

بررسی اثر غلظت‌های تحت‌کشنده سم دیازینون بر فعالیت برخی آنزیم‌های سر می مولدین نر ماهی سفید

مجید محمدنژادشموشکی^۱، مهدی سلطانی^۲، عیسی شریف‌پور^۳ و محمدرضا ایمانپور^۴

تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۲۶

خلاصه

دیازینون از نوع آفت‌کش‌های ارگانوفسفره است. این سم از سموم تماسی و نفوذی بوده و در مواردی سیستمیک کم دوام است. مکانیسم آفت‌سومی دیازینون همانند سایر سموم ارگانوفسفره، موجب مهار شدن بعضی از آنزیم‌ها به ویژه استیل‌کولین استراز می‌گردد. در این تحقیق که به مدت سه ماه و در زمستان و بهار سال ۱۳۸۸ انجام گردید اثرات سم دیازینون (امولسیون ۶۰ درصد) بر روی برخی از فاکتورهای آنزیمی مولدین نر ماهی سفید از جمله کولین استراز مطالعه گردید. آزمایشات به صورت ساکن (Static) و بر اساس روش استاندارد به مدت ۴۵ شبانه روز در اکواریوم‌هایی با حجم آب ۱۸۰ لیتر انجام گردید. ابتدا میزان LC₅₀96h سم دیازینون برای مولدین نر ماهی سفید برابر ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد و مقادیر LC₁₀، LC₅₀ و LC₉₀ طی ۹۶ ساعت و میزان حداکثر غلظت مجاز (میزان LC₅₀96h تقسیم بر ۱۰) به ترتیب برابر ۰/۱۹۳، ۰/۴، ۰/۸۳۱ و ۰/۰۰۴ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید. سپس ۴ تیمار (تیمار شاهد، تیمار ۱ با غلظت LC₁=۰/۱۰۶، تیمار ۲ با غلظت LC₅=۰/۱۵۷ و تیمار ۳ با غلظت MAC value = ۰/۰۴) تهیه و مولدین نر ماهی سفید برای مدت ۴۵ روز تحت تاثیر غلظت‌های فوق قرار گرفتند به طوری که هر کدام از تیمارها با ۳ تکرار و ۳ عدد مولد نر ماهی سفید در داخل ۱۲ تانک وارد گردیدند. نتایج نشان داد که دیازینون باعث کاهش میزان آنزیم لاکتات دهیدروژناز، آنزیم کولین استراز و افزایش آنزیم آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینوترانسفراز سرم خون می‌گردد و از این لحاظ تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای مورد نظر مشاهده گردید ($p < 0.05$). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سم دیازینون در غلظت‌های غیرکشنده و بسیار پایین اما در طولانی مدت باعث تغییرات میزان آنزیم‌های سر می مولدین نر ماهی سفید می‌گردد.

کلمات کلیدی: دیازینون، فاکتورهای آنزیمی، مولد نر ماهی سفید

مقدمه

سمیت و نیمه عمر کمتر استفاده شود. اکوسیستم‌های آبی به عنوان بزرگترین بخش محیط طبیعی همواره با تهدیدهایی نظیر محدودیت ژنتیکی و تنوع زیستی مواجه می‌باشد. اکوسیستم‌های آبی به عنوان محیط هدف برای سموم آفت‌کش مد نظر نمی‌باشد (۳۳). داده‌های مربوط به سمیت ناشی از استعمال آفت‌کش‌ها و تاثیر آن بر روی موجودات غیر هدف مثل ماهی به عنوان مبنا و پایه‌ای برای سنجش و تعیین خطرات اکوتوکسیکولوژیکی آفت‌کش‌ها بر روی سیستم‌های آبی می‌باشد (۱۸).

