



مقاله پژوهشی

اثر سم مالاتیون بر فعالیت برخی از آنزیم‌های گوارشی و آسیب‌شناسی بافت روده در بچه تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1987)

مینا رهبر^۱، مسعود ستاری^{۲*}، حمید علاف نویریان^۳، محدثه احمدنژاد^۴، حسین خارا^۵، رقیه صفری^۸

تاریخ دریافت: دی ۹۷

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۹۸

چکیده

هدف این مطالعه ارزیابی تغییرات وابسته به غلظت و زمان در آنزیم‌های گوارشی روده (لیپاز، آمیلاز و پروتئاز) و آسیب‌شناسی بافت روده در بچه تاس‌ماهی ایرانی در مواجهه با غلظت‌های تحت حد سم مالاتیون (۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ LC₅₀) برای مدت ۷ روز است. بر اساس نتایج فعالیت آنزیم‌های لیپاز، آمیلاز و پروتئاز در مواجهه با مالاتیون نسبت به غلظت و زمان کاهش یافت ($P < 0.05$). به طوری که کمترین میزان فعالیت آنزیم‌ها در تیمار ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر سم مالاتیون در پایان آزمایش بود. مهم‌ترین اثرات آسیب‌شناسی مالاتیون بر بافت روده در مقایسه با گروه شاهد شامل خونریزی، از بین رفتن سلول‌های اپیتلیال روده، جوش خوردن پرزهای روده، از بین رفتن حاشیه مسواکی سلول‌های اپیتلیال، پوسته پوسته شدن سلول‌های اپیتلیال، صاف شدن سطح پرزهای روده، واکوئل‌زایی سیتوپلاسم، هیپرتروفی سلول‌های اپیتلیال روده، چروکیده شدن پرزهای روده و نکروز سلولی ناحیه عضلانی بود. آسیب‌های بافت روده در غلظت‌های بالاتر با گذشت زمان، شدیدتر بود. نتایج نشان می‌دهد حتی مقادیر کم (۰/۰۵ LC₅₀) مالاتیون می‌تواند اثرات نامطلوب بر سلامت بچه تاس‌ماهیان ایرانی که از گونه‌های مهم دریای خزر محسوب می‌شود، داشته باشد.

واژگان کلیدی: مالاتیون، آنزیم‌های روده، آسیب روده، تاس‌ماهی ایرانی.

- ۱- دانشجوی دکتری شیلات، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
- ۲- استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
- ۳- استاد گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
- ۴- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
- ۵- دانشیار گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
- ۶- استادیار پژوهشکده آبی پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، ایران.
- ۷- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
- ۸- استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

* نویسنده مسئول: msattari647@gmail.com

مقدمه

دریای خزر است (Agusa et al., 2004). استفاده گسترده از آفت‌کش‌ها در سال‌های اخیر، سبب ایجاد مشکلات جدی برای محیط زیست شده است که از جمله پیامدهای استفاده زیاد از این مواد شیمیایی، راه یافتن آن‌ها از طریق روان آب‌های سطحی، به آب شیرین و اکوسیستم‌های سواحل دریاها است. آفت‌کش‌ها می‌توانند سبب تغییرات مهمی در فیزیولوژی گونه‌های غیرهدف و در نهایت موجب مرگ آن‌ها شوند (Elbadawi and Ramadan, 2006). مالاتیون یکی از موثرترین سموم ارگانوفسفره‌ای است که برای کنترل آفات مورد استفاده قرار می‌گیرد و مشکلاتی برای محیط زیست در سرتاسر دنیا به وجود آورده است. سموم ارگانوفسفره به سرعت تجزیه می‌شوند و استفاده گسترده از این آفت‌کش‌ها یک خطر بالقوه برای سلامتی ماهی‌ها است (Elbadawi and Ramadan, 2006). گزارش‌های متعددی نشان می‌دهند که مالاتیون، حتی در غلظت‌های پایین، به ماهی‌ها آسیب می‌رساند. تغییرات نرخ رشد (Sweilum, 2006)، آسیب‌های بافتی (Das et al., 2018; Subburaj et al., 2013)، تغییرات

تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) یکی از ارزش‌ترین ماهیان تجاری و بومی دریای خزر محسوب می‌شود که برای تخم‌ریزی به رودخانه‌های حوضه جنوبی دریای خزر از جمله سفیدرود مهاجرت می‌کند. این ماهی گونه‌ای منحصر به فرد از ماهیان خاویاری است که پراکنش بیشتری در حاشیه جنوبی دریای خزر دارد (بهمنی، ۱۳۸۴). ذخایر تاس‌ماهیان به شدت رو به کاهش است (Chebanov and Billard, 2001). این روند رو به کاهش ناشی از عواملی چون صید بی‌رویه، صید غیرمجاز، تجمع آلاینده‌ها، سدسازی بر روی رودخانه‌ها و محدود شدن آب‌های جاری است که موجب جلوگیری از مهاجرت و تولیدمثل این ماهیان می‌شود (Dettlaf et al., 1993). بنابراین تکثیر و پرورش مصنوعی تاس‌ماهیان روش بسیار مهمی برای بازسازی جمعیت‌های این ماهیان است. با توجه به رهاسازی بچه‌ماهیان خاویاری حاصل از تکثیر مصنوعی توسط مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر شیلات به رودخانه‌های منتهی به سواحل جنوبی دریای خزر، به نظر می‌رسد آلودگی‌های شیمیایی در رودخانه‌های محل رهاسازی یکی از مهم‌ترین عوامل قابل توجه اثرگذار بر روی جمعیت ماهیان خاویاری

شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم (Venkataramana et al., 2006; Banaee et al., 2015; Shahbazi et al., 2015; Huculeci et al., 2009; Kumar, 2013)، آسیب‌های ژنتیکی (Kumar et al., 2015) و تاثیر بر روی اندام‌های تولیدمثلی (Deka and Mahanta, 2012) بعد از قرار گرفتن در معرض سم مالاتیون در ماهی‌ها گزارش شده است.

مطالعه آسیب‌شناسی بافتی به عنوان یک ابزار پاراکلینیکی در بررسی وضعیت سلامت فیزیولوژیک ماهی از اهمیت به سزایی برخوردار است (Benarji and Rajendranath, 1990; Soldatov, 2005). این مطالعات در بسیاری از زمینه‌های تحقیقاتی آبی‌پروری و پرورش ماهی و در عرصه سم‌شناسی و پایش زیستی به عنوان شاخص مناسب برای نشان دادن تغییرات آسیب‌شناسی و فیزیولوژیک به شمار می‌رود (Vale, 1998; Soldatov, 2005). با وجود مطالعات وسیعی که در مورد اثرات آسیب‌شناسی سموم بر بافت‌های آبشش، کلیه و کبد ماهیان (Pal et al., 2012; Das et al., 2013; Karmakar et al., 2016; Popoola, 2018; Subburaj et al., 2018) از جمله تاس‌ماهی ایرانی صورت گرفته است

(غلامیان، ۱۳۹۳؛ صفری و همکاران، ۱۳۹۴)، اما در این مطالعات بافت روده و دستگاه گوارش کمتر مورد توجه قرار گرفته است. در حالی که روده بخش مهمی از دستگاه گوارش و مسیر اصلی عبور طیف وسیعی از مواد سمی از طریق جیره غذایی یا آب محیط است (Banerjee and Bhattacharya, 1995) و به عنوان یک اندام مهم برای ارزیابی سمیت آلاینده‌ها عمل می‌کند (Yuen et al., 2007).

