



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره چهارم، شماره دوم، تابستان ۹۵

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

## تأثیر مواجهه کوتاه‌مدت غلظت‌های تحت‌کشنده سم دیازینون بر شاخص‌های انرژی و تنظیم اسمزی بچه‌تاس‌ماهی ایرانی *Acipenser persicus* Borodin, 1897 طی دوره سازگاری اسمزی با آب دریا

حسین خارا<sup>۱\*</sup>، سعید حاجی رضایی<sup>۲</sup>، محدثه احمدنژاد<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانشیار گروه شیلات واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

<sup>۲</sup>باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

<sup>۳</sup>استادیار مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، بندر انزلی، ایران

تاریخ ارسال: ۹۴/۷/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۱۳

چیکده

در تحقیق حاضر، تأثیر مواجهه کوتاه‌مدت غلظت‌های زیر کشنده دیازینون بر شاخص‌های انرژی (گلوکز، لاکتات) و تنظیم اسمزی (تعداد سلول‌های کلراید، هورمون کورتیزول، پروتئین کل و یون‌های پلاسمای خون) بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) طی دوره سازگاری شوری با آب دریا مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از: تیمار ۱: دیازینون با دوز ۳ ppm (۱۰٪ LC<sub>50</sub> ۹۶ ساعت)، تیمار ۲: دیازینون با دوز ۹ ppm (۳۰٪ LC<sub>50</sub> ۹۶ ساعت)، تیمار ۳: دیازینون با دوز ۱/۵ ppm (۵۰٪ LC<sub>50</sub> ۹۶ ساعت). همچنین یک گروه بدون سم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. آزمایش در ۲ مرحله انجام شد شامل: ۹۶ ساعت مواجهه با سم در آب شیرین و ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب لب‌شور (شوری ۱۲ گرم در لیتر). بعد از هریک از این مراحل نمونه‌برداری از خون و آبشش بچه‌ماهیان انجام شد. این مطالعه نشان داد که سم دیازینون به‌خصوص در غلظت‌های بالا (شامل ۰/۹ و ۱/۵ ppm) می‌تواند شاخص‌های انرژی و تنظیم اسمزی خون بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی را قبل و در طول دوره سازگاری شوری تحت تأثیر قرار دهد. این تأثیرات عبارت‌اند از (الف) ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین: افزایش کورتیزول، گلوکز، لاکتات و تعداد سلول‌های کلراید (تنها برای تیمار

\*مسئول مکاتبه: [h.khara1974@yahoo.com](mailto:h.khara1974@yahoo.com)

۰/۳ ppm سم) و کاهش یون‌ها (ب) ۲۴ ساعت مواجهه در آب‌شور: افزایش کورتیزول، گلوکز و یون‌ها. در مجموع دیازینون به‌خصوص در غلظت‌های ۰/۹ و ۱/۵ ppm موجب کاهش پتانسیل تنظیم اسمزی بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی شامل کاهش تعداد سلول‌های کلراید، ایجاد شرایط بی‌هوایی، اختلال در نفوذپذیری یون‌ها در بافت آبشش و افزایش شاخص‌های استرسی شامل غلظت هورمون کورتیزول و سطوح گلوکز می‌شود.

کلمات کلیدی: *A. persicus*، تنظیم اسمزی، سموم کشاورزی

## مقدمه

امروزه در کشاورزی مدرن از روش‌های متنوعی جهت افزایش تولید در واحد سطح محصولات کشاورزی و تأمین نیاز جمعیت رو به رشد جهان استفاده می‌شود. یکی از روش‌ها استفاده از سموم کشاورزی بوده که با دفع اثرات آفت‌ها موجب افزایش تولید محصولات کشاورزی می‌شوند. با وجود تأثیر مثبت سموم کشاورزی بر افزایش تولید، این سموم از طریق زهکش مزارع وارد اکوسیستم‌های آبی شده و اثرات نامطلوبی بر حیات آبزیان ساکن بر جای می‌گذارند. سم ارگانوفسفره دیازینون (نام عمومی O,O-Diethyl O-[4-methyl-6-(propan-2-yl)pyrimidin-2-yl] phosphorothioate) یکی از مهم‌ترین سموم آفت‌کش- حشره‌کش و نماتدکش تماسی و گوارشی می‌باشد که در مبارزه با طیف وسیعی از حشرات، کرم‌های حشرات، شفیره حشرات و کنه‌های بالغ و جوان و همچنین برای کنترل کرم‌های ساقه خوار برنج، مورچه‌ها و کک‌ها و دیگر حشرات برگ‌خوار مورد استفاده قرار می‌گیرند. در کشور ایران به‌خصوص مناطق شمال کشور، همواره مقادیر قابل‌ملاحظه‌ای از سموم آفت‌کش از شالیزارها و باغات وارد رودخانه‌های می‌شوند که بستر تخم‌ریزی و پرورش لارو بسیاری از گونه‌های ماهی از جمله گونه‌های رود کوچ دریای خزر مانند تاس‌ماهیان می‌باشند. در رابطه با گونه‌های رود کوچ، آلودگی مناطق مصبی می‌تواند اهمیت بیشتری داشته باشد چرا که بزرگ‌ترین چالش و حساس‌ترین مرحله زندگی بچه‌ماهیان یعنی تنظیم اسمزی و کسب آمادگی فیزیولوژیک جهت ورود به دریا در این مناطق صورت می‌گیرد (Rosseland et al., 2001; Lerner et al., 2007; Monette and McCormick, 2008).

برخی مطالعات نشان داده‌اند که سموم کشاورزی به‌خصوص سموم ارگانوفسفره و ارگانوکلره می‌توانند به‌طور مخربی توانایی فیزیولوژیک بچه‌ماهیان را در تنظیم اسمزی و یا سازگاری با شوری دریا تحت تأثیر قرار دهند که این تأثیرات در سطوح مختلف شامل آنزیم‌ها، هورمون‌ها، شاخص‌های انرژی، الکترولیت‌ها و بافت آبشش و کلیه قابل مشاهده می‌باشند (Caride et al., 2010; Suvetha et al., 2010; Lal et al., 2012; Olsvik et al., 2010; Xing et al., 2012; Khosravi Katuli et al., 2014). با این وجود مطالعات روی گونه‌های رودکوچ تجاری و مهم ایران بسیار اندک (Khosravi et al., 2014) و در مورد ماهیان خاویاری مطالعه‌ای وجود ندارد. ماهیان خاویاری از جمله

گونه های رود کوچ و در معرض انقراض دریای خزر می باشند که هر ساله عملیات بازسازی ذخایر آن ها از طریق تکثیر مصنوعی و نهایتاً تولید و رهاسازی بچه ماهیان ۳-۵ گرمی در مناطق مصبی رودخانه های محل مهاجرت انجام می شود (Abdolhay and Tahori, 2006; Pourkazemi, 2006). متأسفانه زمان رهاسازی بچه ماهیان در مناطق مصبی رودخانه ها طی بازه تیر و مردادماه همزمان با اوج استفاده از سموم کشاورزی در شالیزارهای استان های شمال کشور یعنی خرداد تا مهرماه می باشد (Ahmadi-Mamqani *et al.*, 2011). که این سموم می توانند به طور مخربی توانایی بچه ماهیان رهاسازی شده را در تطابق اسمزی با شوری مصب و دریا تحت تأثیر قرار دهند. بنابراین لازم است تا تأثیر سموم کشاورزی بر توانایی تنظیم اسمزی این ماهیان با ارزش بررسی شود.

