Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره ششم، شماره سوم، پاییز ۹۷
http://jair.gonbad.ac.ir

# اثرات سطوح کشنده و تحت کشنده مالاتیون در ماهی قرمز (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758): مطالعات خون‌شناسی، بافت شناسی کبد و آنزیم های کبدی

**زینب حنایی کاشانی*[۱]، محمدرضا ایمانپور[۲]، وحید زادمجید[۳]، محمد مازندرانی[۴]**

[۱]دانش‌آموخته دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[۲]استاد، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[۳]استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
[۴]دانشیار، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۵/۸/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۸

**چکیده**

**در بررسی حاضر اثرات مواجهه کشنده و تحت کشنده سم مالاتیون در ماهی‌قرمز نر مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور در ابتدا ماهیان با سطوح مختلف غلظت کشنده مالاتیون (۱۵ تا ۲۵ میلی‌گرم/ لیتر) مورد مواجهه قرار گرفتند و مقدار $LC_{50}$ مالاتیون برابر با ۲۳/۵ میلی‌گرم برای این ماهی محاسبه گردید. سپس ماهیان با غلظت های تحت کشنده $LC_{50}$ ۰/۱ (۰/۲۳ میلی‌گرم در لیتر) و $LC_{50}$ ۰/۰۱ (۰/۰۲۳ میلی‌گرم در لیتر) به‌مدت ۷ ماه مورد مواجهه قرار گرفتند. بعد از اتمام آزمایش تأثیر این سم بر میزان هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH)، متوسط حجم گلبولی (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC)، آلانین ترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارات آمینو ترانسفراز (AST)، تستسترون، پروتئین کل و گلوکز خون بررسی شد. درصد هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH)، متوسط حجم گلبولی (MCV) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) در بین گروه‌های آزمایشی معنی‌دار بود به‌طوری‌که ماهیانی که تحت غلظت $LC_{50}$ ۰/۱ از سم مالاتیون بودند کمترین میزان هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، MCH و MCHC نسبت به تیمار شاهد داشتند. کمترین میزان آلانین آمینوترانسفراز، پروتئین کل، تستسترون و گلوکز در تیمار $LC_{50}$ ۰/۱ مالاتیون مشاهده شد و حداقل میزان آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینوترانسفراز در گروه شاهد به‌دست آمد. در بررسی‌های بافت شناسی عوارضی از قبیل دژنره شدن سلول‌های هپاتوسیت، واکوئلیزاسیون گسترده سلول‌های هپاتوسیت کبد، تجمع ملانوماکروفاژها و نکروز موضعی کبد در ماهیانی که با غلظت $LC_{50}$ ۰/۱ مواجهه داده شده بودند مشاهده گردید در عین حال در ماهیانی که با غلظت $LC_{50}$ ۰/۰۱ مواجه شده بودند عوارض کبدی ملایم‌تری ثبت گردید.**

***واژه‌های کلیدی*: *C. auratus*، مالاتیون، پارامترهای خون شناسی، بافت شناسی**

*نویسنده مسئول: z.h.kashani@gmail.com



www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

**مقدمه**

آفت‌کش‌ها در فصل خشک که ظرفیت رقیق‌سازی آبی پایین است یا خطر غلظت‌های بالای مواد شیمیایی در حال افزایش است سبب مشکلات زیست محیطی جدی می‌شوند. علاوه بر این، فصول خشک، دوره حیاتی مهمی برای بعضی از حیوانات به‌خصوص ماهیان و پرندگان است (Adedej *et al.*, 2009). استفاده از سموم آفت‌کش تا زمانی که شیوه‌های مبارزه بیولوژیک با آفات گیاهی مرسوم نشود امری اجتناب ناپذیر است، بنابراین توصیه بر این است که حداقل از آفت‌کش‌هایی با درجه سمیت و نیمه عمر کمتر استفاده شود. اکوسیستم‌های آبی به‌عنوان بزرگ‌ترین بخش محیط طبیعی همواره با تهدیدهایی نظیر محدودیت ژنتیکی و تنوع زیستی مواجه است. اکوسیستم‌های آبی به‌عنوان محیط هدف برای سموم آفت‌کش مد نظر نمی‌باشد (Venkateswara Rao, 2006). داده‌های مربوط به سمیت ناشی از استعمال آفت‌کش‌ها و تأثیر آن بر موجودات غیر هدف مثل ماهی به‌عنوان مبنا و پایه‌ای برای سنجش و تعیین خطرات سم‌شناسی اکولوژیکی (Ecotoxicology) آفت‌کش‌ها بر سیستم‌های آبی است (Gangolli, 1999).

