13 (1) 363-370, Spring 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effects of exposure to endosulfan subcutaneous doses on serum biochemical factors in (*Danio rerio*)

Fatemeh Kiapour*, Ali Shabani, Roghieh Safari

Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Key Words

Endosulfan
Biochemical factors
Zebra fish

Abstract

Introduction: Many pesticides are introduced into aquatic ecosystems after use in agriculture, and since then they act as environmental pollutants. Fish biochemistry parameters are one of the most common factors influencing infection.

Materials & Methods: In this study, the effects of subcutaneous doses of endosulfan venom (16, 32 and 64 µg/L) on serum biochemical parameters of *Danio rerio* were evaluated after 1, 2, 7 and 14 days.

Result: The activity of alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, cholesterol, glucose showed a significant increase compared to control treatment ($P \leq 0.05$). Albumin activity also showed a significant decrease ($P \geq 0.50$) compared to control treatment. Protein activity on the first day of exposure to endosulfan was significantly increased ($P \leq 0.05$) in treatments, but no significant difference was observed on days 2, 7 and 14.

Conclusion: In general, the long-term exposure to endosulfan subcutaneous doses causes biochemical changes in the blood of fish in the bloodstream. Therefore, biochemical factors can be suggested as a simple and suitable tool for assessing the effects of toxins on fish.

* Corresponding Author's email: f.kiapour@yahoo.com
Received: 6 February 2020; Reviewed: 10 May 2020; Revised: 7 June 2020; Accepted: 28 June 2020
(DOI): 10.22034/aej.2020.134048

مقاله پژوهشی

اثرات مواجهه با دوزهای تحت‌کشنده سم اندوسولفان بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون در ماهی زبرای گورخری (*Danio rerio*)

فاطمه کیاپور*، علی شعبانی، رقیه صفری

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

کلمات کلیدی

اندوسولفان
فاکتورهای بیوشیمیایی
ماهی زبرا

چکیده

مقدمه: بسیاری از آفت‌کش‌ها پس از استفاده در کشاورزی به اکوسیستم‌های آبی راه پیدا می‌کنند و از آن به بعد، به‌عنوان آلاینده‌های زیست‌محیطی ایفای نقش می‌کنند. پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی از متداول‌ترین عواملی هستند که درصورت بروز آلودگی تحت تاثیر قرار می‌گیرند.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تاثیر دوزهای تحت کشنده سم آندوسولفان (۱۶، ۳۲ و ٦٤ میکروگرم بر لیتر) بر فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون در ماهی زبرای گورخری (*Danio rerio*) پس از گذشت ۱، ۲، ۷ و ۱٤ روز بررسی شد.

نتایج: فعالیت آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینو ترانسفراز، کلسترول، گلوکز، افزایش معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($P\leq ۰/۰۵$). فعالیت آلبومین نیز کاهش معنی‌داری ($P\geq ۰/۰۵$) را نسبت به تیمار شاهد نشان داد. فعالیت پروتئین هم در روز اول مواجهه با سم اندوسولفان افزایش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) را در تیمارها نسبت به تیمار شاهد نشان داد، اما در روزهای ۲، ۷ و ۱٤ تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری و بحث: در مجموع قرار گرفتن طولانی مدت در معرض دوزهای تحت‌کشنده سم آندوسولفان سبب ایجاد تغییرات بیوشیمیایی در خون ماهی زبرای گورخری می‌گردد. لذا سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی می‌تواند به‌عنوان ابزار ساده و مناسبی جهت ارزیابی تاثیر سموم بر ماهی‌ها پیشنهاد شود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: f.kiapour@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۷ بهمن ۱۳۹۸؛ تاریخ داوری: ۲۱ اردیبهشت ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۱۸ خرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۸ تیر ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.134048