### مواد و روش ها

**طراحی آزمایش و نمونه برداری:** تعداد ۵۰۰ عدد بچه ماهی تاس ماهی ایرانی با وزن رهاسازی  $5 \pm 2$  گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی استان گیلان تهیه گردیدند. زمان انجام این آزمایش اوایل تیرماه همزمان با مرحله رهاسازی بچه ماهیان به رودخانه سفیدرود بود. بچه ماهیان از محل حوضچه بارگیری مرکز صید و به وسیله ماشین مخصوص حمل بچه ماهیان که مجهز به کپسول های اکسیژن بود به محل آزمایش منتقل شدند. جهت سازگاری با شرایط مخازن آزمایشی، ماهیان در ۴ مخزن ۵۰۰ لیتری با تراکم ۲۵۰ عدد ماهی در هر مخزن و به مدت ۷ روز نگهداری شدند. همزمان با طول مدت سازگاری، مخازن آزمایشی ۱۰۰ لیتری به تعداد ۱۲ عدد آماده سازی و تیمارهای آزمایش بر اساس غلظت سم دیازینون (امولسیون ۶۰ درصد) تعریف گردید. هر مخزن آزمایش مجهز به سیستم هواده بوده و تعویض روزانه آب به میزان ۵۰ درصد انجام شد. در این تحقیق مقدار  $LC_{50}$  ۹۶ ساعته دیازینون برای بچه ماهیان  $5 \pm 2$  گرمی تاس ماهی ایرانی عدد ۳ ppm امولسیون ۶۰ درصد محاسبه شد. بنابراین غلظت های زیر کشنده بر مبنای درصدهای مختلفی از  $LC_{50}$  محاسبه و تیمارهای آزمایش بر اساس آن تعیین شد. لذا آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و در ۳ تیمار و یک گروه شاهد (بدون سم) با ۳ تکرار و هر تکرار با تراکم ۴۰ عدد بچه ماهی (در هر مخزن ۱۰۰ لیتری) انجام شد. در این رابطه تیمارهای آزمایش عبارتند از: تیمار ۱: دیازینون با غلظت ۰/۳ ppm (۱۰٪  $LC_{50}$  ۹۶ ساعت)، تیمار ۲: دیازینون با غلظت ۰/۹ ppm (۳۰٪  $LC_{50}$  ۹۶ ساعت)، تیمار ۳: دیازینون با غلظت ۱/۵ ppm (۵۰٪  $LC_{50}$  ۹۶ ساعت). لازم به ذکر است که در همه گروه های آزمایشی (کنترل و تیمارها) در زمان قبل از سازگاری شوری از آب رودخانه سفیدرود (خواص فیزیکی- شیمیایی: pH ۷/۷-۷/۳، سختی: ۱۸۰-۱۸۲ میلی گرم بر لیتر، اکسیژن محلول: ۷/۵-۷/۲ میلی گرم بر لیتر) و در طول سازگاری شوری از نمک دریا (Marinium, Reef Sea Salt, Mariscience Int'l Co., Ltd., Thailand) جهت

تنظیم شوری‌های موردنظر استفاده شد. در هر تیمار آزمایش، دوره زمانی مواجهه با سم شامل ۹۶ ساعت (مواجهه کوتاه‌مدت) اعمال شد. بعد از این مدت‌های زمانی عملیات خون‌گیری از هر تیمار انجام و بلافاصله استرس شوری با قرار دادن ماهیان در آب لب‌شور با شوری ۱۲ گرم در لیتر به مدت ۲۴ ساعت اعمال شد. افزایش شوری به‌طور تدریجی و در طول مدت ۳ ساعت انجام شد. بلافاصله بعد از اعمال استرس شوری از ماهیان خون‌گیری به عمل آمد. در این مطالعه به دلیل نیاز به حداکثر دریافت خون، خون‌گیری با روش قطع ساقه دم صورت گرفت. در طی دوره آزمایش، میزان مرگ‌ومیر ماهیان به صورت روزانه ثبت می‌گردید. همچنین در طول دوره آزمایش ماهیان به میزان اشتها با غذای فرموله آغازین Nutra HP ۰/۳ (ساخت فرانسه) و با دفعات ۵ مرتبه در روز تغذیه شدند.

**اندازه‌گیری شاخص‌های انرژی و اسمزی:** بعد از هر مرحله خون‌گیری، نمونه‌های خون با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده (g ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه) و نمونه‌های پلاسما جداسازی شده تا آنالیزهای بیوشیمیایی در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد ذخیره‌سازی شدند. غلظت‌های پروتئین کل، گلوکز، لاکتات، کلر، کلسیم و منیزیم با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر و مطابق با روش اسدی و همکاران (Asadi et al., 2009) اندازه‌گیری شدند. همچنین غلظت‌های سدیم و پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر مطابق با روش لرنر و همکاران (Lerner et al., 2007) تعیین شدند. هورمون کورتیزول با استفاده از کیت سنجش کورتیزول به روش ELISA مستقیم<sup>۲</sup> [کیت مورد استفاده با نام تجاری Monobind ساخت شرکت آمریکایی مونوبایند کالیفرنیا اندازه‌گیری شد (Deane and Woo, 2003)].

