بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد پنجم، شماره اول، بهار ۱۳۹۵
http://japu.gau.ac.ir

تأثیر سموم آزینفوس متیل و دیازینون بر پبرخی شاخص‌های بیوشیمیایی و خون‌شناسی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*)

خیراله خسروی کتولی*

دانشجوی دکتری، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، پردیس علوم کشاورزی و منابع طبیعی تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰٤/۰٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۰۳

چکیده

آزینفوس متیل و دیازینون از جمله آفت‌کش‌هایی هستند که در رودخانه‌های گرگان رود و قره‌سو استان گلستان گزارش شده‌اند. در این مطالعه تأثیرات تحت حاد این سموم بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی و خون‌شناسی ماهی کلمه مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه پس از تعیین غلظت کشنده دیازینون و آزینفوس متیل، ماهیان به‌مدت ١٤ روز در معرض غلظت‌های تحت حاد قرار گرفتند و نمونه‌برداری در روزهای ۷ و ١٤ انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تحت تأثیر این دو آفت کش، میزان آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در مقایسه با گروه شاهد افزایش داشت. همچنین مقایسه بین دو آلاینده نشان‌دهنده افزایش بیشتر فعالیت این آنزیم‌ها در مواجهه با دیازینون بود. با توجه به نتایج، پس از در معرض قرارگیری با دیازینون و آزینفوس متیل، هموگلوبین و همچنین گلبول‌های قرمز کاهش معنی‌داری یافتند اما تعداد گلبول‌های سفید افزایش نشان داد. همچنین در این مطالعه مشخص شد که تحت تأثیر این دو آفت‌کش شاخص‌های خونی حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، مقدار وزن هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCH)، و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) در مواجهه با غلظت‌های دیازینون و آزینفوس متیل کاهش یافتند اما اختلافی بین این پارامترها در دو این دو آفت‌کش وجود نداشت. با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت دیازینون در غلظت‌های پایین‌تر

*مسئول مکاتبه: Khosravi.kh@ut.ac.ir

باعث ایجاد سمیت حاد در ماهیان شده و سمیت بیشتری دارد. همچنین غلظت‌های تحت حاد دیازینون و آزینفوس متیل که نزدیک به غلظت آن‌ها در طبیعت نیز می‌باشند، منجربه تأثیرات مخرب در دامنه وسیعی از پارامترهای خونی در ماهی کلمه می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: سموم کشاورزی، آنزیم‌های کبدی، سلول‌های خونی، ماهی استخوانی

مقدمه

با توجه به توسعه کشاورزی در ایران طی ۳ دهه اخیر، آفت‌کش‌های متعددی در دسترس کشاورزان قرارگرفته است که بر اساس اطلاعات به‌دست آمده از وزارت جهاد کشاورزی این میزان بیش از ۲۵۳۷۳۷۱ لیتر از انواع آفت‌کش‌ها بوده است (گزارش سالانه، ۲۰۶). در این بین آفت‌کش‌هایی از جمله دیازینون در آزینفوس متیل در آب‌های سطحی کشورهای مختلفی از جمله ایران نیز گزارش‌شده است (شایقی و همکاران، ۲۰۰۶). در حقیقت این سموم یا به‌طور مستقیم و یا غیرمستقیم و از طریق ذهکشی خود را به محیط‌های آبی می‌رسانند (مورفی و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین پیش‌بینی شده است که با افزاش توسعه کشاورزی، به‌خصوص در کشورهای در حال توسعه میزان رهاسازی این سموم در مزارع بیشتر خواهد شد (کاویتا و همکاران، ۲۰۰۸). تغییرات ترکیب شیمیایی آب‌های سطحی می‌تواند باعث تغییرات در ترکیب گونه‌ای محیط‌های آبی مختلف شود. بسیاری از این ترکیبات و یا ترکیبات مشتق شده از آن‌ها باعث تغییرات در عملکرد فیزیولوژیک موجود از جمله اختلال در عملکرد هورمونی و آنزیمی می‌شود (سوتا و همکاران، ۲۰۱۰).

در سال‌های اخیر، مطالعات زیادی روی تأثیرات این آلاینده‌ها روی آبزیان مختلف هم در ایران و هم در جهان انجام شده است و از عوامل بیوشیمیایی خونی به‌عنوان شاخصی برای نشان دادن وضعیت آلودگی آب‌ها در محیط و همچنین سلامت موجودات استفاده کرده‌اند (جست زبسکا، پروتاسوویزکیز و همکاران، ۲۰۰۷). از جمله آنزیم‌هایی به‌طور گسترده مورد برای پایین سلامت آبزیان در معرض قرارگرفته با آلاینده‌ها مورد بررسی قرار گرفته است، آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) است که هم در خون و هم در بافت‌ها مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در واقع پاسخ به عوامل آلوده کننده به‌صورت تغییر در میزان فعالیت برخی آنزیم‌ها انعکاس پیدا می‌نماید که این تغییرات می‌تواند به‌عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی

حساس در سم‌شناسی آبزیان و همچنین به‌عنوان علامت هشدار زود هنگام از آلودگی آب مورد استفاده قرار بگیرد (پتروویک و همکاران، ۱۹۹۶). ALT و AST نقش مهمی در متابولیسم کربروهیدراوت‌ها و پروتئین‌ها ایفا می‌کنند (راو، ۲۰۰۶)، همچنین LDH آخرین آنزیم مسیر گلیکولیز بی‌هوازی در مهره‌داران است و یکی از آنزیم‌هایی است که در تشخیص آسیب‌های کبد، عضله و آبشش و همچنین تعیین میزان مسمیومیت از طریق خون در ماهیان کاربرد دارد.

