

اثر سم کشاورزی کلریپریفوس (دورسبان) بر هورمون‌های جنسی و کیفیت گنادی ماهی قرمز نر (*Carassius auratus*)

- **محمد رضا ایمانپور:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **مریم موسوی*:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۷

چکیده

کلریپریفوس یک آفت کش ارگانوفسفره است که به عنوان کنترل کننده آفات در مزارع کشاورزی استفاده می‌شود. در این تحقیق اثرات این سم رایج (امولسیون ۴۰/۲) در کشاورزی بر ماهی قرمز مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان LC₅₀ در ۹۶ ساعت برابر با ۸۳/۲ میلی گرم در لیتر بود و با توجه به این شاخص، تیمارهایی با غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵۰، ۰/۷۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر دورسبان (هر کدام با ۳ تکرار) و به مدت ۶۰ روز تحت تاثیر غلظت‌های فوق قرار گرفتند. سپس تاثیر آن بر هورمون‌های جنسی و کیفیت گنادی ماهی قرمز نر بررسی شد. میزان هورمون تستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول در تیمارهای مختلف سرم خون ماهی قرمز تحت تاثیر سم دورسبان به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($P < 0/05$). حجم اسپرم‌دهی، طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم، تراکم اسپرم، اسپرماتوکریت در تیمارهایی که سم دریافت کردند نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0/05$). هم‌چنین میزان شاخص گنادوسوماتیک در تیمارهایی که سم دریافت کردند نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0/05$). میزان هپاتوسوماتیک در تیمارهای محتوی سم نسبت به گروه شاهد نیز به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0/05$). به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش سمیت دورسبان باعث کاهش هورمون‌های جنسی و کیفیت گنادی در ماهی قرمز نر می‌شود و بیش‌ترین تاثیر مربوط به تیمار ۰/۷۵ میلی گرم بر لیتر بود.

کلمات کلیدی: سم کلریپریفوس (دورسبان)، هورمون‌های جنسی، ماهی قرمز



مقدمه

است. بعضی از گزارشات حاکی از تاثیر سم دورسبان بر سلول‌های جنسی نر و احتمال افزایش ناهنجاری در ساختار اسپرم می‌باشد (Jorsaraei و همکاران، ۲۰۰۵). سموم ارگانوفسفره، تمایز جنسی گنادها و رشد و نمو دستگاه تولیدمثلی را از طریق تاثیر بر سیستم اندوکرینی آن ممکن است تغییر دهند (Bernabo و همکاران، ۲۰۱۱). Eman و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که در ماهیان تیلپیا (*Tilapia*) که در معرض تماس با مالاتیون بودند میزان لقاح و تحرک اسپرم کاهش یافت. هم‌چنین مشاهده کردند که غیرنرمال بودن اسپرم در مقایسه با شاهد بسیار بیش‌تر است. این محققین بیان کردند که در تیمارهایی که تحت تماس با مالاتیون بودند میزان تستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول در نرها نسبت به شاهد کاهش می‌یابد هم‌چنین کاهش تعداد اسپرم در بیضه و اپیدیدیم، تغییرات دژنراتیو لوله‌های اسپرم‌ساز، افزایش ناهنجاری در ساختار اسپرم، مرگ اسپرم و کاهش میزان باروری از جمله مواردی هستند که در بعضی منابع به آن‌ها اشاره شده است (Joshi و همکاران، ۲۰۰۷). لذا با توجه به مواد ذکر شده هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر سم دورسبان بر هورمون‌های جنسی و کیفیت گنادی در ماهی قرمز نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به مدت ۶۰ روز در سالن آبی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. ماهی قرمز نر با میانگین وزنی $29/60 \pm 2/76$ گرم پس از صید از شرکت باران کوه استرآباد در شهرستان بندر ترکمن برای سازگاری با محیط آزمایش به مدت یک هفته در مخازن فایبرگلاس نگهداری شدند. برای تعیین میزان LC_{50} ابتدا ماهیان در غلظت‌های دورسبان شامل ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه شاهد به مدت ۹۶ ساعت قرار گرفتند و در طی این دوره غذادهی قطع شد و میزان تلفات ثبت شد (Di Giulio و Hinton، ۲۰۰۸). پس از آن، نتایج با استفاده از پروبیت آنالیز و میزان LC_{50} سم دورسبان در ۹۶ ساعت برابر با $83/2$ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. سپس برای بررسی اثر سمیت دورسبان بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی مولدین نر، با توجه به غلظت‌های تعیین شده در LC_{50} ۹۶ ساعت، تیمارهایی با غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر دورسبان (هر کدام با ۳ تکرار) با ده قطعه ماهی در نظر گرفته شد (Davey و همکاران، ۱۹۷۶). در طی دوره آزمایش ماهیان روزانه ۲ بازغذادهی می‌شدند. در طی آزمایش، شرایط فیزیکی و شیمیایی آب کنترل و تمام شرایط در طی دوره آزمایش ثابت نگه داشته شدند تا تنها عامل متغیر غلظت‌های مختلف سم باشد (Di Giulio و Hinton، ۲۰۰۸). بعد از طی دوره قرار دادن ماهیان در معرض سم دورسبان، مولدین با عصاره گل میخک بی‌هوش شدند برای اندازه‌گیری