مالاتیون یکی از خطرناک‌ترین سموم ارگانوفسفره‌ای است که به‌عنوان حشره‌کش، جهت مبارزه با آفات نباتی، مورد استفاده قرار گرفته و مشکلاتی برای محیط زیست در سرتاسر دنیا بوجود آورده است (Elbadawi and Ramadan, 2006). مالاتیون در آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد به میزان ۱۴۵ میلی‌گرم در لیتر حل شده و در حلال‌هایی همچون الکل، استر، کتون‌ها و اتر نیز به سهولت حل می‌گردد. مالاتیون عمدتاً دارای اثرات سمی است (Edwards, 2006) و تأثیرات مخربی بر گونه‌های مختلف ماهیان بر جای می‌گذارد. ویژگی‌های خونی و تغییرات پروفیل شیمیایی خون، یکی از مهم‌ترین شاخص‌های زیستی عمومی و نشانگر تغییر در متابولیسم و هموستئازی بدن ماهی است که به‌طور عمده ناشی از تأثیر آلاینده‌هاست که در پژوهش‌های سم‌شناسی آزمایشگاهی از آن‌ها استفاده می‌شود (Amini and Oryan, 2002).

خون به‌عنوان یک بافت سیال، یکی از مهم‌ترین مایعات زیستی بدن است که تحت تأثیر حالت‌های مختلف، ترکیبات آن دستخوش تغییر و نوسان می‌شود (Amini and Oryan, 2002). آفت‌کش در آب نوعی استرس شیمیایی محسوب می‌شود و بر شاخص‌های خون شناسی نظیر میزان هماتوکریت اثرگذار است.

ماهی قرمز از لحاظ شرایط زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) است (Vosoughi and Mostajir, 1993). باتوجه به اهمیت این ماهی که به‌طور گسترده در مطالعات تولید مثلی و بررسی‌های هورمونی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bjerselius *et al.*, 2001). با توجه به ورود گسترده این سموم به محیط‌های آبی محل زیست این ماهیان، امروزه پژوهش‌های گسترده‌ای در مورد این سموم و افزایش تداخل آن‌ها با آبزیان به ویژه ماهیان صورت گرفته است. باتوجه به شباهت، خصوصیات و عملکرد این گونه با کپور معمولی به‌عنوان گونه‌ای با اهمیت اقتصادی زیاد، این پژوهش انجام گرفت تا مشخص شود



www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

که چه میزان و چه غلظتی از این سم برای این ماهیان خطرناک است تا بتوان یک الگوی کلی برای ارزیابی سمیت این مواد بر تغییرات خونی و بافت شناسی در کپورماهیان در نظر گرفت.

## مواد و روش‌ها

**تهیه بچه‌ماهی و سازگاری ماهیان با شرایط آزمایش:** تعداد ۲۰۰ عدد ماهی قرمز جهت انجام مراحل آزمایش از مزرعه پرورش ماهی واقع در رشت تهیه و در اردیبهشت ماه ۱۳۹۴ به مرکز تحقیقات آبزی پروری شهید ناصر فضلی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شد. این تحقیق به‌مدت ۷ ماه از اردیبهشت تا آذر انجام شد. مولدین نر ماهی قرمز پس از صید برای سازگاری با محیط آزمایش به‌مدت ۱ هفته در مخازن فایبر گلاس نگهداری شدند. هریک از ونیروها به‌صورت جداگانه به سیستم هوادهی مجهز شدند تا سطح اکسیژن آب در سطح استاندارد قرارگیرد. پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب از جمله دما، میزان اکسیژن و pH به‌ترتیب در محدوده ۰/۱۴±۲۱/۷ درجه سانتی‌گراد، ۰/۵±۶ میلی‌گرم بر لیتر و ۰/۰۸±۸ قرار داشتند. طی این مدت ماهیان با جیره غذایی بیومار ( Biomar Co., France) روزانه ۲ بار تغذیه شدند.

**تعیین غلظت میانه و طرح آزمایش:** به‌منظور یافتن محدوده غلظت کشندگی سم مالاتیون روی مولدین نر ماهی قرمز محدوده غلظت‌های ۱۵، ۱۷، ۲۰، ۲۳، ۲۴ و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر در نظر گرفته شد. در هر تیمار ۱۰ ماهی قرار گرفت. در دوره آزمایش غذاذهی قطع شد (Di Giulio and Hinton, 2008). در طی آزمایش، شرایط فیزیکی و شیمیایی آب کنترل و تمام شرایط در طی دوره آزمایش یکسان نگهداری شد تا تنها عامل متغیر، غلظت‌های مختلف سمیت باشد (Di Giulio and Hinton, 2008). تمامی آکواریوم‌ها به گونه‌ای که حداقل آشفتگی در آن‌ها ایجاد شود هوادهی می‌شدند. تمامی ماهیان به‌مدت ۹۶ ساعت در غلظت‌های مورد نظر نگهداری و میزان تلفات در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه شد ( Hotos and Vlahos, 1998). مقادیر $LC_{50}$ به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار Probit برابر ۲۳/۵ میلی‌گرم در لیترسم مالاتیون بود. پس از تعیین میزان $LC_{50}$، تیماربندی نهایی بر اساس غلظت‌های $LC_{50}$ ۰/۱ (۲/۳۵) و $LC_{50}$ ۰/۰۱ ( ۰/۲۳۵) مالاتیون و تیمار شاهد (بدون سم) انجام شد و ماهیان به‌مدت ۷ ماه در معرض این غلظت از سم مالاتیون قرار گرفتند.