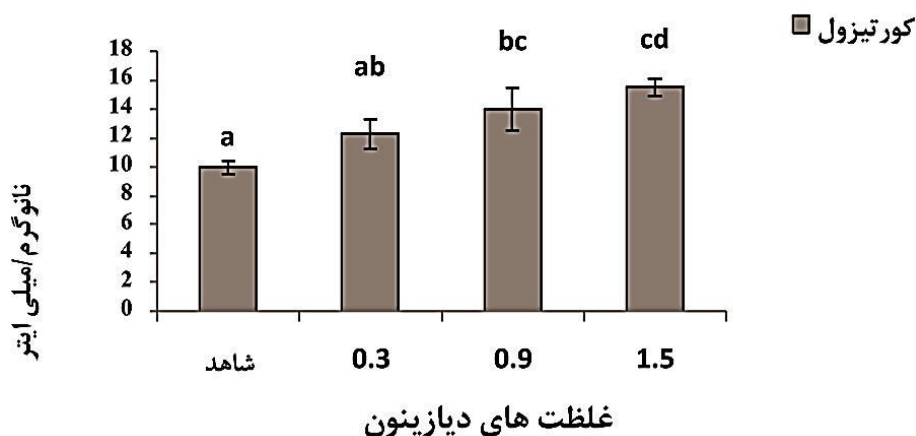
جهت شمارش تعداد سلول‌های کلراید، نمونه‌گیری از بافت آبشش ۹۶ ساعت بعد از مواجهه ماهیان با دیازینون در آب شیرین و ۲۴ ساعت بعد از چالش شوری انجام شد. در این رابطه نمونه‌های بافت آبشش از کمان سوم آبششی جدا و در محلول بوئن فیکس شدند. سپس مراحل بافت‌شناسی کلاسیک شامل آبگیری، شفاف کردن قالب‌گیری، مقطع‌گیری، قراردادن برش‌ها روی لام، رنگ‌آمیزی و چسباندن لام روی لام در آزمایشگاه دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شد. بعد از آماده‌سازی مقاطع بافت آبشش، بررسی میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ نوری (نیکون ژاپن) مجهز به میکرومتر چشمی و دوربین صورت پذیرفت. سلول‌های کلراید از ویژگی‌های ساختاری خاص شامل میتوکندری‌های فراوان و شبکه وسیع ریزلوله‌های سیتوپلاسمی برخوردارند و به همین دلیل تیره رنگ و به لحاظ رنگ‌پذیری از ظاهری غیریکنواخت برخوردار می‌باشند (Hirose et al., 2003). بر این اساس تعداد سلول‌های کلراید موجود در پنج پایه کمان آبششی سوم (Kaneko et al., 2008) در بزرگنمایی ۱۰۰۰ محاسبه شد.

#### 1- Direct Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay

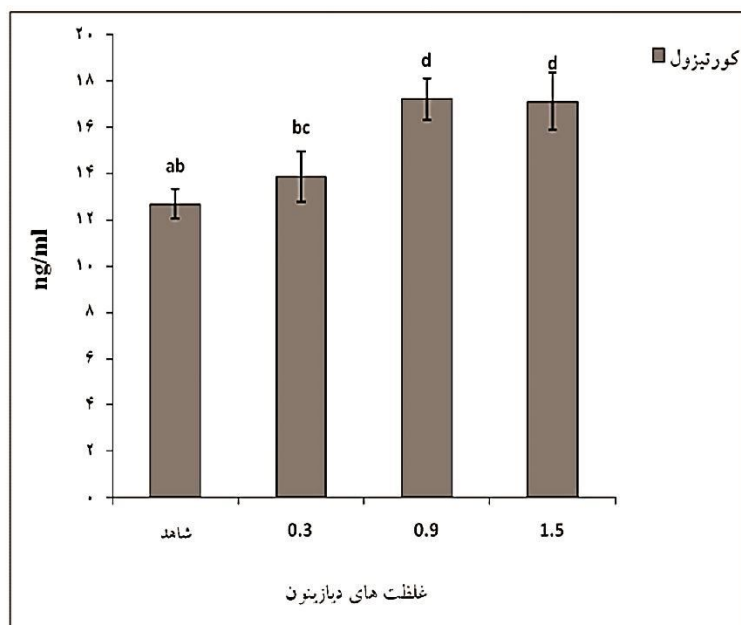
**تجزیه و تحلیل داده ها:** برای تجزیه و تحلیل کلیه داده ها از نرم افزار SPSS تحت ویندوز استفاده می شود. برای بررسی وجود تفاوت معنی دار بین میانگین ها از تحلیل واریانس چند متغیره (MANOVA) و جهت تعیین این که کدام میانگین ها به اهم متفاوت اند از تست تکمیلی توکی (Tukey) در نرم افزار SPSS استفاده شد.

### نتایج

**تأثیر غلظت های تحت حاد دیازینون بر سطوح هورمون کورتیزول:** بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین، به جزء تیمار ۰/۳ ppm سم، میزان هورمون کورتیزول در همه تیمارهایی که در معرض سم دیازینون قرار گرفته بودند در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری بالاتر بودند ( $p < 0/05$ ) (شکل ۱ الف). سطح کورتیزول بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور در همه گروه ها افزایش یافت هرچند این افزایش تنها برای تیمارهای ۰/۹ و ۱/۵ ppm سم معنی دار بود ( $p < 0/05$ ) (شکل ۱ ب).



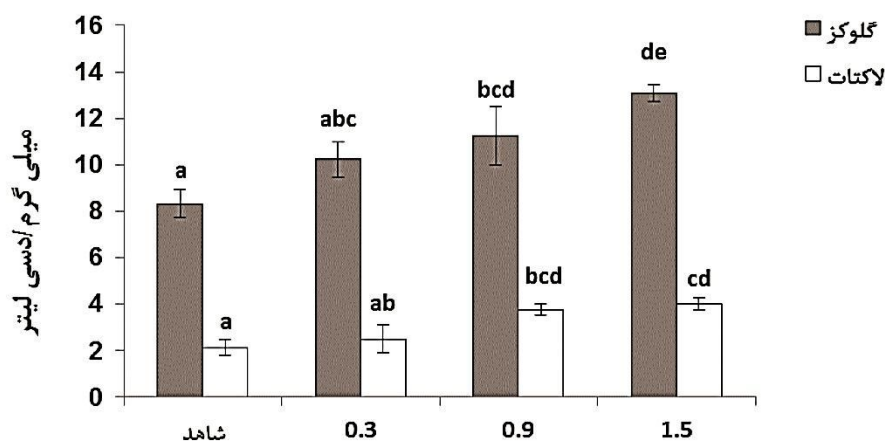
شکل ۱ الف) - اثرات غلظت های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) بر سطوح هورمون کورتیزول در بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین. حروف نامشابه روی اعداد نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.