در حال حاضر سموم و آفت‌کش‌ها از عمده‌ترین عوامل مسمومیت آبیانند که ممکن است در غلظت کم تاثیر مستقیمی بر آبیان نداشته باشند، ولی در زمان طولانی روی مراحل اولیه تکامل مؤثر می‌باشند. به‌رحال آفت‌کش‌ها در بیش‌تر موارد منجر به آسیب به آبی می‌شوند. به‌طور کلی سمیت یک آلاینده از طریق سنجش زیستی، ارزیابی می‌گردد که به‌وسیله آن غلظت زیستی لازم جهت ایجاد تلفات نیمی از موجودات مورد آزمایش در یک دوره زمانی مشخص (کوتاه‌مدت و بلندمدت) معلوم بوده و این آزمایش‌ها شاخه‌ای از علم سم‌شناسی محیطی (Ecotoxicology) می‌باشد. وظیفه آن قضاوت درباره توان بالقوه مواد آلاینده و بررسی اثرات زیان‌بخش این مواد بر اکوسیستم و موجودات زنده آن می‌باشد. حساسیت گونه‌های مختلف به مواد سمی متغیر است، از این‌رو انجام آزمایش‌های سم‌شناسی برای گونه‌های مختلف ضروری است. ماهی‌ها یکی از مهم‌ترین موجودات آبی هستند که به‌علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردارند و به‌همین دلیل برای آزمایش‌های عیارسنجی زیستی در بعد وسیعی از آن‌ها استفاده می‌شود. دورسبان (Dursban) ($C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$) (کلرپیریفوس، Chlorpyrifos) از جمله سموم ارگانوفسفره و حشره‌کشی نسبتاً قرار است و برای از بین بردن مگس و کنه به‌مقدار زیاد استفاده می‌شود. چراکه با کارایی خوب و صرفه اقتصادی آفات بسیاری را مهار می‌کند. این سم به تنهایی و به‌وفور در مزارع کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد و پسمانده‌های این سم در آب‌های زیرزمینی و هم‌چنین در رودخانه‌ها یافت می‌شود. مکانیزم اثر سمی آن مانند سایر سموم ارگانوفسفره، موجب مهار شدن کلیه آنزیم‌ها به‌ویژه استیل کولین استراز (Acetylcholinesterase)، آنزیمی که نقش حیاتی در عملکرد مناسب سیستم‌های عصبی در جانداران ایفا می‌کند) می‌گردد (Burrati و همکاران، ۲۰۱۱). حساسیت ویژه جانداران به دورسبان تا حدود زیادی به قابلیت‌های جذب، مهار استیل کولین استراز و دفع مواد سمی به‌وسیله موجود بستگی دارد. بیش از ۷۰ درصد از سم دورسبان در داخل بدن به متابولیت‌های فعال تبدیل شده و از طریق کلیه‌ها دفع می‌شوند ولی باقی‌مانده آن در بعضی از بافت‌های بدن تجمع پیدا کرده و ممکن است روی اندام‌های مختلفی مثل مغز، کبد و سیستم تولیدمثلی به‌ویژه بیضه و اپیدیدیم تاثیر منفی برجای بگذارد (Singh و همکاران، ۲۰۰۸). باید اذعان نمود که در بعضی موارد آفت‌کش‌ها اثرات مخرب بیش‌تری روی موجودات غیرهدف (آبیان) نسب به موجودات هدف (آفات) داشته که این خود در حساسیت بالاتر و مرگ و میر سریع‌تر در بیش‌تر آبیان نهفته است. طیف وسیعی از اثرات متفاوت برای ترکیبات ارگانوفسفره گزارش شده