مقدمه

توسعه کشاورزی در سرتاسر جهان منجر به استفاده روزافزون از آفت‌کش‌ها و به‌دنبال آن آلودگی بیش از پیش اکوسیستم‌های آبی می‌گردد. آلودگی آب توسط آفت‌کش‌ها معمولاً پس از چند هفته مصرف همراه با روان‌آب‌های سطحی و زهکشی زیرسطحی رخ می‌دهد (Nouri و همکاران، ۲۰۰۰). ماهی‌ها یکی از مهم‌ترین موجودات آبزی هستند که به‌علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت‌خاصی برخوردار هستند و به‌همین دلیل برای انجام آزمایش‌های عیارسنجی در بعد وسیعی از آن‌ها استفاده می‌شود (اسماعیلی‌ساری، ۱۳۸۱). بروز مرگ‌ومیر ماهی‌ها در اثر آفت‌کش‌ها در سال‌های اخیر گزارش شده است(Bagheri، ۲۰۰۷).اندوسولفان یکی از آفت‌کش‌های ارگانوکلرینی است که از طریق رواناب‌های کشاورزی وارد آب‌ها شده و با توجه به ثبات شیمیایی، تجزیه‌پذیری ضعیف و افزایش قدرت تجمع زیستی در بدن موجودات زنده از جمله آبزیان، ضایعات مختلفی را در اندام‌ها ایجاد می‌نماید (Akhtar و همکاران، ۲۰۱۲؛ Crupkin و همکاران، ۲۰۱۳؛ Negro، ۲۰۱۵). این آفت‌کش جزء سموم با سمیت شدید برای ماهیان دسته‌بندی می‌گردد (Silva-Barni و همکاران، ۲۰۱۴). ازجمله اثرات مخرب در معرض قرارگیری با اندوسولفان اثرات آن بر تخریب DNA و هم‌چنین جهش‌زایی (Bajpayee و همکاران، ۲۰۰۶)، استرس اکسیداتیو (Tellez-Banuelos و همکاران، ۲۰۰۹)، تغییر در برخی فاکتورهای خونی ازجمله کورتیزول و گلوکز (Ezemonye و Ikpesu، ۲۰۱۱)، آسیب‌های بافتی، تغییرات آنزیمی، رفتاری، تولید مثلی و حتی مرگ در گونه‌های مختلف گزارش شده است (Joseph و همکاران، ۲۰۱۱؛ Sassi و همکاران، ۲۰۱۳؛ Waisberg و همکاران، ۲۰۰۳). خون به‌عنوان یک بافت حیاتی سیال یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغیر می‌گردد (جمال‌زاده و همکاران، ۱۳۸۷). بنابراین دامنه‌طبیعی پارامترهای خونی یک ماهی می‌تواند به‌عنوان شاخص زیستی مورد استفاده قرار گیرد (Luskova، ۱۹۹۵). تحقیقات مختلف نشان داده است که سموم می‌تواند منجر به اثرات زیان‌بار بر پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی‌ها شود (Banaee و همکاران، ۲۰۱۱). تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور مناسب برای تشخیص اثرات سمیت تحت‌کشنده در اندام‌های هدف و تعیین وضعیت فیزیولوژیکی ماهی در معرض آفت‌کش‌ها درنظرگرفته شود (Bagheri، ۲۰۰۷). هنگامی‌که بافتی بر اثر عوامل عفونی یا غیرعفونی دچار اختلال می‌گردد برخی از غیر الکترولیت‌ها به مایعات بین بافتی و از آن‌جا به سرم خون وارد شده و باعث افزایش آن‌ها در سرم خون می‌گردند، در نتیجه سنجش غیر الکترولیت‌ها در سرم خون می‌تواند آسیب‌های احتمالی بافت‌ها و اعضای مختلف بدن موجود را نشان دهد، بنابراین چنان‌چه میزان طبیعی پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی خون و دامنه تغییرات آن، در انواع ماهیان در شرایط طبیعی یا فیزیولوژیک در دسترس باشد بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی می‌تواند نقش مهمی در تشخیص آلودگی،مسمومیت آبزیان‌ایفا کند(شاهسونی،۱۳۷۷).وضعیت سلامت ماهیان در آبزی‌پروری با فاکتورهای خونی آن‌ها مرتبط می‌باشد (Hrubec و همکاران، ۲۰۰۰). فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهیان ممکن است تحت‌شرایط غذایی، محیطی و یا عوامل استرسی تغییر کند (Barcellos و همکاران، ۲۰۱۰). شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون در گونه‌های مختلف ماهیان با هم تفاوت دارد و به‌واسطه عواملی از قبیل تغییر شرایط‌محیطی، تغذیه‌ای، سن، بیماری و غیره تحت تاثیر قرار می‌گیرد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۵). از آن‌جایی‌که تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثرات دوزهای تحت‌کشنده سم اندوسولفان بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم بدن ماهی زبرای گورخری انجام نشده است هدف از انجام این مطالعه، تعیین اثرات احتمالی این سم بر میزان گلوکز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، آلبومین، آلکالین فسفاتاز، کلسترول و پروتئین کل ماهی زبرای گورخری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماهی زبرای گورخری به وزن ۰/۵±۳ گرمی از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی شصت کلا گرگان تهیه و در آزمایشگاه شهید ناصر فضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در شرایط آکواریوم (نور طبیعی و تعویض مداوم آب) به‌مدت ۲ ماه جهت رسیدن به اندازه مطلوب نگه‌داری شدند. برای انجام آزمایشات ابتدا بچه‌ماهیان به‌صورت‌تصادفی در ۱۲ آکواریوم(۵۰ عدد در هر آکواریوم) توزیع شدند. ماهیان در معرض ۳ دوز تحت‌کشنده (۱۶، ۳۲ و ۶۴ میکروگرم در لیتر)، (کیاپور، ۱۳۹۷) و تیمار شاهد برای مدت ۱۴ روز قرار گرفتند. کلیه شرایط محیطی، برای همه آکواریوم‌ها کاملاً یکسان بود. دمای آب طی دوره به‌طور متوسط ۲۵ درجه سانتی‌گراد، pH ۷/۶ و اکسیژن ۷/۸ بود و طی زمان مطالعه ماهیان از غذای بیومار ۰/۵ در ۳ مرحله ۸ صبح، ۱۱ صبح و ۱۵ بعدازظهر تغذیه می‌شدند. تعویض آب یک‌روز درمیان با آب حاوی غلظت‌های موردنظر سم انجام می‌شد. نمونه‌برداری از هر کدام از تیمارها در روزهای ۱، ۲، ۷، ۱۴ با سه تکرار (کیاپور، ۱۳۹۷) انجام شد. ماهیان بعد از نمونه‌برداری ابتدا با استفاده از پودر گل‌میخک (۰/۵ گرم بر لیتر) بی‌هوش شدند و بلافاصله در ازت مایع منجمد و سپس در فریزر ۸۰- درجه تا شروع آزمایش‌ها نگه‌داری شدند. جهت مطالعه پارامترهای بیوشیمیایی سرم، ماهی کامل فریز شده را ابتدا با ازت مایع کوبیده و در مقدار مشخص در ویال ریخته و سپس به‌میزان یک سی‌سی از محلول آماده شده فسفات

بافر در ویال تزریق شد و بعد به‌مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ قرار گرفت و سپس فاز بالایی مایع‌سرم جداشد و تا بررسی پارامترهای بیوشیمیایی سرم شامل آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلبومین، گلوکز، کلسترول و پروتئین کل در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس در آزمایشگاه به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر light Wave-S2000 UV/VIS و به‌کارگیری کیت پارس آزمون (ساخت ایران) در طول موج ۳۴۰ نانومتر برای AST و ALT (Reitman و Frankel، ۱۹۵۷)، در طول موج ۴۰۵ نانومتر برای ALP (Borges، ۲۰۰۴) و در طول موج ۵۴۶ نانومتر برای آلبومین (Doumas، ۱۹۷۷)، گلوکز (Hosseinifar، ۲۰۱۰)، کلسترول و پروتئین کل (Tietz، ۱۹۸۶) اندازه‌گیری شد.

پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولوموگروف اسمیرنوف و شیپیرو- ویلک، آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) انجام شد. برای مقایسه میانگین تیمارها، از آزمون دانکن و توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS، ورژن ۲۴ انجام گرفت. نتایج نیز بر اساس (Mean ± S. E) نشان داده شده است.