**بررسی‌های خون‌شناسی:** بعد از طی دوره قرارگرفتن ماهیان در معرض سم مالاتیون، مولدین با عصاره گل میخک بیهوش شدند و خون‌گیری از ماهیان با استفاده از سرنگ‌های هپارینه ۲ سی‌سی انجام گرفت. برای اندازه‌گیری هماتوکریت، لوله‌های مویینه حاوی خون، به‌مدت ۱۰ دقیقه و در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس با استفاده از میکرو هماتوکریت خوان، میزان هماتوکریت نمونه‌ها اندازه‌گیری شد



www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

(Amini and Oryan, 2002). همچنین جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی خون، پلاسما خون با دستگاه سانتریفیوز در دور ۸۰۰۰ به‌مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ گردید. غلظت گلوکز، پروتئین کل با استفاده از کیت‌های کمی مخصوص اندازه‌گیری گلوکز و پروتئین (شرکت پیشتاز طب) و بر اساس روش‌های فتومتریک و برای تعیین پروتئین کل از دستگاه الکتروفتومتر استفاده شد. هورمون تستسترون در این مطالعه به روش رادیو ایمنسی (RIA) با استفاده از کیت اسپکتریا (شرکت Immunotech، ساخت چک) اندازه‌گیری شد (Simmons, 1997). سنجش آنزیم آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز به روش رنگ‌سنجی سینتیک و آلکالین فسفاتاز به روش آنزیماتیک سینتیک صورت گرفت (Simmons, 1997).

**بررسی‌های بافت شناسی:** به‌منظور بررسی‌های بافت شناسی، اندام کبد ماهیان مورد آزمایش بلافاصله پس از مرگ جدا شد و در محلول فیکساتور بوئن تثبیت گردید. نمونه‌ها پس از ۲۴ ساعت، از محلول بوئن خارج و برای نگهداری در الکل قرار گرفت. برای تهیه اسلایدهای بافتی، نمونه‌ها پس از مراحل معمول بافت‌شناسی که عبارتند از آب‌گیری، شفاف‌سازی پارافینه شدن، قالب‌گیری، برش‌های بافتی ۰/۳میکرونی با دستگاه میکروتوم آماده شد و روی لام، مونته گردیدند. اسلایدها با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و نصب لامل روی لام حاوی بافت آماده شد. اسلایدهای بافتی با کمک میکروسکوپ نوری متصل به مانیتور و مجهز به دوربین عکاسی مورد بررسی قرار گرفتند (Afzali *et al*., 2010).

## نتایج

**میزان تلفات در مواجهه با غلظت‌های مختلف سم**: پس از انجام آزمایش‌های ابتدایی به‌منظور یافتن محدوده کشندگی سم مالاتیون روی ماهی قرمز، محدوده غلظت‌های ۱۷، ۲۰، ۲۳ و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر (ppm) به‌عنوان محدوده کشندگی مالاتیون در زمان‌های ۹۶، ۷۲، ۴۸، ۲۴ ساعت روی ماهیان قرمز تعیین شد. بر اساس نتایج حاصل از این بررسی، میزان تلفات در ۹۶ ساعت در تیمارهای ۲۰، ۲۳ و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب برابر ۴۰، ۲۰ و ۹۰ درصد ماهی در هر تیمار بودند.

**نتایج خون‌شناسی:** مطابق نتایج در جدول ۱، با افزایش غلظت سم مالاتیون، میزان هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون، MCH و MCHC نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری که ماهیانی که تحت تأثیر غلظت $LC_{50}$ ۰/۱ مالاتیون قرار داشتند کمترین میزان هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون، MCH و MCHC را داشتند.



www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

**جدول ۱- نتایج حاصل از آنالیز خون ماهی مولد قرمز نر (*C. auratus*) در تیمارهای مختلف سم مالاتیون در پایان آزمایش (انحراف معیار ± میانگین).**

