۷۳±۰/۲۱ ^a	۲/۵±۰/۱۴ ^b	۲/۷±۰/۲۷ ^a
	کل	۲/۲۹±۰/۱۵ ^e	۲/۷±۰/۲۲ ^d	۲/۹±۰/۲۳ ^c	۲/۶±۰/۱۷ ^b	۲/۸۵±۰/۲ ^a
باز	پاییز	۷/۳۶±۰/۰۸ ^d	۷/۵۶±۰/۱۹ ^a	۸/۱۶±۰/۲۱ ^c	۷/۷۶±۰/۱۵ ^b	۷/۵۸±۰/۲ ^a
	زمستان	۷/۴۲±۰/۰۶ ^e	۷/۶۲±۰/۱۶ ^d	۸/۴۶±۰/۳۳ ^c	۷/۸±۰/۱۵ ^b	۷/۷۹±۰/۳ ^a
	بهار	۷/۳۸±۰/۱	۷/۴۲±۰/۲۱ ^c	۷/۶۹±۰/۴۱ ^a	۷/۷±۰/۱۳ ^b	۷/۷±۰/۱۶ ^a
	تابستان	۷/۰۶±۰/۱۳ ^e	۷/۳±۰/۱۹ ^d	۷/۴۲±۰/۱۶ ^c	۷/۷±۰/۱۶ ^b	۷/۵±۰/۱۴ ^a
	کل	۷/۳±۰/۱۲ ^e	۷/۴±۰/۱۸ ^d	۷/۹۳±۰/۲۷ ^c	۷/۷±۰/۱۴ ^b	۷/۶۶±۰/۲ ^a

* حروف انگلیسی متفاوت در سطرها افقی بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

جدول ۲. مقایسه درصد مهارشدگی استراز عمومی تیمارها در بافت‌های مختلف (بر حسب درصد)

تیمار	فصل					بافت
	ایستگاه ۱	ایستگاه ۲	ایستگاه ۳	ایستگاه ۴	ایستگاه ۵	
کبد	پاییز	۹/۵۱	۱۳/۰۵	۳/۳۲	۱۳/۳۲	۳۲/۱۸
	زمستان	۸/۲۶	۱۱/۹۸	۰/۰۰	۱۰/۶۱	۱۲/۷
	بهار	۱۲/۳۴	۱۵/۵۳	۱۳/۱۱	۱۶/۸۶	۲۷/۵۸
	تابستان	۱۵/۱۷	۱۵/۶۵	۱۵/۱۱	۱۹/۳۵	۴۰/۹۶
	کل	۱۱/۳۲	۱۴/۰۵	۷/۸۸	۱۵/۰۳	۲۸/۳۵
ماهیچه	پاییز	۱۰/۳۳	۱۴/۴۹	۱/۲۸	۱۱/۸۴	۲۵/۲۶
	زمستان	۴/۷۸	۱۰/۳۴	۰/۰۰	۷/۳۴	۲۳/۸۵
	بهار	۸/۹۱	۱۶/۰۶	۹/۶۴	۱۵/۹۹	۲۵/۹۲
	تابستان	۱۴/۱۲	۱۹/۳۹	۱۳/۷	۱۹/۹۳	۳۴/۲۶
	کل	۹/۵۳	۱۵/۰۶	۶/۱۵	۱۳/۷۷	۲۷/۳۲
مغز	پاییز	۱۰/۳۶	۸/۲۲	۳/۵۸	۱۰/۶۶	۱۲/۹۹
	زمستان	۷/۹۸	۶/۹۴	۰/۰۰	۹/۹۴	۱۲/۲۵
	بهار	۹/۰۳	۸/۴۴	۹/۱۱	۱۲/۳۳	۱۲/۷۵
	تابستان	۱۰/۵۵	۸/۵۵	۱۲/۳	۱۳/۲۸	۱۶/۵۹
	کل	۹/۴۸	۸/۰۳	۶/۲۴	۱۱/۵۵	۱۳/۶۴



شکل ۲. نمودارهای مقادیر فعالیت آنزیم‌های استراز عمومی بافت‌های کبد، ماهیچه و مغز در تیمارها (میانگین \pm خطای معیار)

الف) فصل پاییز در بافت کبد بین ایستگاه‌های یک، دو و پنج اختلاف معنی‌دار وجود داشت، اما بین ایستگاه‌های سه و چهار اختلافی مشاهده نشد ($P > 0/05$). در بافت ماهیچه بین تمامی ایستگاه‌ها در این فصل اختلاف معنی‌دار دیده شد. همچنین در بافت مغز فقط بین ایستگاه‌های اول و چهارم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$).

بررسی اجمالی بافت‌ها نمایان‌گر این است که در هر سه بافت بین تمامی ایستگاه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$) و به طور کلی بین میانگین سطوح آنزیمی بافت‌های نمونه‌های صیدشده از ایستگاه‌ها در فصول مختلف سال اختلاف معنی‌دار دیده شد ($P < 0/05$). در ذیل به تفکیک هر فصل ایستگاه‌ها بررسی می‌شوند.

(ب) فصل زمستان

در هر سه بافت کبد، ماهیچه و مغز بین تمامی ایستگاه‌ها اختلاف معنی‌دار دیده شد ($P < 0/05$).

(ج) فصل بهار

در بافت کبد بین تمامی ایستگاه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/05$). در بافت ماهیچه بین ایستگاه‌های اول و سوم، همچنین بین ایستگاه‌های دوم و چهارم، اختلاف معنی‌داری دیده نشد، اما بین ایستگاه پنجم با سایر ایستگاه‌ها اختلاف وجود داشت. همچنین در بافت مغز فقط بین ایستگاه‌های اول و سوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$).

(د) فصل تابستان

در بافت کبد به غیر از ایستگاه‌های اول و سوم بین سایر ایستگاه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$). در بافت ماهیچه بین ایستگاه‌های اول و سوم، همچنین بین ایستگاه‌های دوم و چهارم، اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($P > 0/05$)، اما بین ایستگاه پنجم با سایر ایستگاه‌ها اختلاف وجود داشت. در بافت مغز بین تمامی ایستگاه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود داشت.