حشره‌کش‌ها ممکن است آنزیم‌های گوارشی را نیز مهار کنند. بررسی فعالیت آنزیم‌های دستگاه گوارش می‌تواند در مطالعات سم‌شناسی حائز اهمیت باشد (Gunes and Yerli., 2011; Prabhu and Poullose, 2012). از این رو، در مطالعه حاضر برای اولین بار اثرات غلظت‌های تحت حاد سم مالاتیون بر فعالیت آنزیم‌های روده‌ای (پروتئاز، لیپاز و آمیلاز) و آسیب‌های وارده به روده در بچه تاس‌ماهی ایرانی در زمان رهاسازی مطالعه شده است تا اطلاعات مناسبی با توجه به بازسازی ذخایر این گونه فراهم شود و کیفیت و زمان رهاسازی بچه ماهیان را با توجه به وجود غلظت‌های کشنده این حشره‌کش در محل رهاسازی، بهبود بخشد.

مواد و روش‌ها ماهی

میلی گرم در لیتر سم مالاتیون با درجه خلوص ۵۷ درصد تقسیم شدند تا تحت آزمون ۲۴ ساعته قرار داده شوند. این محدوده از غلظت‌ها بر اساس یافته‌های نظامی و همکاران (۱۳۸۳) بر روی این گونه انتخاب شد. هنگام قرارگیری بچه‌ماهیان در معرض غلظت‌های مالاتیون همگی قبل از ۲۴ ساعت از بین رفتند. بر اساس نتایج پیش‌آزمایش، غلظت‌های پایین‌تر از ۳ میلی‌گرم در لیتر برای آزمایش اصلی انتخاب شدند.

آزمایش نهایی سمیت

تعداد ۱۸۰ قطعه بچه‌تاس‌ماهی ایرانی به صورت تصادفی در ۱۸ تراف (۱۰ قطعه در هر تراف؛ حجم ۱۰۰ لیتر) توزیع شدند. آزمایش با ۵ تیمار و یک شاهد (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر سم مالاتیون) و هر کدام با ۳ تکرار انجام شد. تعداد ماهی‌های زنده و تلفات آن‌ها در هر ۲۴ ساعت به مدت ۹۶ ساعت ثبت و آزمایش سمیت حاد بر اساس OECD (۱۹۹۲) انجام شد.

طراحی آزمایش

به منظور انجام آزمایش آلودگی ابتدا بچه ماهیان به صورت تصادفی در ۱۲ تراف (۷۵

تاس‌ماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) مورد نیاز برای آزمایش، با میانگین وزنی 3 ± 0.3 گرم از مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی تهیه و به حوضچه‌های گرد در همان مرکز انتقال داده شدند. طی گذراندن دو هفته سازگاری در حوضچه‌های گرد (منبع تامین آب از رودخانه، نور طبیعی در شرایط کارگاه و تعویض مداوم آب)، بچه ماهیان دو بار در روز (ساعت‌های ۰۸:۰۰ و ۱۶:۰۰) با لارو شیرونومید منجمد تغذیه شدند. شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب در طول دوره ثابت و دما 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد، pH 7.0 ± 0.3 ، اکسیژن محلول $7/8 \pm 0/3$ میلی‌گرم در لیتر و سختی کل آب ۱۹۶ میلی‌گرم در لیتر بود.

آزمایش سمیت کشنده

پیش‌آزمایش سمیت

پیش از انجام آزمایش اصلی سمیت، برای تعیین محدوده کشندگی آفت‌کش مالاتیون، یک پیش‌آزمایش طراحی شد. بدین منظور تعداد ۱۰۰ قطعه بچه‌تاس‌ماهی ایرانی در یک گستره از غلظت‌های سم بین ۳ تا ۱۰

برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، در زمان‌های نمونه‌برداری از هر تکرار سه قطعه بچه ماهی به طور تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی، روی یخ و تحت شرایط استریل روده آن‌ها جدا و در ازت مایع منجمد شد و سپس در فریزر -80°C درجه سانتی‌گراد تا شروع آزمایش‌ها نگهداری شد. برای استخراج عصاره آنزیمی از روش Harpaz و همکاران (۱۹۹۴) استفاده شد. بر اساس این روش، روده ماهیان با نسبت وزنی-حجمی ۱ به ۵ و با استفاده از بافر هموژنات سرد (حاوی Tris-HCl ۵۰ میلی‌مولار، CaCl_2 ۲۰ میلی‌مولار و KCl ۵۰ میلی‌مولار، pH ۸/۵) به مدت ۳۰ ثانیه در کنار یخ با استفاده از همزنایزر (Wiggen, D500، آلمان) هموژن شد. در ادامه نمونه هموژن شده به مدت ۲۰ دقیقه در 4°C درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Hermle, Z36HK، آلمان) شد. بعد از پایان سانتریفیوژ، مایع رویی با استفاده از میکروسپلر جمع‌آوری شد و برای سنجش آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش آنزیم لیپاز با استفاده از هیدرولیز p-Nitrophenyl myristate به عنوان سوبسترا در متوکسی اتانول ۰/۲۵ میلی‌مولار، Sodium Cholate ۵ میلی‌مولار و Tris-HCl

قطعه در هر ترف؛ حجم ۱۲۰ لیتر) توزیع شدند. اثرات آلودگی با سم مالاتیون بر آنزیم‌های گوارشی و نیز آسیب بافت روده در ۴ تیمار با ۳ تکرار بررسی شد (Roy and Bhattacharya, 2006). بدین منظور بر اساس LC_{50} به دست آمده برای این گونه در معرض سم مالاتیون (۱ میلی‌گرم در لیتر)، بچه ماهیان در مواجهه با غلظت‌های ۰ (گروه شاهد)، ۰/۰۵ (تیمار ۱)، ۰/۱ (تیمار ۲) و $0/2\text{LC}_{50}$ (تیمار ۳) این سم (با درجه خلوص ۵۷ درصد) به مدت ۷ روز قرار گرفتند. در ترف‌ها هوادهی به صورت مداوم انجام می‌گرفت و روزانه ۷۵ درصد آب از کف سیفون و با آب هم‌دما با محیط و حاوی غلظت‌های مورد نظر از سم مالاتیون به هر یک از تیمارها افزوده می‌شد.

غذادهی به ماهیان ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌گیری متوقف شد و نمونه‌برداری از هر کدام از تیمارها (۶ قطعه) پس از بیهوشی ماهیان در ۰/۵ گرم در لیتر پودر گل میخک (صفری و همکاران، ۱۳۹۴)، در روزهای ۰، ۱، ۲، ۴ و ۷ با سه تکرار انجام شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده

نمونه‌ها برای شفاف‌سازی به مدت ۳ ساعت در کلروفرم قرار داده شدند. به منظور پارافینه کردن، در داخل آون (دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد) در پارافین مایع قرار گرفته، سپس با پارافین قالب‌گیری شدند. از قالب‌های پارافینه با استفاده از دستگاه میکروتوم دوار (Leitz, 1512, آلمان) برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و پس از قرار دادن بر روی لام، به مدت ۳۰ دقیقه در آون (۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد تا پارافین اضافه از روی بافت حذف شود. نمونه‌ها پس از پارافین‌زدایی توسط گزین و جایگزینی آن با سری کاهشی اتانول (۱۰۰، ۹۰ و ۷۰) آبدهی مجدد شدند و با استفاده از محلول‌های هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند. بافت‌های تهیه شده مجدداً برای خشک شدن در آون (۳۷ درجه سانتی‌گراد) گذاشته شدند. در مرحله آخر لام‌ها با چسب سیتولوژی بر روی لام‌های تهیه شده چسبانده شدند (Fanta et al., 2003). مقاطع بافت توسط میکروسکوپ نوری (BEL, BIO2T, Photonic, ایتالیا) مجهز به دوربین دیجیتال در آزمایشگاه فیزیولوژی آبزیان پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی (بندر انزلی) مطالعه و عکس‌برداری شدند.