شکل ۱ (ب) - اثرات غلظت‌های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) بر سطوح هورمون کورتیزول در بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۲۴ ساعت مواجهه در آب لب شور. حروف نامشابه روی اعداد نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

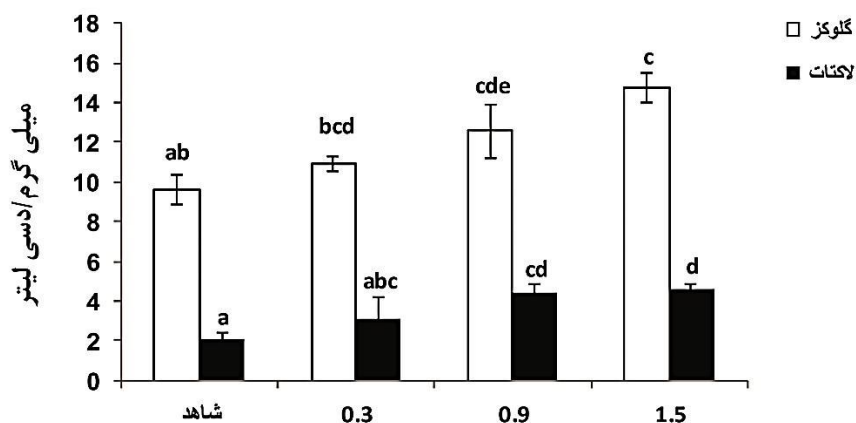
تأثیر غلظت‌های تحت حاد دیازینون بر سطوح گلوکز و لاکتات: بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین، به جز تیمار ۰/۳ ppm سم، میزان سطوح گلوکز در همه تیمارهایی که در معرض سم دیازینون قرار گرفته بودند در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بودند ( $p < 0/05$ ) (شکل ۲ الف). سطح گلوکز بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب‌شور، میزان گلوکز در همه گروه‌ها افزایش یافت هرچند این افزایش تنها برای تیمارهای ۱/۵ ppm سم معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ) (شکل ۲ ب). مشابه گلوکز، میزان سطوح لاکتات در همه تیمارها (به جز تیمار ۰/۳ ppm سم) بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ) (شکل ۲ الف). بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب‌شور، میزان لاکتات در همه گروه‌های آزمایش تغییر معنی‌داری را نشان نداد ( $p < 0/05$ ) (شکل ۲ ب).

تأثیر مواجهه کوتاه مدت غلظت های تحت کشنده سم دیازینون بر شاخص های انرژی و تنظیم اسمزی...



#### غلظت های دیازینون

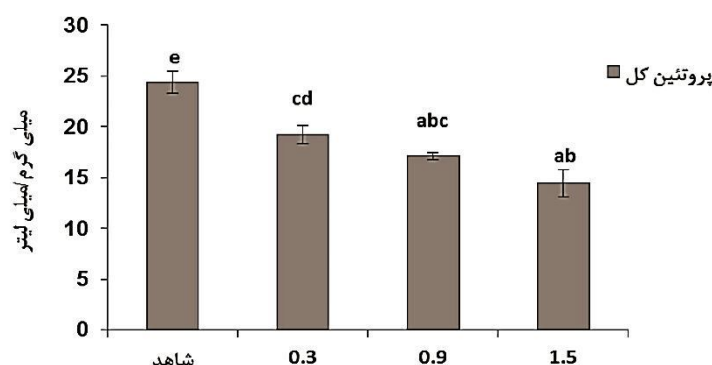
شکل ۲ (الف) - اثرات غلظت های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) بر سطوح گلوکز و لاکتات در بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین. حروف نامشابه روی اعداد نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.



#### غلظت های دیازینون

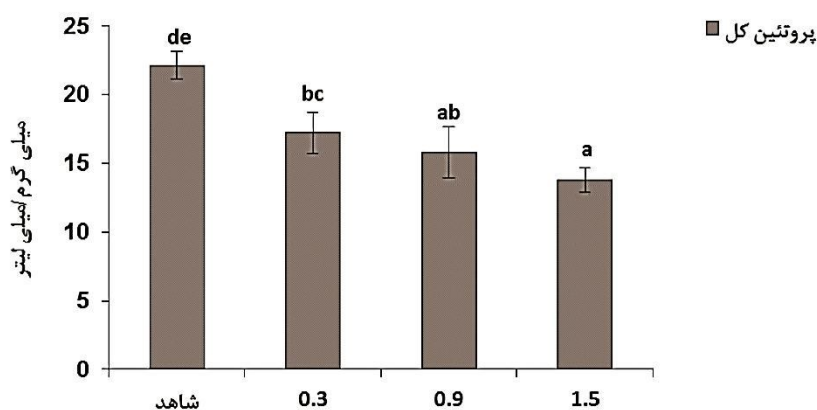
شکل ۲ (ب) - اثرات غلظت های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) بر سطوح گلوکز و لاکتات در بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۲۴ ساعت مواجهه در آب لب شور. حروف نامشابه روی اعداد نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.

تأثیر غلظت‌های تحت حاد دیازینون بر سطوح پروتئین کل: میزان پروتئین کل بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین در تیمارهای دیازینون به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از شاهد بود ( $p < 0.05$ ) (شکل ۳ الف). بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور، تغییر معنی‌داری از نظر میزان پروتئین کل در هیچ‌کدام از گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ) (شکل ۳ ب).



غلظت‌های دیازینون

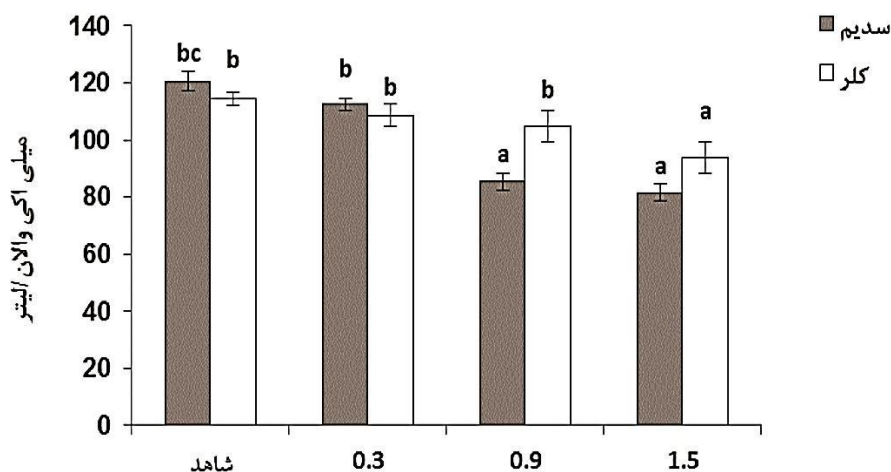
شکل ۳ الف) - اثرات غلظت‌های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) بر سطوح پروتئین کل در بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین. حروف نامشابه روی اعداد نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



