



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره ششم، شماره چهارم، زمستان ۹۷

<http://jair.gonbad.ac.ir>

اثر آفت‌کش دیمیتوات و کود زیستی باسیلار بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی

خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758)

آریا وزیرزاده^{۱*}، نسترن فضیلت^۲

^۱دانشیار، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

^۲دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ ارسال: ۹۶/۷/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۲۳

چکیده

آفت‌کش دیمیتوات و کود زیستی باسیلار از نهاده‌های رایج مورد استفاده در کشاورزی هستند که با رواناب وارد اکوسیستم‌های آبی شده و امکان ایجاد مشکلات زیستی و فیزیولوژیک برای آبزیان دارند. این مطالعه با هدف بررسی اثر ترکیبی آفت‌کش دیمیتوات و کود زیستی باسیلار بر شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ماهی کپور (*C. carpio*) انجام شد. تعداد ۲۷۰ قطعه ماهی در قالب ۹ تیمار آزمایشی شامل گروه شاهد، تیمار A (۰/۰۱۶ میلی گرم بر لیتر دیمیتوات)، تیمار B (۰/۰۳۲ میلی گرم بر لیتر دیمیتوات)، تیمار C (۰/۱ میلی لیتر بر لیتر کود زیستی)، تیمار D (۰/۲ میلی لیتر بر لیتر کود) و تیمارهای ترکیبی شامل تیمار C×A، تیمار D×A، تیمار C×B و تیمار D×B (هر یک با سه تکرار) به مدت ۱۴ روز مورد مطالعه قرار گرفتند. شاخص‌های بیوشیمیایی خون شامل تری گلیسیرید، کلسترول، گلوکز، پروتئین، آلبومین و گلوبولین اندازه‌گیری شد. مقدار تری گلیسیرید در تیمارهای مجزای کود و تیمار مجزای دیمیتوات در غلظت ۰/۰۳۲ میلی گرم بر لیتر، در مقایسه با گروه شاهد افزایش داشت. مقدار کلسترول نیز در تیمارهای مجزای دیمیتوات در مقایسه با گروه شاهد افزایش داشت و در تیمار ترکیبی دیمیتوات (۰/۰۱۶ میلی گرم بر لیتر و کود ۰/۲ میلی لیتر بر لیتر)، مقدار آن کاهش یافت. مقدار گلوکز در همه تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد نداشت. پروتئین در تیمارهای مجزای (کود ۰/۲ و ۰/۱ میلی لیتر بر لیتر) و سایر تیمارهای ترکیبی به جز تیمار (دیمیتوات ۰/۰۱۶ میلی گرم بر لیتر و کود ۰/۱ میلی لیتر بر لیتر)، افزایش داشت. مقدار آلبومین در تیمارهای مجزا به جز تیمار دیمیتوات ۰/۰۱۶ میلی گرم بر لیتر و همه

*نویسنده مسئول: aryavazirzadeh@yahoo.com

تیمارهای ترکیبی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. مقدار گلوبولین در همه تیمارها به‌جز تیمار مجزای (دیمیتوات ۰/۳۲ میلی گرم برلیتر)، در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. براساس نتایج این تحقیق استفاده ترکیبی از دیمیتوات و کودزیستی تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر شاخص‌های مورد مطالعه در مقایسه اثرات انفرادی هر یک از دو ماده نداشت و نیاز به مطالعات بیشتر با دوز بیشتر هر دو ماده برای درک بهتر روابط متقابل آنها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: *C. carpio*، آلاینده‌های کشاورزی، سموم ارگانوفسفره، شاخص‌های فیزیولوژیک

مقدمه

استفاده از آفت‌کش برای مبارزه با آفات در کشاورزی و دامداری در ایران و جهان رونق فراوان دارد. این آفت‌کش‌ها توسط آبهای سطحی به اکوسیستم‌های آبی حمل می‌شوند و از طریق زنجیره غذایی و همچنین از طریق تماس با آب وارد بدن موجود زنده می‌شوند و سلامت اکوسیستم‌های آبی به خطر می‌افتد. زیرا این پساب‌ها در نهایت به دریاچه‌ها و دریاها می‌ریزند (Singh, 2009). استفاده بی‌رویه از آفت‌کش‌ها و مواد شیمیایی مختلف برای کنترل آفات، اثرات جبران‌ناپذیری بر موجودات غیر هدف به‌خصوص آبزیان دارای ارزش تجاری بالا، وارد کرده است (Rodrigues and Fanta, 1998). آلودگی محیط‌های آبی توسط آفت‌کش‌ها، موجب تغییر در فعالیت سوخت و ساز بدن و ترکیبات بیوشیمیایی موجود زنده آبی می‌شود (Begum and Vijayaraghavan, 1996). ماهی‌ها به آلودگی‌های محیطی به ویژه آلودگی‌های آبی بسیار حساس هستند. ورود آلاینده‌ها به محیط‌های آبی، فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خاص در بدن موجودات آبی، به‌خصوص ماهی را دچار آسیب می‌کند (Agrahari et al., 2007).

یکی از ارکان اصلی کشاورزی پایدار، استفاده از کودهای زیستی در اکوسیستم‌های زراعی با هدف حذف یا کاهش قابل ملاحظه مصرف نهاده‌های شیمیایی است. امروزه کودهای زیستی به عنوان گزینه‌ای جایگزین برای کودهای شیمیایی، به‌منظور افزایش حاصلخیزی خاک، در تولید محصولات کشاورزی پایدار مطرح شده است (Wu et al., 2005). کودهای زیستی در حقیقت شامل ریزموجودات آزادی هستند که توانایی تبدیل عناصر غذایی پرمصرف را از فرم غیر قابل دسترس به فرم قابل دسترس طی فرآیندهای بیولوژیکی دارند (Rajendran and Devaraj, 2004). این کودها اگر به‌طور کامل تجزیه نشوند در اکوسیستم‌های آبی کیفیت آب و اکسیژن محلول را کاهش دهند. بنابراین، به ازای هر مقدار آلودگی افزوده شده به اکوسیستم، به‌طور عمده نیاز بیوشیمیایی اکسیژن (Biochemical oxygen demand (BOD)) آن افزایش می‌یابد، اگر مصرف اکسیژن بیش از حد باشد باعث کاهش شدید اکسیژن محلول می‌شود که در نتیجه گازهای سمی مانند متان، هیدروژن سولفید و آمونیاک تولید می‌شوند؛ این گازها می‌توانند اثرات مستقیم یا جانبی بر آبزیان داشته باشند (Kaur and Ansal, 2010). از انواع کودهای زیستی، می‌توان به میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات که اغلب شامل باکتری‌های حل‌کننده فسفات هستند، اشاره کرد که با تولید اسیدهای آلی سبب