نتایج حاکی از این است که بیشترین سطوح آنزیمی بافت‌ها در ایستگاه سوم در فصل زمستان دیده شد، بنابراین به منزله شاهد مبنایی برای تعیین درصد مهارشدگی قرار گرفت. بر همین اساس بیشترین درصد مهارشدگی در ایستگاه پنجم در فصل تابستان و در بافت کبد به میزان ۴۰/۹۶ درصد محاسبه شد (جدول ۲).

۳. ۲. فعالیت ویژه و درصد مهارشدگی

استیل کولین استراز

نتایج آنالیز واریانس داده‌های فعالیت ویژه استیل کولین استراز بافت‌های کبد، ماهیچه و مغز ماهیان صیدشده از ایستگاه‌ها نشان می‌دهد که با احتمال ۹۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P < 0/05$). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها حاکی از این است که بالاترین سطح فعالیت آنزیمی در هر سه بافت کبد، ماهیچه و مغز در ایستگاه سوم به ترتیب به میزان $11/16 \pm 0/99$ ، $11/93 \pm 1/153$ و $18/31 \pm 1/517$ بر حسب نانومول سوبسترای هیدرولیزشده در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد که نشان‌دهنده کمترین درصد مهارشدگی و به معنای آلودگی کشاورزی کمتر در این ایستگاه است.

بررسی اجمالی بافت‌ها نمایان‌گر این است که در بافت مغز بین ایستگاه‌های اول، دوم و چهارم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$)، اما ایستگاه‌های سوم و پنجم دارای اختلاف معنی‌داری بین خود و سایر ایستگاه‌ها بودند. در بافت ماهیچه به غیر از ایستگاه‌های اول و سوم، بین سایر ایستگاه‌ها با هم اختلاف معنی‌دار وجود داشت. همچنین در بافت مغز بین ایستگاه‌های یک و سه، همچنین بین ایستگاه‌های دو و چهار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$)، اما بین ایستگاه پنجم با سایر ایستگاه‌ها اختلاف دیده شد ($P < 0/05$).

جدول مربوط به مقایسه میزان فعالیت ویژه (جدول ۳) و درصد مهارشدگی (جدول ۴) استیل کولین استراز تیمارها در بافت‌های مختلف، همچنین نمودارهای مقادیر فعالیت این آنزیم به تفکیک در بافت‌های کبد، ماهیچه و مغز در تیمارها در ذیل

ج) فصل بهار

در بافت‌های کبد و مغز همانند فصل پاییز، بین ایستگاه‌های یک و سه، همچنین بین ایستگاه‌های دو و چهار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$)، اما بین ایستگاه پنجم با سایر ایستگاه‌ها اختلاف دیده شد. در بافت ماهیچه به غیر از ایستگاه‌های اول و سوم، بین سایر ایستگاه‌ها با هم اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/05$).

د) فصل تابستان

در این فصل در بافت کبد بین ایستگاه‌های اول، دوم و سوم اختلافی وجود نداشت ($P > 0/05$)، اما ایستگاه‌های چهارم و پنجم دارای اختلاف معنی‌داری بین خود و سایر ایستگاه‌ها بودند. در بافت ماهیچه همانند فصل بهار، به غیر از ایستگاه‌های اول و سوم، بین سایر ایستگاه‌ها با هم اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/05$)، اما در بافت مغز بین ایستگاه‌های یک و سه، همچنین بین ایستگاه‌های دو و چهار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$)، اما بین ایستگاه پنجم با سایر ایستگاه‌ها اختلاف وجود داشت.

آورده شده است (شکل ۳). به طور کلی، بین میانگین سطوح آنزیمی بافت‌های نمونه‌های صیدشده از ایستگاه‌ها در فصول مختلف سال اختلاف معنی‌دار دیده شد ($P < 0/05$). در ذیل به تفکیک هر فصل، ایستگاه‌ها بررسی می‌شوند.

الف) فصل پاییز

در بافت‌های کبد و مغز بین ایستگاه‌های یک و سه، همچنین بین ایستگاه‌های دو و چهار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$)، اما بین ایستگاه پنجم با سایر ایستگاه‌ها اختلاف آماری دیده شد. در بافت ماهیچه بین تمامی ایستگاه‌ها در این فصل اختلاف معنی‌دار دیده شد ($P < 0/05$).

ب) فصل زمستان

در این فصل در بافت کبد، فقط بین ایستگاه‌های دوم و پنجم اختلاف معنی‌داری دیده نشد. در بافت ماهیچه بین ایستگاه‌های اول، سوم و چهارم اختلافی وجود نداشت ($P > 0/05$)، اما ایستگاه‌های دوم و پنجم دارای اختلاف معنی‌داری بین خود و سایر ایستگاه‌ها بودند. در بافت مغز بین ایستگاه‌های دو و چهار، همچنین سه و پنج اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$)، اما ایستگاه اول با سایرین اختلاف معنی‌داری داشت.