۰/۲۵ مولار در pH ۹ انجام شد. فعالیت اختصاصی لیپاز برابر است با آزادسازی یک میکرومول پارا-نیتروفنل در یک دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد که در ۴۰۵ نانومتر خوانده شد (Iijima et al., 1998).

فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس روش Bernfeld (۱۹۵۵) و با استفاده از سوبسترای نشاسته سنجش شد. نشاسته تحت تاثیر آنزیم تجزیه شده، مالتوز تولید می‌کند که از طریق رنگ‌سنجی و تغییر شدت رنگ در معرف دی‌نیترو سالیسیلیک اسید قابل سنجش است. سنجش فعالیت آنزیم پروتئاز بر اساس روش Anson (۱۹۳۸) و با استفاده از سوبسترای پودر هموگلوبین انجام شد.

میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی بر مبنای U/mg protein محاسبه شد. برای سنجش میزان پروتئین کل نمونه‌ها از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد.

بافت‌شناسی روده

بافت‌های روده تثبیت شده در بوئن (سه قطعه ماهی از هر تکرار) پس از ۴۸ ساعت به اتانول ۷۰ درصد منتقل و شستشو شد. سپس آب‌گیری با سری افزایشی الکل اتانول (۷۰، ۸۰ و ۹۶ درصد) و الکل ۱- بوتانول انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل فعالیت آنزیم‌های گوارشی از نرم‌افزار SPSS 19 استفاده شد. داده‌ها ابتدا برای اطمینان از نرمال بودن، با آزمون Shapiro-Wilk بررسی شدند. سپس با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها، با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد، ابتدا اختلاف کلی بین میانگین‌ها مشخص و سپس با پس‌آزمون توکی (Tukey)، گروه‌ها از یکدیگر تفکیک شدند.

نتایج

بر طبق نتایج مقادیر LC_{50} سم ملاتینون در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه‌گیری شد و مقدار غلظت مجاز ($LC_{50} 96h$) برای بچه تاس‌ماهیان ایرانی ۱ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد (جدول ۱).

جدول ۱: تعیین غلظت کشنده سم ملاتینون در طی ۹۶ ساعت بر روی بچه تاس‌ماهی ایرانی

زمان (h)	LC_{50} (mg/L)
۲۴	۳/۲۲
۴۸	۱/۹۶
۷۲	۱/۲۴

جدول ۲ تغییرات فعالیت آنزیم‌های گوارشی را نشان می‌دهد. فعالیت آنزیم‌های لیپاز، آمیلاز و پروتئاز نسبت به گروه شاهد تا پایان دوره کاهش معنی‌داری پیدا کرد ($P < 0.05$) و کمترین مقدار آن‌ها در تیمار ۳ در روز هفتم مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۳ مشاهدات آسیب‌شناسی بافت روده گروه شاهد و تیمارهای در معرض سم ملاتینون را در تاس‌ماهی ایرانی به طور خلاصه نشان می‌دهد. نتایج بافت‌شناسی نشان داد که ماهیان تیمار شاهد دارای روده سالم و طبیعی بودند (شکل ۱). در تیمارهای مواجهه با ملاتینون برخی از تغییرات مانند خونریزی، از بین رفتن سلول‌های اپیتلیال روده، از بین رفتن حاشیه مسواکی سلول‌های اپیتلیال روده، پوسته پوسته شدن سلول‌های اپیتلیال، جوش خوردن پرزهای روده، صاف شدن سطح پرزهای روده، واکوئل‌زایی سیتوپلاسم، هیپرتروفی سلول‌های موکوسی، هیپرتروفی سلول‌های اپیتلیال روده، چروکیده شدن پرزهای روده و نکروز سلولی ناحیه عضلانی مشاهده شد (شکل‌های ۲ تا ۴). در تیمار ۱ روز اول مواجهه، تغییرات آسیب‌شناسی

مشاهده شده چندان چشم‌گیر نبود، اما شدت آسیب‌ها با افزایش غلظت و زمان افزایش یافت. جدول ۲: تغییرات فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده سم مالاتیون طی دوره ۷ روزه (میانگین \pm خطای استاندارد)

زمان نمونه برداری	تیمار	لیپاز (U/mg/protein)	آمیلاز (U/mg/protein)	پروتئاز (U/mg/protein)
روز ۰	شاهد	0.009167 ± 0.000120^a	10.0000 ± 0.05774^a	0.006200 ± 0.000116^a
	تیمار ۱	0.009433 ± 0.000451^a	9.9933 ± 0.01453^a	0.006167 ± 0.000088^a
	تیمار ۲	0.009127 ± 0.000120^a	9.9867 ± 0.03844^a	0.006267 ± 0.000088^a
روز ۱	تیمار ۳	0.009233 ± 0.000260^a	10.0067 ± 0.02786^a	0.006100 ± 0.000058^a
	شاهد	0.009100 ± 0.000058^a	9.9667 ± 0.02404^a	0.006300 ± 0.000116^a
	تیمار ۱	0.008167 ± 0.000088^b	9.1567 ± 0.05175^b	0.005433 ± 0.000145^b
روز ۲	تیمار ۲	$0.007567 \pm 0.000120^{bc}$	8.9467 ± 0.03528^c	$0.005033 \pm 0.00033^{bc}$
	تیمار ۳	$0.00693 \pm 0.000068^{cd}$	8.0567 ± 0.03480^d	0.004867 ± 0.000088^c
	شاهد	0.009433 ± 0.000260^a	9.9933 ± 0.01453^a	0.006167 ± 0.000120^a
روز ۳	تیمار ۱	$0.007633 \pm 0.000252^{bc}$	7.9667 ± 0.04933^{de}	0.004833 ± 0.000207^c
	تیمار ۲	$0.006400 \pm 0.000208^{de}$	7.8333 ± 0.02404^{ef}	0.004167 ± 0.00033^d
	تیمار ۳	$0.00587 \pm 0.000203^{ef}$	7.6667 ± 0.01202^{gh}	0.004033 ± 0.00033^d
روز ۴	شاهد	0.009233 ± 0.000088^a	9.9567 ± 0.03844^a	0.006267 ± 0.000120^a
	تیمار ۱	$0.00623 \pm 0.000208^{de}$	7.7567 ± 0.03528^{fg}	0.004100 ± 0.000058^d
	تیمار ۲	$0.00527 \pm 0.000120^{fgh}$	7.5600 ± 0.01528^{hi}	$0.003900 \pm 0.000058^{de}$
روز ۵	تیمار ۳	$0.004900 \pm 0.000058^{gh}$	7.4600 ± 0.01528^{ij}	$0.003567 \pm 0.00033^{ef}$
	شاهد	0.009600 ± 0.000252^a	10.0067 ± 0.02186^a	0.006100 ± 0.000100^a
	تیمار ۱	$0.005668 \pm 0.000088^{efg}$	7.4200 ± 0.01155^{ij}	$0.003967 \pm 0.000088^{de}$
روز ۶	تیمار ۲	$0.004867 \pm 0.000088^{hi}$	7.3200 ± 0.01528^j	$0.003533 \pm 0.00033^{ef}$
	تیمار ۳	0.004100 ± 0.000058^i	7.1600 ± 0.02517^k	0.003133 ± 0.000088^f

تیمار شاهد: فاقد سم مالاتیون؛ تیمار ۱: حاوی $0.05LC_{50}$ مالاتیون؛ تیمار ۲: حاوی $0.1LC_{50}$ مالاتیون؛ تیمار ۳: $0.2LC_{50}$.