| تیمار / پارامتر | مالاتیون ($LC_{50}$/۰۱) | مالاتیون ($LC_{50}$/۰۱) | شاهد (بدون سم) |
|---|---|---|---|
| هماتوکریت (٪) | ۳۱/۰۰$^{c}$±۱/۰۰ | ۳۵/۳۴$^{b}$±۰/۶۰ | ۴۶/۰۰$^{a}$±۱/۰۰ |
| هموگلوبین (٪) | ۳/۱۶$^{c}$±۰/۷۶ | ۸/۳۳$^{b}$±۰/۵۷ | ۱۴/۵$^{a}$±۰/۸۶ |
| گلبول قرمز (تعداد $۱۰^{۵}$/میلی متر مکعب) | ۸$^{c}$±۰/۵۷ | ۱۰$^{b}$±۱/۱۵ | ۱۲/۳ $^{a}$±۰/۵۹ |
| گلبول سفید (تعداد $۱۰^{۴}$/میلی متر مکعب) | ۱/۹۲$^{c}$±۱/۵۳ | ۱/۹۸$^{b}$±۰/۵۸ | ۳/۱۵$^{a}$±۱/۱۵ |
| MCV ($۱۰^{۲}$فمتولیتر) | ۳۸۷$^{a}$±۷/۲ | ۳۵۳$^{b}$±۳/۳ | ۳۷۳$^{a,b}$±۸/۱ |
| MCH (پیکوگرم) | ۳۹/۵۸$^{c}$±۹/۵ | ۸۳/۳۳$^{b}$±۵/۷ | ۱۱۷/۸۹$^{a}$±۴/۰۶ |
| MCHC (٪) | ۱۰/۱۷$^{c}$±۲/۱۲ | ۲۳/۰۷$^{b}$±۸/۵۳ | ۳۱/۵۵$^{a}$±۲/۵۲ |

حروف انگلیسی غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) می‌باشد.

پس از در معرض قرار گرفتن مولدین در برابر سم، به‌منظور مطالعات بیوشیمیایی، سرم خون را جدا نموده و مقدار آنزیم‌های متابولیکی شامل آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، تستسترون، پروتئین کل و گلوکز خون اندازه‌گیری شد که در جدول ۲ بیان شده است. بر اساس نتایج جدول ۲، پارامترهای بیوشیمیایی خون در میان تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری داشتند ($P<۰/۰۵$). نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت سم مالاتیون، میزان آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسپارات آمینوترانسفراز به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری که ماهیانی که در مواجهه با غلظت $LC_{50}$ ۰/۱ از مالاتیون بودند بالاترین میزان را نسبت به گروه شاهد داشتند. میزان گلوکز، پروتئین کل و تستسترون میان تیمارها معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) و این پارامترها در گروه شاهد نسبت به سایر تیمارها افزایش یافت.

**جدول ۲- نتایج حاصل از آنالیز بیوشیمیایی خون ماهی مولد قرمز نر (*C. auratus*) در تیمارهای مختلف سم مالاتیون در پایان آزمایش (انحراف معیار ± میانگین)**

| تیمار / پارامتر | مالاتیون ($LC_{50}$/۰۱) | مالاتیون ($LC_{50}$/۰۱) | شاهد |
|---|---|---|---|
| آلکالین فسفاتاز (ALP) | ۳۸۸/۳۳$^{a}$±۰/۵۸ | ۱۵۶/۳۳$^{b}$±۰/۵۸ | ۱۱۲/۳۳$^{c}$±۰/۵۸ |
| آسپارات آمینوترانسفراز (AST) | ۱۱۳۶/۳$^{a}$±۰/۵۰ | ۱۱۲۸/۵$^{b}$±۰/۵۰ | ۹۰۸/۳۳$^{c}$±۰/۵۱ |
| آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) | ۱۲/۳۴$^{a}$±۰/۵۰ | ۷/۱۴$^{b}$±۰/۵۰ | ۲/۶۴$^{c}$±۰/۵۰ |
| تستسترون | ۰/۱۰$^{c}$±۰/۰۱ | ۰/۸۱$^{b}$±۰/۰۲ | ۳/۴۶$^{a}$±۰/۰۵ |
| توتال پروتئین (TP) | ۲/۸۸$^{c}$±۰/۰۰۵ | ۲/۹۱$^{b}$±۰/۰۰۵ | ۳/۱۸$^{a}$±۰/۰۰۵ |
| گلوکز | ۲۳/۶$^{c}$±۰/۵۷ | ۲۸/۳۴$^{b}$±۰/۵۷ | ۴۰/۳۴$^{a}$±۰/۵۷ |

حروف انگلیسی غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) می‌باشد.



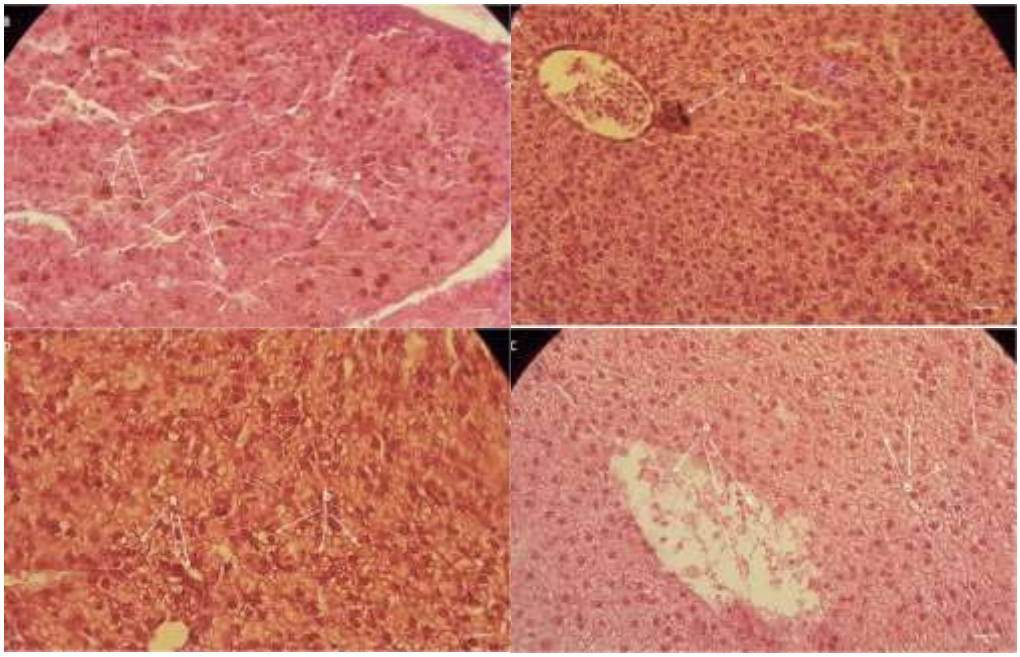
www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