شدند. در نهایت با استفاده از هماتوکریت خون، درصد اسپرم به پلاسمای سمینال اندازه‌گیری شد (Butts و همکاران، ۲۰۱۰). محاسبه تراکم اسپرم با روش استاندارد هموسیتومتری صورت گرفت. در این روش اسپرم به نسبت ۱:۱۰۰۰ توسط سرم فیزیولوژی ۰/۷ درصد رقیق گردید و با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست زمینه سیاه با درشت‌نمایی ۱۰ اندازه‌گیری شد و با واحد $\times 10^6$ در هر میلی‌لیتر سمن محاسبه شد (Alavi و همکاران، ۲۰۰۶). با استفاده از سرنگ‌های ۱ میلی‌لیتر انسولین، حجم اسپرم‌دهی ماهیان اندازه‌گیری شد (Tiersch و همکاران، ۲۰۰۱). پس از توزین گناد و کبد ماهیان، شاخص‌های گنادی و کبدی به صورت درصد و با استفاده از فرمول‌های زیر برای ماهیان نر و ماده به صورت جداگانه محاسبه گردید:

= شاخص گنادی (گنادوسوماتیک، Gonadosomatic Index)

$$100 \times \text{وزن بدن} \div \text{وزن گناد}$$

$100 \times \text{وزن بدن} \div \text{وزن کبد} =$ شاخص کبدی (Hepatosomatic Index)

شیوه نمونه‌برداری به صورت تصادفی و در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. داده‌های هورمون‌های جنسی، طول دوره تحرک اسپرم، مایع اسپرمی، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، حجم اسپرم و شاخص‌های گنادی و کبدی توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) به کمک آزمون دانن (Dunnett test) در سطح ۹۵ درصد ($\alpha=0/05$)، با استفاده از نرم‌افزار SPSS با یکدیگر مقایسه شدند.

نتیجه

شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب از جمله دما، میزان اکسیژن و pH به ترتیب در محدوده $21/7 \pm 0/14$ درجه سانتی‌گراد، $0/5 \pm 0/5$ میلی‌گرم در لیتر و $8 \pm 0/8$ قرار داشتند. با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۱، پس از دو ماه میزان هورمون تستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول در تیمارهای مختلف، سرم خون ماهی قرمز تحت تاثیر سم دورسبان به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($P < 0/05$).

هورمون تستوسترون از کیت الیزایی تک‌باندی (Monobind) و روش رقابتی به کمک آنتی‌بادی مونوکلونال استفاده شد و بادستگاه الیزا ریدر و سنجش جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر و رسم منحنی‌های مخصوص مقادیر هورمون هاسنجیده شد (Guzman و همکاران، ۲۰۰۸). هم‌چنین هورمون ۱۷-بتا استرادیول (Beta-Estradiol) توسط کیت تک‌باندی به روش الیزا اندازه‌گیری شد و در طول موج ۴۵۰ نانومتر و رسم منحنی‌های کالیبراسیون سنجش انجام شد (Guzman و همکاران، ۲۰۰۸). در هر سم از تعداد ۵ عدد ماهی مولد نر جهت تعیین پارامترهای اسپرم‌شناختی نمونه‌برداری صورت گرفت. برای جمع‌آوری اسپرم، پس از خشک کردن ناحیه شکمی مولدین نر توسط پارچه خشک، با فشار ملایم به ناحیه شکمی، اسپرم توسط لوله‌های موئینه میکروهوماتوکریت (۷۷ میلی‌متر طول، ۱/۱ تا ۱/۲ میلی‌متر قطر داخلی و ۱/۶ میلی‌متر قطر خارجی) جمع‌آوری گردید. اسپرم‌های حاصله روی یخ و یا داخل یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) تا زمان آنالیز، نگهداری شدند (Perchec و همکاران، ۱۹۹۵). برای شروع حرکت، اسپرم با محلول فعال‌کننده (آب مقطر) به نسبت ۱:۲۰۰۰ رقیق شد و پارامترهای حرکتی اسپرم بلافاصله (با تاخیر زمانی کم‌تر از ۷ ثانیه) بعد از شروع فعالیت اسپرم تا زمانی که ۱۰٪ اسپرم‌ها غیرمتحرک شدند، توسط میکروسکوپ فاز کنتراست، ثبت و روی صفحه مانیتور نشان داده شد. مشاهدات در دمای اتاق (۲۰-۲۲ سانتی‌گراد) صورت گرفت (Turner و Montgomerie، ۲۰۰۲). در ادامه با استفاده از نرم‌افزار Adobe Premeier هر ثانیه به ۶ فریم تبدیل شد و با مقایسه دو فریم متوالی، درصد اسپرم‌های متحرک محاسبه شد. برای اندازه‌گیری مدت زمان حرکت اسپرم، زمان تحرک از لحظه فعال شدن تا زمانی که همه اسپرم‌ها از حرکت باز ایستادند اندازه‌گیری گردید و مشاهدات در دمای اتاق (۲۰-۲۲ سانتی‌گراد) صورت گرفت (Turner و Montgomerie، ۲۰۰۲). برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، سمن جمع‌آوری شده از هر ماهی درون ۳ عدد لوله موئینه میکروهوماتوکریت قرار داده شد. در حدود ۷۰ درصد هر لوله موئینه با اسپرم پر و یکی از انتهای لوله توسط خمیر هماتوکریت مسدود گردید. سپس لوله‌های موئینه توسط دستگاه سانتریفوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۸ دقیقه، سانتریفوژ