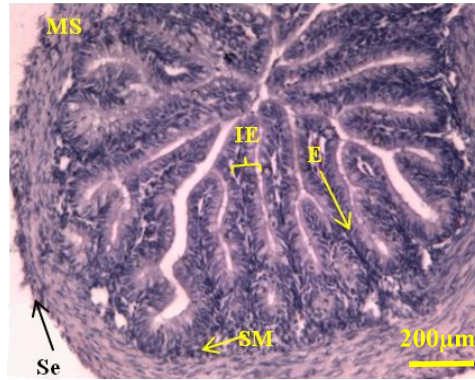
حروف لاتین غیرمشترک در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در آن شاخص است ($P < 0.05$).

جدول ۳: عوارض بافتی روده تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در مواجهه ۷ روزه با سم مالاتیون

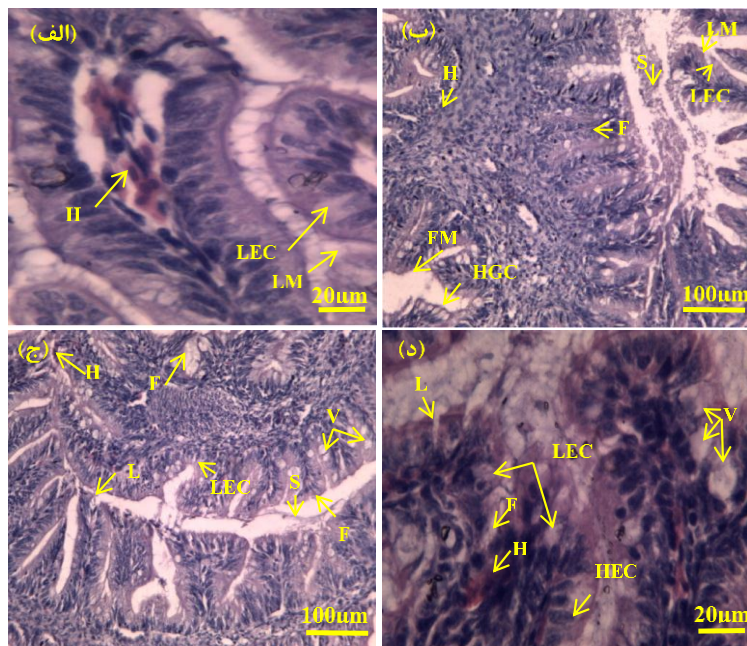
آسیب بافت روده	تیمار	زمان نمونه‌برداری				
		روز ۰	روز ۱	روز ۲	روز ۴	روز ۷
خونریزی	شاهد	-	-	-	-	-
	تیمار ۱	+	+	+	+	+
	تیمار ۲	+	+	+	+	+
چروکیده شدن پرزهای روده	تیمار ۳	+	+	+	+	+
	شاهد	-	-	-	-	-
	تیمار ۱	-	-	-	-	-
از بین رفتن سلول‌های اپیتلیال	تیمار ۲	-	+	-	-	-
	تیمار ۳	-	-	-	-	-
	شاهد	-	-	-	-	-
جوش خوردن پرزهای روده	تیمار ۱	+++	+	++	++	+++
	تیمار ۲	+++	+	++	+++	+++
	تیمار ۳	+++	+	++	+++	+++
صاف شدن سطح پرزهای روده	شاهد	-	-	-	-	-
	تیمار ۱	++	-	+	++	++
	تیمار ۲	-	+	-	-	-
از بین رفتن حاشیه مسواکی سلول‌های اپیتلیال روده	تیمار ۳	-	-	-	-	-
	شاهد	-	-	-	-	-
	تیمار ۱	++	+	++	++	++
	تیمار ۲	++	+	++	++	++
	تیمار ۳	+++	++	++	+++	+++

-	-	-	-	-	شاهد	پوسته پوسته شدن سالول‌های
-	+	+	-		تیمار ۱	اپیتلیال
+	+	+	+		تیمار ۲	
+	-	+	+		تیمار ۳	
-	-	-	-	-	شاهد	هیپر تروفی سلول‌های موکوسی
-	-	+	-		تیمار ۱	
-	-	-			تیمار ۲	
-	-	-	-		تیمار ۳	
-	-	-	-	-	شاهد	هیپر تروفی سلول اپیتلیال
+	-	-	-		تیمار ۱	
-	-	-	+		تیمار ۲	
+	-	-	-		تیمار ۳	
-	-	-	-	-	شاهد	واکونل‌زایی سیتوپلاسم
++	++	-	-		تیمار ۱	
-	+	++	-		تیمار ۲	
+	+	-	+		تیمار ۳	
-	-	-	-	-	شاهد	نکروز سلولی ناحیه عضلانی
-	-	-	-		تیمار ۱	
+	-	-	-		تیمار ۲	
++	-	-	-		تیمار ۳	

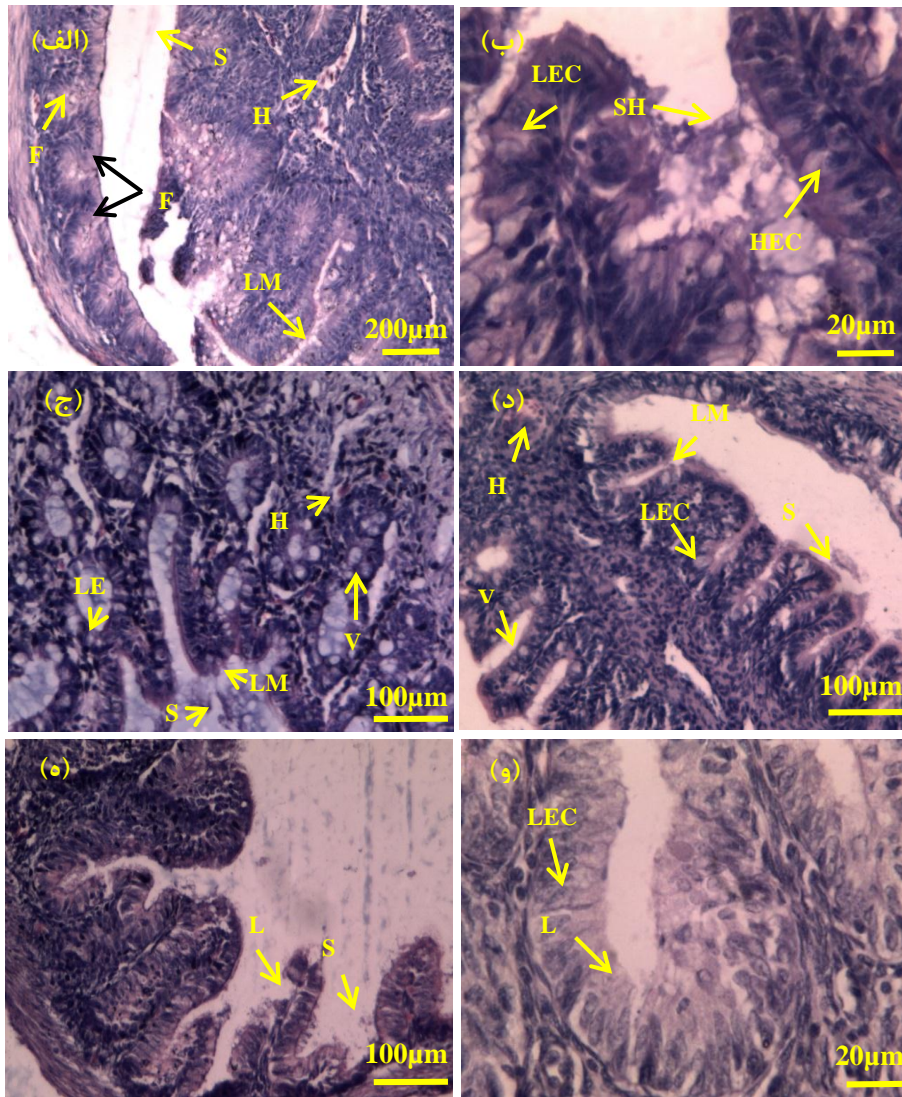
-: نبودن آسیب بافتی؛ +: آسیب کمتر از ۲۵٪؛ ++: آسیب کمتر از ۷۵٪؛ +++: آسیب بیش از ۷۵٪.