**بررسی‌های بافت‌شناسی:** در بررسی‌های بافت‌شناسی کبد ماهیان مولد نر قرمز که در معرض غلظت ۰/۱ $LC_{50}$ از سم مالاتیون قرار داشتند عوارضی از قبیل دژنره شدن سلول‌های هپاتوسیت، واکوئلیزاسیون گسترده سلول‌های هپاتوسیت کبد، تجمع ملانوماکروفاژها و نکروز موضعی در کبد ماهیانی که از سم مالاتیون با غلظت ۰/۱ $LC_{50}$ استفاده کردند، مشاهده شد. همچنین ماهیانی که تحت تأثیر غلظت ۰/۰۱ $LC_{50}$ از مالاتیون قرار داشتند این تغییرات بیشتر به‌صورت موضعی بود و مهم‌ترین عارضه در این ماهیان تجمع ملانوماکروفاژها بود (شکل ۱).



**شکل ۱- بررسی بافت‌شناسی کبد ماهی نر (*C. auratus*) مواجهه شده با غلظت تحت کشنده مالاتیون- (A) ماهیان مواجهه شده با غلظت ۰/۰۱ $LC_{50}$ (۰/۲۳ میلی‌گرم در لیتر) a: تجمع موضعی و ملایم ملانوکاروفاژ- (B) ماهیان مواجهه شده با غلظت ۰/۱ LC50 (۲/۳ میلی‌گرم در لیتر)a: تجمع گسترده ملانوماکروفاژ b: دژنره شدن هپاتوسیت‌ها- (C) ماهیان مواجهه شده با غلظت ۰/۱ $LC_{50}$ (۲/۳ میلی‌گرم در لیتر)a: نکروز موضعی هپاتوسیت‌های کبدی b: دژنره شدن هپاتوسیت‌ها - (D) ماهیان مواجهه شده با غلظت ۰/۱ $LC_{50}$ (۲/۳ میلی‌گرم در لیتر)a: واکئولیزاسیون گسترده هپاتوسیت‌های کبدی b: دژنره شدن هپاتوسیت‌ها**



www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

## بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر علاوه بر تعیین درجه سمیت مالاتیون، اثرهای غلظت‌های کشنده این حشره‌کش بر برخی شاخص‌های خونی ماهیان مولد نر قرمز نیز بررسی شد. نتایج به‌دست آمده از آزمایش سمیت مالاتیون نشان داد که میزان غلظت کشنده در طی ۹۶ ساعت برای مولدین کپور برابر با ۲۳/۵۰ میلی‌گرم در لیتر است. تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور مناسب برای تشخیص اثرات سمیت تحت کشنده در اندام‌های هدف و تعیین وضعیت فیزیولوژیکی ماهی در معرض آفت‌کش مالاتیون در نظر گرفته شود (Bagheri, 2007).

تعداد گلبول‌های قرمز خون، گلبول‌های سفید، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان در معرض آفت‌کش نسبت به گروه شاهد دارای کاهش معنی‌داری بودند که این با نتایج تحقیقات محققینی مانند کاویتا (Kavitha *et al*., 2010) که اثر ارسنات را بر کپور هندی (*Catla catla*) و کوپروجو و همکاران (Köprücü *et al*., 2006) تأثیر دیازینون را بر گربه ماهی اروپایی (*silurus glanis*) بررسی کردند، مطابقت دارد. مشاهده کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌تواند ناشی از مرگ آن‌ها در معرض آلاینده باشد (Kudirat Adeyemo, 2007).

در تحقیق حاضر تعداد گلبول‌های سفید در ماهیانی که در معرض سم مالاتیون بودند نسبت به گروه شاهد دارای کاهش معنی‌داری بود که مشابه نتایج تحقیقات (Banaee *et al*., 2008) بود. باتوجه به اینکه محل ساخت گلبول‌های سفید کلیه است، تأثیر یا تجمع آلاینده در کلیه می‌تواند سبب اختلال در فرآیند ساخت آن‌ها شود. بنابراین، یکی از دلایل کاهش گلبول‌های سفید در این تحقیق را احتمالاً می‌توان به تخریب بافت کلیه نسبت داد (Ololade and Ogini, 2010).