امروزه آفت‌کشها در کشاورزی و برای کنترل آفات در جنگل‌ها و محیط‌های آبی و نیز برای حفظ سلامت بشر و حیوانات به کار می‌روند اما کاربرد روز افزون و بیش از حد آفت‌کش‌ها سلامت بشر را به مخاطره انداخته و اثرات معکوسی بر موجودات غیر هدف داشته و موجب آلودگی منابع آب، خاک و هوا می‌گردد (۶). استفاده از سموم آفت‌کش تا زمانی که شیوه‌های مبارزه بیولوژیک با آفات گیاهی مرسوم نشود امری اجتناب‌ناپذیر است، بنابراین توصیه بر این است که حداقل از آفت‌کش‌هایی با درجه

^۱ استادیار گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرگز

^۲ استاد گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

^۳ دانشیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، موسسه تحقیقات شیلات ایران

^۴ دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

صنعتی، وجود سدهای انحرافی و پل، رودخانه‌ها برای مهاجرت ماهیان رود کوچ مناسب نیستند (۹). حدود $\frac{2}{3}$ از اراضی زیر کشت استان گلستان در منطقه حوزه آبریز رودخانه گرگانرود قرار دارد که یکی از مناطق بسیار مهم مصرف انواع سموم دفع آفات نباتی و کودهای شیمیایی است و یکی از بزرگترین مسائل زیست محیطی در بخش کشاورزی در ارتباط با رودخانه گرگانرود مصرف زیاد سموم کشاورزی می‌باشد (۸). از میان سموم حشره‌کشی که در استان گلستان مصرف می‌شود، دیازینون به علت مصرف بالایی که دارد به عنوان سم مورد آزمایش انتخاب شد. با توجه به مطالب مطروحه فوق و با توجه به اینکه اغلب رودخانه‌های محل مهاجرت، تخم‌ریزی و پرورش اولیه لاروی، ماهیان مهاجر آب شیرین به طور خاص در مجاورت اراضی کشاورزی مصرف‌کننده سم دیازینون (حوضه گرگانرود و محل صید مولدین ماهی سفید) به عنوان سم آفت‌کش قرار داشتند، آثار این سم روی برخی از فاکتورهای آنزیمی مولدین نر ماهی سفید مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

این تحقیق به مدت ۳ ماه در سه مرحله در سالن ونیرو (سالن آبی‌پروری) در دانشگاه منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. در این آزمایش ۱۵۰ عدد مولد نر ماهی سفید مورد نیاز توسط تعاونی‌های صیادی از طریق صید پره از دهانه رودخانه گرگانرود در محل ایستگاه خواجه نفس و شبه جزیره میانکاله در اواخر بهمن و اوایل اسفند ماه سال ۱۳۸۸ تهیه و با تانکر مجهز به کپسول اکسیژن به سالن ونیرو (بخش آبی‌پروری) دانشگاه منابع طبیعی گرگان (پردیس) منتقل شدند سپس ماهیان برای سازگار شدن با محیط آزمایش به مدت یک هفته در داخل تانک‌های پرورشی (ونیرو) نگهداری شدند. پارامترهای مؤثر فیزیکی‌وشیمیایی آب از جمله pH، سختی کل، اکسیژن محلول و درجه حرارت کنترل گردید که به ترتیب در

یکی از مهمترین موجودات آبی می‌باشند که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند و به همین دلیل جهت انجام آزمایشات زیست‌سنجی در بعد وسیعی از آنها استفاده می‌شود (۱). دیازینون از نوع آفت‌کش‌های ارگانوفسفره است (۲۸). این سم جزو سموم تماسی و نفوذی بوده و در مواردی سیستمیک کم دوام است (۴). مکانیسم آثار سمی دیازینون همانند سایر سموم ارگانوفسفره، موجب مهار شدن بعضی از آنزیم‌ها به ویژه استیل‌کولین استراز می‌گردد (۱۹). حساسیت ویژه ماهی به دیازینون تا حدود زیادی به قابلیت‌های جذب، مهار استیل‌کولین استراز و دفع مواد سمی به وسیله ماهی بستگی دارد (۲۵). ویژگی‌های بیوشیمیایی خون به عنوان یکی از مهمترین شاخص‌های وضعیت فیزیولوژیک ماهی قلمداد می‌شود (۱۴). تغییرات پروفایل شیمیایی خون، در واقع بازتاب تغییر در پروسه متابولیسم و بیوشیمیایی ماهی است که به طور عمده ناشی از تاثیر آلاینده‌ها می‌باشد. تحقیقات محققین نشان داده است از جمله فاکتورهای موجود در سرم خون که میزان آنها در اثر سموم مختلف دچار تغییر می‌گردند آنزیم‌هایی از قبیل لاکتات دهیدروژناز، کولین استراز، آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینوترانسفراز می‌باشند (۳، ۵، ۱۱، ۱۳، ۲۹ و ۳۰). در نتیجه اندازه‌گیری تغییرات آنها می‌تواند به عنوان شاخص در بررسی اثرات سموم مختلف بر روی سلامت ماهیان مورد مطالعه قرار گیرد. ماهی سفید با نام علمی *Rutilus frisii kutum* (Kamensky, 1901) از خانواده کپور ماهیان، یکی از مهمترین و با ارزش‌ترین ماهیان استخوانی تجاری و اقتصادی دریای خزر است (۷ و ۲۰). با رسیدن به سن بلوغ و فرا رسیدن فصل تولید مثل این ماهیان به تدریج از نواحی عمیق دریا به سوی نواحی کم عمق و سواحل دریا حرکت می‌کنند و تخم‌ریزی طبیعی در نواحی بالا دست رودخانه صورت می‌پذیرد (۲۲). در چند دهه اخیر به علت استفاده از آب رودخانه‌ها برای کشاورزی و آلودگی آب به انواع سموم کشاورزی، فاضلاب‌های شهری و