غلظت‌های دیازینون

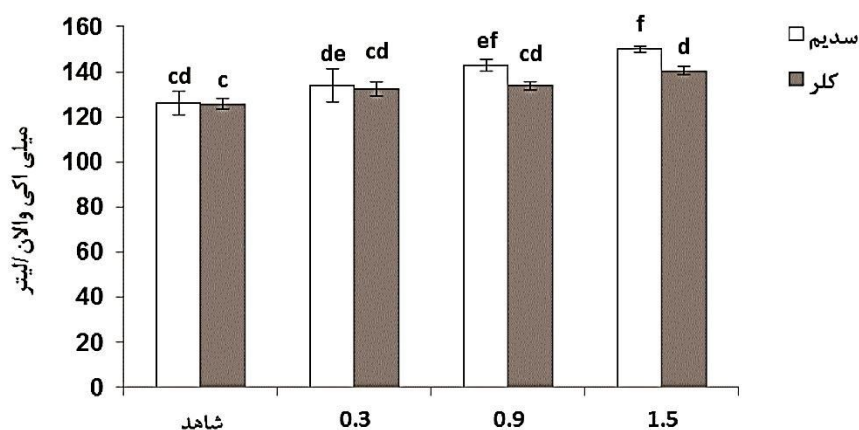
شکل ۳ ب) - اثرات غلظت‌های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) بر سطوح پروتئین کل در بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۲۴ ساعت مواجهه در آب لب شور. حروف نامشابه روی اعداد نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

تأثیر غلظت های تحت حاد دیازینون بر یون ها: سطوح سدیم و کلر بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین در تیمارهای ۰/۹ و ۱/۵ ppm به طور معنی داری پایین تر از شاهد بود ( $p < 0/05$ ) (شکل ۴ الف). بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور، مقادیر این یون ها به طور معنی داری در همه گروه های آزمایشی افزایش یافت ( $p < 0/05$ ) (شکل ۴ ب). میزان یون پتاسیم و منیزیم بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین تغییر معنی داری نسبت به گروه شاهد نشان نداد ( $p < 0/05$ ). در مقابل مقادیر یون کلسیم به طور معنی داری پایین تر از شاهد بود ( $p < 0/05$ ) (شکل ۵ الف). بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور، منیزیم در تیمارهای ۰/۹ و ۱/۵ ppm، کلسیم در تیمارهای ۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ ppm و پتاسیم در تیمار ۱/۵ ppm سم به طور معنی داری افزایش یافتند ( $p < 0/05$ ) (شکل ۵ ب).



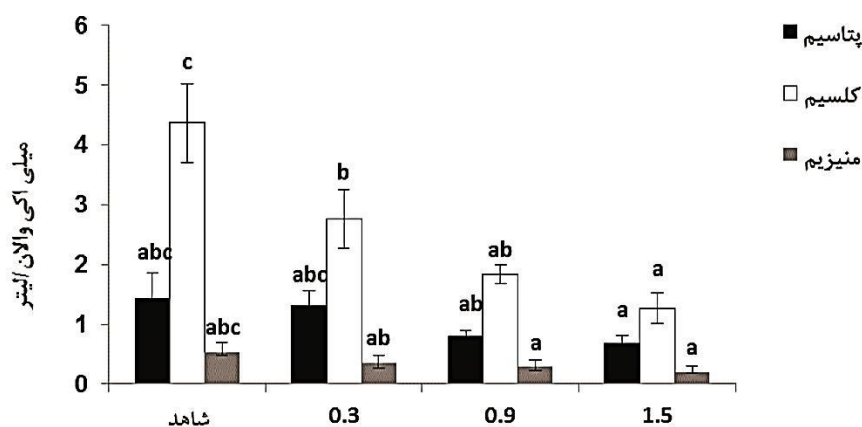
#### غلظت های دیازینون

شکل ۴ الف) - اثرات غلظت های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) بر سطوح سدیم و کلر در بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین. حروف نامشابه روی اعداد نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.



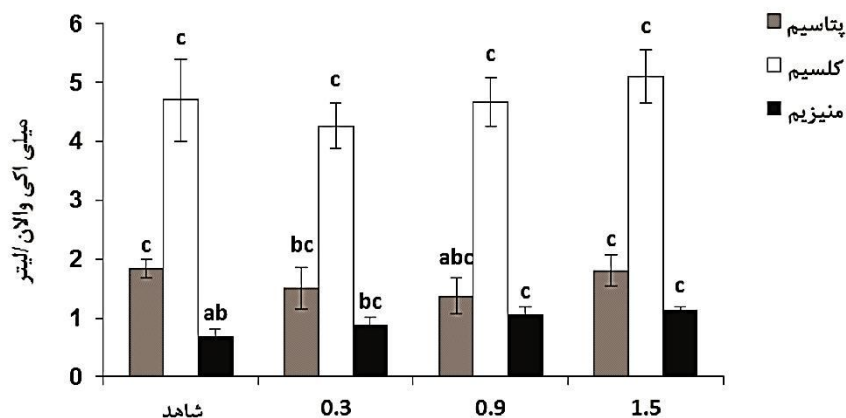
#### غلظت‌های دیازینون

شکل ۴ (ب) - اثرات غلظت‌های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) بر سطوح سدیم و کلر در بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۲۴ ساعت مواجهه در آب لب‌شور. حروف نامشابه روی اعداد نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



#### غلظت‌های دیازینون

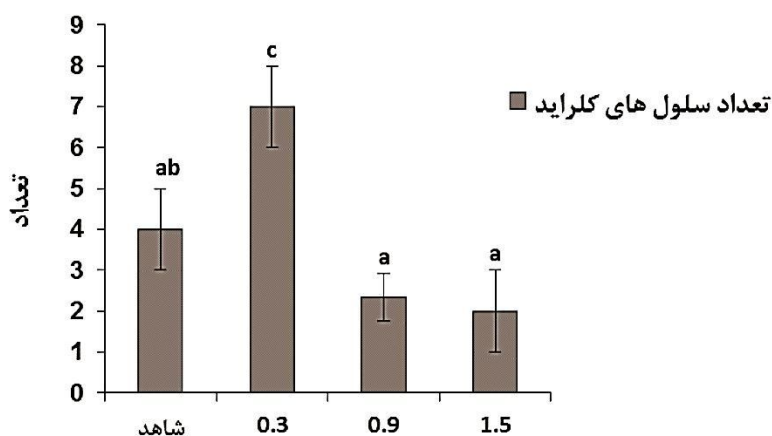
شکل ۵ (الف) - اثرات غلظت‌های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) بر سطوح پتاسیم، کلسیم و منیزیم در بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین. حروف نامشابه روی اعداد نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



غلظت های دیازینون

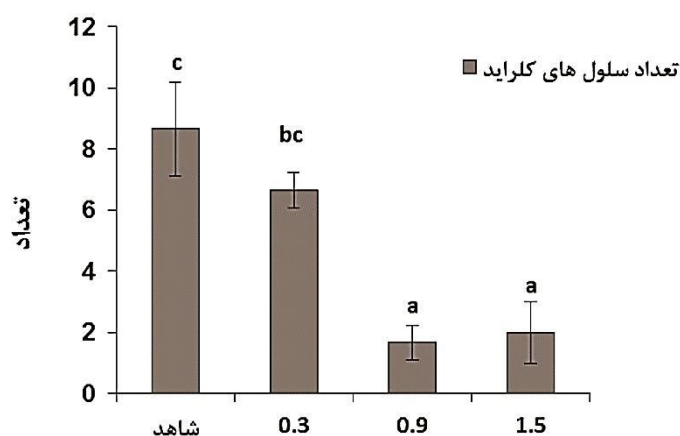
شکل ۵ (ب) - اثرات غلظت های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) بر سطوح پتاسیم، کلسیم و منیزیم در بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۲۴ ساعت مواجهه در آب لب شور. حروف نامشابه روی اعداد نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.