با توجه به جریان خون در تمام بدن ماهیان، اندازه‌گیری پارامترهای مختلف خون‌شناسی می‌توان انعکاس دهنده وضعیت سلامت ماهیان در مواجهه با آلاینده‌های مختلف باشد (مولکاهی، ۱۹۷۵) همچنین در مطالعات مختلف برای پایش میزان آلودگی محیطی، از پارامترهای خونی به‌عنوان شاخص استفاده‌شده است (سووتا و همکاران، ۲۰۱۰). عوامل مختلف خون‌شناسی از جمله هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و همچنین شاخص‌های مختلف خونی مثل حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، مقدار وزن هموگلوبین در یک گلبول‌قرمز (MCH)، و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) برای ارزیابی استرس ناشی از آلودگی محیطی به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند (ال–سید و همکاران، ۲۰۰۷).

ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) یکی از گونه‌های بومی دریای خزر می‌باشد که بیشترین جمعیت آن در جنوب شرقی دریای خزر (استان گلستان) و به‌خصوص در رودخانه قره‌سو زیست می‌کند (کود، ۱۹۸۰). به‌دلیل این‌که ماهی کلمه در اوایل زنجیره غذایی قرار داشته و طعمه خوبی برای ماهیان باارزشی مانند خاویاری، سوف و اردک‌ماهی است، ارزش اکولوژیکی بسیاری دارد و همچنین این ماهی برای مردم ساحل‌نشین و صیادان نیز ارزش اقتصادی هم دارد. در سال‌های اخیر به دلایل مختلف (صید زیاد، آلودگی مناطق تخم‌ریزی، کاهش مهاجرت تولیدمثلی) میزان ذخایر ماهی کلمه به‌شدت کاهش یافته است. به‌همین خاطر سازمان شیلات ایران جهت تأمین و حفظ ذخایر آن‌ها دریای خزر، با تولید چندین میلیون قطعه بچه ماهی انگشت قد در سال و رهاسازی آن به رودخانه‌های منتهی به دریا اقدام به بازسازی ذخایر این‌گونه کرده است.

با توجه این‌که فعالیت اقتصادی اصلی مردم در شمال کشور و استان گلستان کشاورزی هست، مصرف سموم دفع آفات نباتی در این استان بالاست و این استفاده زیاد از این سموم، احتمال ورود آن‌ها را به محیط آبی افزایش می‌دهد به‌طوری که در رودخانه‌های قره‌سو و گرگان رود که محل رهاسازی بچه ماهیان استخوانی از جمله کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) هست، غلظت‌های بالای

دیازینون و آزینفوس متیل گزارش شده است (سم دیازینون در گرگان رود و قره‌سو به‌ترتیب ۲۲/٤ و ٦/٧٤ میلی‌گرم بر لیتر، همچنین غلظت سم آزینفوس متیل در رودخانه‌های گرگان رود و قره‌سو به ترتیب تقریباً ١٤/٧٠ میلی‌گرم در لیتر) (شایقی و همکاران، ٢٠٠٦). بنابراین با توجه به اهمیت ماهی کلمه برای مردم منطقه و همچنین محیط‌زیست و از طرفی فقدان اطلاعات کافی از تأثیرات این سموم بر برخی از آنزیم‌های شاخص و سایر شاخص‌های خونی، هدف از انجام این مطالعه بررسی فاکتورهای مختلف بیوشیمایی و خون‌شناسی ماهی کلمه، جهت بررسی وضعیت سلامت این ماهی در مواجهه با غلظت‌های محیطی سموم دیازینون و آزینفوس متیل هست.

مواد و روش

ماهی کلمه با میانگین وزنی ۰/۹۳±۱۰ گرم و طول کل ۱/۰۲±۱۳ سانتی‌متر از کارگاه تکثیر ماهیان استخوانی سیجوال (استان گلستان، ایران) تهیه شد. برای سازگاری ماهیان با شرایط آزمایشگاهی، قبل از شروع آزمایش ماهیان به‌مدت دو هفته در مخازن ۱۰۰۰ لیتری با رژیم نورانی ١٤ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی نگهداری شدند. آب مخازن به‌طور دائم هوادهی شدند به‌طوری که اکسیژن ۷ میلی‌گرم در لیتر و اسیدیته نیز ۷/۸ بود.

تعیین غلظت کشنده: سم دیازینون و آزینفوس متیل با خلوص ۹۹> درصد از شرکت پرتونور (تهران، ایران) خریداری شد. کشندگی حاد بر اساس استاندارد شماره ۲۰۳ OECD[1] انجام شد. غلظت‌های اسمی که در این مطالعه از آن‌ها استفاده شد شامل ۰ (شاهد)، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر برای دیازینون و ۰ (شاهد)، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ٦٠ میلی‌گرم در لیتر برای آزینفوس متیل بود. از ٢٤ ساعت قبل از شروع آزمایش و همچنین هنگام در معرض قرارگیری ماهیان در این مطالعه غذادهی ماهیان قطع گردید. سه تکرار برای هر غلظت در نظر گرفته شد و ۱۰ ماهی به هر مخزن فایبرگلاس محتوی ۱۰۰ آب به‌صورت تصادفی اضافه گردید. تلفات ماهیان در ساعات ٢٤، ٤٨، ٧٢ و ٩٦ ثبت گردید و سپس خارج گردیدند. غلظت کشنده ۵۰ درصد[2] با استفاده از آنالیز Probit محاسبه شد (بنایی و همکاران، ۲۰۱۱).

1- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)
2- Lethal Concentration (LC_{50})

در معرض‌گذاری: ۲۰ درصد غلظت کشنده، به‌عنوان غلظت تحت کشنده دیازینون و آزینفوس متیل برای ماهی کلمه در نظر گرفته شد و ماهیان به‌مدت ١٤ روز در معرض قرار گرفتند در زمان در معرض قرارگیری ماهیان در مواجهه با غلظت‌های تحت حاد ۲۰ درصد از آب مخازن روزانه تعویض شدند و غلظت سم تعویضی محاسبه و دوباره به مخازن اضافه شد.

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری در روزهای ۷ و ١٤ روز انجام گرفت برای این منظور، ماهیان با استفاده از ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک بی‌هوش و سپس کشته شدند. سپس با سرنگ‌های آغشته به ماده ضد انعقاد خونه ماهی نمونه‌برداری شد و سپس نمونه‌های خون جهت استحصال پلاسما، در دستگاه سانتریفوژ با سرعت ٤۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. پس از جداسازی پلاسما تا زمان انجام آزمایشات مربوطه در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سنجش آنزیمی و خون‌شناسی: اندازه‌گیری آنزیم‌های ALT، AST و ALP با استفاده از کیت شرکت زیست شیمی و با استفاده از دیستگاه اتوآنالایزر صورت گرفت. سطح فعالیت آنزیم‌های AST و ALT در این مطالعه بر اساس مصرف NADPH و تبدیل آن به NAD^+ در طول موج ٣٤۰ نانومتر، ALP برا اساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نتیروفنول و فسفات و در طول موج ٤٥۰ نانومتر تعیین شد.

گلبول‌های قرمز و سفید بر اساس روش هماستومتر اندازه‌گیری شدند (روسیا و سود، ۱۹۹۲). هموگلوبین با استفاده از روش میکروهماتوکریت اندازه‌گیری شد (درابکین، ١٩٤٦). همچنین شاخص‌های خونی مثل MCV، MCH و MCHC بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد (نلسون، ۱۹۸۳).

1- $MCV=\frac{HTC\ (\%)}{RBC\ (millions \times cu\ mm \times 106\ )} \times\ 100$

2- $MCH=\frac{Hb\ (g/dl)}{RBC\ (millions \times cu\ mm \times 106\ )} \times\ 100$

3- $MCHC=\frac{Hb\ (g/dl)}{HCT\ (\%)} \times\ 100$

تجزیه و تحلیل آماری: قبل از انجام تجزیه‌وتحلیل، برای ایجاد حالت همگنی در نمونه از آزمایش کلموگروف- اسمیرنوف[1] استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز آماری ANOVA

1- Kolmogorov-Smirnov

یک‌طرفه انجام گرفت و جهت بررسی اختلافات معنی‌دار از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

همان‌طور که از نتایج تعیین غلظت کشنده مشخص است (جدول ۱)، غلظت حاد دیازینون باگذشت زمان کاهش پیدا کرد به‌طوری که از ۲۵/٦ در ساعت ۲٤، به ۱۰/۷۸ میلی‌گرم در لیتر در ساعت ۹٦ رسید. روند مشابهی نیز در مورد آزینفوس متیل مشاهده شد. غلظت حاد ۵۰ درصد دیازینون، در زمان‌های ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت به‌ترتیب برابر بود با ۲۵/٦، ۱٦/۱۲، ۱۲/۰۲ و ۱۰/۷۸ میلی‌گرم در لیتر، این غلظت‌ها برای آزینفوس متیل به‌ترتیب برابر بود با ٤۹/۳۲، ۳۵/٤، ۲۹/٦۲ و ۲۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر.

جدول ۱- غلظت کشنده ۵۰ درصد دیازینون و آزینفوس متیل در زمان‌های ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت برای ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*).

نام سم	غلظت (mg/l)	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹٦ ساعت
آزینفوس متیل	LC_{10}	۳۱/۲٤	۲۳/۱۲	۱۸/۹٤	۱۵/۸۳
	LC_{50}	٤۹/۳۲	۳۵/٤	۲۹/٦۲	۲۰/۱۲
	LC_{90}	۵۸/۳۹	٤۱/۱۲	۳٤/۰۲	۲۷/۱۷
دیازینون	LC_{10}	۱٦/۷۸	۱۱/۵٦	۹/۹۸	۷/٤۱
	LC_{50}	۲۵/٦	۱٦/۱۲	۱۲/۰۲	۱۰/۷۸
	LC_{90}	۳۷/۵۸	۲۳/۱۵	۱۹/۹۱	۱٦/۸۵

همان‌طور که از نتایج مشخص است، تحت تأثیر غلظت‌های تحت حاد دیازینون و آزینفوس متیل میزان فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP در مقایسه با گروه شاهد افزایش پیدا کردند ($p<۰/۰۵$) (شکل ۱). همچنین تحت تأثیر سموم، میزان فعالیت آنزیم‌ها در ماهیان در معرض قرارگرفته با دیازینون و آزینفوس متیل با هم اختلاف داشت، به‌طوری که پس از ۱٤ روز در معرض قرارگیری، میزان فعالیت ALT در دیازینون بیشتر از آزینفوس متیل هست ($p<۰/۰۵$) (شکل ۱- الف). همچنین

در آنزیم‌های AST و ALP میزان فعالیت آنزیم‌ها در زمان‌های ۷ و ۱٤ روز، در ماهیان در معرض قرارگرفته با دیازینون بیشتر از آزینفوس متیل بود (شکل ۱- ب، پ).