افزایش حلالیت فسفات‌های معدنی کم محلول مانند سنگ فسفات می‌شود. بیشتر آنها با تولید آنزیم فسفاتاز باعث رهاشدن فسفر از ترکیبات آلی نیز می‌شوند. کود باسیلار نیز یکی از این نوع کودهاست. در اغلب مطالعات سم‌شناسی در محیط‌های آزمایشگاهی، صرفاً به بررسی اثر یک آلاینده محیطی بر ماهیان پرداخته شده است و کمتر تأثیر تلفیقی آلاینده‌های مختلف بر سلامت ماهیان مورد مطالعه قرار گرفته است. بسیاری از آلاینده‌ها ممکن است بر دسترسی زیستی و همچنین سمیت دیگر آلاینده‌ها اثر تشدیدکننده یا حتی مهاری داشته باشد. آفت‌کش دیمیتوات و کود زیستی باسیلار از نهاده‌های رایج مورد استفاده در کشاورزی هستند که تاکنون اثرات ترکیبی آنها در ماهیان مطالعه نشده است. لذا در این مطالعه هدف، ارزیابی سمیت آفت‌کش ارگانوفسفره دیمیتوات و نیز کود زیستی باسیلار به‌صورت مجزا و نیز ترکیبی بر سلامت ماهی کپور معمولی است. این ماهی اغلب در دریاچه‌ها، سدها، آب‌بندانه‌ها و استخرهای خاکی پرورش داده می‌شوند و به‌طور مداوم در معرض آلودگی با انواع آفت‌کش‌ها و نهاده‌های مورد استفاده در کشاورزی قراردارند. هرچه مدت زمان بررسی اثر آلاینده بر آبزیان کوتاه‌تر باشد معمولاً غلظت‌های بالاتری از آلاینده مورد استفاده قرار می‌گیرد اما باتوجه به اینکه ماهیان در طبیعت اغلب در معرض غلظت کم ولی مدام آلاینده‌ها و سموم قرار می‌گیرند در این تحقیق غلظت‌های ۱ و ۲ درصد LC₅₀، ۹۶ ساعته سم دیمیتوات مورد استفاده قرار گرفت. دراین مطالعه تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی خون به عنوان شاخص‌های بالینی جهت ارزیابی سلامت ماهی کپور معمولی مورد ارزیابی قرار گرفت. زیرا هرگونه تغییر خارج از دامنه طبیعی این شاخص‌ها می‌تواند گویای سلامت بافت‌ها و وضعیت عمومی ماهیان باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۷۰ قطعه ماهی کپور معمولی (35 ± 5 گرمی) از یک مرکز پرورش ماهی خصوصی در اهواز، استان خوزستان تهیه شد. ماهی‌ها به‌طور تصادفی در ۲۷ مخزن پلاستیکی (۷۰ لیتری) به‌طور مجزا، مجهز به هواده توزیع شدند. طی دوران آزمایش تعویض آب به‌صورت روزانه (۵۰ درصد)، انجام گرفت. پیش از شروع آزمایش، ماهی‌ها به‌مدت ۲ هفته با شرایط آزمایشگاهی (دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی/ ۸ ساعت تاریکی، اکسیژن 1 ± 6 میلی‌گرم بر لیتر، pH 7 ± 0.2) سازگار شدند. در طی دوره سازگاری ماهی‌ها با جیره تجاری ماهی کپور معمولی به‌صورت دو بار در روز و معادل ۲٪ وزن بدن تغذیه شدند (Shahsavani et al., 2011).

آفت‌کش دیمیتوات آریا ۴۰٪ (تولید شرکت آریا شیمی، ایران): آفت‌کش سیستمیک با اثر تماسی و گوارشی؛ کود زیستی باسیلار: از شرکت (اف، اس، پی مارکت، ایران)، شامل (نیتروژن آلی ۱ درصد جرمی، فسفر ۰/۸ درصد جرمی، آهن ۱/۰۴ درصد جرمی، روی ۲ درصد جرمی، منگنز ۰/۵۶ درصد

جرمی، بور ۰/۲ درصد جرمی، پلی‌ساکارید ۲/۴ درصد جرمی، ال‌آمینواسیدهای (L-amino acids) آزاد ۴ درصد جرمی، هورمون‌های گیاهی ۰/۰۰۸ درصد جرمی) و ویتامین ب؛ هر دو ماده به‌صورت تجاری و نه ترکیب خالص مورد استفاده قرار گرفتند.

در این مطالعه از غلظت ۱ و ۲ درصد LC50 ۹۶ ساعته آفت‌کش دیمیتوات که ۱/۶ میلی‌گرم برلیتر برای ماهی کپور معمولی می‌باشد (Dey and Saha, 2014)، یعنی به میزان ۰/۱۶ و ۰/۳۲ میلی‌گرم برلیتر به‌عنوان غلظت تحت حد کشندگی استفاده شد. مقدار کود باسیلار نیز با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌لیتر برلیتر آب (غلظت‌های رایج مورد استفاده در کشاورزی) استفاده شد. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و در قالب ۹ تیمار آزمایشی شامل گروه شاهد، تیمار A (دیمیتوات ۰/۱۶)، تیمار B (دیمیتوات ۰/۳۲)، تیمار C (کود ۰/۱)، تیمار D (کود ۰/۲) و تیمارهای ترکیبی، تیمار C×A، تیمار D×A، تیمار C×B، تیمار D×B (هر یک با سه تکرار) به‌مدت ۱۴ روز در معرض غلظت‌های مختلف آفت‌کش ارگانوفسفره دیمیتوات و کود آلی باسیلار قرار گرفتند. تعویض آب روزانه به‌صورت ۵۰٪ (۳۵ لیتر از هر مخزن)، انجام شد. پس از تعویض آب، سم و کود معادل ۵۰ درصد آب تازه تنظیم شد. تجدد کود و سم بر فرض ثابت بودن تجزیه شیمیایی و زیستی در طبیعت انجام شد که این کار تا ۱۴ روز به‌طول انجامید.