نتایج

نتایج بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی ماهی زبرای گورخری پس از مواجهه با سم اندوسولفان طی مدت زمان ۱، ۲، ۷ و ۱۴ روز در جدول‌های زیر نشان داده شده است. همان‌طورکه در جدول ۱ دیده می‌شود میزان گلوکز در تیمارهای مواجهه داده شده با غلظت‌های ۱۶، ۳۲ و ۶۴ میکروگرم بر لیتر سم اندوسولفان افزایش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) را نسبت به تیمار شاهد نشان داد. بیش‌ترین میزان گلوکز در تیمار حاوی دوز ۶۴ میکروگرم بر لیتر در روز هفتم و کم‌ترین میزان در تیمار حاوی دوز ۱۶ میکروگرم بر لیتر مواجهه داده شده با سم اندوسولفان در روز اول مشاهده شد. میزان کلسترول افزایش معنی‌داری را در تیمارهای مواجهه داده شده با سم اندوسولفان نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($P\leq ۰/۰۵$). بیش‌ترین افزایش کلسترول در تیمار مواجهه داده شده با دوز ۶۴ میکروگرم در لیتر در روز چهاردهم مشاهده شد (جدول ۲). میزان پروتئین در تیمارهای ۱۶، ۳۲ و ۶۴ مواجهه داده شده با سم اندوسولفان در روز اول افزایش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) نسبت به تیمار شاهد نشان داد اما در روزهای ۲، ۷ و ۱۴ تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد مشاهده نگردید (جدول ۳). میزان آلبومین در تیمارهای مواجهه‌داده‌شده با سم اندوسولفان کاهش معنی‌داری ($P\geq ۰/۰۵$) را نسبت به تیمار شاهد نشان داد که بیش‌ترین کاهش در تیمار ۶۴ میکروگرم بر لیتر حاوی سم اندوسولفان در روز چهاردهم بود (جدول ۴). میزان آلکالین فسفاتاز در تیمارهای مواجهه داده شده با سم اندوسولفان افزایش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) را نسبت به‌تیمار شاهدنشان داد. بیش‌ترین افزایش ALP در تیمار ۶۴ میکروگرم بر لیتر در روز چهاردهم و کم‌ترین میزان افزایش ALP در تیمار ۱۶ میکروگرم بر لیتر در روز اول مشاهده شد (جدول ۵). میزان ALT در تیمارهای مواجهه داده شده با سم اندوسولفان در روزهای ۱، ۲، ۷ و ۱۴ افزایش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$)) را نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد. بیش‌ترین افزایش در تیمار ۶۴ میکروگرم بر لیتر در روز ۱۴ مشاهده شد(جدول ۶). میزان AST، افزایش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) را در تیمارهای مواجهه داده شده با سم اندوسولفان نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد. بیش‌ترین افزایش در تیمار ۳۲ میکرو گرم بر لیتر در روز چهاردهم مشاهده شد (جدول ۷).

جدول ۱: میانگین گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) سرم خون ماهی زبرای گورخری مواجهه داده شده با دوز تحت کشنده سم اندوسولفان

	تیمار شاهد	تیمار دوز ۱۶ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۳۲ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۶۴ میکروگرم بر لیتر
روز اول	$^{C}۱۲۱/۴۱\pm۱/۳۳^{c}$	$^{C}۱۲۳/۵۴\pm۱/۳۳^{c}$	$^{B}۱۲۹/۸۱\pm۱/۳۳^{b}$	$^{A}۱۳۷/۰۲\pm۱/۳۳^{a}$
روز دوم	$^{C}۱۲۱/۳۳\pm۱/۰۷^{d}$	$^{B}۱۲۸/۷۷\pm۱/۰۷^{c}$	$^{A}۱۳۲/۳۹\pm۱/۰۷^{b}$	$^{C}۱۳۷/۹۹\pm۱/۰۷^{a}$
روز هفتم	$^{B}۱۲۲/۴۷\pm۱/۷۳^{c}$	$^{A}۱۳۱/۵۳\pm۱/۷۳^{b}$	$^{C}۱۳۳/۷۳\pm۱/۷۳^{b}$	$^{B}۱۴۰/۰۸\pm۱/۷۳^{a}$
روز چهاردهم	$^{A}۱۲۲/۱۶\pm۱/۰۸^{c}$	$^{D}۱۳۳/۴\pm۱/۰۸^{b}$	$^{C}۱۳۸/۱۵\pm۱/۰۸^{a}$	$^{B}۱۳۹/۸۵\pm۱/۰۸^{a}$

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۲: میانگین کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) سرم خون ماهی زبرای گورخری مواجهه داده شده با دوز تحت کشنده سم اندوسولفان

	تیمار شاهد	تیمار دوز ۱۶ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۳۲ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۶۴ میکروگرم بر لیتر
روز اول	$^{D}۲۲۲/۹۲\pm۱/۵۴^{d}$	$^{C}۲۳۹/۷۳\pm۱/۵۴^{c}$	$^{B}۲۷۱/۲۱\pm۱/۵۴^{b}$	$^{A}۲۸۴/۳۵\pm۱/۵۴^{a}$
روز دوم	$^{C}۲۲۱/۳۱\pm۶/۷۲^{d}$	$^{B}۲۴۲/۷۷\pm۶/۷۲^{c}$	$^{A}۲۸۰/۵\pm۶/۷۲^{b}$	$^{D}۲۸۸/۳۸\pm۶/۷۲^{a}$
روز هفتم	$^{B}۲۲۴/۲۸\pm۲/۵۳^{c}$	$^{A}۲۴۶/۱\pm۲/۵۳^{b}$	$^{D}۲۹۶/۲۴\pm۲/۵۳^{a}$	$^{C}۲۹۹/۱۱\pm۲/۵۳^{a}$
روز چهاردهم	$^{A}۲۲۳/۶۸\pm۲/۴۳^{c}$	$^{C}۲۵۲/۵۵\pm۲/۴۳^{b}$	$^{B}۲۹۹/۹۸\pm۲/۴۳^{a}$	$^{A}۳۰۶/۵۸\pm۲/۴۳^{a}$

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۳: میانگین پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر) سرم خون ماهی زبرای گورخری مواجهه داده شده با دوز تحت کشنده سم اندوسولفان

	تیمار شاهد	تیمار دوز ۱۶ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۳۲ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۶۴ میکروگرم بر لیتر
روز اول	$^{B}۲/۹۳\pm۰/۱۷^{b}$	$^{A}۲/۸۴\pm۰/۱۷^{a}$	$^{AB}۳/۳۲\pm۰/۱۷^{ab}$	$^{A}۳/۷۱\pm۰/۱۷^{a}$
روز دوم	$^{A}۲/۹۳\pm۰/۱۱^{c}$	$^{AB}۳/۷\pm۰/۱۱^{a}$	$^{A}۳/۳۴\pm۰/۱۱^{b}$	$^{B}۳/۵۱\pm۰/۱۱^{ab}$
روز هفتم	$^{AB}۲/۹۶\pm۰/۱۶^{b}$	$^{A}۳/۳\pm۰/۱۶^{ab}$	$^{B}۳/۰۷\pm۰/۱۶^{ab}$	$^{A}۳/۳۹\pm۰/۱۶^{a}$
روز چهاردهم	$^{A}۳/۰۹\pm۰/۱^{ab}$	$^{B}۳/۱۲\pm۰/۱^{ab}$	$^{A}۲/۹۶\pm۰/۱^{b}$	$^{AB}۳/۲۹\pm۰/۱^{a}$