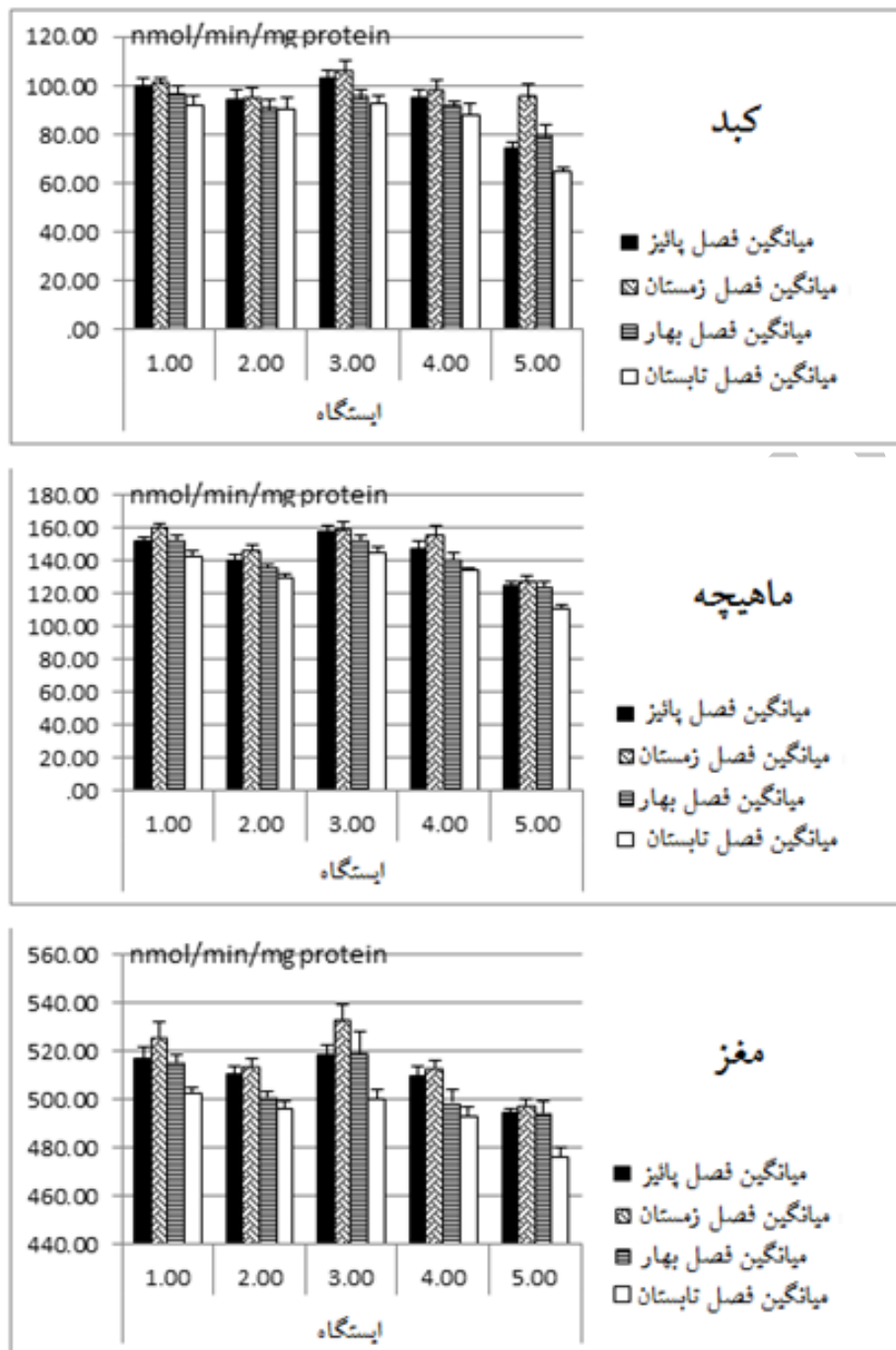
جدول ۳. مقایسه میزان فعالیت استیل کولین استراز تیمارها (میانگین \pm انحراف معیار) در بافت‌های مختلف

ایستگاه	تیمار					پاییز	زمستان	بهار
	ایستگاه ۵	ایستگاه ۴	ایستگاه ۳	ایستگاه ۲	ایستگاه ۱			
۱۰۰/۱۸ \pm ۱۰/۵ ^a	۹۴/۴۷ \pm ۱۳/۳۷ ^b	۱۰۳ \pm ۱۱/۷۱ ^a	۹۵/۳ \pm ۹/۳۶ ^b	۷۴/۴۸ \pm ۷/۰۷ ^c				
۱۰۱/۰۹ \pm ۷/۵۴ ^a	۹۵/۱۹ \pm ۱۳/۷۸ ^b	۱۰۶/۱۶ \pm ۱۴/۲۹ ^c	۹۸/۳ \pm ۱۳/۳ ^d	۹۵/۸ \pm ۱۲/۰۷ ^b				
۹۶/۱۳ \pm ۱۲/۹۶ ^a	۹۰/۹۳ \pm ۱۱/۶۹ ^b	۹۵/۷ \pm ۹/۳۱ ^a	۹۱/۴ \pm ۷/۰۱ ^b	۷۹/۴۷ \pm ۱۴/۴۴ ^c				

ادامه جدول ۳. مقایسه میزان فعالیت استیل کولین استراز تیمارها (میانگین \pm انحراف معیار) در بافت‌های مختلف