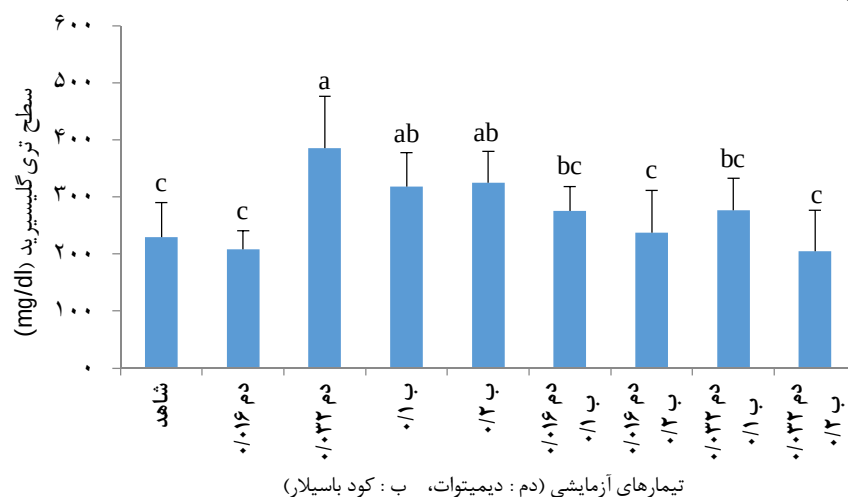
در پایان دوره آزمایش، ماهی‌ها صید و پس از بیهوشی با پودر گل میخک با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم برلیتر، با استفاده از سرنگ‌های هپارینه از ساقه دمی آن‌ها خون‌گیری شد. نمونه‌های خون جهت استحصال پلاسما، در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون با استفاده از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون (ایران) و با دستگاه اسپکتروفتومتری UV/Vis یونیکو (ساخت آمریکا) مدل ۲۱۰۰ صورت گرفت. اندازه‌گیری کلیه شاخص‌های بیوشیمیایی براساس دستورالعمل کیت‌های پارس آزمون صورت گرفت (Shahsavani et al., 2011).

سنجش این شاخص به روش آنزیمی، کالریمتری (GPO-PAP)، برای اندازه‌گیری تک نقطه‌ای با روش فتومتریک، براساس دستورالعمل کیت (پارس آزمون، ایران) محاسبه گردید. در این روش ابتدا گلیسرول توسط آنزیم لیپوپروتئین لیپاز از اسیدهای چرب جدا شده و سپس طی مراحل، پراکسیداز هیدروژن آزاد شده از گلیسرول با ۴-آمینو آنتی پیرین و فنول در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده که به‌صورت فتومتریک قابل اندازه‌گیری است و با مقدار تری‌گلیسیرید رابطه مستقیم دارد. شدت جذب نور در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری و برحسب میزان جذب نوری و براساس فرمول اختصاصی در دستورالعمل کیت محاسبه گردید.

سنجش این شاخص، به روش کالریمتری (CHOD-PAP) برای اندازه گیری تک نقطه ای با روش فتومتریک، براساس دستورالعمل کیت (پارس آزمون، ایران)، محاسبه گردید. سنجش این شاخص به روش (GOD-PAP) اندازه گیری تک نقطه ای با روش فتومتریک، براساس دستورالعمل کیت (پارس آزمون، ایران)، محاسبه گردید. سنجش پروتئین به روش بایوره Biuret مطابق در دستورالعمل کیت ها (پارس آزمون، ایران) محاسبه گردید. آلبومین نیز با روش Bromocresol Green (براساس فرمول ارائه شده در دستورالعمل کیت) اندازه گیری شد. میزان گلوبولین نیز از کم کردن میزان پروتئین و آلبومین به دست آمد. تجزیه و تحلیل داده ها به روش تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA)، در سطح اطمینان ۹۵٪ ($\alpha=0.05$)، و با نرم افزار SPSS-21 انجام شد. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن (Duncan) صورت گرفت. نتایج براساس ($\text{Mean} \pm \text{S.D}$) نشان داده شده است. نرمال بودن داده ها براساس آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) با استفاده از نرم افزار SPSS-21 بررسی شد.

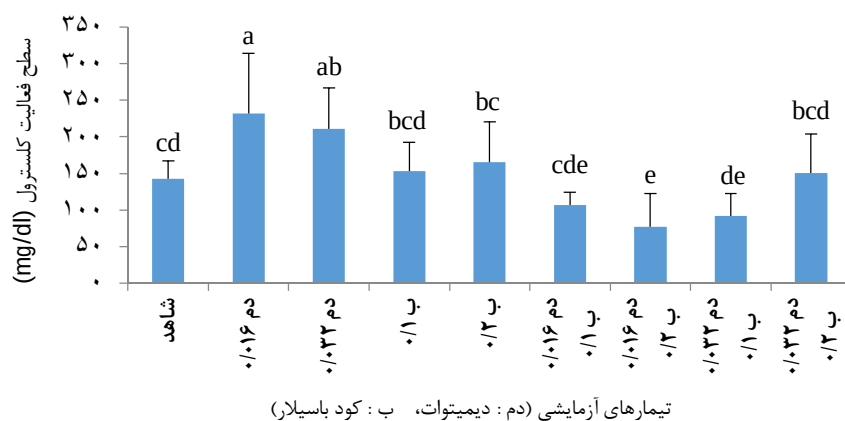
نتایج

تغییرات در سطح فعالیت تری گلیسیرید در شکل ۱ ارائه شده است. مقدار این شاخص در تیمارهای آفت کش (۰/۰۳۲)، کود (۰/۱ و ۰/۲) در مقایسه با گروه شاهد افزایش داشت ($P < 0.05$). تیمار آفت کش (۰/۰۱۶) و کلیه تیمارهای ترکیبی آفت کش و کود، در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری نداشتند.