جدول ۱: مقایسه داده‌های (میانگین \pm انحراف معیار) هورمون تستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول (نانوگرم بر میلی‌لیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز

تیمار	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	متغیر	شاهد
$16/667 \pm 1/528^b$	$17/000 \pm 1/000^b$	$19/333 \pm 1/528^{ab}$	$20/333 \pm 1/528^a$	تستوسترون (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	$20/333 \pm 1/528^a$
$2/067 \pm 0/253^b$	$2/100 \pm 0/100^b$	$2/300 \pm 0/200^b$	$2/700 \pm 0/200^a$	۱۷-بتا استرادیول (گرم/دسی‌لیتر)	$2/700 \pm 0/200^a$

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است.

تیمارهایی که سم دریافت کردند نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). هم‌چنین با توجه به نتایج جدول ۱، میزان

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۲، حجم اسپرم‌دهی، طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم، تراکم اسپرم، اسپرماتوکریت در

هیپاتوسوماتیک در تیمارهای محتوی سم نسبت به گروه شاهد نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$).

شاخص گنادوسوماتیک در تیمارهایی که سم دریافت کردند نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). میزان

جدول ۲: آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌های پارامترهای کیفیت تولیدات جنسی ماهی قرمز تحت تاثیر سم دورسبان

متغیر	شاهد	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
حجم اسپرم (سی‌سی)	۰/۴۴۰±۰/۰۵۳ ^a	۰/۳۸۰±۰/۰۲۰ ^b	۰/۲۹۷±۰/۰۰۶ ^{bc}	۰/۳۲۳±۰/۰۲۵ ^c
طول دوره تحرک (متر)	۱۱۰/۶۷۰±۱/۵۲۸ ^a	۹۰/۰۰۰±۲/۰۰۰ ^b	۷۸/۶۶۷±۸/۰۸۳ ^c	۷۰/۰۰۰±۲/۰۰۰ ^d
درصد تحرک (/)	۹۱/۳۳۳±۱/۱۵۵ ^a	۸۵/۰۰۰±۴/۳۵۹ ^b	۷۴/۰۰۰±۱/۰۰۰ ^c	۷۰/۶۶۷±۲/۰۸۳ ^c
تراکم اسپرم (×۱۰ ^۹)	۵۲/۶۶۷±۲/۵۱۷ ^a	۴۹/۰۰۰±۲/۰۰۰ ^a	۴۲/۶۶۷±۲/۵۱۷ ^b	۴۲/۰۰۰±۱/۰۰۰ ^b
اسپرماتوکریت (/)	۵۱/۶۶۷±۱/۵۲۸ ^a	۴۸/۰۰۰±۲/۰۰۰ ^b	۴۱/۳۳۳±۱/۵۲۸ ^c	۴۰/۰۰۰±۱/۰۰۰ ^c

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد. داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده است.