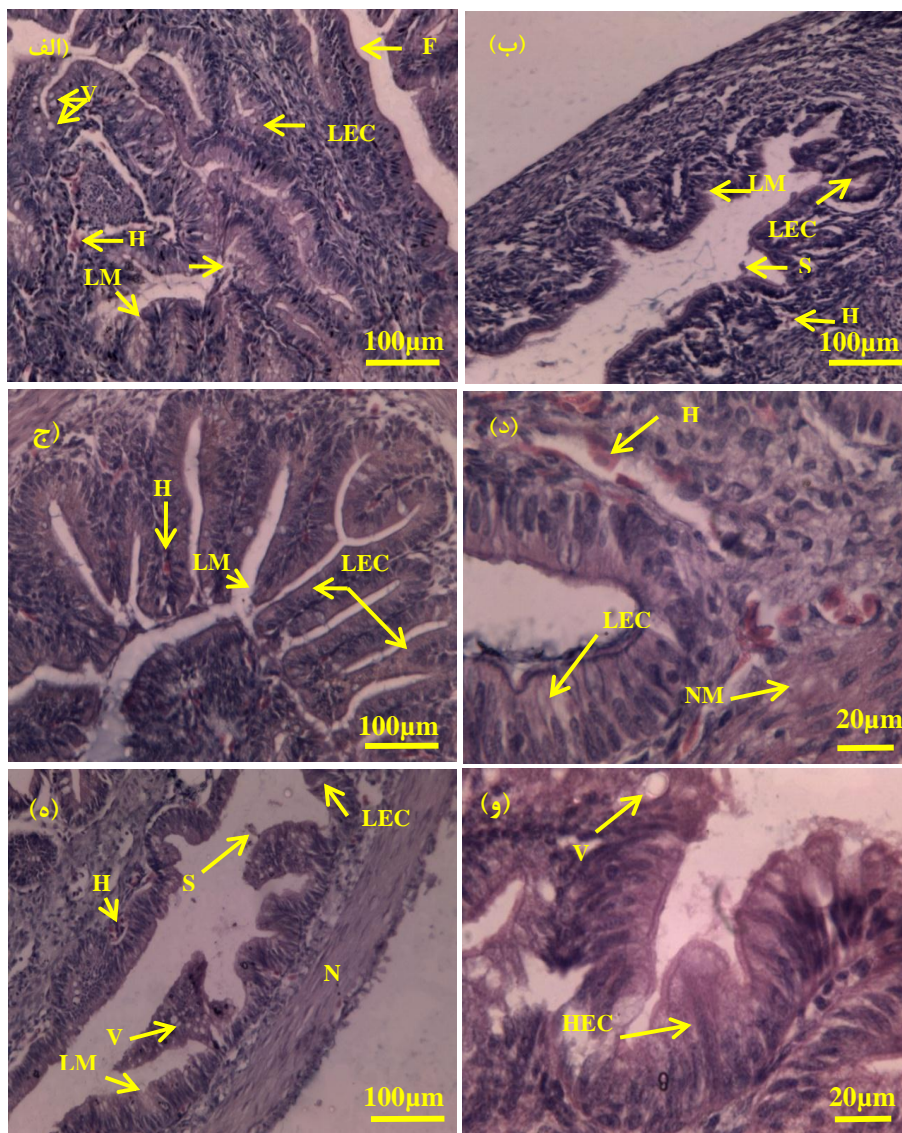
شکل ۱: برش عرضی روده تاس‌ماهی ایرانی در تیمار شاهد. Se: لایه سروزی؛ MS: لایه عضلانی؛ SM: لایه زیرمخاطی؛ IE: اپیتلیال روده؛ E: انتروسیت. H&E.



شکل ۲: برش عرضی روده تاس‌ماهی ایرانی در مواجهه با غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر مالانین. (الف) روز ۱. (ب) روز ۲. (ج) روز ۴. (د) روز ۷. H: خونریزی؛ LEC: از بین رفتن سلول‌های اپیتلیال روده؛ LM: از بین رفتن حاشیه مسواکی سلول‌های اپیتلیال روده؛ S: پوسته پوسته شدن سلول‌های اپیتلیال؛ F: جوش خوردن پرزهای روده؛ FM: صاف شدن سطح پرزهای روده؛ V: واکوئل‌زایی سیتوپلاسم؛ HGC: هیپرتروفی سلول‌های موکوسی؛ HEC: هیپرتروفی سلول‌های اپیتلیال روده. H&E.



شکل ۳: برش عرضی روده تاس‌ماهی ایرانی در مواجهه با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر مالاتیون. الف و ب) روز ۱. ج) روز ۲. د) روز ۴. ه و و) روز ۷. H: خونریزی؛ LEC: از بین رفتن سلول‌های اپیتلیال روده؛ LM: از بین رفتن حاشیه مسواکی سلول‌های اپیتلیال روده؛ S: پوسته پوسته شدن سلول‌های اپیتلیال؛ F: جوش خوردن پرزهای روده؛ FM: صاف شدن سطح پرزهای روده؛ V: واکوئل‌زایی سیتوپلاسم؛ HEC: هیپرترفی سلول‌های اپیتلیال روده؛ SH: چروکیده شدن پرزهای روده. H&E



شکل ۴: برش عرضی روده تاس‌ماهی ایرانی در مواجهه با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر ملاتینون. الف) روز ۱. (ب) روز ۲. ج و د) روز ۴. ه و و) روز ۷. H: خونریزی؛ LEC: از بین رفتن سلول‌های اپیتلیال روده؛ LM: از بین رفتن حاشیه مسوaki سلول‌های اپیتلیال روده؛ S: پوسته پوسته شدن سلول‌های اپیتلیال؛ FM: صاف شدن سطح پرزهای روده؛ V: واکوئل‌زایی سیتوپلاسم؛ HEC: هیپرترفی سلول‌های اپیتلیال روده؛ NM: نکروز سلولی ناحیه عضلانی. H&E.