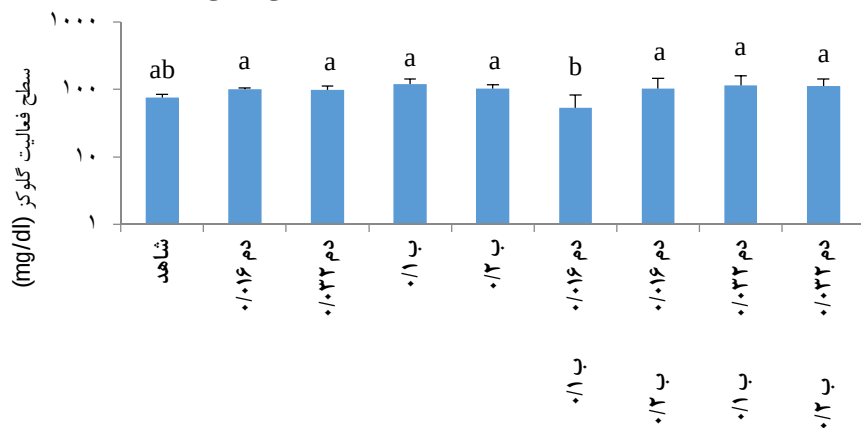


شکل ۱- تغییرات سطح تری گلیسیرید (میانگین $\pm$ انحراف معیار، میلی گرم بر دسی لیتر)، در پلاسما ماهی کپور معمولی (*C. carpio*)، متعاقب استفاده از آفت کش دیمیتوات (میلی گرم بر لیتر) و کود زیستی باسیلار (میلی لیتر بر لیتر). گروه های دارای حروف غیرمشترک از نظر آماری دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$).

تغییرات در سطح فعالیت کلسترول در شکل ۲ ارائه شده است. مقدار این شاخص در تیمارهای آفت کش (۰/۰۱۶) و (۰/۰۳۲) در مقایسه با گروه شاهد افزایش داشت ($P < 0.05$). در تیمار ترکیبی آفت کش (۰/۰۱۶) و کود (۰/۲)، مقدار کلسترول در مقایسه با گروه شاهد کاهش داشت ($P < 0.05$) و سایر تیمارهای ترکیبی در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$).



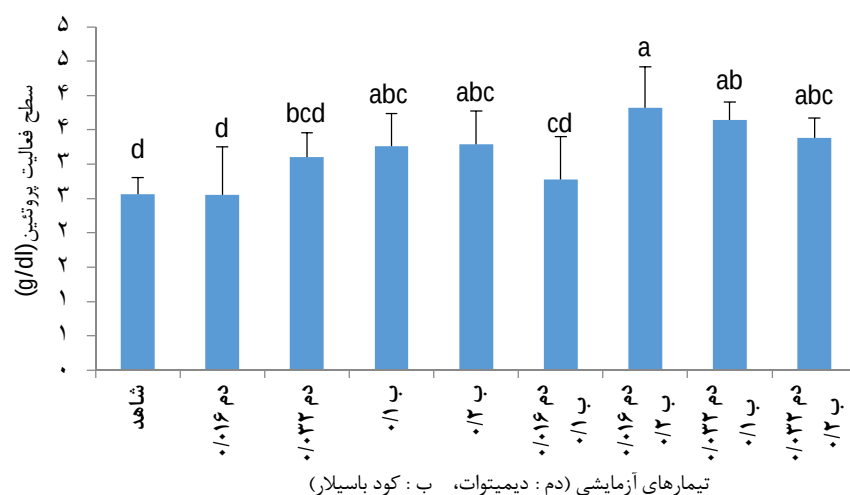
شکل ۲- تغییرات سطح کلسترول (میانگین $\pm$ انحراف معیار، میلی گرم بر دسی لیتر)، در پلاسماهای ماهی کپور معمولی (*C. carpio*)، متعاقب استفاده از آفت کش دیمیتوات (میلی گرم بر لیتر) و کود زیستی باسیلار (میلی لیتر بر لیتر). گروه‌های دارای حروف غیرمشترک از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).



شکل ۳- تغییرات سطح گلوکز (میانگین $\pm$ انحراف معیار، میلی گرم بر دسی لیتر)، در پلاسماهای ماهی کپور معمولی (*C. carpio*)، متعاقب استفاده از آفت کش دیمیتوات (میلی گرم بر لیتر) و کود زیستی باسیلار (میلی لیتر بر لیتر). گروه‌های دارای حروف غیرمشترک از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

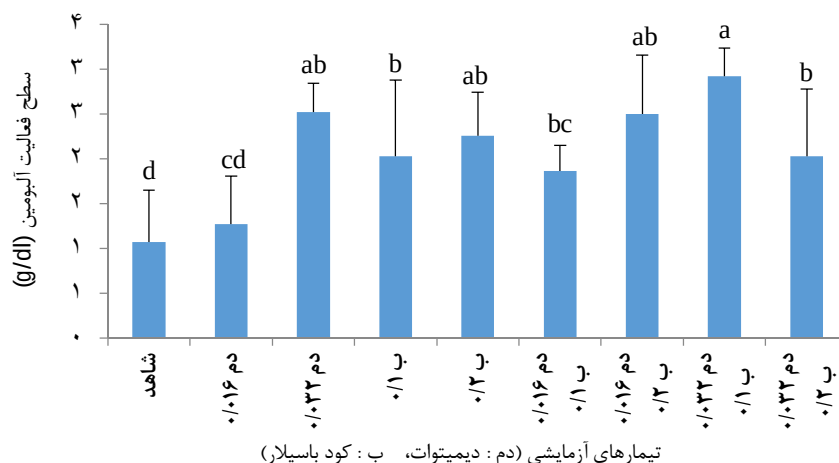
تغییرات در سطح فعالیت گلوکز در شکل ۳ ارائه شده است. مقدار این شاخص، در تیمارهای آزمایشی آفت کش و کود به صورت مجزا و همچنین تیمارهای ترکیبی آفت کش و کود، هیچ اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه شاهد نداشت ($P \geq 0.05$).

تغییرات در سطح فعالیت پروتئین در شکل ۴ ارائه شده است. مقدار این شاخص در تیمارهای مجزای کود (۰/۱ و ۰/۲)، در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. در تیمارهای ترکیبی به جز تیمار آفت کش (۰/۱۶) و کود (۰/۱) مقدار پروتئین در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$).