طی دوره تحت تاثیر قرار دادن مولدین در معرض سم دیازینون در نهایت مولدین بیهوش شده و سپس با استفاده از قطع ورید ساقه دمی خونگیری انجام گرفته و در ظرف مخصوص ریخته شد و بلافاصله در محفظ حاوی یخ قرار داده شدند سپس لوله‌های حاوی خون جهت جداسازی سرم در آزمایشگاه تحت سانتریفوژ با دور ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند در ادامه فاکتورهای آنزیمی خون توسط دستگاه‌های مختلف در آزمایشگاه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری فاکتورهای آنزیمی پس از جداسازی سرم خون ماهیان در دستگاه سانتریفوژ با دور ۵۰۰۰ در مدت ۵ دقیقه سرم جداسازی شده سپس مقادیر هر کدام از فاکتورها به وسیله دستگاه تعیین گردید. برای اندازه‌گیری آنزیم لاکتات دهیدروژناز، آنزیم کولین استراز، آنزیم آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینوترانسفراز پس جداسازی سرم خون ماهیان از دستگاه اتوآنالایزر Anthos2020 استفاده گردید. برای تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 13 و برای رسم نمودارها از برنامه Excel 2003 استفاده گردید.

داده‌ها ابتدا جهت اطمینان از نرمال بودن با آزمون کلموگروف-اسمیرنوف^۱ بررسی شد سپس در صورت نرمال بودن داده‌های مورد بررسی با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ ابتدا اختلاف کلی بین میانگین‌ها مشخص و سپس با آزمون دانکن (Duncan) گروه‌ها از یکدیگر تفکیک گردیدند و در مواقعی که داده‌ها نرمال بودند، از آزمون غیرپارامتری کروسکال-والیس (Kruskal-Wallis) جهت مقایسه تیمارها و از آزمون من-ویتنی (Mann-Whitney) برای مقایسه جفتی بین تیمارها استفاده شد.

نتایج

پس از انجام آزمایش‌های ابتدایی به منظور یافتن محدوده غلظت کشندگی سم دیازینون بر روی مولدین نر ماهی سفید سرانجام محدوده غلظت‌های ۰/۲ تا ۱