بافت	فصل	تیمار				
		ایستگاه ۱	ایستگاه ۲	ایستگاه ۳	ایستگاه ۴	ایستگاه ۵
کبد	پاییز	۷۴/۴۸ \pm ۷/۰۷ ^c	۹۵/۳ \pm ۹/۳۶ ^b	۱۰۳ \pm ۱۱/۷۱ ^a	۹۴/۴۷ \pm ۱۳/۳۷ ^b	۱۰۰/۱۸ \pm ۱۰/۵ ^a
	زمستان	۹۵/۸ \pm ۱۲/۰۷ ^b	۹۸/۳ \pm ۱۳/۳ ^d	۱۰۶/۱۶ \pm ۱۴/۲۹ ^c	۹۵/۱۹ \pm ۱۳/۷۸ ^b	۱۰۱/۰۹ \pm ۷/۵۴ ^a
	بهار	۷۹/۴۷ \pm ۱۴/۴۴ ^c	۹۱/۴ \pm ۷/۰۱ ^b	۹۵/۷ \pm ۹/۳۱ ^a	۹۰/۹۳ \pm ۱۱/۶۹ ^b	۹۶/۱۳ \pm ۱۲/۹۶ ^a
	تابستان	۶۵/۰۲ \pm ۵/۰۵ ^c	۸۸/۶ \pm ۱۴/۷۵ ^b	۹۳/۴۶ \pm ۹/۳۴ ^a	۹۰/۳۷ \pm ۱۵/۸۴ ^a	۹۲/۵۹ \pm ۱۱/۵۹ ^a
	کل	۷۸/۷ \pm ۹/۶۵ ^c	۹۳/۴۲ \pm ۱۱/۱ ^a	۹۹/۶ \pm ۱۱/۱۶ ^b	۹۲/۷۴ \pm ۱۳/۶۷ ^a	۹۴/۴۹ \pm ۱۰/۶۴ ^a
ماهیچه	پاییز	۱۲۵ \pm ۶/۶۶ ^e	۱۴۷ \pm ۱۲/۰۶ ^d	۱۵۸ \pm ۱۰/۹۸ ^c	۱۴۰ \pm ۱۱/۲۹ ^b	۱۵۱/۸ \pm ۷/۴۱ ^a
	زمستان	۱۲۷/۲۸ \pm ۸/۶۷ ^c	۱۵۵ \pm ۱۷/۹۵ ^a	۱۵۸ \pm ۱۴/۰۸ ^a	۱۴۶ \pm ۱۱/۱۵ ^b	۱۶۰/۰۵ \pm ۹/۹۱ ^a
	بهار	۱۲۳/۷۳ \pm ۱۱/۰۹ ^d	۱۴۰ \pm ۱۱/۸۴ ^c	۱۵۱/۷۷ \pm ۱۱/۴ ^a	۱۳۶/۲۷ \pm ۶/۳۶ ^b	۱۵۲ \pm ۱۲/۰۵ ^a
	تابستان	۱۱۰/۴۱ \pm ۶/۰۲ ^d	۱۳۴ \pm ۵/۹۱ ^c	۱۴۴/۸۶ \pm ۱۱/۲۹ ^a	۱۲۹/۹۷ \pm ۷/۱۷ ^b	۱۴۲ \pm ۱۴/۰۴ ^a
	کل	۱۲۱/۶ \pm ۸/۱۱ ^d	۱۴۴ \pm ۱۱/۹۴ ^c	۱۵۳/۴۱ \pm ۱۱/۹۳ ^a	۱۳۸/۳۷ \pm ۸/۹۹ ^b	۱۵۱ \pm ۱۰/۸۵ ^a
مغز	پاییز	۴۹۴/۲۳ \pm ۵/۳۱ ^c	۵۰۹ \pm ۱۲/۶۸ ^b	۵۱۸/۴۷ \pm ۱۳/۶۶ ^a	۵۱۰/۸۳ \pm ۱۰/۱۴ ^b	۵۱۷/۰۸ \pm ۱۳/۵ ^a
	زمستان	۴۹۸ \pm ۴/۲۳ ^c	۵۱۲/۹۵ \pm ۱۱/۰۲ ^b	۵۳۲/۹ \pm ۲۰/۶۸ ^c	۵۱۳/۴۷ \pm ۹/۶۶ ^b	۵۲۶/۰۲ \pm ۲۰/۳۴ ^a
	بهار	۴۹۴/۷ \pm ۱۳/۸ ^c	۴۹۸/۹۱ \pm ۱۳/۹۸ ^b	۵۱۹/۱۱ \pm ۲۷/۸ ^a	۵۰۰/۸۴ \pm ۸/۴۳ ^b	۵۱۵ \pm ۱۰/۹۴ ^a
	تابستان	۴۷۶/۳۱ \pm ۸/۷۹ ^c	۴۹۳/۰۵ \pm ۱۲/۷۴ ^b	۵۰۰/۴۲ \pm ۱۱/۱۲ ^a	۴۹۵/۹۶ \pm ۱۰/۴۱ ^b	۵۰۲/۲۸ \pm ۹/۱۳ ^a
	کل	۴۹۰/۸۱ \pm ۸/۰۳ ^c	۵۰۳/۵۵ \pm ۱۲/۶ ^b	۵۱۷/۷۲ \pm ۱۸/۳۱ ^a	۵۰۵/۲۷ \pm ۹/۶۶ ^b	۵۱۵ \pm ۱۳/۴۷ ^a

* حروف انگلیسی متفاوت در سطرها افقی بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۳. نمودارهای مقادیر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز بافت‌های کبد، ماهیچه و مغز در تیمارها (میانگین \pm خطای معیار)

تعیین درصد مهارشدگی قرار گرفتند. بر همین اساس بیشترین درصد مهارشدگی در ایستگاه پنجم در فصل تابستان و در بافت کبد به میزان ۳۸/۷۵ درصد محاسبه شد (جدول ۴).

نتایج حاکی از این است که بیشینه سطوح آنزیمی بافت‌های کبد و مغز در ایستگاه سوم و برای بافت ماهیچه در ایستگاه اول است، که البته همگی آن‌ها در فصل زمستان دیده شدند و مبنایی برای

جدول ۴. مقایسه درصد مهارشدگی استیل کولین استراز تیمارها در بافت‌های مختلف (بر حسب درصد)

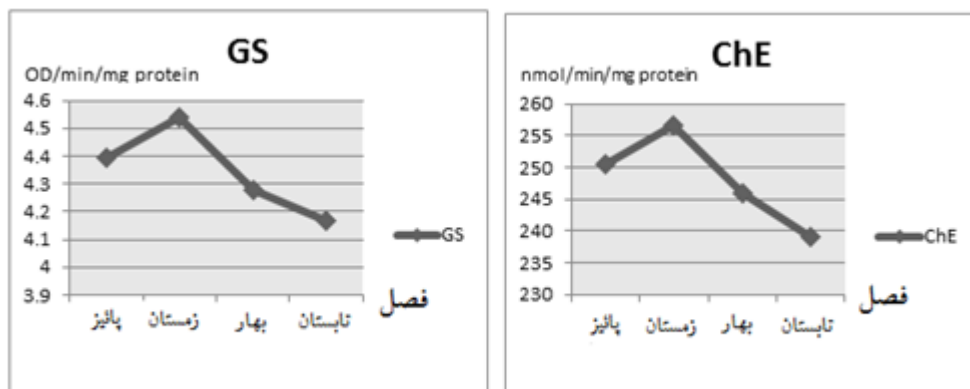
بافت	فصل	تیمار				
		ایستگاه ۱	ایستگاه ۲	ایستگاه ۳	ایستگاه ۴	ایستگاه ۵
کبد	پاییز	۵/۶۳	۱۱/۰۱	۲/۸۸	۱۰/۱۶	۲۹/۸۴
	زمستان	۴/۷۸	۱۰/۳۴	۰/۰۰	۷/۳۹	۹/۷۳
	بهار	۹/۴۴	۱۴/۳۵	۹/۸۶	۱۳/۹۱	۲۵/۱۵
	تابستان	۱۲/۷۸	۱۴/۸۷	۱۱/۹۷	۱۶/۵۲	۳۸/۷۵
	کل	۸/۱۵	۱۲/۶۴	۶/۱۷	۱۱/۹۹	۲۵/۸۶
ماهیچه	پاییز	۵/۱۶	۱۲/۰۷	۱/۲۳	۷/۶۱	۲۱/۹
	زمستان	۰/۰۰	۸/۴۴	۰/۶۹	۲/۹۶	۲۰/۴۸
	بهار	۵/۰۱	۱۴/۸۶	۵/۱۸	۱۲/۰۸	۲۲/۶۹
	تابستان	۱۱/۰۷	۱۸/۸	۹/۴۹	۱۶/۲۷	۳۱/۰۱
	کل	۵/۳	۱۳/۵۴	۴/۱۴	۹/۷۲	۲۴/۰۲
مغز	پاییز	۲/۹۷	۴/۱۴	۲/۷۱	۴/۴۳	۷/۲۶
	زمستان	۱/۲۹	۳/۶۵	۰/۰۰	۳/۷۴	۶/۵۵
	بهار	۳/۳	۶/۰۲	۲/۵۹	۶/۳۸	۷/۱۷
	تابستان	۵/۷۵	۶/۹۳	۶/۰۹	۷/۴۸	۱۰/۶۲
	کل	۳/۳۲	۵/۱۸	۲/۸۴	۵/۵	۷/۹