میزان هموگلوبین در تحقیق حاضر در تیمار شاهد نسبت به گروه‌های دیگر که در معرض سم قرار داشتند به‌طور معنی‌داری بالاتر بود که این امر با نتیجه تحقیقات اسوبودا و همکاران (Svoboda *et al*., 2001) درباره *Cyprinus carpio*، به‌منظور تعیین شاخص‌های هماتولوژیک در معرض دیازینون انجام دادند مطابقت دارد. سینگ و سریواستاوا (Singh and Srivastava, 2010) بیان کردند که کاهش هموگلوبین و هماتوکریت می‌تواند به سبب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز باشد. از آنجا که هموگلوبین در گلبول‌های قرمز است، پس اختلالات گلبول‌های قرمز می‌تواند در آن تأثیر بگذارد. برای مثال پاره شدن گلبول قرمز میتواند سبب کاهش هموگلوبین شود (Ololade and Ogini, 2010). بنابراین، آسیب گلبول‌های قرمز می‌تواند علت کاهش گلبول‌های قرمز در این تحقیق باشد، چرا که آلاینده می‌تواند از طریق خون خود را به اندام‌های مختلف برساند و ممکن است در آن‌ها تجمع نماید (Adeyemo *et al*., 2011).

غلظت کل پروتئین پلاسما نسبت به محدوده پایه‌ای به‌عنوان یک شاخص بالینی در سنجش میزان سلامتی، استرس و وضعیت بدنی ارگانیسم‌های آبزی به‌کار برده می‌شود (Atamanalp and Yanik,



www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

2003). تغییر در سنتز پروتئین یکی از متداول‌ترین پاسخ‌ها به آسیب سلولی است، لذا با سنجش میزان پروتئین می‌توان به میزان آسیب سلولی پی برد (Canli, 1996). باتوجه به اینکه اکثر پروتئین‌ها در کبد سنتز می‌شوند کاهش پروتئین در پلاسمای خون ممکن است به نقص کبد ماهیانی که در مجاورت آفت‌کش ها قرار می‌گیرند ارتباط داد. در این بررسی میزان پروتئین کل نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری داشت که احتمالاً ناشی از آسیب‌های کبدی است.

در این تحقیق کاهش معنی‌داری در میانگین میزان گلوکز خون ماهیان مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). یافته‌های سلطانی و رستمی (Soltani and Rostami, 2002) نشان می‌دهد که میزان گلوکز با افزایش غلظت سم، به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است که با نتایج حاضر در این تحقیق مغایرت دارد. غلظت گلوکز در سرم در اثر فعل و انفعال‌های پیچیده هورمون‌هایی مانند گلوکاگون و کورتیزول تنظیم می‌گردد، هرچند استرس‌های محیطی می‌تواند سبب افزایش مقادیر گلوکز در پلاسما شود (Martin and Black, 1998).

آنزیم آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز که در ماهیان وجود دارند، عضوی از خانواده ترانس آمینازها هستند. این آنزیم‌ها در بافت کبد تغلیظ می‌شوند. مقادیر این آنزیم‌ها در بیماری‌های حاد کبد در اثر تماس با سموم کبدی افزایش می‌یابد. در بیماری‌های حاد کبدی که منجر به ایجاد صدمات غشایی یا نکروز سلولی می‌شوند، فعالیت آلانین آمینوترانسفراز در سرم خون به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (Mojabi *et al*., 2000). در تحقیق حاضر میزان آلانین آمینوترانسفراز نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که احتمالا ناشی از تماس طولانی مدت با این سم می‌باشد. آلکالین فسفاتاز در بیماری‌های حاد کبدی افزایش می‌یابد و زمانی که از مرحله حاد می‌گذرد ناگهان کاهش می‌یابد (Shisheian and Saeedi, 2007). در این تحقیق میزان آلکالین فسفاتاز با افزایش میزان این سم افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد که آسیب‌های کبدیِ ناشی از تأثیر منفیِ سم مالاتیون روی این اندام، بر عملکرد ساخت آنزیم‌های کبدی تأثیر گذاشته و سبب تغییر میزان این آنزیم‌ها شده است. در این تحقیق، میزان آلکالین فسفاتاز در ماهیانی که در معرض سم مالاتیون بودند، نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت، اما با افزایش غلظت سم مالاتیون، مقدار این آنزیم کاهش یافت. نتایج این تحقیق با بررسی فرخی و همکاران (Farrokhy *et al*., 2015) در زمینه تأثیر مالاتیون بر آنزیم‌های کبدی همخوانی دارد.