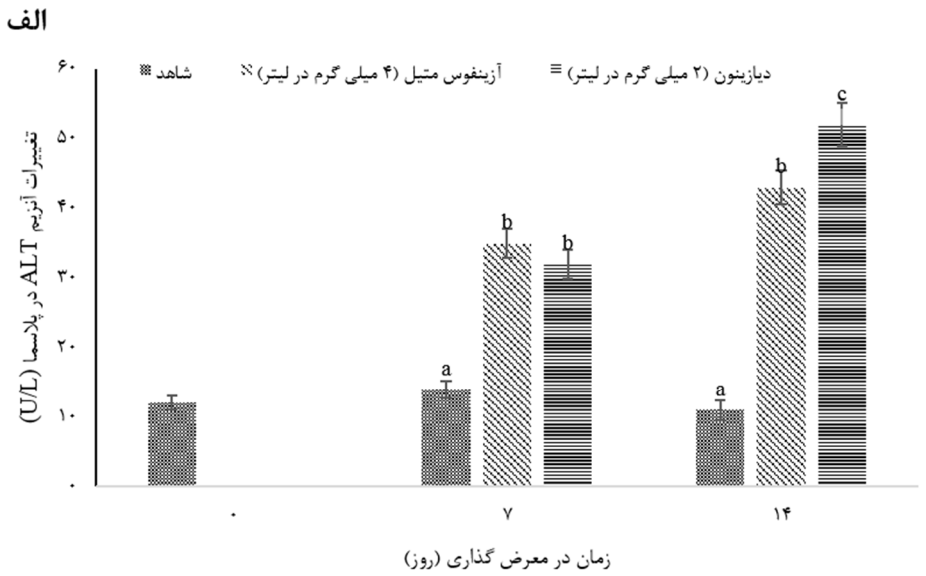
جدول ۲- تغییرات عوامل خون‌شناسی در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) در معرض قرار گرفته با غلظت تحت حاد دیازینون و آزینفوس متیل.

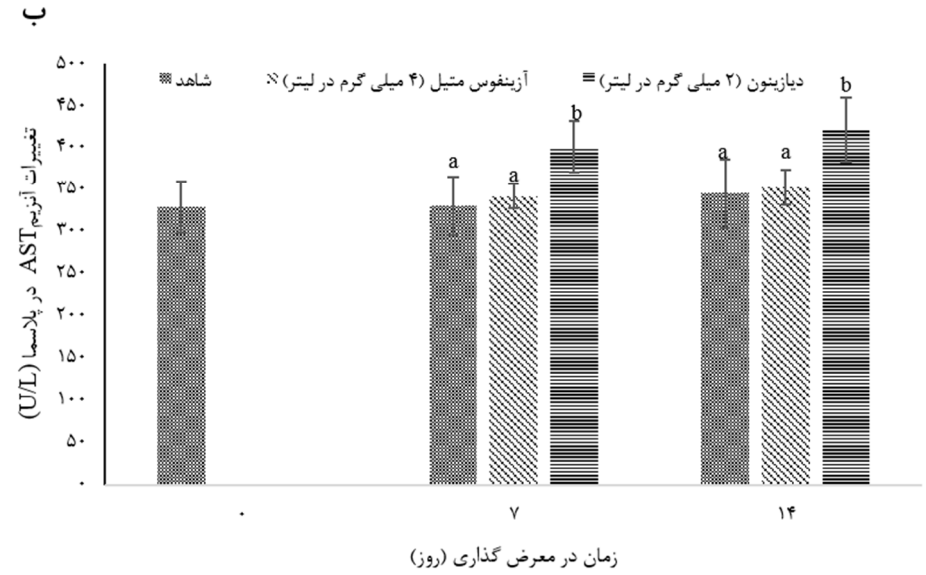
عوامل خون‌شناسی	زمان در معرض‌گذاری (روز)	نوع آفت‌کش		
		شاهد	آزینفوس متیل (٤ میلی‌گرم در لیتر)	دیازینون (۲ میلی‌گرم در لیتر)
تعداد گلبول‌های سفید (1000/cu mm)	۷	۳/۵۸±۰/۲٦^{a}	٦/۵٦±۰/۲۵^{b}	۵/۸۹±۰/۳۷^{b}
	۱٤	۳/۷۳±۰/۹۵^{a}	٦/۸۷±۰/٦٤^{b}	٦/۳۹±۰/۱۵^{b}
تعداد گلبول‌های قرمز (million /cu mm)	۷	۰/۷٤۵±۰/۰۳۷^{b}	۰/۵٦۰±۰/۰۲٤^{a}	۰/٤۸۹±۰/۰۵۷^{a}
	۱٤	۰/۸۱۲±۰/۰٤۸^{b}	۰/٦٤۲±۰/۰۸۹^{a}	۰/۵۵۰±۰/۰۹۲^{a}
هموگلوبین (g/dl)	۷	۹/۵۳±۰/۲۵^{b}	٤/۸۹±۰/۳۲^{a}	۵/۰۱±۰/٤۲^{a}
	۱٤	۸/۱٦±۰/۳٦^{b}	۵/۳۹±۰/۲۱^{a}	۵/٤۳±۰/٤۵^{a}
(fl) MCV	۷	۲۰۵/۵۳±۱۵/۲٤^{b}	۹۲/۳۱±۱٦/۵٤^{a}	۹۲/۳۱±۸/۳٤^{a}
	۱٤	۱۸٦/۵۷±۳۲/۹٤^{b}	۹۹/٤۷±۱٤/۱٦^{a}	۱۰۸/۲٦±۱۱/۲۸^{a}
(picograms) MCH	۷	۸٤/۱۲±٦/٤۷^{b}	۷٦/۱۹±۸/۵۲^{b}	٦۸/۱۳±۷/۲۲^{a}
	۱٤	۹۱/۵۱±۹/۱۱^{b}	۸٤/٤۲±۹/۷۳^{ab}	۷۳/۳۲±۵/٤۲^{a}
(g/dl) MCHC	۷	۳۸/۵۳±۵/۲۵^{b}	۲۷/۷۸±۳/۱۸^{ab}	۲۹/۱۵±۲/۱٦^{ab}
	۱٤	۳٦/۷٤±٤/۱۲^{b}	۲۹/۳۸±٤/۱۳^{ab}	۲۷/٤۲±٤/۸۱^{a}