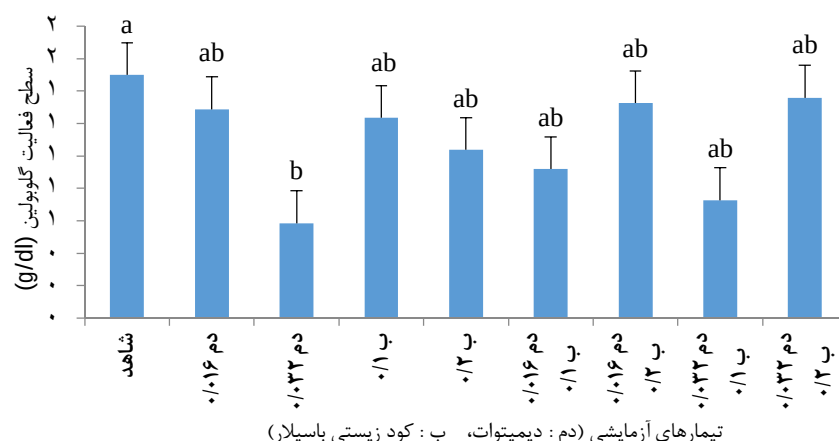
شکل ۴- تغییرات سطح پروتئین (میانگین $\pm$ انحراف معیار) گرم بر دسی لیتر در پلاسماهای ماهی کپور معمولی (*C. carpio*)، متعاقب استفاده از آفت کش دیمیتوات (میلی گرم بر لیتر) و کود زیستی باسیلار (میلی لیتر بر لیتر). گروه های دارای حروف غیرمشترک از نظر آماری دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$).

تغییرات در سطح فعالیت آلبومین در شکل ۵ ارائه شده است. مقدار این شاخص در تیمارهای مجزای آفت کش و کود به جز در تیمار مجزای آفت کش (۰/۱۶) در مقایسه با گروه شاهد افزایش داشت ($P < 0.05$). همچنین در همه تیمارهای ترکیبی در مقایسه با گروه شاهد مقدار آلبومین افزایش داشت ($P < 0.05$).



شکل ۵- تغییرات سطح آل‌بومین (میانگین $\pm$ انحراف معیار، میلی گرم بر دسی لیتر)، در پلاسماهای ماهی کپور معمولی (*C. carpio*)، متعاقب استفاده از آفت کش دیمیتوات (میلی گرم بر لیتر) و کود زیستی باسیلار (میلی لیتر بر لیتر). گروه‌های دارای حروف غیرمشترک از نظر آماری دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P < 0.05$).

تغییرات در سطح فعالیت گلوبولین در شکل ۶ ارائه شده است. مقدار این شاخص در تیمار مجزای آفت کش (۰/۰۳۲) در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت ($P < 0.05$). سایر گروه‌ها در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری نداشتند.



شکل ۶- تغییرات سطح گلوبولین (میانگین $\pm$ انحراف معیار) گرم بر دسی لیتر، در پلاسماهای ماهی کپور معمولی (*C. carpio*)، متعاقب استفاده از آفت کش دیمیتوات (میلی گرم بر لیتر) و کود زیستی باسیلار (میلی لیتر در لیتر). گروه‌های دارای حروف غیرمشترک از نظر آماری دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

تری‌گلیسیریدها با استفاده از گلیسرول و سایر اسیدهای چرب در کبد ساخته می‌شوند. نقش اولیه تری‌گلیسیرید ذخیره و فراهم نمودن انرژی سلولی است. در زمان مواجه ماهیان با شرایط استرس‌زا و در شرایط فیزیولوژیک که نیاز به سم‌زدایی وجود دارد ممکن است میزان تری‌گلیسیرید خون به‌منظور تأمین انرژی مورد نیاز افزایش پیدا کند. در مطالعه‌ای که روی ماهی کپور معمولی پس از قرار گرفتن در معرض کلروپیرفروس صورت گرفت افزایش مقدار تری‌گلیسیرید مشاهده شد که این افزایش ممکن است نشان‌دهنده افزایش نیاز به تأمین انرژی برای مقابله با استرس ناشی از آلودگی آب باشد (Banaee et al., 2014a). افزایش تری‌گلیسیرید پلاسما را می‌توان به مهار آنزیم لیپاز فعال‌کننده لیپوپروتئین‌ها و همچنین تری‌گلیسیریدهای کبدی نسبت داد. افزایش تری‌گلیسیرید پلاسما خون حیوانات آزمایشگاهی که تحت درمان با آفت‌کش‌های مختلف ارگانوفسفره قرار گرفته بودند، مشاهده شد (Ibrahim and El-Gamal, 2003). البته در تحقیقی دیگر مقدار چربی کل و همچنین تری‌گلیسیرید در ماهی کاتلا پس از قرار گرفتن در معرض دیمیتوات کاهش یافت (Hussain et al., 2016). تیمارهای ترکیبی در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند اما می‌توان گفت در همه تیمارهای ترکیبی، کود اثر مهاری بر آفت‌کش داشته و مانع از افزایش مقدار تری‌گلیسیرید در خون می‌شود.