بحث

گوارشی قابل تایید است. به نظر می‌رسد که آسیب‌های بافت روده ناشی از تاثیر منفی سم مالاتیون بر عملکرد ساخت آنزیم‌های روده تاثیر گذاشته، سبب کاهش معنی‌دار این سه آنزیم شد.

Simon و همکاران (۱۹۹۹) که به بررسی آفت‌کش‌های دلتامترین، پرمترین و سیپرترین بر روی کپور معمولی پرداختند، اظهار کردند که بازدارندگی معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های گوارشی از جمله لیپاز و تریپسین در ماهی کپور ایجاد شد که نتایج آن‌ها مشابه نتایج مطالعه حاضر در زمینه مهار فعالیت آنزیم‌های گوارشی بود. مهار فعالیت لیپاز در ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*) قرار گرفته در معرض سم دلتامترین مشاهده شد (Gunes and Yerli., 2011). این نتایج با یافته‌های جوانمردی و همکاران (۱۳۹۶) بر روی فعالیت سم مالاتیون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) همخوانی داشت که به علت اثرگذاری مالاتیون بر روی غشاهای مخاطی و آسیب بافتی منجر به ایجاد اختلال در فعالیت آنزیم لیپاز شد. فعالیت آنزیم‌های گوارشی نوعی ماهی سوف (*Anabas testudineus*) در مواجهه با علف‌کش آلمیکس (Senapati et al., 2013)

میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی به عوامل مختلفی همچون ویژگی‌های ذاتی آنزیم، میزان تولید و ترشح آن وابسته است (Yan et al., 1996). آلاینده‌ها به احتمال زیاد از طریق تعامل مستقیم یا غیر مستقیم با پروتئین‌ها میزان فعالیت آنزیم‌ها را متاثر می‌سازند. آن‌ها علاوه بر اثر مستقیم بر ویژگی‌های هیدرولیتیک آنزیم‌ها، ممکن است به صورت غیرمستقیم و با اثرات سمی خود بر ساخت و یا مکانیسم ترشح آنزیم و سرانجام فعالیت زیستی آن تاثیر بگذارند، همچنین ممکن است منجر به مرگ سلولی بافت گوارشی شوند (Prabhu and Poulouse, 2012).

در پژوهش حاضر نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های روده شامل لیپاز، آمیلاز و پروتئاز پس از یک دوره ۷ روزه سمیت تحت حاد مالاتیون در تاس‌ماهی ایرانی نشان داد که فعالیت همه آنزیم‌های مورد بررسی به طور معنی‌داری با افزایش غلظت و زمان کاهش یافت. این امر نشان می‌دهد که میزان فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی حتی در غلظت پایین سم مالاتیون تغییر می‌کند و با گذشت زمان، اثر نامطلوب سم بر ماهی افزایش می‌یابد که این امر با مهار فعالیت آنزیم‌های

مواجهه با آلاینده‌ها در نظر گرفته شود (Samanta et al., 2014).

روده نقش مهمی در جذب و متابولیسم بسیاری از آلاینده‌ها دارد (Yuen et al., 2007). با این حال اطلاعاتی در مورد مکانیسم‌های حفاظتی اپیتلیوم روده در برابر جذب سم مالاتیون در تاس‌ماهی ایرانی وجود ندارد. در مطالعه حاضر، در بافت روده تاس‌ماهی قرار گرفته در معرض سم مالاتیون خونریزی، از بین رفتن سلول‌های اپیتلیال روده، از بین رفتن حاشیه مسواکی سلول‌های اپیتلیال روده، پوسته پوسته شدن سلول‌های اپیتلیال، جوش خوردن پرزهای روده، صاف شدن سطح پرزهای روده، واکوئل‌زایی سیتوپلاسم، هیپرتروفی سلول‌های موکوسی، هیپرتروفی سلول‌های اپیتلیال روده، چروکیده شدن پرزهای روده و نکروز سلولی ناحیه عضلانی مشاهده شد. شدت آسیب‌ها با افزایش غلظت و زمان افزایش یافت. یکی از عوامل تاثیرگذار در مسمومیت آبزیان عامل زمان است. هنگامی که ماهی در معرض غلظت ثابتی از سم باشد، به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می‌رود و هم سم فرصت بیشتری برای تاثیرگذاری روی ماهی دارد (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۸۲). پرخونی، ادم و التهاب در

و گربه‌ماهی آسیایی (*Heteropneustes fossilis*) در مواجهه با دیازینون (Sastry and Malik., 1982) مانند مطالعه حاضر سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی همچون آمیلاز، لیپاز، مالتاز و لاکتاز در روده شد و شدت مهار آنزیم‌ها با افزایش زمان افزایش یافت. از سوی دیگر در بررسی تاثیر علف‌کش آلمیکس بر الگوی فعالیت آنزیم‌های گوارشی تیل‌پای نیل (*Oreochromis niloticus*)، گربه‌ماهی آسیایی و نوعی ماهی سوف افزایش آنزیم‌های لیپاز، آمیلاز و پروتئاز مشاهده شد و روبرویی طولانی مدت با آلمیکس حتی در غلظت‌های سازگار با محیط زیست باعث تغییرات در عملکرد گوارشی ماهیان شد (Samanta et al., 2014).

به طور کلی آفت‌کش‌ها می‌توانند به مرکز فعال آنزیم‌ها نزدیک یا متصل می‌شوند و باعث تغییر فعالیت آنزیم شوند (مهار یا فعال شدن) که این تغییر شیمیایی به ساختار آفت‌کش‌ها بستگی دارد (Simon et al., 1999). بنابراین گونه‌های مختلف ماهی واکنش‌های متفاوتی را در برابر قرار گرفتن در معرض سموم نشان می‌دهند (Sabapathy and Teo, 1993) و ارزیابی آنزیم‌های گوارشی روده می‌تواند به عنوان یک شاخص فیزیولوژیک در زمان

با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش می‌توان به این نتیجه رسید که غلظت‌های تحت حد سم مالاتیون می‌تواند اثرات نامطلوبی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی و سلامت بچه تاس‌ماهیان رهاسازی شده در رودخانه‌ها و مصب‌ها داشته باشد که شدت آن را می‌توان مرتبط با سختی آب، مدت زمان تماس، میزان حساسیت و سن بچه ماهیان دانست. از آنجایی که مطالعات کمی در مورد تاثیر سموم روی ماهیان خاویاری در دنیا صورت گرفته است و تاکنون بر تاثیر سم مالاتیون بر روی ماهیان خاویاری مطالعه‌ای صورت نگرفته است، این مطالعه می‌تواند گامی موثر برای آشنایی بیشتر با اثرات این سم روی این گونه بسیار ارزشمند تلقی شود.

تشکر و قدردانی

بخشی از این پژوهش با حمایت پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر انجام گرفت. از این رو، از همکاری این پژوهشکده کمال تشکر را داریم. همچنین از ریاست و کارشناسان محترم مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر شهید دکتر بهشتی برای همکاری در بخش عملی صمیمانه تشکر می‌کنیم.