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۴: میانگین آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر) سرم خون ماهی زبرای گورخری مواجهه داده شده با دوز تحت کشنده سم اندوسولفان

	تیمار شاهد	تیمار دوز ۱۶ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۳۲ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۶۴ میکروگرم بر لیتر
روز اول	$^{A}۱/۷۸\pm۰/۰۶۷^{a}$	$^{A}۱/۷۴\pm۰/۰۶۷^{a}$	$^{B}۱/۳۳\pm۰/۰۶۷^{b}$	$^{B}۱/۲۷\pm۰/۰۶۷^{b}$
روز دوم	$^{A}۱/۷۷\pm۰/۰۶۲^{a}$	$^{B}۱/۶۵\pm۰/۰۶۲^{a}$	$^{B}۱/۳۴\pm۰/۰۶۲^{b}$	$^{A}۱/۲۵\pm۰/۰۶۲^{b}$
روز هفتم	$^{A}۱/۷۹\pm۰/۳۱۲^{a}$	$^{B}۱/۸۴\pm۰/۳۱۲^{a}$	$^{A}۱/۱۱\pm۰/۳۱۲^{ab}$	$^{B}۱/۰۴\pm۰/۳۱۲^{b}$
روز چهاردهم	$^{B}۱/۷۴\pm۰/۰۵۷^{a}$	$^{A}۱/۳۵\pm۰/۰۵۷^{b}$	$^{A}۱/۱۱\pm۰/۰۵۷^{c}$	$^{B}۰/۱۸\pm۰/۰۵۷^{d}$

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۵: میانگین آلکالین فسفاتاز (گرم بر دسی‌لیتر) سرم خون ماهی زبرای گورخری مواجهه داده شده با دوز تحت کشنده سم اندوسولفان

	تیمار شاهد	تیمار دوز ۱۶ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۳۲ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۶۴ میکروگرم بر لیتر
روز اول	$^{D}۵۲/۲۲\pm۰/۷۹^{d}$	$^{C}۶۳/۷\pm۰/۷۹^{c}$	$^{B}۷۴/۱۱\pm۰/۷۹^{b}$	$^{A}۸۱/۶\pm۰/۷۹^{a}$
روز دوم	$^{C}۵۲/۱۸\pm۱/۷^{d}$	$^{B}۶۷/۷\pm۱/۷^{c}$	$^{A}۷۷/۰۹\pm۱/۷^{b}$	$^{D}۸۶/۹۹\pm۱/۷^{a}$
روز هفتم	$^{B}۵۲/۵\pm۱/۸۶^{d}$	$^{A}۷۰/۱\pm۱/۸۶^{c}$	$^{D}۷۷/۳۰\pm۱/۸۶^{b}$	$^{C}۹۰/۹۴\pm۱/۸۶^{a}$
روز چهاردهم	$^{A}۵۴/۲۷\pm۰/۶۷^{d}$	$^{D}۷۱/۲۸\pm۰/۶۷^{c}$	$^{C}۸۱/۵۷\pm۰/۶۷^{b}$	$^{B}۹۹/۷۶\pm۰/۶۷^{a}$

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۶: میانگین آلانین آمینوترانسفراز (گرم بر دسی‌لیتر) سرم خون ماهی زبرای گورخری مواجهه داده شده با دوز تحت کشنده سم اندوسولفان

	تیمار شاهد	تیمار دوز ۱۶ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۳۲ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۶۴ میکروگرم بر لیتر
روز اول	$^{D}۲۵/۱۳\pm۱/۱۵^{d}$	$^{C}۴۲/۴۸\pm۱/۱۵^{c}$	$^{B}۴۷/۵۶\pm۱/۱۵^{b}$	$^{A}۶۹/۲۷\pm۱/۱۵^{a}$
روز دوم	$^{C}۲۵/۲۲\pm۰/۳۷^{d}$	$^{B}۴۷/۶\pm۰/۳۷^{c}$	$^{A}۵۲/۶۹\pm۱/۳۶^{b}$	$^{D}۷۲/۱۵\pm۰/۳۷^{a}$
روز هفتم	$^{B}۲۵/۹۸\pm۱/۳۶^{d}$	$^{A}۵۱/۸۴\pm۱/۳۶^{c}$	$^{C}۵۶/۷۸\pm۱/۳۶^{b}$	$^{B}۷۳/۹۵\pm۱/۳۶^{a}$
روز چهاردهم	$^{A}۲۶/۴۹\pm۱/۲۹^{d}$	$^{D}۵۹/۹\pm۱/۲۹^{c}$	$^{C}۶۶/۰۳\pm۱/۲۹^{b}$	$^{B}۷۵/۴۹\pm۱/۲۹^{a}$

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۷: میانگین آسپارتات آمینوترانسفراز (گرم بر دسی‌لیتر) سرم خون ماهی زبرای گورخری مواجهه داده شده با دوز تحت کشنده سم اندوسولفان

	تیمار شاهد	تیمار دوز ۱۶ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۳۲ میکروگرم بر لیتر	تیمار دوز ۶۴ میکروگرم بر لیتر
روز اول	$^{D}۷۹۰/۶۶\pm۲/۷۵^{d}$	$^{C}۸۳۹/۲۸\pm۲/۷۵^{c}$	$^{B}۸۶۵/۸۵\pm۲/۷۵^{b}$	$^{A}۸۸۰/۲۳\pm۲/۷۵^{a}$
روز دوم	$^{C}۷۹۱/۰۸\pm۳/۶۲^{d}$	$^{B}۸۴۲/۶۵\pm۳^{c}$	$^{A}۸۶۸/۵۳\pm۳^{b}$	$^{D}۸۸۳/۷۹\pm۳^{a}$
روز هفتم	$^{B}۷۹۰/۵۸\pm۳/۶۲^{c}$	$^{A}۸۶۴/۴۸\pm۳/۶۲^{b}$	$^{D}۸۸۲/۹۹\pm۳/۶۲^{a}$	$^{C}۸۸۲/۸۶\pm۳/۶۲^{a}$
روز چهاردهم	$^{A}۷۸۸/۰۵\pm۲/۶۲^{c}$	$^{D}۸۷۱/۲۵\pm۲/۶۲^{b}$	$^{C}۸۸۷/۶۸\pm۲/۶۲^{a}$	$^{B}۸۸۷/۲۴\pm۲/۶۲^{a}$