دامنه متوسط $\text{pH}=7-8/2$ ، $\text{DH}=300 \text{ mg/l}(\text{CaCO}_3)$ ، در مرحله اول حد اشباع و $T=15\pm 2(^{\circ}\text{C})$ قرار داشتند. در آزمایش ابتدا اثرات سمیت حاد LC_{50} 96h سم کشاورزی دیازینون امولسیون ۶۰٪ (سم رایج و متداول که مورد استفاده کشاورزان قرار می‌گیرد) بر روی مولد نر ماهی سفید تعیین گردید. به همین منظور تعداد ۳۶ عدد از این مولدین نر با وزن متوسط $613/33\pm 157/06$ گرم و طول کل $42/18\pm 3/68$ سانتی‌متر جدا شده و برای انجام آزمایش تشخیص سمیت در ۴ تیمار و ۳ تکرار با ۳ عدد ماهی در هر تکرار قرار داده شدند. ثبت تلفات هر ۲۴ ساعت یکبار انجام گرفت. بعد از کسب نتایج نهایی اطلاعات حاصله بر طبق روش آماری program version USEPA, 1985) Probit 1.5 که به وسیله EPA آمریکا (۳۰) و برای تجزیه و تحلیل داده‌های مرگ و میر ناشی از مسمومیت مزمن و حاد ماهیان و سایر آبزیان در آب‌های جاری و ساکن طراحی شده است با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقادیر LC_{10} ، LC_{50} و LC_{90} طی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت و میزان حداکثر غلظت مجاز (میزان LC_{50} 96h تقسیم بر ۱۰) (۱۷) و درجه سمیت مشخص شدند. سپس در مرحله بعدی تعداد ۴ تیمار: تیمار شاهد، تیمار ۱ با غلظت $\text{LC}1=0/106$ ، تیمار ۲ با غلظت $\text{LC}5=0/157$ و تیمار ۳ با غلظت $\text{MAC value}=0/04$ تشکیل گردید و ماهیان مولد سفید نر برای مدت ۴۵ روز تحت تاثیر غلظت‌های فوق قرار گرفتند. لازم به ذکر است در این مرحله از ۱۲ عدد آکواریوم ذخیره به منظور جابجایی ماهیان در تیمارهای مختلف در هر ۴ روز یکبار استفاده گردید تا هم کیفیت آب شرایط بهتری داشته باشد و هم اینکه غلظت سم دیازینون در تمام طول دوره ثابت باشد و در طی دوره تغییراتی در ترکیب سم ایجاد نشود که بدین منظور در هر ۴ روز یکبار ماهیان در تیمارهای ذخیره شده با کیفیت آب مناسب و غلظت‌های مورد نظر سم دیازینون منتقل می‌شدند. در مرحله سوم آزمایش بعد از

آمده LC₅₀ 96h سم دیازینون بر روی مولدین نر ماهی سفید ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر (جدول ۱) و حداکثر غلظت مجاز (MAC value) این سم نیز ۰/۰۴ میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید.

میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید. آنگاه بر اساس آزمایش‌های انجام گرفته مقادیر LC₁₀، LC₅₀ و LC₉₀ در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت دیازینون بر روی مولدین نر ماهی سفید اندازه‌گیری شدند. بر اساس نتایج به دست

جدول ۱: غلظت‌های کشنده سم دیازینون در طی ۹۶ ساعت بر روی مولدین نر ماهی سفید

نام سم	غلظت (mg/l)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
دیازینون	LC ₁₀	۰/۵۵۹	۰/۵۳۳	۰/۴۴۶	۰/۱۹۳
	LC ₅₀	۱/۲۳۲	۰/۸۴۷	۰/۷۸۳	۰/۴
	LC ₉₀	۲/۷۱۳	۱/۳۴۶	۱/۳۷۵	۰/۸۳۱

معنی‌دار آماری مشاهده گردید ($p < 0.05$). افزایش غلظت سم دیازینون باعث کاهش میزان لاکتات دهیدروژناز، کولین استراز و افزایش آلکالین فسفاتاز و AST در ماهیان مولد نر سفید شد به طوری که بیشترین مقدار لاکتات دهیدروژناز و کولین استراز در ماهیان شاهد و کمترین مقدار آنها در بالاترین غلظت سم در تیمار ۳ بود. همچنین بیشترین مقدار آلکالین فسفاتاز و AST در ماهیان تیمار ۳ و کمترین مقدار آنها در ماهیان شاهد بود (جدول ۲).

سپس در مرحله دوم آزمایش ۴ تیمار: LC₀=۰ به عنوان تیمار شاهد، تیمار ۱ با غلظت LC₁=۰/۱۰۶، تیمار ۲ با غلظت LC₅=۰/۱۵۷ و تیمار ۳ با غلظت ۰/۰۴ = MAC value تشکیل گردید و ماهیان مولد سفید نر برای مدت ۴۵ روز تحت تاثیر غلظت‌های فوق قرار گرفتند. نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای آنزیمی خون ماهیان مورد آزمایش نشان داد که در بین تیمارهای مختلف از لحاظ میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز، لاکتات دهیدروژناز، کولین استراز و (آسپارات آمینوترانسفراز) AST اختلاف