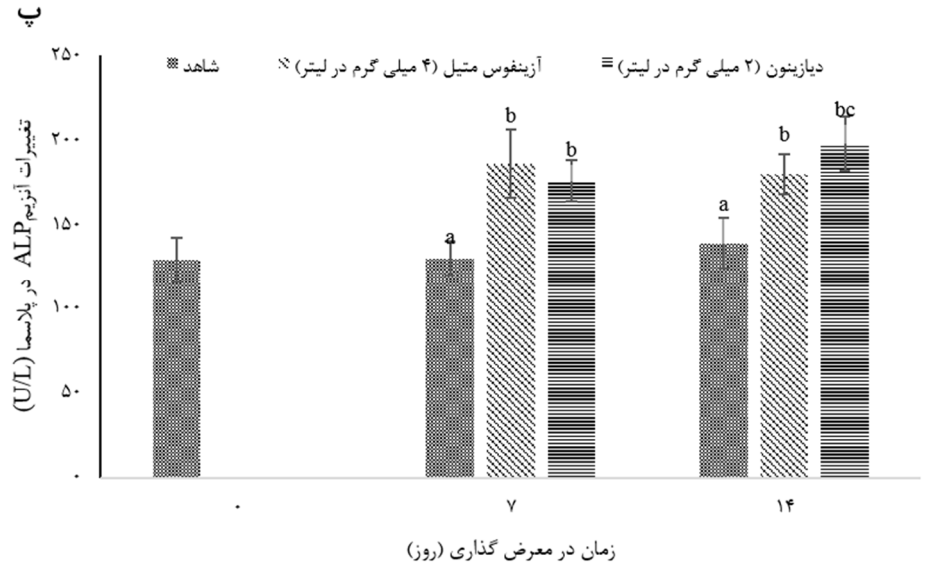
در هر ردیف حروف لاتین غیر مشترک نشانه معنی‌دار بودن است (P<۰/۰۵).

نتایج این مطالعه نشان داد پس از در معرض قرارگیری با دیازینون و آزینفوس متیل، تعداد گلبول‌های سفید در ماهیان در معرض قرارگرفته با هر دو سم افزایش پیدا کردند (p<۰/۰۵) اما تغییرات آن‌ها نشان داد که اختلافی بین دیازینون و آزینفوس متیل وجود ندارد (جدول ۲) (p>۰/۰۵). نتایج نشان داد که پس از در معرض قرارگیری با سموم، تعداد گلبول‌های قرمز و همچنین هموگلوبین در مقایسه با ماهیان گروه شاهد کاهش یافت (p<۰/۰۵) اما بین خود آلاینده‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p<۰/۰۵). همچنین تغییرات شاخص‌های خونی MCV، MCH و MCHC نشان داد

که پس از ۷ و ١٤ روز از در معرض قرارگیری با دیازینون و آزینفوس متیل، در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). نتایج این مطالعه نشان داد به استثناء MCH در روز ۷، هیچ اختلاف معنی‌داری بین دو سم وجود نداشت ($p>۰/۰۵$).







شکل ۱ (الف- پ)- تغییرات آنزیم‌های ALT، AST و ALP در در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) در معرض قرارگرفته با غلظت تحت حاد دیازینون و آزینفوس متیل.

بحث

هدف از این مطالعه بررسی تأثیرات غلظت‌های تحت حاد سموم دفع آفات دیازینون و آزینفوس متیل، به‌عنوان سموم موجود در آب‌های سطحی، بر برخی پامترهای بیوشیمیایی و خون‌شناسی ماهی کلمه بود. نتایج این مطالعه نشان داد که در هر دو آفت‌کش با گذشتن زمان میزان غلظت کشنده ۵۰ درصد کاهش یافت به‌طوری که بیشترین مقدار در ساعت ٢٤ و کمترین مقدار در ساعت ٩٦ گذارش شد. همان‌طور که از غلظت‌های مؤثر مشخص است (جدول ۱)، میزان سمیت دیازینون بیشتر از آزینفوس متیل هست و در واقع در غلظت‌های پایین‌تری تأثیرات کشندگی خود را اعمال می‌کند. غلظت حاد دیازینون و آزینفوس متیل برای گونه‌های مختلف ماهیان در مطالعات مختلف محاسبه شده است (شارما، ۱۹۹۰؛ گونگا و همکاران، ۲۰۰٤؛ فراری و همکاران، ۲۰۰٤؛ آروف و همکاران، ۲۰۰۷)، اما با توجه تأثیرگذاری شرایط گونه‌ای، سنی و همچنین محیطی بر این غلظت (آروف و همکاران، ۲۰۰۷)، در این مطالعه نیز غلظت حاد ۵۰ درصد و ٩٦ ساعته محاسبه شد و غلظت‌های تحت حاد بر اساس آن انتخاب گردیدند.