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

بحث

با توجه به سطح آلودگی اکوسیستم‌های آبی کشور با سموم ارگانوکلره، ارزیابی تاثیر این سموم بر آبزیان و پایش اکوسیتم‌های آبی با استفاده از مدل‌های آزمایشگاهی امری ضروری است. تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی سرم‌خون می‌تواند به‌عنوان یک‌فاکتور مناسب برای تشخیص اثرات سمیت تحت کشنده در اندام‌های هدف و تعیین وضعیت فیزیولوژیکی ماهی در معرض آفت‌کش اندوسولفان در نظر گرفته شود (Bagheri، ۲۰۰۷). بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی خون در زمینه‌های مختلف علوم شیلاتی با استفاده از آنالیز پلاسما و یا سرم خون صورت می‌گیرد (Koaud و همکاران، ۲۰۱۱؛ Kim و همکاران، ۲۰۰۸). پلاسما مایعی بین سلولی است که عناصر سلولی را به‌صورت شناور در خود جای داده است. حدود ۹۰٪ از پلاسما را آب و مابقی را مواد معدنی و آلی محلول تشکیل می‌دهد. مواد آلی پلاسما شامل پروتئین‌ها که تقریباً بین ۵ تا ۱۰ درصد پلاسمای خون را تکیل می‌دهد که شامل(آلفا، بتا، گاما گلوبولین‌ها و ایمونوگلوبین‌ها، آلبومین‌ها،فاکتورهای‌انعقادخون،آنتی‌بادی‌ها،آنزیم‌ها) کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و هورمون‌ها هستند و مواد معدنی پلاسما نیز متشکل از الکترولیت‌ها و سایر نمک‌های معدنی است. ویتامین‌ها نیز از دیگر مواد تشکیل‌دهنده پلاسما به‌شمار می‌روند (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹؛ ستاری و همکاران، ۱۳۹۱؛ Nordlie، ۲۰۰۹؛ Hurbec و Smith، ۱۹۹۹). اغلب پروتئین‌ها توسط کبد و برخی نیز هم‌چون آنتی‌بادی‌ها توسط سیستم ایمنی ساخته می‌شوند (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). سرم بخش مایع بدون فیبرینوژن خون یا همولنف است که مواد تشکیل دهنده آن مشابه پلاسماست با این تفاوت که عاری از فاکتورهای انعقاد خون است (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). گلوکز یکی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون است که می‌تواند به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم در تعیین وضعیت فیزیولوژیک ماهی به‌کار رود (Saera-Vila و همکاران، ۲۰۰۹). گلوکز پلاسما پس از کورتیزول می‌تواند یک شاخص مفید استرس به‌عنوان دومین واکنش استرس در ماهی به‌شمار آید (Wedmyer و همکاران، ۱۹۹۰). گلوکز کربوهیدراتی است که نقش مهمی در فرایند بیوانرژیتیک دارد چون می‌تواند به انرژی شیمیایی (ATP) تبدیل شود (Lucas، ۱۹۹۶). با افزایش مصرف گلوکز و متابولیت‌های دیگر در بعضی گونه‌ها ذخایر گلیکوژن و چربی‌ها کاهش یافته و در مرحله بعد پروتئین‌ها برای تامین انرژی شکسته می‌شوند (Iwama و همکاران، ۱۹۹۹). براساس نظر دیگر محققین، افزایش سطح گلوکز خون یا هیپرگلیسمی نشان دهنده بروز اختلال در روند متابولیسم کربوهیدرات‌ها می‌باشد که معمولاً ناشی از افزایش تجزیه گلیکوژن کبدی است (John، ۲۰۰۷). به‌عبارتی دیگر کاهش ذخایر گلیکوژن کبدی و افزایش گلوکز خون یکی از معمولی‌ترین واکنش‌های ماهی‌ها در تماس با آلاینده‌های شیمیایی‌محسوب می‌شود.در واقع‌درچنین‌شرایطی، گلوکز ۶- فسفات حاصل از تجزیه گلیکوژن کبدی، به‌وسیله گلوکز ۶- فسفاتاز هیدرولیز شده و گلوکز حاصل به‌داخل خون آزاد می‌گردد. هیپرگلیسمی در کپورماهی هندی(*Labeo rohita*)، اشلمبو(*H. Fossilis*)، صخره ماهی کره‌ای (*Sebastes schlegeli*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. myksis*) در تماس با آفت‌کش‌های پیرتروئید نیز موید همین امر است (Das و Mukherjee، ۲۰۰۳؛ Jee و همکاران، ۲۰۰۵؛ Velisk و همکاران، ۲۰۰۶؛ Saha و Kaviraj، ۲۰۰۹). در آزمایش قوتی و همکاران (۱۳۹۰)، مسمومیت ماهی کپور معمولی با فلز سنگین روی که در طی ۱۰ روز انجام شد، روند افزایشی نسبت به گروه شاهد داشت و بیش‌ترین میزان آن در روز اول نسبت به روزهای پنجم و دهم مشاهده شد. کاهش میزان گلوکز در تاثیر دیازینون بر روی ماهی سیم دریای خزر دیده شد (جادی و همکاران، ۱۳۹۲). در آزمایش حنایی کاشانی و همکاران (۱۳۹۵) و بنایی و همکاران (۱۳۹۱)، افزایش میزان گلوکز مشاهده شد. آسپارتات آمینوترانسفراز(AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در بافت‌های مختلفی نظیر کبد (Srivastava و همکاران، ۲۰۰۴)، قلب، ماهیچه‌های اسکلتی (Petrovic و همکاران، ۱۹۹۶)، کلیه، پانکراس، طحال، گلبول‌های‌قرمزوآبشش‌ماهی‌ها (Bhattacharya و همکاران، ۲۰۰۸)، یافت می‌شوند. این آنزیم‌ها غالباً در داخل میتوکندری سلول‌ها، به‌ویژه در سلول‌های‌کبدی قرار دارند.لذا هرگونه آسیب خفیف، التهاب یا نکروز سلول‌های کبد موجب آزاد شدن این آنزیم‌ها و افزایش سطح آن‌ها در پلاسما می‌گردد. علاوه بر بروز اختلالات کبدی، وقوع آسیب‌های شدید و بروز اختلال در عضلات اسکلتی، نارسایی و اختلالات قلبی نیز منجر به افزایش سطح این آنزیم‌ها در پلاسما می‌گردد (Banaee و همکاران، ۲۰۰۸). آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز نقش مهمی در مراحل‌نهایی‌تجزیه پروتئین جهت تولید ATP ایفا می‌کنند (Petrovic و همکاران، ۱۹۹۶). به‌عبارت دیگر افزایش سطح فعالیت این آنزیم‌ها، نقش موثری در استفاده از اسیدهای آمینه در فرایند اکسیداسیون یا گلوکوژنز بازی می‌کنند (Rao، ۲۰۰۶). آمینوترانسفرازها انتقال یک گروه آمین از یک اسیدآمینه را به مولکول دیگر بدون آزاد شدن آمونیاک کاتالیز می‌نمایند، به‌همین دلیل به آن‌ها آمینوترانسفراز می‌گویند. آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) به‌نام ترانس آمیناز گزالو استیک سرم (SGOT) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) نیز به‌نام آمیناز پیرویک گلوتامیک سرم (SGPT) مشهور است (Haschek و همکاران، ۲۰۱۰). از آن‌جاکه واکنش‌های انتقال آمین برگشت‌پذیر می‌باشند و اسیدهای کتو به‌دست آمده از واکنش مذکور در سنتز کربوهیدرات جدید مورد استفاده قرار می‌گیرند (گلوکونئوژنز) بنابراین