۳.۳. درجه‌بندی ایستگاه‌ها و فصول بر

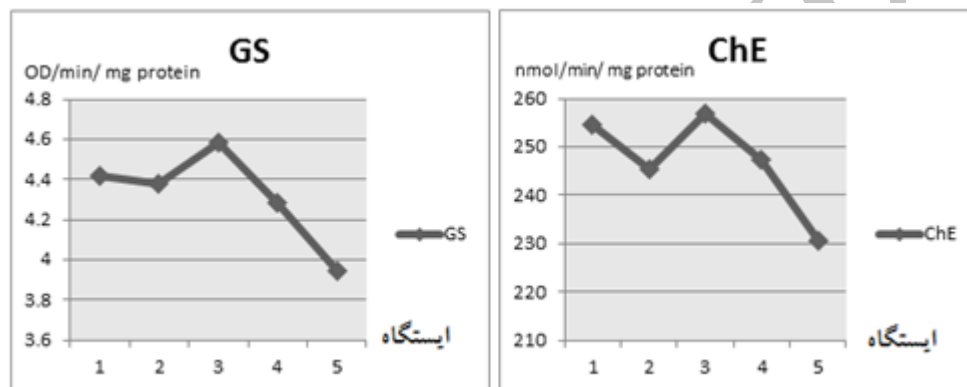
اساس فعالیت آنزیمی

درجه‌بندی کلی فصول از نظر سطح فعالیت استرازی در شکل ۴ نشان داده شده است. سطح فعالیت آنزیم‌های استرازی و استیل کولین استراز بافت‌ها با گذر زمان از پاییز به سمت تابستان روندی کاهشی را طی کرده است. البته به طور دقیق‌تر حالتی افزایشی از پاییز تا بهار مشاهده‌شدنی است که با شروع این فصل یک افت در سطح فعالیت آنزیمی دیده می‌شود و این روند کاهشی در فصل تابستان به اوج خود می‌رسد.

درجه‌بندی کلی ایستگاه‌ها بر اساس سطح فعالیت آنزیم‌های استراز عمومی و استیل کولین استراز بافت‌ها در شکل ۵ مشاهده می‌شود. ایستگاه سوم به‌منزله ناحیه دارای حداقل آلودگی بر اساس هر دو شاخص آنزیمی معرفی شد، اما جایگاه ایستگاه نخست در هر کدام از شاخص‌های آنزیمی متفاوت است، به طوری که بر مبنای استیل کولین استراز این ایستگاه آلودگی قابل توجهی نداشت، اما استرازهای عمومی این ایستگاه را هم‌ردیف ایستگاه‌های دوم و سوم (با آلودگی متوسط) قرار داد.



شکل ۴. نمودارهای روند فعالیت آنزیم‌های استراز عمومی و استیل کولین استراز طی فصول



شکل ۵. نمودارهای روند فعالیت آنزیم‌های استراز عمومی و استیل کولین استراز در ایستگاه‌ها

علاوه، یافته‌های مطالعه (Leticia and Gerardo, 2008) نمایان‌گر این بود که میزان فعالیت کولین استرازی و کربوکسیل استرازی در مغز بیشتر از بافت‌های کبد، عضله و چشم است و این نتایج مطالعات ذکر شده با یافته‌های این پژوهش مطابقت داشت. همچنین پژوهش (Sturm *et al.*, 1999) نشان داد که بوتیریل کولین استراز دارای حساسیت بالاتری نسبت به استیل کولین استراز در بافت عضله در برابر حشره‌کش‌های فسفره آلی است. از آنجا که استرازهای عمومی (شامل استرازهای نوع B که همگی به وسیله ترکیبات ارگانوفسفره مهار می‌شوند) هر دو نوع کولین استرازا (استیل کولین استراز و

۴. بحث و نتیجه‌گیری

بافت مغز به منزله سیستم مرکزی اعصاب دارای حد طبیعی بالاتری از انتقال‌دهنده‌های عصبی است و آنزیم‌های هیدرولاز آن‌ها نسبت به سایر بافت‌ها، از قبیل کبد و ماهیچه، بیشتر است (Ferenczy *et al.*, 1997; Sturm *et al.*, 1999; Leticia and Gerardo, 2008). بر اساس یافته‌های این پژوهش درصد مهارشدگی استرازهای عمومی و استیل کولین استراز کبد بیشتر از سایر بافت‌ها بود و این بافت به منظور پایش محیطی مناسب‌تر از عضله و مغز به نظر می‌رسد. در مطالعه (Sturm *et al.*, 1999) نشان داده شد که استیل کولین استراز عضله و مغز اختلاف معنی‌داری در ثابت مهارکنندگی با هم دارند. به

فصل تابستان و ساير فصول وجود دارد. به طوري كه بيشترين مقدار حشره‌كش‌ها در اين رودخانه در اين فصل مشاهده شد و كمترين ميزان آن در زمستان بوده است. با وجود تغييرات ميزان باقي مانده اين دو حشره‌كش در فصول ديگر (بهار، زمستان و پاييز)، اختلاف آن از نظر آماری معنی‌دار نيست (Shayeghi *et al.*, 2008). به طور كلي سه بار سم‌پاشی در اين نواحی صورت می‌گیرد، كه نخستين بار در اواخر بهار و مراتب بعدی در اوایل و اواخر تابستان است. در ضمن تاريخ زراعی دقیق آن در دست نيست، زیرا در هر روستا و هر مزرعه بسته به شرایط می‌تواند متفاوت باشد (Abyar & Kiani, 2001). آب گرگان‌رود با توجه به مسير طولانی خود در قسمت‌های مختلف در معرض آلودگی شديد قرار می‌گیرد و به بخش‌های پايين دست (مثل ايستگاه پنج) منتقل می‌شود و طبق برآورد وزارت كشاورزی سهم عظیمی از كودها و سموم شیمیایی در اين منطقه استفاده و در اثر شست‌وشو وارد رودخانه می‌شوند (Abyar & Kiani, 2001; Shayeghi *et al.*, 2008;) (Shapouri *et al.*, 2010).