آسپارتات آمینو ترانسفار (AST) و آلانین امینو ترانسفراز (ALT) در بافت‌های مختلف از جمله کبد، قلب، ماهیچه‌های اسکلتی، کلیه، پانکراس، طحال و گلبول‌های قرمز ماهیان وجود دارد (باتاچاریا و همکاران، ۲۰۰۸). معمولاً این آنزیم در قسمت میتوکندری سلول‌ها یافت می‌شود و بیشترین تجمع را نیز در بافت کبد دارند. بنابراین آسیب به بافت‌های حاوی این آنزیم‌ها، منجر به رهاسازی آن‌ها در خون و به دنبال آن افزایش سطح آن‌ها در پلاسما می‌شود (پتروویک و همکاران، ۱۹۹٦). با توجه به این موضوع، احتمالاً افزایش مقادیر این آنزیم‌ها در مواجهه با آزینفوس متیل و دیازیون ناشی از اثرات مخرب این سموم بر بافت‌های حاوی این آنزیم‌ها هست. آنزیم‌های AST و ALT نقش مهمی در روند تجزیه پروتئین دارند و از این طریق در تولید آلکالین فسفاتاز (ALP) نیز دخالت دارند (پتروویک و همکاران، ۱۹۹٦). این موضوع نشان‌دهنده این هست که این آنزیم‌ها نقش زیادی در مصرف اسیدهای آمینه در فرآیند گلوکوژنز دارند) (رائو، ۲۰۰٦). (افزایش آنزیم‌های AST و ALT در خون ماهی اشلمبو (*H. fossilis*)، ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*)، گربه‌ماهی آفریقایی (*C. batrachus*) و همچنین ماهی سرماری (*C. punctatus*) تحت تأثیر آلاینده‌ها گزارش‌شده است (ساستری و شارما، ۱۹۸۰؛ ون در و همکاران، ۲۰۰۳؛ پلنیولو و همکاران، ۲۰۰۵؛ اگراهری و همکاران، ۲۰۰۷). ALP آنزیمی است که در اپی تلیوم مجاری صفراوی، مخاط رود، کلیه‌ها و همچنین سلول‌های کبدی یافت می‌شود. با توجه به محل تجمع این آنزیم، می‌توان انتظار داشت که تحت تأثیر آلاینده‌ها، این آنزیم از محل تجمع خود خارج شود و در خون تجمع پیدا کند (اگراهری و همکاران، ۲۰۰۷). در این مطالعه، بررسی بافتی انجام نگرفت، اما بر اساس مطالعات پیشین، احتمالاً آسیب‌های وارده به کبد و انسداد مجاری صفراوی باعث افزایش سطح این آنزیم در خون شده است (ال- سید و ساد، ۲۰۰۸؛ ساها و کاویراج، ۲۰۰۹). افزایش آنزیم ALP در ماهیان *Rhamdia quelen*، تیلاپیا (*O. niloticus*)، اشلمبو (*H. fossilis*)، و ماهی سرماهی (*Channa punctatus*) به‌ترتیب در تماس با سیپرمترین، دلتامترین، سیپرمترین و قارچ‌کش آغشته به جیوه افزایش پیدا کردند (رام و ساتیانسام، ۱۹۸۷؛ بورگس و همکاران، ۲۰۰۷؛ ال- سید و ساد، ۲۰۰۸؛ ساها و کاویراج، ۲۰۰۸).

خون یکی از بهترین شاخص‌ها برای نشان دادن استرس‌های محیطی است و تجزیه‌وتحلیل پارامترهای خون‌شناسی در آبزیان به‌طور گسترده‌ای برای بررسی اثرات سم‌شناسی آلاینده‌ها بر سلامت آبزیان استفاده‌شده است (کاویتا و همکاران، ۲۰۱۰). کاهش هموگلوبین در ماهیان در معرض قرارگرفته ممکن است به‌خاطر اختلال در فرآیند خون‌سازی و همچنین تخریب غشاء سلول‌های قرمز