آنزیم‌های ترانس‌آمیناز در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها نقش دارند (Bacankas و همکاران، ۲۰۰۴). AST و ALT در پلاسمای خون ماهی اشلمبو (*H. fossilis*)، ماهی سرماری (*C. punctatus*) و ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) به‌ترتیب در تماس با مونوکروتوفوس، کلرید جیوه و کاربوفوران نشان‌دهنده بروز آسیب‌های شدید در بافت کبدی این ماهی‌ها می‌باشد (Van der و همکاران، ۲۰۰۳؛ Palanivelu و همکاران، ۲۰۰۵؛ Agrahari و همکاران، ۲۰۰۷). در مطالعه حنایی کاشانی و همکاران (۱۳۹۵)، تاثیر دیازینون بر ماهی قرمز (*Carassius auratus*) منجر به افزایش ALT و AST گردید که با افزایش دوز سم این مقدار بالاتر رفت. تماس ماهی‌ها با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم برلیتر سم ارگانوفسفره دیازینون سبب افزایش ($P\leq ۰/۰۵$) سطح فعالیت آنزیم AST در پلاسما در طی دوره آزمایش شد که این امر ناشی از آزاد شدن این آنزیم از سلول‌های آسیب‌دیده به‌ویژه سلول‌های کبدی است. سطح فعالیت آنزیم ALT در ماهی تحت تیمار در مقایسه با ماهی‌های گروه شاهد افزایش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) داشت (بنایی و همکاران، ۱۳۹۱). آلبومین نیز یکی از عمده‌ترین پروتئین‌های سرم خون می‌باشند (Kumar و همکاران، ۲۰۰۵). آلبومین که در کبد ساخته می‌شود سبک‌ترین پروتئین پلاسمای خون است و بیش از ٪۵۰ پروتئین پلاسما را تشکیل می‌دهد. این پروتئین هر روز به‌میزان ٪۷ تجدید می‌شود و نیمه عمر آن هفت تا ده روز است. سرم آلبومین به‌راحتی تغییر ماهیت نمی‌دهد و تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد هم مقاوم است. آلبومین دارای دو نقش مهم نگه‌داری و حفظ فشار اسمزی و انتقال‌دهنده بعضی از ترکیبات از قبیل برخی هورمون‌ها، مواد رنگی، بیلی‌روبین، برخی از عناصر معدنی کمیاب، بسیاری از داروها و اسیدهای چرب آزاد در جریان خون است (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). تغییرات سطح آلبومین پلاسمای ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان مواجهه داده شده با دیازینون در مقایسه با گروه شاهد، یک روند کاهشی معنی‌دار داشت (بنایی و همکاران، ۱۳۹۱). غلظت پروتئین کل پلاسما شاخصی اساسی برای تعیین وضعیت سلامت ماهیان محسوب می‌شود (Swian و همکاران، ۲۰۰۷). میزان پروتئین پلاسما با تغییر حجم پلاسما تغییر می‌کند که ممکن است ناشی از گرسنگی طولانی مدت یا استرس باشد (Knowles و همکاران، ۲۰۰۶). به‌طور کلی غلظت پروتئین پلاسما در ماهیان در محدوده ۸-۲ گرم/دسی‌لیتر است (McDonald و Milligan، ۱۹۹۲). در آزمایش قوتی و همکاران (۱۳۹۰)، در بررسی مسمومیت ماهی کپور معمولی با فلز سنگین روی، مقدار پروتئین کل پلاسما در روز اول نسبت به روزهای پنجم و دهم و گروه شاهد افزایش داشته است. در آزمایش جادی و همکاران (۱۳۹۲)، که مطالعه بر روی تاثیر دیازینون بر ماهی سیم دریای خزر انجام شد روند کاهشی در میزان پروتئین سرم خون مشاهده شد که با آزمایش حنایی‌کاشانی و همکاران (۱۳۹۵) مطابقت دارد. کاهش معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) سطح پروتئین تام پلاسما در خون ماهی‌های تحت تیمار دیازینون طی دوره آزمایش کاملاً مشهود بود (بنایی و همکاران، ۱۳۹۱). آلکالین فسفاتاز (ALP)، آنزیمی است که در اپی‌تلیوم مجاری صفراوی، سلول‌های کبدی و نیز در مخاط روده و کلیه‌ها یافت می‌شود. در کبد این آنزیم در سلول‌های کوپفر موجود است. این سلول‌ها سیستم جمع‌آوری صفراوی را می‌پوشانند. لذا سطح این آنزیم در انسداد مجاری صفراوی داخل و خارج کبدی، سیروزی و اختلالات کبدی به شدت افزایش می‌یابد (Banaee و همکاران، ۲۰۰۸). بر اساس نتایج به‌دست آمده، احتمالاً آسیب‌های وارده به کبد و نیز انسداد مجاری صفراوی در ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان تحت تیمار دیازینون یکی از مهم‌ترین دلایل افزایش سطح فعالیت این آنزیم در خون آن‌ها است. هم‌چنین نکروز بافت کبد موجب آزادشدن این آنزیم از سلول‌های آسیب‌دیده و در نتیجه افزایش سطح این آنزیم در خون می‌گردد (El-Sayed و Saad، ۲۰۰۸؛ Saha و Kaviraj، ۲۰۰۹). در آزمایش سلطانی و خوش‌باورستمی (۱۳۸۱)، که بر روی اثر فلزات سنگین و بررسی اثرات مسمومیت تحت‌کشنده روی در ماهی کپورمعمولی بود کاهش مقدار فعالیت آلکالین فسفاتاز در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد مشاهد شد. در آزمایش تاثیر فلز سنگین روی بر روی ماهی کپور معمولی روند کاهشی آلکالین فسفاتاز نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (قوتی و همکاران، ۱۳۹۰). در مطالعه دیازینون بر روی مولدین نر ماهی قرمز، کاهش میزان ALP در تیمارها نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (حنایی‌کاشانی و همکاران، ۱۳۹۵) که این آزمایش با مطالعه تاثیر دیازینون بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مغایرت است (بنایی و همکاران، ۱۳۹۱). 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، ۲۰۱۰). گلوکز در مسیر گلیکولیز به پیروات تبدیل می‌شود و پیروات نیز در بافت‌های هوازی به استیل CoA متابولیزه می‌شود، که می‌تواند به‌عنوان پیش‌ساز اسیدهای چرب و کلسترول در چرخه اسید سیتریک عمل نماید (Muraay و همکاران، ۲۰۰۳). لذا در شرایطی که ماهی‌ها تحت استرس ناشی از مسمومیت با اندوسولفان قرار گرفته‌اند، افزایش گلوکز خون و اختلال در عملکرد پانکراس، می‌تواند موجب افزایش اکسیداسیون گلوکز در بافت‌ها و به تبعیت آن افزایش سطح کلسترول گردد. آسیب‌های بافت‌شناسی به بافت کبد و انسداد مجاری صفراوی ناشی از نکروز بافتی در پی مسمومیت با دیازینون نیز ممکن است در فرایند تشکیل اسیدهای صفراوی و دفع آن اختلال ایجاد نماید و به این ترتیب ار دفع کلسترول اضافی پلاسما از طریق اسیدهای صفراوی ممانعت به‌عمل آورد، که