جدول ۳: آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌های پارامترهای گنادی ماهی قرمز تحت تاثیر سم دورسبان

متغیر	شاهد	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
GSI ماهی نر (/)	۴/۱۶۷±۰/۷۶۴ ^a	۳/۴۰۰±۰/۴۵۸ ^{ab}	۲/۸۳۳±۰/۳۰۶ ^b	۲/۷۳۳±۰/۲۵۲ ^b
HSI (/)	۱/۲۹۳±۰/۰۴۰ ^c	۱/۳۹۷±۰/۰۲۵ ^b	۱/۴۵۰±۰/۰۳۰ ^{ab}	۱/۴۶۰±۰/۰۲۶ ^a

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد. داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده است.

بحث

(De Vlaming و همکاران، ۲۰۱۱). در گونه‌های واجد تکامل گنادی غیرهم‌زمان، بررسی شاخص گنادوسوماتیک به‌تنهایی نمی‌تواند معیار مناسبی جهت تعیین مراحل رسیدگی گناد باشد. بنابراین سنجش استروئیدهای جنسی به‌همراه شاخص گنادوسوماتیک می‌تواند در بررسی سیکل تولیدمثلی دقیق‌تر باشد. سطوح هورمون تستوسترون در سرم خون ماهیان، با توجه به فصل و مراحل رسیدگی جنسی، متفاوت است. هم‌چنین ارتباط معنی‌داری بین مکانسیم تولید اسپرم و سطوح آندروژن‌ها برقرار است (Orlando, ۲۰۰۳).

در مطالعه حاضر میزان هورمون تستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول در تیمارهای مختلف، سرم خون ماهی قرمز تحت تاثیر سم دورسبان به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت که با مطالعات Eman و همکاران (۲۰۱۱) هم‌خوانی دارد، که گزارش کردند در ماهیان تیلاپیا که تحت تماس با مالاتیون بودند میزان تستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول در نرها نسبت به شاهد کاهش می‌یابد. در ماهی قرمز، تستوسترون علاوه بر پیش‌ساز برخی از هورمون‌های استروئیدی، باعث آزادسازی هورمون‌های گنادوتروپین از هیپوفیز از طریق افزایش پاسخ هیپوفیز نسبت به تحریک هورمون تحریک‌کننده گنادوتروپین از هیپوتالاموس می‌شود. هورمون تستوسترون نقش فیزیولوژیکی مهمی در سیکل تولیدمثلی ماهی قرمز بر عهده دارد و تقریباً در تمامی مراحل رشد بیضه سنتز می‌شود. به‌رحال هورمون تستوسترون، علاوه بر دخیل بودن در روند اسپرماتوزن، ممکن است در سایر فعالیت‌های فیزیولوژیکی نیز موثر باشد (Fitzpatrick و همکاران،

تغییرات سطوح هورمون‌های استروئیدی جنسی (تستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول) ماهی قرمز تحت تاثیر سم دورسبان ترکیبات شیمیایی با کاهش ترشح، افزایش متابولیسم یا مداخله در عملکرد، باعث اختلال در سیستم هورمونی بدن می‌شوند. بنابراین اطلاع از مکانسیم سمیت هورمون‌ها می‌تواند به تعیین نشانگرهای زیستی اختصاصی آلاینده‌های مختلف کمک کند. از این نشانگرهای زیستی می‌توان در برنامه‌های ارزیابی زیست‌محیطی و سلامت جمعیت ماهیان در محیط‌های آلوده استفاده کرد (Hinton و Di Giulio, ۲۰۰۸). هورمون‌های استروئیدی تغییر جنسیت، بلوغ، تخم‌ریزی و رفتار تولیدمثلی را در ماهیان کنترل می‌کنند. این هورمون‌ها در طی مرحله گامتوزن توسط گناد سنتز می‌شود.

آلاینده‌های شیمیایی با سرکوب تولید و رهاسازی هورمون‌ها از طریق محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد از یک‌سو و تغییر متابولیسم هورمون‌ها توسط کبد از سوی دیگر باعث اختلال در هورمون‌های جنسی و نهایتاً تغییر ساختار و قابلیت تولیدمثلی آبزیان می‌شوند (Teles و همکاران، ۲۰۰۳)، که از آن می‌توان به‌عنوان نشانگرهای زیستی تعیین آلاینده‌ها استفاده نمود (Hedayati و Hosseini, ۲۰۱۲). هورمون‌های استروئیدی جنسی به‌عنوان یک شاخص مهم در فرایند اسپرماتوزن، از مرحله اسپرماتوگونی تا اسپرم فعالیت دارند. در واقع سنجش استروئیدهای جنسی و شاخص گنادوسوماتیک در بسیاری از گونه‌ها به‌عنوان کلید شناسایی مراحل تکامل گناد مطرح هستند