هست (سووبودوا و همکاران، ۱۹۹۷). تحلیل بیشتر گلبول‌های قرمز با توجه به استرس ناشی از سموم، ممکن است باعث کاهش بیشتر هموگلوبین در ماهیان شده باشد (کوری- سیکپرا و همکاران، ۲۰۰۸). در این پژوهش کاهش میزان هموگلوبین هنگام در معرض قرارگیری ماهیان با غلظت‌های تحت حاد دیازینون و آزینفوس متیل ممکن است به‌خاطر انقباض گلبول‌های قرمز باشد. کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در ماهیان در معرض قرارگرفته با غلظت‌های حاد و تحت حاد دیازینون و آزینفوس متیل نشان‌دهنده این است که این سموم باعث تخریب تنظیم اسمزی و همچنین آسیب به بافت آبشش ماهیان در معرض قرارگرفته شده است. از دیگر دلایل کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، محدودسازی تولید این سلول‌ها در ماهیان در معرض قرارگرفته شده هست (ال-سید و همکاران، ۲۰۰۷). گلبول‌های سفید در کنترل فعالیت‌های ایمنی در ماهیان در معرض قرار گرفته ایفای نقش می‌کنند، و با توجه به افزایش تعداد این گلبول‌ها، می‌توان گفت سیستم ایمنی ماهی فعالیت بیشتری از خود نشان می‌دهد و در واقع سموم یاد شده باعث تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی شده‌اند. به‌طورکلی، افزایش تعداد گلبول‌های قرمز پس از در معرض قرارگیری موجودات زنده با آلاینده‌ها اتفاق می‌افتد (ال-سید و سا، ۲۰۰۷). در معرض‌گزاری گربه‌ماهی اروپایی با دیازینون شاخص‌های خونی حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، مقدار وزن هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCH)، و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) در مقایسه با گروه شاهد کاهش داشتند (کپروکو و همکاران، ۲۰۰۶). مشابه با این مطالعه، در مطالعه حاضر نیز شاخص‌های خون در تیمارهای در معرض قرار گرفته در مقایسه با گروه شاهد کاهش پیدا کردند. افزایش تعداد گلبول‌های سفید در این مطالعه، می‌تواند به‌عنوان پاسخی برای MCV در ماهیان در معرض قرارگرفته باشد (جست زبسکا، پروتاسوویزکیز و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین کاهش MCV و MCH در این مطالعه می‌تواند ناشی از انقباض گلبول‌های قرمز باشد (فلچر، ۱۹۷۵). همچنین کاهش میزان MCHC در این مطالعه احتمالاً به‌خاطر کاهش تولید هموگلوبین تحت تأثیر سموم باشد (میکو، ۱۹۸۲)، همچنین دلیل دیگری که می‌تواند این تغییر را توضیح دهد، انقباض گلبول قرمز و به دنبال آن کاهش حمل اکسیژن هست که در ادامه منجر به کاهش MCHC می‌شود (ناسی و همکاران، ۱۹۹۵).

جمع‌بندی

نتایج این مطالعه نشان داد که در معرض قرارگیری ماهیان کلمه با سموم دفع آفات نباتی دیازینون و آزینفوس متیل باعث تغییر معنی‌دار پارامترهای بیوشیمیایی و خون‌شناسی در آن‌ها می‌شود. تغییرات

این پارامترها نشان‌دهنده آسیب‌پذیر بودن ماهی کلمه نسبت به غلظت‌های پایین این سموم هست و همچنین با توجه به نتایج می‌توان گفت که سم دیازینون تأثیر مخرب بیشتری روی ماهیان در معرض قرار گرفته داشت. از آنجایی که غلظت‌های تحت حاد سموم دیازینون و آزینفوس متیل در رودخانه قره‌سو و گرگان رود استان گلستان که محل رهاسازی بچه ماهیان کلمه نیز هست، گزارش شده است و با توجه به نتایج این مطالعه که نشان‌دهنده تخریب فرآیندهای مختلف فیزیولوژیک ماهی کلمه تحت تأثیر این سموم هست، نیاز به توجه بیشتر به در خصوص به‌کارگیری بیش‌ازحد این سموم هست. پیشنهاد می‌شود برای بررسی هرچه بهتر تأثیرات آلاینده‌های مورد استفاده در این مطالعه، مطالعات دیگری روی ماهیان رهاسازی شده در محیط طبیعی انجام شود تا با اطلاعات دقیق‌تری بتوان وضعیت ماهیان را در مواجه با غلظت این سموم بررسی کرد.

منابع

1. Agrahari, S., Pandey, K.C., and Gopal, K. 2007. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). Pes. Biochem. Physiol. 88(3): 268-272.
2. Annual Report of performance of the Ministry of Agriculture of Iran, (2005–2006), Pp: 215–217.
3. Arufe, M.I., Arellano, J.M., García, L., Albendín, G., and Sarasquete, C. 2007. Cholinesterase activity in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae: characterization and sensitivity to the organophosphate azinphosmethyl. Aquat. Toxicol. 84(3): 328-336.
4. Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., and Ahmadi, K. 2011. Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Pes Biochem Physiol, 99(1): 1-6.
5. Bhattacharya, H., Xiao, Q., and Lun, L. 2008. Toxicity studies of nonylphenol on rosy barb (*Puntius conchonious*): a biochemical and histopathological evaluation. Tissue. Cell. 40(4): 243-249.
6. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Zanini, R., do Amaral, F., Jurinitz, D.F., and Wassermann, G.F. 2007. Changes in hematological and serum biochemical values in jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cypermethrin. Chemosphere. 69(6): 920-926.
7. Brucka-Jastrzebska, E., and Protasowicki, M. 2007. Effects of cadmiun and nickel exposure on haematological parameters of common carp, *Cyprinus carpio* L. Acta. Ichthyol. et Piscatoria, 35(1).
8. Coad, B.W. 1980. Environmental change and its impact on the freshwater fishes of Iran. Biological conservation. 19(1): 51-80.