مقدار کلسترول در تیمارهای آفت‌کش (۰/۱۶ و ۰/۳۲ میلی‌گرم برلیتر)، در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. مقدار کلسترول در تیمار ترکیبی آفت‌کش (۰/۱۶ میلی‌گرم برلیتر) و کود (۰/۲ میلی‌لیتر برلیتر) در مقایسه با گروه شاهد کاهش داشت و سایر تیمارهای ترکیبی اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشتند. کلسترول یک استر الکل محلول در چربی است که در چربی‌های حیوانی و گیاهی به وفور یافت می‌شود. همچنین از ترکیبات ضروری غشاهای سلولی، لایه خارجی لیپوپروتئین‌های پلاسما و پیش‌ماده تمامی هورمون‌های استروئیدی است. افزایش غلظت کلسترول سرم می‌تواند ناشی از آسیب‌های کبدی یا سندروم نفروتیک باشد (Yamawaki et al., 1986). در زمان وقوع استرس اکسیداتیو، مکانیسم متابولیسم کلسترول در کبد دستخوش تغییراتی می‌شود که این امر سبب ایجاد اختلال در روند جذب کلسترول توسط کبد می‌گردد (Banaee et al., 2014a). افزایش سطح کلسترول خون می‌تواند از طریق ایجاد هیپرفیلتراسیون، موجب بروز آسیب گلومرولی و اختلال در عملکرد کلیوی گردد (Gentile et al., 1998). سطح کلسترول در پلاسما ماهی چامو (*Mystus vitatus*)، گربه ماهی آفریقایی (*Clarias batrachus*) و ماهی اشلمبو (*Heteropneus fossilis*)، در تماس با آفت‌کش‌های ارگانوفسفره و ارگانوکلره و دیگر آلاینده‌های زیست‌محیطی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. انسداد مجاری صفراوی، مسمومیت کبدی، اختلال در عملکرد پانکراس و حتی افزایش گلوکز خون، تخریب ساختار غشاهای زیستی از جمله غشای سلول‌های عصبی می‌تواند عامل افزایش کلسترول پلاسما باشد (Banaee et al., 2011). مقدار کلسترول در

تیمار ترکیبی آفت‌کش (۰/۰۱۶ میلی گرم بر لیتر) و کود (۰/۱ میلی لیتر بر لیتر)، در مقایسه با تیمار مجزای آفت‌کش (۰/۰۱۶ میلی گرم بر لیتر) و همچنین تیمار ترکیبی آفت‌کش (۰/۰۰۱۶ میلی گرم بر لیتر) و کود (۰/۲ میلی لیتر بر لیتر)، کاهش داشت که می‌تواند نشان دهنده اثر مهارکنندگی کود بر آفت‌کش باشد که دسترسی زیستی آن را کاهش داده است.

مقدار گلوکز پلاسما در این مطالعه در تیمارهای مجزای آفت‌کش و کود و همچنین در تیمارهای ترکیبی آفت‌کش و کود، هیچ اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد نداشت. اما مقدار آن در تیمار ترکیبی آفت‌کش (۰/۰۱۶ میلی گرم بر لیتر) و کود (۰/۱ میلی لیتر بر لیتر)، در مقایسه با تیمارهای آفت‌کش و کود مجزا و همچنین سایر تیمارهای ترکیبی، کاهش یافت اما تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. با این حال، استرس‌های محیطی می‌تواند سبب افزایش چشمگیر سطح گلوکز پلاسما گردد (Agrahari et al., 2007). علاوه بر این، وضعیت تغذیه‌ای ماهی می‌تواند تأثیر معنی‌داری بر سطح گلوکز پلاسما داشته باشد. کاهش غلظت گلوکز پلاسما می‌تواند ناشی از اختلالات کبدی و سوء تغذیه نیز باشد (Banaee et al., 2008). در شرایط استرس‌زا، ترشحات هورمون‌های گلوکوکورتیکوتروپینی نیز باعث افزایش فعالیت واکنش‌های نوسازی گلوکز می‌گردد. این هورمون‌ها با افزایش کاتابولیسم پروتئین‌ها در بافت‌ها، موجب افزایش جذب اسیدهای آمینه توسط کبد و افزایش فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز و سایر آنزیم‌های مؤثر در چرخه بازسازی گلوکز در کبد می‌گردد. علاوه بر این گلوکوکورتیکوئیدها، از مصرف گلوکز توسط بافت‌های خارج کبدی نیز جلوگیری می‌نمایند و این امر موجب افزایش گلوکز خون می‌شود. افزایش سطح گلوکز خون یا هیپرگلیسمی نشان دهنده بروز اختلال در روند متابولیسم کربوهیدرات‌ها می‌باشد که معمولاً ناشی از افزایش تجزیه گلیکوژن کبدی است. به عبارت دیگر، کاهش ذخایر گلیکوژن کبدی و افزایش گلوکز خون یکی از معمول‌ترین واکنش‌های ماهی‌ها در تماس با آلاینده‌های شیمیایی محسوب می‌شود (Das et al., 2004). هیپرگلیسمی در کپور هندی، ماهی اشلمبو و صخره‌ماهی کره‌ای (*Sebastes schergeli*)، در تماس با آلاینده پیرتروئید (Pyrethroid)، مؤید همین امر است (Banaee et al., 2011). در مقابل، کاهش گلوکز خون در برخی از ماهیان آب شیرین پس از قرار گرفتن در معرض آفت‌کش مونوکروتوفوس مشاهده شده است (Agrahari et al., 2007). مقدار گلوکز در تیمار ترکیبی آفت‌کش (۰/۰۱۶ میلی گرم بر لیتر) و کود (۰/۱ میلی لیتر بر لیتر)، در مقایسه با همه تیمارهای مجزای آفت‌کش و کود به جز تیمار شاهد کاهش یافت. احتمالاً این کاهش می‌تواند ناشی از کاهش جذب زیستی آفت‌کش باشد. درحالی‌که در سایر تیمارهای ترکیبی با افزایش دوزها و در نهایت افزایش آلودگی، اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد و تیمارهای مجزا نشان نداد.

مقدار پروتئین در تیمارهای مجزای کود (۰/۱ و ۰/۲ میلی لیتر بر لیتر)، در مقایسه با گروه شاهد افزایش داشت. پروتئین در تیمارهای ترکیبی به جز تیمار آفت‌کش (۰/۰۱۶ میلی گرم بر لیتر) و کود (۰/۱ میلی لیتر