- demasculinization and reduced sperm count in adult males. *Aquatic Toxicology*. Vol. 56, pp: 227-239.
۲. **Bernabo, I.; Gallo, L.; Sperone, E.; Tripepi, S. and Brunelli, E., 2011.** Survival, development, and gonadal differentiation in *Rana dalmatina* chronically exposed to chlorpyrifos. *J Exp Zool a Ecol Genet Physiol*. Vol. 315, No. 5, pp: 314-327.
 ۳. **Burrati, F.M.; De Angelis, G.; Ricceri, L.; Venerosi, A.; Calamanderi, G. and Testai, E., 2011.** Foetal and neonatal exposure to chlorpyrifos: biochemical and metabolic alterations in the mouse liver at different developmental stages. *Toxicology*. Vol. 280, No. 3, pp: 98-108.
 ۴. **Butts, I.A.E.; Litvak, M.K. and Trippel, E.A., 2010.** Seasonal variations in seminal plasma and sperm characteristics of wild-caught and cultivated Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Theriogenology*. Vol. 73, pp: 873-885.
 ۵. **Davey, R.B.; Meisch, M.V. and Carter, F.L., 1976.** Toxicity of five ricefield pesticides to the mosquitofish, *Gambusia affinis*, and green sunfish, *Lepomis cyanellus*, under laboratory and field condition in Arkansas. *Environmental Entomology*. Vol. 5, pp: 1053-1056.
 ۶. **Di Giulio, R.T. and Hinton, D.E., 2008.** The Toxicology of Fishes. Taylor and Francis Group. 1101 p.
 ۷. **Fadakar, F.; Majazi Amiri, B.; Mirvaghefi, A.R. and Nematollahi, M.A., 2011.** In vitro effects of diazinon on male reproductive tissue and sperm motility of Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*). *Research Journal of Environmental Toxicology*. Vol. 5, No. 2, pp: 108-116.
 ۸. **Fitzpatrick, M.S.; Van Der Kraak, G. and Schreck, C.B., 1986.** Profiles of plasma sex steroids and gonadotropin in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during final maturation. *General and Comparative Endocrinology*. Vol. 62, pp: 437-451.
 ۹. **Guzman, J.M.; Norberg, B.; Ramos, J.; Mylonas, C.C. and Manano, E.L., 2008.** Vitellogenin, steroid plasma levels and spawning performance of cultured female Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *General and Comparative Endocrinology*. Vol. 156, pp: 285-297.
 ۱۰. **Hedayati, A. and Arsham A., 2012.** Endocrine Disruption Induced by Sub-Lethal Mercury Chloride on Hormone Indices of Seabream. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. Vol. 4, No. 2, pp: 125-130.
 ۱۱. **Hedayati, A. and Hosseini, A.R., 2012.** Endocrine Disruptions Induced by artificial induction of Mercury on Seabream. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. Vol. 4, No. 2, pp: 125-130.
 ۱۲. **Eman, A.; Abd El, G.; Mohamed, M.M.; Kandiel, A. and Abbass, A., 2011.** Impact of some organophosphorus insecticides on growth performance, fecundity and semen characteristics in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Lucrari Stiintifice seria Medicina Veterinara*. Vol. 54, pp: 150-160.
 ۱۳. **Jorsaraei, S.G.; Beiki, A.A.; Yousef Nia Pasha, Y.R. and Alizade Navaei, R., 2005.** The in vitro effects of hinosan and diazinon on human sperm parameters. *J Babol Univ Med Sci*. Vol. 7, No. 2, pp: 4-30 (in persian).
 ۱۴. **Joshi, S.C.; Mathur, R. and Gulati, N., 2007.** Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicol Ind Health*. Vol. 23, No. 7, pp: 439-44.
 ۱۵. **Matthiessen, P., 2003.** Endocrine disruption in marine fish. *Pure and Applied Chemistry*. Vol. 75, pp: 2249-2261.