این امر سبب افزایش سطح کلسترول پلاسما می‌گردد (بنایی و همکاران، ۱۳۹۱). سطح کلسترول در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)،ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) و ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به‌ترتیب در تماس با سم دیازینون، مسمومیت حاد با آمونیاک و سم دیازینون روندهای افزایشی، کاهشی و بی‌تفاوت از خود نشان دادند (بنایی و همکاران، ۱۳۹۱؛ پورغلام و همکاران، ۱۳۸۵؛ خضرائی‌نیا و همکاران، ۱۳۷۹). با توجه به تغییر فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی‌های تحت تیمار اندوسولفان، اندازه‌گیری این فاکتورها می‌تواند به‌عنوان یک شاخص زیستی، ابزار پایش و ارزیابی سلامت اکوسیستم‌های آبی بهره گرفت. در حقیقت وجود سموم و دیگر ترکیبات شیمیایی حتی در غلظت‌های بسیار اندک می‌تواند در طولانی مدت پیامدهای نامطلوبی بر سلامت و بقای آبزیان، به‌ویژه ماهی‌ها در پی داشته باشد که این امر از دیدگاه شیلاتی و محیط زیستی بسیار حائز اهمیت است.

منابع

۱. **اسماعیلی‌ساری، ع.، ۱۳۸۱.** آلاینده‌ها، بهداشت و استاندارد در محیط‌زیست. انتشارات نقش‌مهر. ۷۶۹ صفحه.

۲. **بنایی، م.؛ میرواقفی، ع.؛ سورداگومیل، آ.؛ رفیعی، غ.ر. و احمدی، ک.، ۱۳۹۱.** مطالعه تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی خون و آسیب‌شناسی بافتی کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhyncus myksis*) در تماس با غلظت‌های زیر کشنده دیازینون. نشریه محیط زیست طبیعی، مجله منابع‌طبیعی ایران. سال ۶۵، شماره ۳، صفحات ۲۹۷ تا ۳۱۳.

۳. **پورغلام، ر.؛ سلطانی، م.؛ حاج‌محی‌الدیت داوود، ح.؛ پورغلام، ح.؛ غرقی، ا. و نهاوندی، ر.، ۱۳۸۵.** تعیین میانه غلظت کشنده (LC50) سم دیازینون و اثرات غلظت تحت کشنده آن بر روی برخی از شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). مجله علوم شیلاتی ایران. سال ۵، شماره ۲، صفحات ۶۷ تا ۸۲.

۴. **جادی، ی.؛ موحدی‌نیا، ع.؛ صفاهیه، ع.؛ دژندیان، س. و حلاجیان، ع.، ۱۳۹۲.** مطالعه اثرات تحت‌کشندگی آفت‌کش دیازینون بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون بچه‌ماهی سیم دریایی خزر. مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران). سال ۲۸، شماره ۳، صفحات ۲۷۴ تا ۲۸۱.

۵. **جمال‌زاده، ح.؛ کیوان، ا.؛ عریان، ش. و قمی‌مرزدشتی، م.ر.، ۱۳۸۷.** بررسی سطوح برخی از شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspiuse*). مجله علمی شیلات ایران. سال ۱۷، شماره ۱، صفحات ۴۷ تا ۵۴.

۶. **حنایی‌کاشانی، ز.؛ ایمانپور، م.ر.؛ زادمجید، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۵.** تعیین درجه سمیت و تاثیر سم دیازینون بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون مولدین نر ماهی قرمز (*Carassius auratus*). فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. سال ۵، شماره ۱، صفحات ۵۹ تا ۶۸.

۷. **خضرائی‌نیا، پ.؛ پیغان، ر. و آذری‌تاکامی، ق.، ۱۳۷۹.** بررسی تغییرات برخی آنزیم‌های سرمی، اوره و کلسترول خون ماهی کپور معمولی در مسمومیت تجربی حاد با آمونیاک. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. سال ۵۵، شماره ۳، صفحات ۲۹ تا ۳۲.

۸. **ستاری، م.؛ شاهسونی، د.؛ شعبانی‌پور، ن. و شفیعی، ش.، ۱۳۹۱.** ماهی‌شناسی (تشریح و فیزیولوژی). انتشارات حق‌شناس. ۲۲۶ صفحه.