تأثیر غلظت های تحت حاد دیازینون بر تعداد سلول های کلراید: بررسی و شمارش سلول های کلراید نشان داد که تعداد این سلول ها در تیمار ۰/۳ ppm دیازینون بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد بالاتر می باشد (شکل ۶ الف). در حالی که تعداد این سلول ها در تیمارهای ۰/۹ و ۱/۵ ppm به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد پایین تر بود ( $p < 0.05$ ) (شکل ۶ الف). بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور، تغییر معنی داری در تعداد این سلول ها در گروه های تیمار دیازینون مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ) در حالی که تعداد این سلول ها در گروه شاهد به طور معنی داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ) (شکل ۶ ب). در شکل ۷ سلول کلراید در یک مقطع بافت آبشش نشان داده شده است.



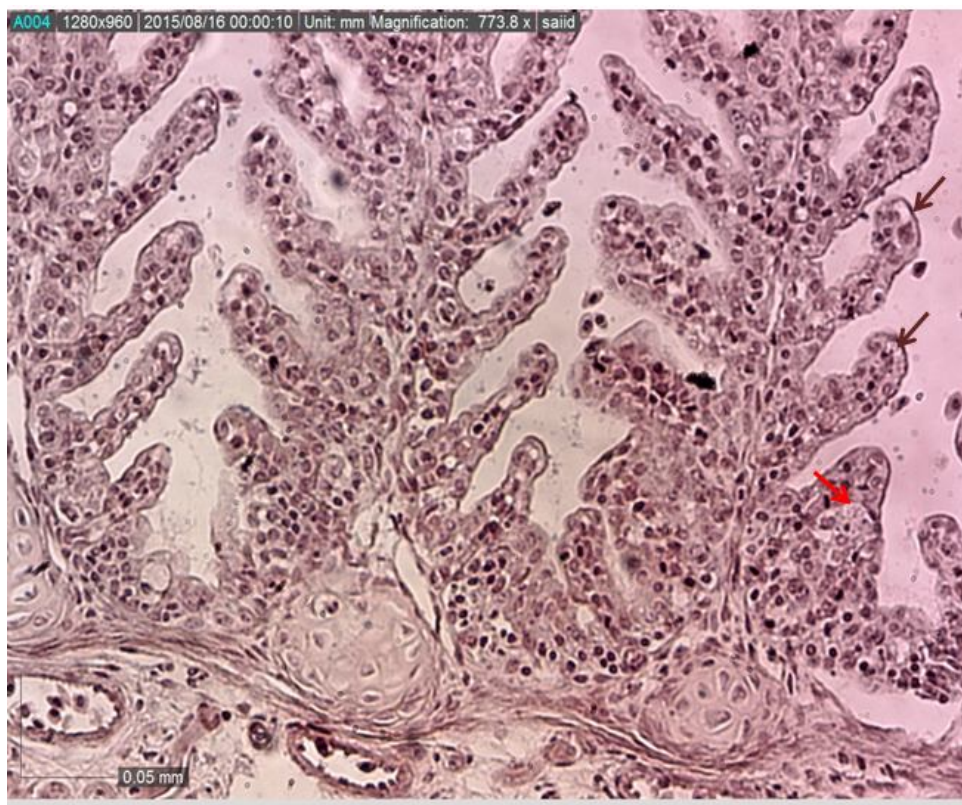
#### غلظت های دیازینون

شکل ۶ (الف): اثرات غلظت‌های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) بر تعداد سلول‌های کلراید آبشش در بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین. حروف نامشابه روی اعداد نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



#### غلظت های دیازینون

شکل ۶ (ب): اثرات غلظت‌های تحت حاد سم دیازینون (۰/۳، ۰/۹ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) بر تعداد سلول‌های کلراید آبشش در بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) (تعداد = ۱۰) بعد از ۲۴ ساعت مواجهه در آب لب‌شور. حروف نامشابه روی اعداد نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۷- مقطع بافت آبخش تاس ماهی ایرانی (*A. persicus*) پیکان قرمز یک سلول کلراید آبخش را نشان می دهد. بزرگنمایی: ۴۰۰

### بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر، بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین، میزان هورمون کورتیزول در تیمارهای سم (به جز تیمار ۰/۳ ppm سم) بالاتر از گروه شاهد بود. همچنین بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور، میزان کورتیزول در همه گروه ها افزایش یافت هرچند این افزایش تنها برای تیمارهای ۰/۹ و ۱/۵ ppm سم معنی دار بود. وارینگ و مور (Waring and Moore, 2004) نشان دادند که سطوح کورتیزول در ماهیان مواجهه با سم آترزین به صورت معنی داری بیشتر از گروه شاهد می باشد. نقش کورتیزول تولید انرژی در شرایط استرس است و این وظیفه از طریق فرآیند لیپولید و گلیکوژن و در نهایت تولید گلوکز انجام می شود (Sheridan, 1986; Saravanan *et al.*, 2011). در این مطالعه، افزایش سطوح کورتیزول ممکن است به خاطر نیاز به انرژی بیشتر در شرایط نامساعد مسمومیت باشد.

همچنین نتایج نشان داد بعد از انتقال بچه‌ماهیان به آب لب‌شور، سطح کورتیزول در همه گروه‌ها افزایش می‌یابد. این افزایش کورتیزول با توجه به ثابت بودن غلظت سموم احتمالاً به دلیل افزایش شوری می‌باشد. مطالعات مختلفی افزایش هورمون کورتیزول را به عنوان مهم‌ترین هورمون سازگاری با آب شور گزارش کرده‌اند که وظیفه آن تأمین انرژی لازم جهت انجام فرآیندهای فیزیولوژیک تنظیم اسمزی می‌باشد (Folmar and Dickhoff, 1981; Staurnes *et al.*, 1993; McCormick, 2001; Arjona *et al.*, 2008).

بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین، به جز تیمار ۰/۳ ppm سم، میزان سطوح گلوکز در همه تیمارهایی که در معرض سم دیازینون قرار گرفته بودند در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بودند. بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور، میزان گلوکز در همه گروه‌ها افزایش یافت هرچند این افزایش تنها برای تیمارهای ۱/۵ ppm سم معنی‌دار بود. در مطالعات قبلی افزایش میزان گلوکز خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Banaee *et al.*, 2011) کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Varanka *et al.*, 2001) و گربه‌ماهی (*Heteropneustes fossilis*) (Saha and Kaviraj, 2009) به ترتیب بعد از مواجهه با دیازینون، سولفات مس و ترکیب تانیک اسید و سیپرترین گزارش شده است. در شرایط مسمومیت، افزایش سطوح گلوکز جهت تأمین نیاز انرژی سم‌زدائی گزارش شده است (Saha and Kaviraj, 2009). در این مطالعه افزایش سطح گلوکز بعد از انتقال بچه‌ماهیان به آب لب‌شور با توجه به ثابت بودن غلظت سموم احتمالاً به دلیل افزایش شوری باشد. افزایش شوری موجب فعال‌سازی فرآیندها و مسیرهای بیوشیمیایی تنظیم اسمزی می‌شود که همه این فرآیندها نیاز به انرژی دارند. البته این افزایش گلوکز می‌تواند ناشی از افزایش هورمون کورتیزول باشد چرا که یکی از وظایف اصلی این هورمون تولید انرژی در شرایط استرس می‌باشد (Sheridan, 1986; Saravanan *et al.*, 2011).

مشابه گلوکز، میزان سطوح لاکتات در همه تیمارها (به جز تیمار ۰/۳ ppm سم) بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین به طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود. بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور، میزان لاکتات در همه گروه‌های آزمایش تغییر معنی‌داری را نشان نداد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که به دلیل شرایط بی‌هوای ناشی از تأثیر سم میزان لاکتات خون ماهی افزایش می‌یابد (Cohen *et al.*, 2001; Fasulo *et al.*, 2012). لذا در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که بالاتر بودن میزان لاکتات در تیمارهای سم نسبت به گروه شاهد به همین دلیل باشد. در تحقیق حاضر، میزان پروتئین کل خون بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین در تیمارهای دیازینون به طور معنی‌داری پایین‌تر از شاهد بود. بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور، تغییر معنی‌داری از نظر میزان پروتئین کل خون در هیچ‌کدام از گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد. به نظر می‌رسد که کاهش سطوح پروتئین کل در

تیمارهای سم نسبت به شاهد به دلیل مصرف آن جهت تأمین انرژی تنظیم اسمزی و استرس ناشی از تأثیر سم باشد (Huang *et al.*, 2006).

در مطالعه حاضر، سطوح کلسیم، سدیم و کلر بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین در تیمارهای سم (۰/۹ و ۱/۵ ppm) به طور معنی داری پایین تر از شاهد بود. همچنین بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور، مقادیر این یون ها به طور معنی داری در همه گروه های آزمایشی افزایش یافت. بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور، مقادیر یون ها شامل سدیم، کلر، منیزیم، کلسیم و پتاسیم به خصوص در غلظت های ۰/۹ و ۱/۵ ppm سم به طور معنی داری افزایش یافتند. محققین نشان دادند که میزان الکترولیت های خون ماهی کپور معمولی هنگام مواجهه با آفت کش کاهش می یابد (Suvetha *et al.*, 2010). نتایج مشابهی توسط داس و موخرجی (Das and Mukherjee, 2000) گزارش شد. آن ها تأیید کردند که میزان یون های مانند سدیم و منیزیم در خون بچه ماهیان رو هو (*Labeo rohita*) که در معرض سم دلتامترین قرار گرفته بودند به طور معنی داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. در مطالعه ما و مطالعات فوق، افزایش میزان یون های خون در آب شیرین و هنگام مواجهه با سم ممکن است به دلیل تخریب بافت آبشش در نتیجه سم و لذا خروج یون ها از محیط هایپر-اسمتیک بدن ماهی به محیط هیپو-اسموتیک آب شیرین باشد. همچنین افزایش یون های خون بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی بعد از ۲۴ ساعت مواجهه در آب شور احتمالاً به علت ورود یون ها از محیط هایپر-اسمتیک آب به محیط هیپو-اسموتیک بدن ماهی باشد (Khosravi Katuli *et al.*, 2014).

بررسی و شمارش سلول های کلراید در مطالعه ما نشان داد که تعداد این سلول ها در تیمار ۰/۳ ppm دیازینون بعد از ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد بالاتر می باشد. این افزایش تعداد سلول های کلراید در تیمار ۰/۳ ppm دیازینون ممکن است به خاطر جبران کاهش توان این سلول ها در تبادل یونی ناشی از تأثیر سم باشد. در تأیید این مطلب افزایش سلول های کلراید آبشش را پس از در معرض قرارگیری ماهیان با کلراید جیوه و سموم ارگانیک گزارش شده است (Wendelaar Bonga and Lock, 1991; Mallatt, 1985). با این وجود کاهش این سلول ها در تیمارهای ۰/۹ و ۱/۵ ppm سم ممکن است نشان دهنده این موضوع باشد که تأثیر سم دیازینون روی سلول های کلراید دارای یک آستانه غلظت است به طوری که در غلظت های بالای سم تزیاید سلول های کلراید کاهش می یابد (Khosravi Katuli *et al.*, 2014). بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با سم در آب شور، تغییر معنی داری در تعداد این سلول ها در گروه های تیمار دیازینون مشاهده نشد در حالی که تعداد این سلول ها در گروه شاهد به طور معنی داری افزایش یافت. افزایش تعداد سلول های کلراید در گروه شاهد می تواند در رابطه با افزایش شوری آب، تبادل بیشتر یون ها و لذا تنظیم اسمزی باشد. مطالعات مختلفی افزایش تعداد سلول های کلراید آبشش را در ارتباط با افزایش شوری آب گزارش کرده اند

(McCormick, 2001). همچنین عدم تأثیر شوری روی تعداد سلول‌های کلراید در تیمارهای مواجهه شده در آب شور ممکن است به دلیل تأثیر مخرب سم بر مکانیسم‌های دخیل در تزايد سلول‌های کلراید باشد (Khosravi Katuli et al., 2014).