برلیتر) در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. پروتئین‌های پلاسما توسط کبد سنتز می‌شوند و در بسیاری از بیماری‌ها و اختلالات فیزیولوژیک بخشی از پروتئین‌های پلاسما به سرعت از بدن دفع می‌شوند. هرگاه غلظت اسیدهای آمینه پلاسما از مقدار طبیعی کمتر شود، اسیدهای آمینه به خارج از سلول‌ها انتقال داده می‌شوند تا غلظت اسیدهای آمینه پلاسما را به حد طبیعی بازگردانند و برعکس، هنگامی که بافت‌ها از پروتئین تهی می‌شوند، پروتئین‌های پلاسما می‌توانند به‌عنوان منبعی برای جایگزینی سریع پروتئین‌های بافتی باشند (Agrahari et al., 2007). بسیاری از پروتئین‌های موجود در بدن ماهی‌ها به‌صورت محلول در مایعات داخل یا خارج سلولی و معدودی نیز در ساختار غشای سلول‌ها یا سایر اندامک‌ها یافت می‌شوند. مطالعه تغییرات سطح پروتئین‌های پلاسما می‌تواند شاخص بالینی مناسبی در تشخیص بیماری‌های مختلف و ارزیابی وضعیت سلامت ماهی‌ها باشد. آل‌بومین، گلوبولین، فیبرینوژن، پروتئین‌های حامل، پروتئین‌های مهارکننده در پلاسما، پروتئین‌های سیستم پروتئولیتیک و پروتئین‌های فاز حاد پلاسما از مهمترین انواع پروتئین‌های پلاسما می‌باشند. کاهش غلظت پروتئین کل در بسیاری از بیماری‌ها شایع است و ممکن است ناشی از اختلال در سنتز، کاهش جذب یا از دست رفتن پروتئین باشد (Das et al., 2004). گرسنگی، کاهش سطح جذب و سوء تغذیه، اختلال در رفتارهای تغذیه‌ای در اثر کاهش سطح فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز، کاهش سطح بهره‌وری از منابع پروتئینی موجود در جیره، پراکسیداسیون، متیلاسیون و فسفوریلاسیون پروتئین‌های سلولی با آفت‌کش‌های فسفره آلی و تغییر ماهیت در ساختار بیوشیمیایی پروتئین‌ها مهمترین عامل کاهش سطح پروتئین کل پلاسما در ماهی‌های تحت تیمار آلاینده‌های زیست محیطی است (Banaee et al., 2008; Banaee et al., 2011). مقدار آن در کبد ماهی کپور معمولی پس از قرار گرفتن در معرض دیمیتوات کاهش یافته است (Singh, 2013). سطح پروتئین در تیمارهای مجزای آزمایشی روند افزایشی داشت و افزایش مقدار آن در تیمارهای ترکیبی نشان‌دهنده اثر تشدیدکنندگی کود بر اثر سمیت آفت‌کش بوده است. مقدار پروتئین پلاسما در اختلالات کبدی و بیماری افزایش می‌یابد.

مقدار آل‌بومین در این مطالعه در تیمارهای مجزای آفت‌کش و کود به‌جز در تیمار آفت‌کش (۰/۰۱۶ میلی گرم برلیتر) و همچنین در همه تیمارهای ترکیبی در مقایسه با گروه شاهد افزایش داشت. آل‌بومین یکی از فراوان‌ترین پروتئین‌های پلاسما است که توسط کبد سنتز شده و وظیفه حفاظت از مایعات بدن و ثابت نگه داشتن فشار اسمزی را دارد. از این‌رو شاخص مناسبی برای بررسی عملکرد کبد محسوب می‌گردد (Abedi et al., 2013). این پروتئین به‌دلیل داشتن جایگاه‌های مخصوص اتصال فلزات، قبل از هر مکانیسم دیگری در برابر فلزات وارد عمل می‌شود. به‌همین خاطر آل‌بومین یک آنتی‌اکسیدان مهم در خون و مایعات بدنی است که به‌عنوان مهمترین پروتئین در برابر استرس‌های اکسیداتیو تحت شرایط مزمن شناخته می‌شود (Kumar et al., 2013). آل‌بومین در داخل سلول تحت تأثیر آنزیم‌های پروتئولیتیک تجزیه شده و

اسیدهای آمینه حاصل از شکسته شدن رشته‌های پروتئینی آلبومین، مورد استفاده سلول قرار می‌گیرد. در صورت نیاز، مقداری از آلبومین موجود در فضای بین سلولی طی روند پینوسیتوز مجدداً وارد جریان خون می‌گردد. لذا، افزایش سطح آلبومین در پلاسماهای ماهی‌های تحت تیمار دارو یا هورمون، حاکی از نقش مؤثر آلبومین در انتقال این ترکیبات در خون ماهی‌ها است (Banaee *et al.*, 2014a). مقدار پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین در ماهی کاتلا و روهو در معرض دیمیتوات کاهش یافت (Hussain *et al.*, 2016). مقدار آلبومین و همچنین پروتئین کل در ماهی‌های در معرض آفت‌کش‌ها و آلاینده‌های متفاوت کاهش داشته است (Kirby *et al.*, 1995; Martin *et al.*, 2010). در تیمارهای ترکیبی افزایش مقدار آلبومین مشاهده شد که می‌تواند ناشی از افزایش استرس اکسیداتیو در ماهی باشد. کود تشدیدکننده اثر آفت‌کش بوده است. در این مطالعه مقدار گلوبولین در تیمار آفت‌کش (۰/۳۲ میلی گرم برلیتر) در مقایسه با گروه شاهد کاهش داشت اما در تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کاهش مقدار پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین در ماهی‌شاه‌کولی آب‌شیرین، پس از قرار گرفتن در معرض فنپروپاترین مشاهده شد (Banaee *et al.*, 2014b). گلوبولین‌ها مولکول‌های پروتئینی کروی و قابل انحلال در آب و محلول‌های نمکی هستند. این پروتئین‌ها به صورت گروه‌های آلفا، بتا و گاما نام گذاری می‌شوند. کاهش سطح گلوبولین در پلاسماهای خون ماهی‌های تحت تیمار، آلاینده‌های زیست‌محیطی می‌تواند نشان‌دهنده تضعیف سیستم ایمنی ماهی‌ها باشد. به طور کلی، کاهش سطح سنتز پروتئین در کبد ماهی، به طور مستقیم بر سطح گلوبولین موجود در پلاسما اثر می‌گذارد و ترمیم بخش‌های آسیب‌دیده بافت کبدی، می‌تواند موجب مرتفع شدن کاهش سطح سنتز پروتئین در کبد و گلوبولین در پلاسما گردد (Bernet *et al.*, 2001; Banaee *et al.*, 2011). کاهش سطح گلوبولین احتمالاً می‌تواند به دلیل کاهش گلوبولین پلاسما و تجمع آن در کبد و همچنین تضعیف سیستم ایمنی ماهی باشد.