جدول ۲: مقدار متوسط فاکتورهای آنزیمی مولدین نر ماهی سفید در تیمارهای مختلف

فاکتورهای خونی	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	شاهد
آلکالین فسفاتاز (IU/l)	۲۰۳/۳۳±۵۰/۵۲ ^a	۲۲۵/۷۸±۴۴/۴۳ ^a	۲۸۰/۵±۴۱/۶۱ ^b	۱۸۱/۳۳±۵۵/۲۸ ^a
لاکتات دهیدروژناز (IU/l)	۱۸۳۵/۴۴±۲۴۱/۴۷ ^a	۱۵۶۴/۱۱±۲۷۵/۴۶ ^a	۱۱۷۵/۳۳±۱۸۷/۳۴ ^b	۱۸۷۹/۶۷±۴۴۱/۱ ^a
کولین استراز (IU/l)	۱۳۵۸/۲±۲۳۳/۱ ^a	۵۸۷/۶±۱۱۷/۲ ^a	۴۵۷/۵±۱۸۰/۹ ^a	۴۶۱۶/۷±۲۵۳۳/۸ ^b
آسپارات آمینوترانسفراز (IU/l)	۹۸/۶۷±۴۳/۶۴ ^a	۱۱۱/۶۷±۵۹/۲۹ ^a	۱۸۱/۸۳±۳۶/۵۴ ^b	۴۹/۱۱±۲۶/۵۲ ^c

حروف لاتین غیر مشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد ($p < 0.05$).

بحث

تغییرات بیوشیمیایی خون بازگوکننده تغییرات در متابولیسم و فرایندهای بیوشیمیایی موجودات زنده است که در نتیجه اثرات آلاینده‌های مختلف می‌تواند باشد. پاسخ بیوشیمیایی عمده به اثر دیازینون در ماهیان مهار فعالیت یک سری از آنزیم‌ها از جمله کولین استراز

نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش غلظت سم دیازینون در دراز مدت باعث کاهش میزان آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آنزیم کولین استراز و افزایش آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) و آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز (AST) در ماهیان مولد نر سفید می‌شود.

کبدی کمک موثر می‌باشد. در بیماری‌های حاد کبد مقدار AST زیاد می‌شود (۱۰). افزایش فعالیت AST در پلاسما ممکن است به دلیل آسیب‌های کبد باشد که در نتیجه باعث آزادسازی این آنزیم داخل سلولی و افزایش سطح AST پلاسما می‌باشد (۳۴). نتایج فعالیت آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز تحت تاثیر سم دیازینون که در این تحقیق در ماهی سفید افزایش یافته بود با نتایج محققین دیگر متفاوت بود به طوری که در ماهی کپور علفخوار (۳)، ماهی کپور (۱۱) و فیل ماهی (۵) افزایش، در ماهی کپور علفخوار (۲) کاهش و در مطالعه دیگری در ماهی کپور (۲۳) بدون تغییر باقی مانده بود. که با توجه به نتایج تحقیقات صورت گرفته می‌توان گفت که افزایش آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز در ماهی سفید می‌تواند به دلیل آسیب رسیدن به بافت کبد ماهی توسط دیازینون باشد.

از آنجایی که آفت‌کش‌ها در کبد جذب می‌شوند و ساخت و ساز تمام آنزیم‌ها مثل آلکالین فسفاتاز در داخل کبد صورت می‌گیرد، در نتیجه اندازه‌گیری فعالیت آلکالین فسفاتاز سرم به صورت عمومی می‌تواند به عنوان شاخصی برای عملکرد کبد در پاسخ به سموم، مورد استفاده قرار گیرد (۲۷). آلکالین فسفاتاز در کبد به وسیله سلول‌های پوششی و مجاری کوچک صفراوی تولید می‌شود. آلکالین فسفاتاز آنزیمی است که در تمام بدن یافت می‌شود (۲۶). مقدار ALP در بیماری‌های کبدی و استخوانی در سرم خون افزایش می‌یابد (۱۰). اما نتایج فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز تحت تاثیر سم دیازینون که در این تحقیق در ماهی سفید افزایش یافته بود با نتایج محققین دیگر متفاوت بود به طوری که در ماهی کپور (۱۱)، فیل ماهی (۵) و ماهی *Channa punctatus* (۲۹) کاهش و در مطالعه دیگری در ماهی کپور (۲۳) بدون تغییر باقی مانده بود. در نهایت با توجه به نتایج تحقیقات صورت گرفته می‌توان گفت که افزایش آنزیم آلکالین فسفاتاز در ماهی سفید می‌تواند به دلیل آسیب رسیدن به بافت کبد ماهی توسط دیازینون باشد. LDH آنزیمی است که لاکتات را به پیرووات کاتالیز می‌کند و در تمام