جهت انجام اسپرماتوژنز چندین هورمون نقش اساسی دارند که تستوسترون از مهم‌ترین این هورمون‌ها می‌باشد و توسط سلول‌های لایدیگ واقع در فضای بین سلول‌های بیضه ترشح می‌شود و برای رشد و تقسیم سلول‌های ژرمینال و تشکیل اسپرماتوزوئید ضروری می‌باشد. مطالعات بسیاری روی ماهیان انجام گردیده که مشخص کرده است که تولید مثل ماهیان نسبت به آلودگی‌های محیط بسیار



www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

حساس می‌باشد و در نهایت باعث تغییرات اندوکرینی در ماهی‌ها می‌شود (Jobling *et al.*, 1998). میزان هورمون تستوسترون در ماهیانی که تحت تأثیر این سم بودند، کاهش یافت که احتمالاً به‌دلیل تخریب سلول‌های ترشح کننده این هورمون و تخریب بافتی می‌باشد. در تحقیقی که فایرچایلد و همکاران (Fairchild *et al.*, 2009) انجام دادند، ارزیابی اثرات حاد و مزمن اثرات خطرات زیست محیطی علف‌کش کلوپیرالید بر بالغین و نوزادان نر قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد که بر اساس نتایج، این سم باعث کاهش وزن و تحرک کمتر اسپرم و همچنین کاهش تستوسترون شد که موافق با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد.

مشاهدات بافت‌شناسی کبد ماهیان قرمز نر که در معرض دوزهای مختلف مالاتیون قرار گرفته بودند، نشان می‌دهد که مالاتیون سبب ایجاد اثرات مخرب بر بافت کبد این ماهی می‌گردد و علائمی که در کبد آسیب دیده مشاهده شد، سبب ایجاد مشکلات فیزیولوژیکی و در نهایت مرگ ماهی می‌شود. ماهیانی که در معرض سم مالاتیون با غلظت $LC_{50}$ ۰/۱ بودند نسبت به تیمار $LC_{50}$ ۰/۰۱ دچار تغییرات شدیدتری بودند. در تیمار $LC_{50}$ ۰/۰۱ تغییرات بیشتر به‌صورت موضعی مشاهده شد و این تغیرات احتمالاً به‌دلیل دوره طولانی استفاده از سم بوده است. در نهایت، یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد که رابطه مستقیمی بین قرار گرفتن در معرض حشره‌کش مالاتیون و اختلالات بافت‌شناسی در بافت کبد ماهی قرمز وجود دارد و آسیب‌شناسی بافت کبد می‌تواند، نشانگری مفید برای آلودگی‌های زیست‌محیطی باشد. دیکا و ماهانتا (Deka and Mahanta, 2012) نیز علائمی همچون تخریب ساختار پارانشیمی کبد، تجزیه و تفکیک هپاتوسیت‌ها، تورم هپاتوسیت‌ها، نکروز مرکزی و پیکنوتیک شدن هسته هپاتوسیت‌ها را در کبد نوعی گربه‌ماهی (*Heteropneustes fossilis*)، قرار گرفته در معرض مالاتیون، مشاهده نمودند. در بافت کبد ماهی *Esomus danricus* که در معرض مالاتیون قرار گرفت، آسیب‌هایی همچون تورم و واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها و نکروزه شدن مشاهده شد (Das and Mukherjee, 2003).

در بررسی حاضر هرچند هیچ تلفاتی در غلظت تحت کشنده سم مالاتیون در ماهیان قرمز ثبت نگردید اما آسیب‌های بافتی و خون‌شناسی این سم در ماهیان مذکور مشاهده شد. در عین‌حال ماهی قرمز می‌تواند به‌عنوان یک گونه مدل مورد استفاده قرار گیرد و در برخی موارد نتایج حاصل از بررسی‌های آن در گونه‌های مشابه از جمله کپور معمولی بکار گرفته شود. آنچه در این تحقیق مشاهده گردید بیانگر این موضوع است که سم مالاتیون حتی در غلظت‌های برابر با ۰/۰۱ غلظت کشنده آن نیز در این ماهیان قادر به ایجاد عوارض بافتی خواهد بود.

## منابع



www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

Adedeji O.B., Adeyemo O.K., Agbede, S.A. 2009. Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarias gariepinus*), African Journal of Biotechnology, 8(16): 3940-3946.

Adeyemo O.K., Adedeji O.B., Offor C.C. 2011. Blood lead level as biomarker of environmental lead pollution in feral and cultured African catfish (*Clarias gariepinus*). Nigerian Veterinary Journal, 31: 139-147.

Afzali F., Sharifpoor A., Soltani B., Abtahi B. 2010. Study of liver, kidney and gill tissue changes of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Due to Aquagerm bathing. Renewable Natural Resources Research, 1: 63-70. (In Persian).

Amini P.H., Oryan S. 2002**.** Effects of NaCl stress on hematocrit and hemoglobin levels in common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Fisheries Science, 3(11): 13-22. (In Persian).

Atamanalp M., Yanik T. 2003. Alterations in hematological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed to mancozeb. Turkish Journal of Veterinary Animal Science, 27(5): 1213-1217.