بافت روده بچه ماهیان سفید در مواجهه با سم سوین به مدت ۹۶ ساعت (شاملوفر و همکاران، ۱۳۹۴)، نکروز لایه عضلانی، خونریزی، آسیب بافت‌های زیرمخاطی، نکروز سلول‌های اپیتلیال و از بین رفتن حاشیه مسواکی سلول‌های اپیتلیال روده تیلایپای نیل در معرض کادمیوم (Kaoud et al., 2011) و ماهی سرماری (*Channa punctatus*) در مواجهه با سرب (Sastry and Gupta, 1979) گزارش شد. در پژوهش‌های انجام شده توسط سایر پژوهشگران نیز علایمی مشابه با نتایج حاضر مشاهده شد (Senapati et al., 2013; Karthigayani et al., 2014; Samanta et al., 2016).

در پژوهش حاضر مهم‌ترین عوارض مشاهده شده در روده در اثر مواجهه شدن بچه تاس‌ماهیان با غلظت‌های تحت حد سم مالاتیون از بین رفتن و کنده شدن حاشیه مسواکی سلول‌های اپیتلیوم روده و نکروز شدن سلول‌های اپیتلیومی روده بود. نکروز سلولی در واقع یکی از مهم‌ترین آسیب‌های بافت در مواجهه با آلاینده‌ها محسوب می‌شود که می‌تواند در نتیجه مهار فعالیت آنزیم و آسیب دیدن غشای سلولی رخ دهد (Rabitto et al., 2005; Oliveira et al., 2006).

منابع

- بهمنی م. ۱۳۸۴. خاویار ایران. انتشارات موج سبز، نشر آموزش کشاورزی. ۱۲۰ ص.
- جوانمردی س.، رضایی توابع ک.، مرادی س. و سادات بیات غیائی ل. ۱۳۹۶. اثرات سطوح مختلف ویتامین C در جیره غذایی بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های هضمی و برخی فاکتورهای استرسی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تحت سمیت تحت کشنده سم ملاتینون. نشریه علوم آبی‌پروری، ۵(۷): ۴۹-۴۰.
- شاملوفر م.، جرجانی س. و قلیچی ا. ۱۳۹۴. تعیین LC₅₀ و بررسی ضایعات بافتی ناشی از سم سویین در بچه ماهیان سفید *Rutilus frisii kutum* نشریه توسعه آبی‌پروری، ۹: ۴۳-۵۲.
- شریف‌پور ع.، سلطانی م. و جوادی م. ۱۳۸۲. تعیین LC₅₀ و ضایعات بافتی ناشی از سم آندوسولفان در بچه فیلماهی *Huso huso*. مجله علمی شیلات ایران، ۱۲(۴): ۸۴-۶۹.
- Journal of General Physiology, 22: 79-89.
- Banaee M., Sureda A., Shahaf S. and Fazilat N. 2015. Protective effects of silymarin extract on malthion-induced zebra cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*) hepatotoxicity. Iranian Journal of Toxicology, 9: 1239-1246.
- Banerjee S. and Bhattacharya S. 1995. Histopathological changes
- صفری ر.، شعبانی ع.، رمضانپور س. و کلنگی میاندره ح. ۱۳۹۴. اثر دوزهای تحت کشنده سم اندوسولفان بر بیان ژن HSP70 و آسیب‌های بافت آبشش در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897). نشریه توسعه آبی‌پروری، ۹: ۸۰-۶۵.
- غلامیان س. ۱۳۹۳. بررسی تاثیرات غلظت تحت کشنده سم بوتاکلر بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و بافت کبد بچه تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله زیست‌شناسی دریا، ۶: ۹-۱.
- نظامی ش. ع.، پژند ذ.، خارا ح. و کشوردوست ف. ۱۳۸۳. تعیین LC₅₀ 96h دو سم ساترن (علف‌کش) و ملاتینون (حشره‌کش) بر روی بچه ماهی تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۲۰: ۹-۱.
- Agusa T., Kunito T., Tanabe S., Pourkazemi M. and Aubrey D.G. 2004. Concentrations of trace elements in muscle of sturgeons in the Caspian Sea. Marine Pollution Bulletin, 49: 789-800.
- Anson M.L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. The

- induced by chronic nonlethal levels of elsan, mercury, and ammonia in the small intestine of *Channa punctatus* (Bloch). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 31: 62–68.
- Benarji G. and Rajendranath T. 1990.** Hematological changes induced by an organophosphorous insecticide in a freshwater fish *Clarias batrachus* (Linnaeus). *Tropical Freshwater Biology*, 2: 197–202.
- Bernfeld P. 1955.** Amylases α and β . P: 149–157. In: Colowick P. and Kaplan N.O. (Eds.). *Methods in Enzymology*, Vol. 1. Academic Press, USA.
- Bradford M.M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Chebanov M. and Billard R. 2001.** The culture of sturgeon in Russia: Production of juveniles for stocking and meat for human consumption. *Aquatic Living Resources*, 14: 375–381.
- Das S., Das A. and Gupta A. 2013.** Histopathological changes in liver of Indian flying barb, *Esomus danricus*, exposed to malathion. *International Journal of Latest Research in Science and Technology*, 2: 62–64.
- Deka S. and Mahanta R. 2012.** A study on the effect of organophosphorus pesticide malathion on hepato-renal and reproductive organs of *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *The Science Probe*, 1: 1–13.
- Dettlaff T.A., Ginsburg A.S. and Schmalh O.I. 1993.** *Sturgeon Fishes: Developmental Ausen, Biology and Aquaculture*. Springer-Verlag Press, Germany. 300P.
- Elbadawi A.A. and Ramadan O. A. 2006.** Some toxicological studies of the insecticide "pymetrozine" on *Oreochromis niloticus*. *Journal of Egyptian Academic Society for Environmental Development*, 7(3): 125–138.
- Fanta E., Rios F.S., Romao S., Vianna A. and Freiburger S. 2003.** Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54: 119–130.
- Gunes E. and Yerli S.V. 2011.** Effects of deltamethrin on lipase activity in guppies (*Poecilia reticulata*) introduction deltamethrin is an insecticide belonging to the pyrethroid family. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11: 473–476.
- Harpaz S., Eshel A. and Lindner P. 1994.** Effect of 1-propanol on the

- activity of intestinal proteolytic enzymes of the european sea bass *Dicentrarchus labrax*. Agriculture Food Chemistry, 42: 49–52.
- Huculeci R., Dinu D., Staicu A.C., Munteanu M.C., Costache M. and Dinischiotu A. 2009.** Malathion-induced alteration of the antioxidant defence system in kidney, gill, and intestine of *Carassius auratus gibelio*. Environmental Toxicology, 24: 523–530.
- Iijima N., Tanaka S. and Ota Y. 1998.** Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. Fish Physiology and Biochemistry, 18: 59–69.
- Kaoud H.A., Zaki M.M., El-Dahshan A.R., Saeid S. and El-Zorba H.Y. 2011.** Amelioration the toxic effects of cadmium-exposure in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by using *Lemna gibba* L. Life Science Journal, 8(1): 185–195.
- Karmakar S., Patra K., Jana S., Prasad Mandal D. and Bhattacharjee S. 2016.** Exposure to environmentally relevant concentrations of malathion induces significant cellular, biochemical and histological alterations in *Labeo rohita*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 126: 49–57.
- Karthigayani T., Denis M., Andrew Remy A.R. and Shettu N. 2014.** Histological study of the intestine and liver tissues in the fish *Oreochromis mossambicus* exposed to cypermethrin. Journal of Modern Biotechnology, 3(4): 48–54.
- Kumar N., Yadav A., Gulati S., Neeraj Aggarwal K. and Gupta R. 2015.** Antigenotoxic potential of curcumin and carvacrol against malathion-induced DNA damage in cultured human peripheral blood and its relation to GSTM1 and GSTT1 polymorphism. Biomarkers and Genomic Medicine, 7: 98–104.
- OECD. 1992.** Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing, Paris. P: 1–9.
- Oliveira R., Filipak C.A. and Neto F.I. 2006.** Haematological findings in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead, tributyltin chloride. Environmental Research, 101: 74–80.
- Pal S., Kokushi E., Koyama J., Seiichi U. and Ghosh A.R. 2012.** Histopathological alterations in gill, liver and kidney of common carp exposed to chlorpyrifos. Journal of Environmental Science and Health, 47: 180–195.