همان طور كه پيش‌تر بيان شد، ارتباط معنی‌داری بين سطوح فعاليت آنزيم‌های استرازی و به‌ويژه استيل كولين استراز با وجود آفت‌كش‌های فسفره آلی و كاربامات‌ها وجود دارد (Lockhart *et al.*, 1985; Moralev *et al.*, 2003; Arufe *et al.*, 2007; Corsi *et al.*, 2007; Jung *et al.*, 2007) و بازدارندگی فعاليت كولين استرازی در عضلات و مغز ماهيان اختصاصی‌ترين شاخص بيولوژيك تشخيصی برای تماس با اين حشره‌كش‌هاست و به عبارت ديگر اين آفت‌كش‌ها از مهم‌ترين مهاركننده‌های استرازی‌اند

بوتيريل كولين استراز) همچنين كربوكسيل استراز را شامل می‌شود، پژوهش ذكرشده با مطالعه پيش رو همخوانی دارد. به طوري كه مقایسه درصد مهارشده‌گی آنزيم‌های سنجش‌شده در هر سه بافت مبین اين مسئله است كه استرازهای عمومي از حساسيت بالاتری نسبت به استيل كولين استراز در مواجهه با مهاركننده‌ها برخوردار بودند. گرچه بوتيريل كولين استراز جایگاه اثر حشره‌كش‌های فسفره و كاربامات نيست و تعداد بسياری استر را تجزيه می‌كند (Sole *et al.*, 2008).

در مطالعه Rodriguez-Fuentes *et al.* (2008) نتايج حاکی از اين است كه در حدود ۳۰ درصد ميزان كولين استراز كل در بافت عضله هر دو گونه ماهی را بوتيريل كولين استراز به خود اختصاص داد. بدین ترتيب می‌توان نتيجه گرفت كه مطالعه استيل كولين استراز به تنهایی نمی‌تواند تمامی خصوصيات فعاليت‌های استرازی را در اين گونه ارزیابی‌ها نشان دهد؛ بنابراین مطالعه استرازهای عمومي لازم به نظر می‌رسد. در مطالعه حاضر نيز یافته‌ها نشان‌دهنده تغييرات معنی‌دار استرازهای عمومي در ايستگاه‌ها و فصول مختلف بود. البته می‌توان بوتيريل كولين استراز را با سوبسترای اختصاصی نيز شناسایی كرد.

روند كاهشی سطح فعاليت آنزيم‌های استرازی و استيل كولين استراز بافت‌ها با گذر زمان از پاييز به سمت تابستان می‌تواند به علت آغاز فصل گرانبول‌پاشی و سم‌پاشی باشد كه با توجه به پژوهش Shayeghi *et al.* (2008) بر گرگان‌رود كاملاً توجیه‌پذير است. بر اساس نتايج اين بررسی، ميزان آفت‌كش‌های آزينفوس متيل و ديازینون در فصول گوناگون سال متفاوت بود و اختلاف معنی‌داری بين

یافته‌های پژوهش (Shayeghi *et al.*, 2008) همخوانی دارد، اما در مورد سایر فصول این امر صادق نیست. در واقع آلوده‌ترین زمان متعلق به فصل تابستان بود، که مهارشدگی آنزیم‌های مورد نظر بیش از سایر فصول است. در فصل بهار، وجود سیلاب‌ها و دبی بالای آب در رودخانه‌ها سبب خودپالایی سریع آن‌ها می‌شود و بدین سان بسیاری از آلاینده‌های آلی مثل سموم فسفره آلی به سرعت هیدرولیز می‌شوند و آلودگی در آن‌ها کاهش می‌یابد (Abbasian *et al.*, 2008). بنابراین مشاهده سطوح بالاتر استیل کولین استراز و سایر استرازاها نسبت به فصل تابستان قابل انتظار است. در مطالعه‌ای که کرایبی و همکاران با اندازه‌گیری میزان فعالیت کولین استراز بافت عضله، به‌منزله شاخصی زیستی، انجام دادند کاهش معنی‌داری در فعالیت استرازی در فصول گرم سال نشان داده شد (Kriby *et al.*, 2000) و بر یافته‌های این پژوهش منطبق است که کاهش سطح آنزیمی در فصول بهار و تابستان را نشان می‌دهد.

یافته‌ها نشان می‌دهند که بین سطوح استراز عمومی در بافت‌های عضله، مغز و کبد جمعیت سیاه‌ماهیان بین هر پنج ایستگاه اختلاف معنی‌داری وجود دارد، اما در سطوح استیل کولین استراز وضعیت متفاوت است؛ به طوری که در بافت‌های کبد و ماهیچه بین ایستگاه‌های اول و سوم از نظر آماری اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. این تفاوت‌نداشتن احتمالاً می‌تواند به علت تشابه محیط کوهستانی - جنگلی این دو ایستگاه باشد، اما در بافت مغز تفاوت معنی‌داری بین این دو ایستگاه دیده می‌شود، در صورتی که شاهد اختلافی در بین ایستگاه‌های یک، دو و چهار از لحاظ آماری نیستیم.