در مجموع مطالعه حاضر نشان داد که سم دیازینون به خصوص در غلظت‌های بالا (شامل ۰/۹ و ۱/۵ ppm) می‌تواند شاخص‌های انرژی و تنظیم اسمزی خون بچه‌ماهی تاس‌ماهی ایرانی را قبل و در طول دوره سازگاری شوری تحت تأثیر قرار دهد. این تأثیرات عبارتند از (الف) ۹۶ ساعت مواجهه در آب شیرین: افزایش کورتیزول، گلوکز، لاکتات و تعداد سلول‌های کلراید (تنها برای تیمار ۰/۳ ppm سم) و کاهش یون‌ها ۲۴ ساعت مواجهه در آب شور: افزایش کورتیزول، گلوکز و یون‌ها. بنابراین تأثیر این سم بر توانایی اسمزی ممکن است در نهایت کارآیی عملیات بازسازی ذخایر این گونه را به طور مخربی تضعیف کند.

#### منابع

- Abdollah H.A., Tahori H.B. 2006. Fingerling production and release for stock enhancement of sturgeon in the Southern Caspian Sea: an overview. *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 125-131.
- Ahmadi-Mamqani Y., Khorasani N., Talebi K., Hashemi S.H., Rafiee G., Bahadori K.F. 2011. Diazinon fate and toxicity in the Tajan River (Iran) Ecosystem. *Environmental Engineering Science*, 28(12): 859-868.
- Arjona F., Vargas-Chacoff L., Martín del Río M., Flik G., Mancera J., Klaren P. 2008. The involvement of thyroid hormones and cortisol in the osmotic acclimation of (*Solea senegalensis*). *General and Comparative Endocrinology*, 155: 796-803.
- Asadi F., Hallajian A., Asadian P., Shahriari A., Pourkabir M. 2009. Serum lipid, free fatty acid, and proteins in juvenile sturgeons: (*Acipenser persicus*) and (*Acipenser stellatus*). *Comparative Clinical Pathology*, 18: 287-289.
- Banaee M., Sureda A., Mirvaghefi A., Ahmadi K. 2011. Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(1): 1-6.
- Caride A., Lafuente A., Cabaleiro T. 2010. Endosulfan effects on pituitary hormone and both nitrosative and oxidative stress in pubertal male rats. *Toxicology Letters*, 197: 106-112.
- Cohen A., Nugegoda D., Gagnon M.M. 2001. Metabolic responses of fish following exposure to two different oil spill remediation techniques. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 48: 306-310.
- Das B.K., Mukherjee S.C. 2000. A histopathological study of carp (*Labeo rohita*) exposed to hexachlorocyclohexane. *Veterinarski Arhiv*, 70(4): 169-180.

- Deane E.E., Woo N.Y.S. 2003. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp 70 and hsp 90 during silver sea bream larval development. *Life Sciences*, 72: 805-818.
- Fasulo S., Iacono F., Cappello T., Corsaro C., Maisano M., D'Agata A., Giannetto A., de Domenico E., Parrino V., Lo Paro G., Mauceri A. 2012. Metabolomic investigation of (*Mytilus galloprovincialis*) (Lamarck 1819) caged in aquatic environments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 84: 139-146.
- Folmar L.C., Dickhoff W.W. 1981. Evaluation of some physiological parameters as predictive indices of smoltification. *Aquaculture*, 23: 309-324.
- Hirose S., Kaneko T., Naito N., Takei, Y. 2003. Molecular biology of major components of chloride cells. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 136: 593-620.
- Huang X., Zhang L., Zhuang P., Zhang T., Zhao F., Feng G. 2006. Hematological parameters of Amur sturgeon, (*Acipenser schrencki*) during different salinity domestication. *Marine Fish*, 28: 177-184.
- Kaneko T., Watanabe S., Kyung M.L. 2008. Functional morphology of mitochondrion-rich cells in euryhaline and stenohaline teleosts. *Aqua-Bioscience Monographs*, 1(1): 1-62.
- Khosravi Katuli K., Amiri B.M., Massarsky A., Yelghi S. 2014. Impact of a short-term diazinon exposure on the osmoregulation potentiality of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fingerlings. *Chemosphere*, 108: 396-404.
- Lal B., Sarang M.K., Kumar P. 2012. Malathion exposure induces the endocrine disruption and growth retardation in the catfish, (*Clarias batrachus*). *General Comparative Endocrinology*, 181: 139-45.
- Lerner D.T., Björnsson B.T., McCormick S.D. 2007. Effects of aqueous exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) on physiology and behavior of smolt development of Atlantic salmon. *Aquatic Toxicology*, 81: 329-336.
- Mallatt J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42: 630-648.
- McCormick S.D. 2001. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. *American Zoology*, 41: 781-794.
- Monette M.Y., McCormick S.D. 2008. Impacts of short-term acid and aluminum exposure on Atlantic salmon (*Salmo salar*) physiology: a direct comparison of parr and smolts. *Aquatic Toxicology*, 86: 216-226.
- Olsvik P.A., Kroglund F., Finstad B., Kristensen T. 2010. Effects of the fungicide azoxystrobin on Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolt. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73: 1852-1861.
- Pourkazemi M. 2006. Caspian Sea sturgeon conservation and fisheries: Past present and future. *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 12-16.

- Rosseland B., Kroglund F., Staurnes M., Hindar K., Kvellestad A. 2001. Tolerance to acid water among strains and life stages of Atlantic salmon (*Salmo salar* Linnaeus, 1758). *Water, Air and Soil Pollution*, 130: 899–904.
- Saha S, Kaviraj A. 2009. Effects of cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation of ascorbic acid in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. *Chemosphere*, 74: 1254-1259.
- Saravanan M., Prabhu Kumar K., Ramesh M. 2011. Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish (*Cyprinus carpio*) (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100: 206-211.
- Sheridan M.A. 1986. Effects of thyroxin, cortisol, growth hormone, and prolactin on lipid metabolism of Coho salmon, (*Oncorhynchus kisutch*), during smoltification. *General and Comparative Endocrinology*, 64: 220-238.
- Staurnes M., Blix P., Reite O.B. 1993. Effects of acid water and aluminum on parr-smolt transformation and seawater tolerance in Atlantic salmon, (*Salmo salar* Linnaeus, 1758). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50: 1816–1827.
- Suvetha L., Ramesh M., Saravanan M. 2010. Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase activity of a freshwater teleost fish (*Cyprinus carpio*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 29: 44–49.
- Varanka Z., Rojik I., Varanka I., Nemcsók J., Ábrahám M. 2001. Biochemical and morphological changes in carp (*Cyprinus carpio* L.) liver following exposure to copper sulfate and tannic acid. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 128: 467–477.
- Waring C.P., Moore A. 2004. The effect of atrazine on Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts in fresh water and after sea water transfer. *Aquatic Toxicology*, 66: 93-104.
- Wendelaar Bonga S., Lock R. 1991. Toxicants and osmoregulation in fish. *Netherlands Journal of Zoology*, 42: 2–3.
- Xing H., Li S., Wang Z., Gao X., Xu S., Wang X. 2012. Histopathological changes and antioxidant response in brain and kidney of common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos. *Chemosphere*, 88: 377–383.