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که شاخص‌هایی با ساختار لیپیدی مثل تری‌گلیسیرید و کلسترول بیشتر تحت تأثیر تیمارهای منفرد دیمیتوات و کود زیستی قرار گرفت. در حالی که شاخص‌هایی با ساختار پپتیدی و پروتئینی بیشتر از تیمارهای ترکیبی دیمیتوات و کود زیستی اثر پذیرفت. گلوکز تحت تأثیر هیچکدام قرار نگرفت. پیشنهاد می‌گردد با توجه به اینکه هرچه دوره تحقیق کمتر باشد از غلظت بیشتر سموم حتی تا ۵۰ درصد LC 50 استفاده می‌نمایند، در مطالعات آتی از غلظت‌های بیشتر سم استفاده نمایند. همچنین در صورت دسترسی به سم خالص نتایج قابل اعتمادتر خواهد بود اگرچه در طبیعت عملاً آبزیان در معرض نه یک آلاینده بلکه آلاینده‌های متعدد قرار دارند.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه شیراز به دلیل تأمین منابع مالی این تحقیق سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

- Abedi Z., Khalesi M.K., Kohestan Eskandari S. 2013. Biochemical and hematological profiles of common carp (*Cyprinus Carpio*) under sublethal effects of trivalent chromium. *Iranian Journal of Toxicology*, 7(20): 782-792.
- Agrahari S., Pandey K.C., Gopal K. 2007. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(3): 268-272.
- Banaee M., Haghi B.N., Ibrahim A.T.A. 2014a. Sub-lethal toxicity of chlorpyrifos on Common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758): *Biochemical response*. *International Journal of Aquatic Biology*, 1(6): 281-288.
- Banaee M., Mirvagefei A.R., Rafei G.R., Majazi Amiri B. 2008. Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. *International Journal of Environmental Research*, 2(2): 189-198.
- Banaee M., Sureda A., Mirvaghefi A.R., Rafiee G.R. 2011. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 37(4): 885-896.
- Banaee M., Sureda A., Zohiery F., Hagi B.N., Garanzini D.S. 2014b. Alterations in biochemical parameters of the freshwater fish, *Alburnus mossulensis*, exposed to sub-lethal concentrations of Fenpropathrin. *International Journal of Aquatic Biology*, 2(2): 58-68.
- Begum G., Vijayaraghavan S. 1996. Alterations in protein metabolism of muscle tissue in the fish *Clarias batrachus* (L) by commercial grade dimethoate. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 57(2): 223-228.
- Bernet D., Schmidt H., Wahli T., Burkhardt-Holm P. 2001. Effluent from a sewage treatment works causes changes in serum chemistry of brown trout (*Salmo trutta* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 48(2): 140-147.
- Das P.C., Ayyappan S., Jena J., Das B. 2004. Acute toxicity of ammonia and its sub-lethal effects on selected hematological and enzymatic parameters of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture Research*, 35(2): 134-143.
- Dey C., Saha S. 2014. A comparative study on the acute toxicity bioassay of dimethoate and lambda-cyhalothrin and effects on thyroid hormones of freshwater teleost fish *Labeo rohita* (Hamilton). *International Journal of Environmental Research*, 8(4): 1085-1092.
- Gentile M., Manna G., D'Amico G. 1998. Soy consumption and renal function in patients with nephrotic syndrome: Clinical effects and potential mechanism. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68(6): 1516-1516.
- Hussain M.I., Kumar B., Ahmad M. 2016. Effect of Organophosphate Insecticide, Dimethoate on Physiology of Common carp, *Catla catla* (Hamilton) and *Labeo rohita*. *International Journal of Current Microbiological Application Science*, 5(5): 322-341.

- Ibrahim N.A., El-Gamal B.A. 2003. Effect of diazinon, an organophosphate insecticide, on plasma lipid constituents in experimental animals. *BMB Reports*, 36(5): 499-504.
- Kaur V.I., Ansal M.D. 2010. Efficacy of vermicompost as fish pond manure–Effect on water quality and growth of *Cyprinus carpio* (L). *Bioresource Technology*, 101(15): 6215-6218.
- Kirby G., Stalker M., Gordon S., Quinn B., Van Schooten F., Hayes M. 1995. Influences of chronic cholangiohepatitis and cholestasis on hepatic metabolism of benzo [a] pyrene in white suckers (*Catostomus commersoni*) from industrially polluted areas of Lake Ontario. *Carcinogenesis*, 16(12): 2923-2929.
- Kumar S., Raman R., Pandey P., Mohanty S., Kumar A., Kumar K. 2013. Effect of orally administered azadirachtin on non-specific immune parameters of goldfish *Carassius auratus* (Linn. 1758) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 34(2): 564-573.
- Martin S.A., Douglas A., Houlihan D.F., Secombes C.J. 2010. Starvation alters the liver transcriptome of the innate immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC genomics*, 11(1): 4-18.
- Rajendran K., Devaraj P. 2004. Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farm land. *Biomass and Bioenergy*, 26(3): 235-249.
- Rodrigues E.d.L., Fanta E. 1998. Liver histopathology of the fish *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchman after acute exposure to sub lethal levels of the organophosphate Dimethoate 500. *Revista Brasileira de Zoologia*, 15(2): 441-450.
- Shahsavani D., Baghshani H., Alishahi E. 2011. Efficacy of allicin in decreasing lead (Pb) accumulation in selected tissues of lead-exposed common carp (*Cyprinus carpio*). *Biological Trace Element Research*, 142(3): 572-580.
- Singh R.N. 2009. Acute toxicity and behavioral responses of common carp *Cyprinus carpio* (Linn.) to an organophosphate (Dimethoate). *World Journal of Zoology*, 4(2): 70-75.
- Singh R.N. 2013. Effects of dimethoate (30% EC), an organophosphate pesticide on liver of common carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of Environmental Biology*, 34(3): 657-661.
- Wu S., Cao Z., Li Z., Cheung K., Wong M. 2005. Effects of bio fertilizer containing N-fixer, P and K solubilizes and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*, 125(1): 155-166.
- Yamawaki K., Hashimoto W., Ikeda Y., Ozaki H., Fujii K., Koyama J. 1986. Hemochemical changes in carp (*Cyprinus carpio*) exposed to low cadmium concentrations. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52: 459-466.