 ۱۶. **Orlando, E.F.; Binczik, G.A.; Thomas, P. and Guillette, J.L.J., 2003.** Reproductive seasonality of the male Florida gar (*Lepisosteus platyrhincus*). *General and Comparative Endocrinology*. Vol. 131, pp: 356-371.
- ۱۹۸۶). به علاوه سموم خاصیت آنتی آندروژنی دارند که سبب بهم ریختن سیستم درون ریز می شوند و در آنزیم های آروماتاز اختلال ایجاد می کنند و سطح هورمون های جنسی را کاهش می دهند (Eman و همکاران، ۲۰۱۱).
- تغییرات پارامترهای اسپرم شناسی و کیفیت تولیدات جنسی تحت تاثیر سم دورسبان تولیدمثل ماهی شامل دو دسته شاخص های بلندمدت و کوتاه مدت است (Hedayati و Arsham، ۲۰۱۲). شاخص های بلندمدت شامل بررسی وضعیت گناد و گامت زایی (Gametogenesis) و شاخص های کوتاه مدت بررسی استروئیدزایی (Steroidogenesis) و فعالیت هیپوفیز است (Matthiessen، ۲۰۰۳). در مطالعه حاضر کیفیت تولیدات جنسی در ماهی قرمز تحت تاثیر غلظت زیر حد کشندگی سم دورسبان قرار گرفت و مقدار اسپرم در گروه های تحت تاثیر سم دورسبان کاهش پیدا کرد که با مطالعه انجام شده توسط Bayley و همکاران (۲۰۰۲) هم خوانی داشت. این محققان آنتی آندروژن مختلف را روی ماهی گویی بررسی کرده و بیان کردند که در این آزمایش بر اثر تماس با آفت کش ها مقدار اسپرم کاهش می یابد.
- هم چنین Fadakar و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده کردند که با افزایش غلظت دیازینون، اثرات معکوس این سم روی گنادها مشاهده می شود. این محققین بیان کردند که با افزایش غلظت دیازینون تعداد اسپرماتوسیت و اسپرماتید کاهش می یابد. هم چنین درصد اسپرماتوزوا متحرک و دوره تحرک به طور معنی داری کاهش می یابد. هم چنین Eman و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که در ماهیان تیلاپیا که در معرض تماس با مالاتیون بودند میزان لقاح و تحرک اسپرم کاهش یافت. هم چنین مشاهده کردند که غیر نرمال بودن اسپرم در مقایسه با شاهد بسیار بیش تر است. هورمون های استروئیدی تغییر جنسیت، بلوغ، تخم ریزی و رفتار تولیدمثل را در ماهیان کنترل می کنند. این هورمون ها در طی مرحله گامت زایی توسط گناد سنتز می شود.
- آلاینده های شیمیایی مانند سم دورسبان با تاثیر منفی روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد باعث می گردند تا کیفیت تولیدات جنسی در ماهیان کاهش یابد (Hedayati و Hosseini، ۲۰۱۲). در مجموع سمیت دورسبان در محیط های آبی باعث تغییرات معنی دار روی استروئیدهای جنسی و کیفیت گناد نر شد. به گونه ای که با افزایش میزان سمیت میزان استروئیدهای جنسی و کیفیت گنادی کاهش یافت و بیشترین کاهش مربوط به تیمار ۰/۷۵ بود.

منابع

1. **Bayley, M.; Junge, M. and Baatrup, E., 2002.** Exposure of juvenile guppies to three antiandrogens causes



۱۷. **Singh, H., 1993.** Effect of Malathion on sex reversal and steroidogenesis in *Monopetrus*. *Albus Marine Environmental Research*. Vol. 35, pp: 159-164.
۱۸. **Singh, P.B.; Singh, V. and Nayak, P.K., 2008.** Pesticide residues and reproductive in different vertebrate from north India. *Food Chem Toxicol*. Vol. 46, No. 7, pp: 2533-2539.
۱۹. **Teles, M.; Pacheco, M. and Santos, M.A., 2003.** *Anguilla anguilla* L. liver EROD, GST, erythrocytic nuclear abnormalities and endocrine responses to naphthalene and β -naphthoflavone. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 55, pp: 98-107.
۲۰. **Tiersch, T.R., 2001.** Cryopreservation in aquarium fishes. *Marine Biotechnology*. Vol. 3, pp: 212-223.
۲۱. **Turner, E. and Montgomerie, R., 2002.** Ovarian fluid enhances sperm movement in Arctic charr. *Journal of Fish Biology*. Vol. 63, pp: 1570-1579.