می‌باشد (۱۹ و ۲۹). ترکیبات ارگانوفسفره باعث جلوگیری از فعالیت کولین استراز می‌گردند و اندازه‌گیری فعالیت کولین استراز می‌تواند به عنوان روشی برای تشخیص وجود آفت‌کش‌ها در محیط‌های آبی باشد (۳۵). اگر زمان تماس با ارگانوفسفات‌ها زیاد باشد استیل کولین باعث انقباض ماهیچه‌ها و ترشح آدرنالین از غده آدرنال می‌شود و بی‌قراری نیز مشاهده می‌گردد (۱۳). در تحقیقات صورت گرفته توسط محققین دیگر بیشترین بررسی‌های صورت گرفته تحت تاثیر سم دیازینون بر فعالیت آنزیم کولین استراز می‌باشد که در همه مطالعات صورت گرفته بر روی کپور ماهیان و نیز سایر ماهیان کاهش فعالیت این آنزیم گزارش گردیده است که از آن جمله می‌توان به کاهش مقدار آنزیم کولین استراز در سرم خون ماهی کپور (۱۳ و ۲۴)، ماهی تیلاپپای نیل (۱۶) و مغز ماهی snakehead (۳۱ و ۳۲) اشاره کرد که در نهایت با توجه به نتایج این تحقیق و مطالعات دیگر محققین می‌توان این طور بیان کرد که یکی از بارزترین اثرات دیازینون بر ماهیان کاهش فعالیت آنزیم کولین استراز می‌باشد.

تغییرات کمی و کیفی آنزیم‌هایی مثل ALP، AST و LDH نشان دهنده سلامتی و بیماری در موجود می‌باشد. نیمه عمر این آنزیم‌ها متفاوت می‌باشد. LDH و AST حدود ۵۰ ساعت می‌باشد و مثلاً در ضایعات قلبی تا زمان معینی در خون مقدار آنها زیاد می‌شود (۱۰). AST و LDH در قلب، کبد، کلیه، عضلات اسکلتی، طحال، آبشش، سلول‌های قرمز خون و بافت مغز وجود دارند. در هنگام بیماری یا صدمه دیدن این بافت‌ها و تخریب سلول‌ها به ویژه کبد AST به داخل خون آزاد می‌شود و مقدار آن مستقیماً بستگی دارد به تعداد سلول‌هایی که در اثر بیماری یا صدمه تحت تاثیر قرار گرفته‌اند (۲۶). آزادسازی آنزیم‌های پلاسما می‌تواند به وسیله آسیب‌های کبد، کلیه و طحال باشد (۱۱) و افزایش بسیاری از آنزیم‌ها در پلاسما می‌تواند به دلیل نکرروز کبدی باشد (۱۱). تعیین مقدار آنزیم AST برای تشخیص بیماری‌های

که با این تحقیق همسویی داشت اما در مطالعه‌ای افزایش میزان آنزیم لاکتات دهیدروژناز در ماهی کپور (۱۱) و مارماهی (۱۲) گزارش گردید که با این تحقیق همسویی نداشت. با توجه به نتایج تحقیقات صورت گرفته می‌توان گفت که کاهش آنزیم لاکتات دهیدروژناز در ماهی سفید می‌تواند به دلیل آسیب رسیدن به بافت کبد ماهی توسط دیازینون باشد در نهایت می‌توان این طور بیان کرد که دیازینون باعث کاهش آنزیم لاکتات دهیدروژناز در ماهیان می‌گردد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سم دیازینون در غلظت‌های غیرکشنده و بسیار پایین اما در طولانی مدت باعث تغییرات در میزان آنزیم‌های سرمی خون ماهی سفید می‌گردد بر سلامت این ماهیان تاثیر می‌گذارد.