(Kriby *et al.*, 2000; Dizer *et al.*, 2001; Ferrari *et al.*, 2007; Varo *et al.*, 2008). همچنان که Cong *et al.* (2008; 2009) نشان دادند که اثر دیازینون مصرفی در شالیزارها فعالیت استرازی مغز ماهی سرماری را مهار می‌کند و این آفت‌کش سبب تشکیل کمپلکس دیازینون- استراز در اکثر ماهیان در معرض آفت‌کش شده بود. با توجه به نتایج پژوهش Ebrahimzade *et al.* (2004) می‌توان دریافت که نواحی جلگه‌ای رودخانه‌ها دارای آلودگی آفت‌کش به مراتب بیشتری نسبت به دریا و آب‌چاه است و درصد مهارشدگی آنزیم استیل کولین استراز بافت مغز در ماهیان پرورش‌یافته با آب رودخانه افزایش معنی‌داری به نسبت سایر منابع آبی داشت. در این پژوهش نیز ایستگاه دو، چهار و پنج به علت قرارداشتن در ناحیه‌ای جلگه‌ای با وجود مزارع کشاورزی بیشتر و سرعت جریان آب کمتر، دارای قدرت محدودی در خودپالایی به نسبت ایستگاه‌های اول و سوم است. بنابراین میزان فعالیت ویژه و مهارشدگی آنزیم‌های استرازی جمعیت سیاه‌ماهیان ساکن در آن‌ها به ترتیب کاهش و افزایش به مراتب بیشتری داشته است.

با توجه به این‌که تاکنون واحد صنعتی عمده‌ای به منظور استفاده از آب گرگان‌رود در حاشیه آن خصوصاً در زیرحوضه‌هایی مثل زرین‌گل و محمدآباد مستقر نشده است (Shapouri *et al.*, 2010)، مهارشدگی در سطح آنزیم‌های استرازی و به‌ویژه استیل کولین استراز ماهیان به دلیل وجود این آفت‌کش‌ها احتمال بیشتری خواهد داشت. کاهش معنی‌دار سطح آنزیم‌های مورد سنجش در فصل تابستان و بیشینه این سطح در فصل زمستان با

اين ناحيه باعث افزايش متابوليسم ماهيان مي شود و اثر ماده ناگوارد را بيشتر مي كند (Lang et al., 1997).

در نهايت مي توان اين طور نتيجه گيري كرد كه استفاده از استرازاهاي عمومي بافت ماهيچه و استيل كولين استراز كبدي اين گونه ماهي (*C. capoeta gracilis*)، به منزله شاخصي زيستي در تعيين و درجه بندي آلودگي اكوسيستم هاي آب هاي جاري مورد پايش، نتايج بهتري (نزديك تر به واقعيت) را در پي دارد؛ به ويژه كه برنامه هاي پايش محيط زيست در فصول گرم سال و هم زمان با تقويم زراعي و سم پاشي زمين هاي كشاورزي صورت گيرد. همچنين، علاوه بر شاخص هاي عصبي - عضلاني مانند آنزيم هاي استرازي و استيل كولين استراز، استفاده از ساير شاخص هاي زيستي نيز به منظور پايش تكميلي محيط زيست آبي ضروري است. تحقيقات چندجانبه در نواحى بحراني (بسيار آلوده) كه طيف وسيعي از آلاينده ها دارند پيشنهاد مي شود.

تقدير و تشكر

در اين جا از سركار خانم دكتر باقري و جناب آقاي مهندس منتجمي براي پاري و راهنمايي هاي بي شائبه شان در اين پژوهش سپاس گزاري مي كنيم.

شايد علت اين است كه اين بافت چندان قادر به نشان دادن تفاوت ها نيست. نمونه هاي صيد شده از ايستگاه سوم سطوح نرمالي از فعاليت آنزيمي را به نمايش گذاشتند و ميانگين سطح فعاليت آنزيم هاي استرازي نسبت به ساير ايستگاه ها داراي بيشينه فعاليت ويژه و كمترين حد مهارشديگي بود و حدود متغيري از سطح فعاليت آنزيمي و مهارشديگي با آلاينده ها در نمونه هاي ساير ايستگاه ها وجود داشت. در ميان آن ها نمونه هاي ايستگاه پنجم داراي مهارشديگي شديدي در سطوح آنزيم هاي استراز عمومي و استيل كولين استراز نسبت به ساير ايستگاه ها بودند. اين امر با توجه به ميزان پايين دبي آب اين ايستگاه خصوصاً در فصل تابستان، دماي بالاي ثبت شده ($32/8$ درجه سانتی گراد) و در نتيجه تبخير شديدتر در اين ناحيه توجه پذير است. با توجه به اين كه در اواخر بهار و سراسر فصل تابستان چندين بار مزارع و باغات اين ناحيه سم پاشي مي شوند (Abyar & Kiani, 2001) همچنين به علت نبود امكان خودپالايي (Olomi, 2001; Shapouri et al., 2010)، آفت كش ها ماندگاري بيشتري نسبت به ساير ايستگاه ها (با دبي بالاتر) داشتند و ميزان تأثير اين آلاينده ها در مواجهه با جمعيت ماهيان افزايش مي يابد و به همان نسبت ميزان مهارشديگي كولين استراز نيز بالا مي رود. به علاوه دماي بالاي آب در