9. Dick, P.T., and Dixon, D.G. 1985. Changes in circulating blood cell levels of rainbow trout, *Salmo gairdneri Richardson*, following acute and chronic exposure to copper. J. Fish. Biol. 26(4): 475-481.
10. Drabkin, D.L. 1946. Spectrophotometric studies XIV. The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species. J. boil. Chem. 164(2): 703-723.
11. El-Sayed, Y.S., Saad, T.T., and El-Bahr, S.M. 2007. Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects. Environ. Toxicol. Pharmacol. 24(3): 212-217.
12. El-Sayed, Y.S., Saad, T.T., and El-Bahr, S.M. 2007. Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects. Environ. Toxicol. Pharmacol. 24(3): 212-217.
13. Ferrari, A., Anguiano, O.L., Soleño, J., Venturino, A., and de D'Angelo, A.M.P. 2004. Different susceptibility of two aquatic vertebrates (*Oncorhynchus mykiss* and *Bufo arenarum*) to azinphos methyl and carbaryl. Com. Biochem. Physiol. 139(4): 239-243.
14. Fletcher, G.L. 1975. The effects of capture,"stress," and storage of whole blood on the red blood cells, plasma proteins, glucose, and electrolytes of the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). Can. J. Zool. 53(2): 197-206.
15. Gong, H.Y., Wu, J.L., Huang, W.T., Lin, C.J.F., and Weng, C.F. 2004. Response to acute changes in salinity of two different muscle type creatine kinase isoforms, from euryhaline teleost (*Oreochromis mossambicus*) gills. Biochim. Biophysica. Acta. 1675(1): 184-191.
16. Kavitha, C., Malarvizhi, A., Kumaran, S.S., and Ramesh, M. 2010. Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. Food. Chem. Toxicol. 48(10): 2848-2854.
17. Kavitha, P., and Rao, J.V. 2008. Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish, *Gambusia affinis*. Environ. Toxicol Pharmacol. 26(2): 192-198.
18. Köprücü, S.Ş., Köprücü, K., Ural, M.Ş., İspir, Ü., and 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.). Pes. Biochem. Physiol. 86(2): 99-105.
19. Kori-Siakpere, O., and Ubogu, E.O. 2008. Sublethal haematological effects of zinc on the freshwater fish, Heteroclarias sp. (*Osteichthyes: Clariidae*). Afric. J. Biotech. 7(12).
20. Mlkko, N. 1982. The effects of adrenaline on the oxygen transport properties of *Salmo gairdneri* blood. Com. Biochem. Physiol. 71(2): 353-356.

21. Mulcahy, M.F. 1975. Fish blood changes associated with disease: a hematological study of pike lymphoma and salmon ulcerative dermal necrosis. The pathology of fish, 925-944.
22. Murphy, M.B., Hecker, M., Coady, K.K., Tompsett, A.R., Jones, P.D., Du Preez, L.H., and Kendall, R.J. 2006. Atrazine concentrations, gonadal gross morphology and histology in ranid frogs collected in Michigan agricultural areas. Aquat. Toxicol. 76(3): 230-245.
23. Nelson, M.W. 1989. Morris, Basic methodology: hematology and coagulation, part IV, in: D.A. Nelson, J.B. Henry (Eds.), Clinical Diagnosis, Management by Laboratory Methods Seventeenth (ed.), W.B. Saunder Company, Philadelphia, USA, Pp: 578–625.
24. Nussey, G., Van Vuren, J.H.J., and Du Preez, H.H. 1995. Effect of copper on the haematology and osmoregulation of the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). Comp. Biochem. Physiol., 111(3): 369-380.
25. Nussey, G., Van Vuren, J.H., and Du Preez, H.H. 2002. The effect of copper and zinc at neutral and acidic pH on the general haematology and osmoregulation of *Oreochromis mossambicus*. Afric. J. Aquat. Sci. 27(1): 61-84.
26. Palanivelu, V., Vijayavel, K., Balasubramanian, S.E., and Balasubramanian, M.P. 2005. Influence of insecticidal derivative (cartap hydrochloride) from the marine polycheate on certain enzyme systems of the fresh water fish *Oreochromis mossambicus*. J. environ. Boil. 26(2): 191.
27. Petrović, S., Ozretiç, B., and Krajnović-Ozretić, M. 1996. Cytosolic aspartate aminotransferase from the grey mullet (*Mugil auratus Risso*) red muscle: isolation and properties. Int. J. Biochem. Cell. Biol. 28(8): 873-881.
28. Ram, R.N., and Sathyanesan, A.G. 1987. Histopathological and biochemical changes in the liver of a teleost fish, *Channa punctatus* (Bloch) induced by a mercurial fungicide. Environ. Pollution. 47(2): 135-145.
29. Rao, J.V. 2006. Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. Pest. Biochem. Physiol. 86(2): 78-84.
30. Rusia, S.K. Sood, Routine haematological tests, in: L. Kanai, I. Mukerjee (Eds.), Medical Laboratory Technology Vol. 1, Tata McGraw Hill, New Delhi, 1992, Pp: 252–258.
31. Saha, S., and 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(9): 1254-1259.
32. Sastry, K.V., and Sharma, K. 1980. Effects of mercuric chloride on the activities of brain enzymes in a fresh water teleost, *Ophiocephalus* (Channa) punctatus. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 9(4): 425-430.

33. Sharma, R.M. 1990. Effect of endosulfan on acid and alkaline phosphatase activity in liver, kidney, and muscles of *Channa gachua*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 44(3): 443-448.
34. Shayeghi, M., Hosseini, M., and Abtahi, M. 2006. The determination of dimethoate insecticide residues upon the cucumber product (Fars Province).
35. Suvetha, L., Ramesh, M., and Saravanan, M. 2010. Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na^+/K^+-ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio*. Environ. Toxicol. Pharmacol. 29(1): 44-49.
36. Svobodova, Z., Groch, L., Flajšhans, M., Vykusova, B., and Machova, J. 1997. Effect of Long-term Therapeutic Bath in Malachite Green on Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta. Veter. Brno. 66(2): 111-116.
37. Van der Oost, R., Beyer, J., and Vermeulen, N.P. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environ. Toxicol. Pharmacol. 13(2): 57-149.