نسوج پراکنده است. در کلیه، کبد و عضلات مقدار این آنزیم بیش از میزان آن در دیگر نسوج است (۱۰). از تست LDH برای تعیین آسیب‌های بافتی و برای کمک در تشخیص کم خونی و بیماری‌های آبشش و کبد استفاده می‌شود (۲۱). LDH همچنین برای بررسی آسیب‌های کبد، انواع خاص کم خونی و تخریب مفرط سلولی به عنوان نمونه در آسیب کبد مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۶). بعضی از آفت‌کش‌ها از قبیل ارگانوفسفره‌ها قادر به جلوگیری از فعالیت لاکتات دهیدروژناز می‌باشند (۱۵). در مطالعات صورت گرفته بر فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز توسط محققین دیگر کاهش این آنزیم در ماهی کپور علفخوار (۳)، ماهی کپور معمولی (۲۳)، فیل ماهی (۵) و ماهی *Channa punctatus* (۳۰) اشاره کرد

تشکر و قدردانی

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

منابع

- اولا یانوش (۱۳۶۹). آلودگی ناشی از فضولات خانگی، شهری، کشاورزی، صنعتی و طبیعی، ساختار و نقش تالاب انزلی در مقابل آنها. اسناد مرکز تحقیقاتی شیلات استان گیلان، شماره ۲، صفحه ۳۸.
- پورغلام رضا، اسماعیلی فریبا، فرهمند هیلا، سلطانی مهدی، یوسفی پرستو و مهداد حسن (۱۳۸۰). بررسی مشخصه‌های خونی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) بعد از تماس با سم ارگانوفسفره دیازینون. مجله علمی شیلات ایران (انگلیسی). سال سوم، شماره ۲، صفحات ۱۸-۱.
- پورغلام رضا، سلطانی مهدی، حاج محی الدیت داوود حسن، پورغلام حمزه، غرقی احمد و نهاوندی رضا (۱۳۸۵). تعیین میانه غلظت کشنده (LC₅₀) سم
- خانجانی محمد و پورمیرزا علی اصغر (۱۳۸۰). سم‌شناسی، چاپ اول، دانشگاه بوعلی سینا، صفحات ۱۶۴-۱۶۲-۱۵۳-۱۵۲.
- خوش‌باور رستمی حسینعلی، سلطانی مهدی و حاج محی الدیت داوود حسن (۱۳۸۵). بررسی تغییرات برخی عوامل هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان (*Huso huso*) پس از مجاورت طولانی مدت با سم دیازینون. مجله علمی شیلات ایران (انگلیسی). سال ۵، شماره ۲، صفحات ۶۶-۵۳.