- Popoola O.M. 2018.** Toxicity effect of atrazine on histology, haematology and biochemical indices of *Clarias gariepinus*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 6: 87–92.
- Prabhu S. and Poulose E.K. 2012.** Silver nanoparticles: Mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2(32): 1–10.
- Rabitto I.S., Alves Costa J.R.M., Silva De Assis H.C., Pelletier E., Akaishi F.M., Anjos A., Randi M.A.F. and Oliveira R. 2005.** Effects of dietary Pb(II) and tributyltin on neotropical fish *Hoplias malabaricus*: Histopathological and biochemical findings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 147–156.
- Roy S. and Bhattacharya S. 2006.** Arsenic-induced histopathology and synthesis of stress proteins in liver and kidney of (*Channa punctatus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65: 218–229.
- Sabapathy U. and Teo L.H. 1993.** A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass, *Lates calcarifer*. *Journal of Fish Biology*, 42: 595–602.
- Samanta P., Pal S., Mukherjee A.K., Senapati T., Kole D. and Ghosh A.R. 2014.** Effects of almix herbicide on profile of digestive enzymes of three freshwater teleostean fishes in rice field condition. *Toxicology Reports*, 1: 379–384.
- Samanta P., Pal S., Mukherjee A.K., Senapati T., Kole D. and Ghosh A.R. 2016.** Gastrointestinal pathology in freshwater fish, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) under almix exposure. *Journal of Environmental and Analytical Toxicology*, 6(5): 1–6.
- Sastry K.V. and Gupta P.K. 1979.** Alteration in the activities of three peptidases and lipase in the digestive system of the fish *Channa punctatus* exposed to lead nitrate. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 21: 190–195.
- Sastry K.V. and Malik P.V. 1982.** Histopathological and enzymological alterations in the digestive system of a freshwater teleost fish, *Heteropneustes fossilis*, exposed acutely and chronically to diazinon. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 6: 223–235.
- Senapati T., Samanta P., Mandal S. and Ghosh A.R. 2013.** Study on histopathological, histochemical and enzymological alterations in stomach and intestine of *Anabas*

- testudineus* (Cuvier) exposed to almix 20WP herbicide. International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences, 3(2): 100–111.
- Shahbazi S., Moezzi F., Poorbagher H. and Rostamian N. 2015.** Effects of malathion acute toxicity on behavioral and haematological parameters in *Capoeta damascina* (Cypriniformes: Cyprinidae). Journal of Chemical Health Risks, 5: 209–220.
- Simon L.M., Laszlo K., Kotorman M., Vertesi A., Bagi K. and Nemcsok J. 1999.** Effects of synthetic pyrethroids and methidation on activities of some digestive enzymes in carp (*Cyprinus carpio* L.). Journal of Environmental Science and Health B, 34(5): 819–828.
- Soldatov A.A. 2005.** Peculiarities of organization and functioning of the fish red blood system. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 41(3): 272–281.
- Subburaj A., Jawahar P., Jayakumar N., Srinivasan A. and Ahilan B. 2018.** Acute toxicity bioassay of malathion (EC 50%) on the fish, *Oreochromis mossambicus* (tilapia) and associated histological alterations in gills. Journal of Entomology and Zoology Studies, 6(1): 103–107.
- Sweilum M.A. 2006.** Effect of sublethal toxicity of some pesticides on growth parameters, haematological properties and total production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) and water quality of ponds. Aquaculture Research, 37: 1079–1089.
- Vale J.A. 1998.** Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus OP insecticide poisoning. Toxicology Letters, 102-103: 649–652.
- Venkataramana G.V., Rani P.N.S. and Murthy P.S. 2006.** Impact of malathion on the biochemical parameters of gobiid fish, *Glossogobius giuris* (Ham). Journal of Environmental Biology, 27(1): 119–122.
- Yan T., Teo L.H. and Sin Y.M. 1996.** Effects of metals on α -amylase activity in the digestive gland of the green mussel, *Perna viridis* L. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 56(4): 677–682.
- Yonar S.M. 2013.** Toxic effects of malathion in carp, *Cyprinus carpio carpio*: Protective role of lycopene. Ecotoxicology and Environmental Safety, 97: 223–229.
- Yuen B.B., Wong C.K., Woo N.Y. and Au D.W. 2007.** Induction and recovery of morphofunctional changes in the intestine of juvenile

carnivorous fish (*Epinephelus
coioides*) upon exposure to
foodborne benzo[a]pyrene.

Aquatic Toxicology, 82(3): 181–
194.



Research Paper

Effects of malathion on activities of some digestive enzymes and histopathological alterations in the intestine tissue of *Acipenser persicus* fingerling

Mina Rahbar¹, Masoud Sattari^{2,3*}, Hamid Alaf Noverian^{4,5}, Mohaddeseh Ahmanezhad⁶, Hossein Khara⁷, Roghieh Safari⁸

Received: January 2019

Accepted: May 2019

Abstract

The present study purposed to determine the dose- and time-dependent changes in digestive enzyme activity (lipase, amylase and protease) and intestine histopathological alterations in Persian sturgeon, *Acipenser persicus* after exposure to sublethal concentrations (0, 0.05, 0.1 and 0.2 LC₅₀) of malathion for 7 days. Based on the results, the activity of lipase, amylase and protease levels substantially decreased in the fish exposed to malathion (P<0.05). These activities were significantly dose- and time-dependent (P<0.05) and the lowest was in 0.2mgL⁻¹ at the end of the experiment. Histological studies of the processed tissues showed marked histological alterations than the control group. The pathologic lesions of the intestine included blood congestion, loss of epithelial cells, fusion of microvilli, loss of microvilli, sloughing of epithelial cells, flattening of intestinal microvilli, vacuolization of cell cytoplasm, hypertrophy of epithelial cells, shrinkage of microvilli and also cell necrosis in muscularis were observed exposure to sublethal concentrations of malathion. In most cases, the severity of changes follows a dose- and time-dependent manner. Results showed that low concentration of malathion (0.05 LC₅₀) can pose undesirable alternation in Persian sturgeon fingerling, an economic species of the Caspian Sea.

Key words: *Malathion, Intestine Enzymes, Intestine Histopathology, Persian Sturgeon.*

1- Ph.D. Student in Fisheries, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

2- Professor in Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

3- Professor in Department of Marine Sciences, Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Iran.

4- Associate Professor in Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

5- Associate Professor in Department of Marine Sciences, The Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Iran.

6- Assistant Professor in Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.

7- Associate Professor in Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

8- Assistant Professor in Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

*Corresponding Author: msattari647@gmail.com