References

- [1]. Abbasian, H., Ashayeri, A., and Hasanzadeh, H., 2008. Agricultural drainage water in the Caspian sea and their ecological impacts. *Aqua Sciences* 5, 123-129.
- [2]. Abdoli, A., Hasanzadeh Kiyabi, B., Hajimoradlo, A., Kamali, A., 1999. Limnological Study on Gorganroud River. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, Gorgan University. 3, 108-121 (In Persian).
- [3]. Abyar, N., Kiani, A.R., 2001. Economic evaluation of wheat farms using saltwater in Golestan province. *Journal of Agricultural Economics* 11(1), 45-52 (In Persian).
- [4]. Arufe, M.I., Arellano, J.M., García, L., Albendín, G., and Sarasquete, C., 2007. Cholinesterase activity in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae: characterization and sensitivity to the organophosphate azinphosmethyl. *Aquatic Toxicology* 84, 328-336.
- [5]. Azarmdel, H., Mostafazadeh, R., Ghasemi, A., 2010, Assessment of surface water quality network stations Gorganroud river Golestan Province. *Iran Watershed Science and Engineering* 4, 98-111 (In Persian).
- [6]. Cong, N.V., Phuong, N.T., and Bayley, M., 2008. Brain cholinesterase response in the snakehead fish (*Channa striata*) after field exposure to diazinon. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71, 314-318.
- [7]. Cong, N.V., Phuong, N.T., and Bayley, M., 2009. Effects of repeated exposure of diazinon on cholinesterase activity and growth in snakehead fish (*Channa striata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 699-703.
- [8]. Corsi, I., Pastore, A.M., Lodde, A., Palmerini, E., Castagnolo, L., and Focardi, S., 2007. Potential role of cholinesterases in the invasive capacity of the freshwater bivalve, *Anodonta woodiana* (Bivalvia: Unionacea): A comparative study with the indigenous species of the genus, *Anodonta* sp. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 145, 413-419.
- [9]. Dizer, H., da Silva de Assis, H.C., and Hansen, P.D., 2001. Cholinesterase Activity as a Bioindicator for Monitoring Marine Pollution in the Baltic Sea and the Mediterranean Sea. In: *Biomarkers in Marine Organisms*, edited by Philippe G, Hartmut B, Colin HW, Jean François NarbonneA2 - Philippe Garrigues HBCHW, and Jean François N. Amsterdam: Elsevier Science p. 331-342.
- [10]. Ebrahimzade, M.A., Karami, M., Golrokh, M., 2004. Determination of cholinesterase enzyme activity in the brain of *Rutilus frisii kutum* in variety of marine and cultural as indicator of this fish. *Journal of Shahrekord University of Medical Science* 6(3), 33-38 (In Persian).
- [11]. Ellman, G.L., Courtney, K.D., and Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7, 88-90, IN81, 91-95.
- [12]. Ferenczy, J., Szegletes, T., Bálint, T., Abrahám, M., and Nemcsók, J., 1997. Characterization of acetylcholinesterase and its molecular forms in organs of five freshwater teleosts. *Fish Physiology and Biochemistry* 16, 515-529.
- [13]. Ferrari, A., Venturino, A., and Pechén de D'Angelo, A.M., 2007. Muscular and brain cholinesterase sensitivities to azinphos methyl and carbaryl in the juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 146, 308-313.

- [14]. Jung, J.H., Addison, R., and Shim, W.J., 2007. Characterization of cholinesterases in marbled sole, *Limanda yokohamae*, and their inhibition in vitro by the fungicide iprobenfos. Marine Environmental Research 63, 471-478.
- [15]. Kirby, M., Morris, S., Hurst, M., Kirby, S., Neall, P., Tylor, T., and Fagg, A., 2000. The use of cholinesterase activity in flounder (*Platichthys flesus*) muscle tissue as a biomarker of neurotoxic contamination in UK estuaries. Marine Pollution Bulletin 40, 780-791.
- [16]. Lam, P.K.S., and Gray, J.S., 2003. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. Marine Pollution Bulletin 46, 182-186.
- [17]. Leticia, A.G., and Gerardo, G.B., 2008. Determination of esterase activity and characterization of cholinesterases in the reef fish *Haemulon plumieri*. Ecotoxicology and Environmental Safety 71, 787-797.
- [18]. Lockhart, W., Metner, D., Ward, F., and Swanson, G., 1985. Population and cholinesterase responses in fish exposed to malathion sprays. Pesticide Biochemistry and Physiology 24, 12-18.
- [19]. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biology and Chemistry 193, 265-275.
- [20]. Monteiro, M., Quintaneiro, C., Morgado, F., Soares, A., and Guilhermino, L., 2005. Characterization of the cholinesterases present in head tissues of the estuarine fish *Pomatoschistus microps*: Application to biomonitoring. Ecotoxicology and Environmental Safety 62, 341-347.
- [21]. Moralev, S., Esaulova, A., Kurapov, A., Rozengart, E., and Khovanskikh, A., 2003. The Study of Cholinesterase Activity of the Liver of Some Fish of Caspian Sea. Springer, 2003, p. 271-273.
- [22]. Olomi, Y., 2001, Study of some biological characteristics of Gorganroud during 1990-1991. Scientific Journal of Fisheries, Fisheries Research Institute of Iran, 2: 23-34 (In Persian).
- [23]. Rodríguez-Fuentes, G., Armstrong, J., and Schlenk, D., 2008. Characterization of muscle cholinesterases from two demersal flatfish collected near a municipal wastewater outfall in Southern California. Ecotoxicology and Environmental Safety 69, 466-471.
- [24]. Samaee, S.M., Mojazi-Amiri, B., and Hosseini-Mazinani, S.M., 2006. Comparison of *Capoeta capoeta gracilis* (Cyprinidae, Teleostei) populations in the south Caspian Sea River basin, using morphometric ratios and genetic markers. Folia Zoologica-Praha- 55, 323.
- [25]. Shapouri, M., Zolriasatein, N., Azarpad, H., 2010. Rapid assessment of Gorganroud water quality based biomarkers. Science and Technology of Natural Resources 5, 13-23 (In Persian).
- [26]. Shayeghi, M., Khoobdel, M., Bagheri, F., Abtahi, M., 2008. Azinphos-methyl and diazinon residues in Gorganroud and Gharesoo river Golestan province. Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research 6(1), 75-82 (In Persian).
- [27]. Solé, M., Lobera, G., Aljinovic, B., Ríos, J., Garcia de la Parra, L., Maynou, F., and Cartes, J.E., 2008. Cholinesterases activities and lipid peroxidation levels in muscle from shelf and slope dwelling fish from the NW Mediterranean: Its potential use in pollution monitoring. Science of the Total Environment 402, 306-317.
- [28]. Sturm, A., Da Silva de Assis, H., and Hansen, P.D., 1999. Cholinesterases of marine teleost fish: enzymological characterization and potential use in the monitoring of neurotoxic contamination. Marine Environmental Research 47, 389-398.

- [29]. Van Asperen, J., van Tellingen, O., van der Valk, M.A., Rozenhart, M., and Beijnen, J.H., 1998. Enhanced oral absorption and decreased elimination of paclitaxel in mice cotreated with cyclosporin A. *Clinical Cancer Research* 4: 2293-2297.
- [30]. Varo, I., Amat, F., and Navarro, J., 2008. Acute toxicity of dichlorvos to *Aphanius iberus* (Cuvier & Valenciennes, 1846) and its anti-cholinesterase effects on this species. *Aquatic Toxicology* 88, 53-61.

Archive of SID