- 16- Elnwishyi N.H., Ahmed M.T., El-Sherif M.S. and El-Hameed M.B. (2007). The Effect of Diazinon on Glutathine and Acetylcholinesterase in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Agriculture and Social Sciences, 1813: 52-54.
- 17- Finney D.J. (1971). Probit Analysis, Cambridge University Press, 3rd ed. 32 E. 57th St., New York, Ny 10022, p: 333.
- 18- Gangolli S.D. (1999). The dictionary of toxic substances and their effects. Edition, Royal Society of Chemistry, Second Edition, Revised edition, Volume 1(A-B), p: 916.
- 19- Hamm J.T., Wilson B.W. and Hinton D.E. (1998). Organophosphate-induced acetylcholinesterase inhibition and embryonic retinal cell necrosis in vivo in the teleost (*Oryzias latipes*). Neurotoxicology, 19: 853-870.
- 20- Holchik J. (1995). New data on the ecology of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Nordman, 1840) From the Caspian Sea. Ecology of fresh water fish, 4: 175-179.
- 21- Khazrainia P., Payghan R. and Azari Takami Gh. (1998). Studies on the effect of experimental acute ammonia toxicity on serum enzymes, urea and cholesterol in common carp. Journal of Veterinary Research, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, 55(3): 29-32.
- 22- Kuliev Z.M. (1997). Carps and perches of the southern and middle Caspian (structure of the population, ecology, distribution and measures for population restocking). Author abstract of the dissertation for the doctors degree. Baku: 14.
- 23- Lusova V., Svoboda M. and Kolarova J. (2002). The effect of diazinon on blood plasma biochemistry in Common carp (*Cyprinus carpio*). Acta Veterinaria Brno, 71: 117-123.
- 24- Özcan Oruc E. and Usta D. (2007). Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. Environmental Toxicology and Pharmacology, 23: 48-55.
- 25- Oh H.S., Lee S.K., Kim Y.H. and Roh J.K. (1991). Mechanism selective toxicity of diazinon to killifish (*Oryzias latipes*) and Loach (*Misgurnus anguilli caudatus*). Aquatic toxicology and risk assessment, 14: 343-353.
- 26- Pagana, Kathleen Deska. (1998). Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests. Saint Louis: Mosby, Inc. p: 1166.
- ۶- سکری مهیار (۱۳۷۸). تعیین میزان (LC5096h) سموم علف کش رنستار و ریلوف - اچ بر بچه ماهیان قره برون و ارزون برون. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. صفحه ۱.
- ۷- فریدپاک فرهاد (۱۳۶۵). تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان گرم آبی دستورالعمل اجرایی. انتشارات روابط عمومی وزارت کشاورزی. صفحه ۳۱۰.
- ۸- کیایی بهرام (۱۳۷۸). اکوسیستم‌های تالابی و رودخانه‌های استان گلستان، چاپ اول، صفحات ۶۸-۶۹.
- ۹- لالوئی فرامرز و روشن طبری مژگان (۱۳۸۲). بررسی مهاجرت ماهیان خاویاری به رودخانه‌های تجن و گانرود در سال‌های ۷۴-۱۳۷۰. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، سال ۱۲، صفحات ۱۳۸-۱۳۳.
- ۱۰- محمدیها حسن (۱۳۷۷). بیوشیمی بالینی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم. صفحه ۸۲۶.
- 11- Banaee M., Mirvagefei A.R., Rafei G.R. and Majazi Amiri B. (2008). Effect of sub-lethal diazinon concentration on blood plasma biochemistry. International Journal of Environmental Research, 2 (2): 189-198.
- 12- Ceron J.J., Sancho E., Fernando M.D., Gutierrez C. and Andreu E. (1997). Changes in carbohydrate metabolism in the eel *Anguilla Anguilla*, during short term exposure to diazinon. Toxicology Environment, 60: 201-210.
- 13- Ciesielski S. and Loomis D. (1994). Pesticides exposures cholinesterase depression and symptom among North Carolina migrant farm workers. American Journal of Public Health, 84: 446-451.
- 14- Edsall C.C. (1999). A blood chemistry profile for lake trout. Journal of Aquatic Animal Health, 11: 81-86.
- 15- El-Demerdash F.M., Yousef M.I. and Elagmay E.I. (2001). Influence of paraquat, glyphosate and cadmium on the activity of some serum enzymes and protein electrophoretic behavior (in vitro). Journal of Environmental Science, Health B, 36: 29-42.

- 27- Poet T.S., Wu H., Kousba A.A. and Timchalk C. (2003). In vitro rat hepatic and intestinal metabolism of the organophosphate pesticides Chlorpyrifos and diazinon. *Toxicology Science*, 72: 193-200.
- 28- Robert T.R. and Hutson D.H. (1998). *Metabolic pathways of Agrochemicals, part 2: Insecticides and fungicides*; The Royal Socchem. Cambridge. 1475.
- 29- Sastry K.V. and Sharma K. (1980). Diazinon effect of the activities of brain enzymes from *Opiocephalus punctatus* (Channa). *Bulltain of Environmental Contaminant Toxicology*, 24: 326-332.
- 30- USEPA, (1993): *Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms*. 4rd Ed. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, OH. EPA, p: 273.
- 31- Van Cong N., Thanh Phuong N. and Bayley M. (2008). Brain cholinesterase response in the snake head fish (*Channa striata*) after field exposure to diazinon. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71: 314– 318.
- 32- Van Cong N., Thanh Phuong N. 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.
- 33- Vandergeest H.G., Studijfzand S.C., Kraak M.H.S. and Admiraal W. (1997). Impact of diazinon calamity in 1996 on the aqautic macroinvertebrates in the river mesue. The Netherlands. *Journal of Aquatic Ecology*, 30: 327-330.
- 34- Venkateswara Rao J. (2006). Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86: 78-84.
- 35- Zinkl J.G., Shea P.J., Nakomoto R.J. and Callman J. (1987). Brain cholinesterase activity of rainbow trout poisoned by carbaryl. *Bulltain of Environmental Contaminant Toxicology*, 38(1): 29-38.