Bagheri F. 2007. Study of pesticide residues (Diazinon, Azinphosmethyl) in the rivers of Golestan province (GorganRoud and Gharehsou). M.Sc. Thesis, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran. (In Persian).

Banaee M., Mirvagefei A.R., Rafei G.R., Majazi Amiri B. 2008. Effect of sub-lethal diazinon concentration on blood plasma biochemistry. International Journal of Environmental Research, 2 (2): 189-198.

Bjerselius R., Lundstedt-Enkel K., Olsen H., Mayer I., Dimberg K. 2001.male gold fish reproductive behavior and physiology are severely affected by exogenous exposure to 17- betasteradiol. Aquatic Toxicology, 53: 139-152.

Canli M. 1996. Effects of mercury, chromium, and nickel on glycogen reserves and protein levels in tissues of (*Cyprinus carpio*). Journal of Zoology, 20: 161-168.

Das B.K., Mukherjee S.C. 2003. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology and Pharmacology, 134: 109-121.

Deka S., Mahanta R. 2012. A Study on the Effect of Organophosphorus Pesticide Malathion on Hepato-Renal and Reproductive Organs of *Heteropneustes fossilis.* Science Probe, 1(1): 1-13.

Di Giulio R.T., Hinton D.E. 2008. The Toxicology of Fishes. Taylor and Francis, London. UK. 1096 P.

Edwards D. 2006. Reregistration Eligibility Decision for Malathion. US Environmental Protection Agency - Prevention, Pesticides and Toxic Substances EPA. USA. 915 P.

Elbadawi A.A., Ramadan O.A. 2006. Some toxicological studies of the insecticide "pymetrozine" on (*Oreochromisnil oticus)*. Egyptian Academic Society for Environmental Development, 7(3): 125-138.



www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

Fairchild J.F., Feltz K.P., Allert A., Sappington L.S., Nelson K.J., Valle J. 2009. An ecological risk assessment of the exposure and effects of 2, 4-D acid to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environment Contaminate and Toxicology, 56: 754-760.

Farrokhy F., Jamili Sh., Mashinchian A., Vosughi Gh. 2015. Effects of malathion on tissue and liver enzyme in (*Rutilus rutilus caspicus*). Iranian Fishery Journal, 24(4): 117-127. (In Persian).

Gangolli S.D. 1999. The dictionary of substances and their effects (DOSE). 2nd Edition, Vol. 1(A-B). Royal Society of Chemistry publications. 976 P.

Hotos G.N., Vlahos N. 1998. Salinity tolerance of *Mugil cephalus* and *Chelon labrosus*, Pisces: Mugilidae/fry in experimental conditions. Aquaculture, 167: 329-338.

Jobling S., Nolan Tylor, C.R., Brighty G., Sumpter J.P. 1998.Widespread sexual disruption in wild fish (Roach). Environmental Technology, 32: 2496-2506.

Kavitha C., Malarvizhi A., Senthil Kumaran S., Ramesh M. 2010. Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. Food and Chemical Toxicology, 48: 2848-2854.

Köprücü S., Köprücü K., Ural M.Ş., Ispir Ü., Pala M. 2006. Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis L.*). Pesticide Biochemistry and Physiology, 86: 99-105.

Kudirat Adeyemo O. 2007. Haematological profile of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) exposed to lead. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 7: 163-169.

Martin J.R.L.K., Black, M.C. 1998. Biomarker assessment of the effects of coal-strip mine contamination on channel catfish. Ecotoxicology and Environmental Safety, 41: 307-320.

Mojabi A., Nazifi S., Safi Sh. 2000. Veterinary clinical biochemistry. Noorbakhsh publication. 512 P. (In Persian).

Ololade I.A., Oginni O. 2010 .Toxic stress and hematological effects of nickel on African catfish, *Clarias gariepinus*, fingerlings. Journal of Environmental and Chemical Ecotoxiccology, 22: 14-19.

Shisheian B., Saeedi F. 2007. Medical Hematology. Daneshjoo publication. 344 P. (In Persian).

Simmons A. 1997. Hematology: A combined theoretical and technical approach. Boston: Butterworth-Heinemann, USA. 507 P.

Singh N.N., Srivastava A.K. 2010. Haematological parameters as bioindicators of insecticide exposure in teleosts. Ecotoxicology, 19: 838-854.



www.SID.ir

Archive of SID



Soltani M., Rostami H.K. 2002. Effects of diazinon on the hematological and biochemical profiles of (*Acipenser gueldenstaedtii)*. Journal of Marine Science, 4: 65-75. (In Persian).

Svoboda M., Luskova V., Drastichova J., Ilabek V. 2001. The effect of Diazinon on haematological indices of Common carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta Veterinaria Brunensis, 70: 457-465.

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.

Vosoughi Gh.H., Mostajir B. 1993. Fresh Water Fishes. Tehran University. 317 P. (In Persian).



Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 13:54 +0430 on Sunday May 5th 2019

www.SID.ir