۹. **سلطانی، م. و خوشباوررستمی، ح.، ۱۳۸۱.** مطالعه اثر دیازینون بر برخی شاخص‌های خونی و بیوشمیایی چالباش (*Acipenser guldunstadi*). مجله علوم و فنون دریایی ایران. سال ۱، شماره ۴، صفحات ۶۵ تا ۷۰.

۱۰. **شاهسونی، د.؛ مهرداد، م. و مازندرانی، م.، ۱۳۸۵.** تعیین مقادیر برخی از الکترولیت‌های سرم خون ماهی خاویاری قره‌برون (*Acipenser persicus*). مجله دامپزشکی ایران دانشگاه شهید چمران اهواز. سال ۲، شماره ۲، صفحات ۱۱۲ تا ۱۱۷.

۱۱. **شاهسونی، د.؛ وثوقی، غ. و خضرائی‌نیا، پ.و.، ۱۳۷۷.** تعیین برخی فاکتورهای خونی ماهی اوزون‌برون در سواحل جنوب‌شرقی دریایی خزر. پژوهش و سازندگی. شماره ۴۴، صفحات ۱۲۶ تا ۱۳۰.

۱۲. **قوتی، ن.؛ محمدی، س. و محمدی، و.، ۱۳۹۰.** مقایسه و بررسی تغییرات سختی و قلیائیت با مسمومیت فلز سنگین روی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تالاب، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. سال ۲، شماره ۸، صفحات ۲۱ تا ۲۸.

۱۳. **کاظمی، ر.؛ پوردهقانی، م.؛ یوسفی‌جوردهی، ا.؛ یارمحمدی، م. و نصری‌تجن، م.، ۱۳۸۹.** فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون‌شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان رشت. ۱۹۴ صفحه.

۱۴. **کیاپور، ف.، ۱۳۹۷.** اثرات مواجهه با دوزهای تحت کشنده سم آندوسولفان بر بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز) در ماهی گورخری (*Danio rerio*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، رشته تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۴۹ صفحه.

15. **Agrahari, S.; Pandey, K.C. and Gopal, K., 2007.** Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. 88, pp: 268-272.

16. **Akhtar, M.S.; Pal, A.K.; Sahu, N.P.; Alexander, C. and Gupta, S.K., 2012.** Effect of dietary pyridoxine on growth and biochemical responses of *Labeo rohito* fingerlings exposed to endosulfan. Pesticide Biochemistry and physiology. Vol. 103, pp: 23-30.

17. **Bacankas, L.R.; Whitaker, J. and Giulio, R.T.D., 2004.** Oxidative stress in two populations of killifish (*Fundalus fundalus*) with differing contaminant exposure histories. Marine Environment Research. Vol. 56, pp: 2- 5.

18. **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).

19. **Bajpayee, M.; Pandey, A.K.; Zaidi, S.; Musarrat, J.; Parmar, D.; Mathur, N.; Seth, P.K. and Dhawan, A., 2006.** DNA damage and mutagenicity induced by endosulfan and its metabolites. Environmental and Molecular Mutagenesis. Vol. 47, No. 9, pp: 682-692.

20. **Banaee, M., 2010.** InOuence of silymarin in decline of sub-lethal diazinon-induced oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Ph.D. Thesis, Aquaculture and Environmental Department, Natural.

21. **Banaee, M.; Mirvaghefei, A.R.; Rafiee, G.R.; Mojazi Amiri, B., 2008.** Effect of sublethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. International Journal of Environmenalt Research. Vol. 2, No. 2, pp: 189-198.

22. **Banaee, M.; Sureda, A.; Mirvagefei, R. and Ahmadi. K., 2011.** Effect of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. 99, pp: 1-6.

23. **Barcellos, L.J.G.; Marquze, A.; Trapp, M.; Quevedo, R.Z.M. and Ferreia, D., 2010.** The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundia Rhamdia. quelen. Aquaculture. Vol. 300, pp: 231- 236.

24. **Bhattacharya, H.; Xiao, Q.; Lun, L., 2008.** Toxicity studies of nonylphenol on rosy barb (Puntius conchonious): A Biochemical and Histopathological Evaluation. Tissue and Cell. Vol. 40, pp: 243-249.

25. **Borges, A.; Scotti, L.V.; Siqueira D.R.; Jurinitz D.F. and Wassermann, G.F., 2004.** Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology and Biochemical. Vol. 30, pp: 21- 25.

26. **Crupkin, A.C.; Caaiquiriborde, P.; Mendieta, J.; Panzeri, A.M.; Ballesteros, M. and Menone M., 2013.** Oxidative

49. **Nouri, J.; Arjmandi, R. and Bayat, H., 2000.** Ecological investigation of application of pesticides in rice fields. Iran Journal Public Health. Vol. 29, No. 4, pp: 137–146.

50. **Palanivelu, V.; Vijayavel, K.; Ezhilarasibalasubram anian, S. and Balasubramanian, M.P., 2005.** Influence of insecticidal derivative (Cartap Hydrochloride) from the marine polychaete on certain enzyme systems of the freshwater fish *Oreochromis mossambicus*. Journal of Environmental Biology. Vol. 26, pp: 191-196.

51. **Petrovic, S.; Ozretic, B. and Krajnovic-Ozretic, M., 1996.** Cytosolic aspartate aminotransferase from grey mullet (*Mugil auratus Risso*) red muscle: Isolation and properties. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. Vol. 28, No. 2, pp: 873-881.

52. **Rao, J.V., 2006.** Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. 86, pp: 78-84.

53. **Reitman, S. and Frankel, A.S., 1957.** A colorimetric method for the determination of serum glutatmic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. American Journal of Clinical Pathology. Vol. 28, pp: 56-63.

54. **Saera-Vila, A.; Calduch-Giner, j.; Prunet, P. and Perez-Sanchez, J., 2009.** Dynamic of liver GH/IGF axis and selected stress markers in juvenile gilhead sea bream (*Sparus aurata*) exposed to acuted confinement differntial stress response of growth hormone receptors. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 154, pp: 197-203.

55. **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. Chemosphere. Vol. 74, pp: 1254-1259.

56. **Sassi, A.; Darias, M.J.; Said, K.; Messaoudi, I. and Gisbert, E., 2013.** Cadmium exposure affects the expression of genes involved in skeletogenesis and stress response in gilthead sea bream larvae. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 39, No. 3, pp: 649-659.

57. **Silva-Barni M.F.; Gonzales, M. and Miglioranza, K.S.B., 2014.** Assessment of persistent organic pollutants accumulation and lipid peroxidation in two reproductive stages of wild silverside (*Odontesthes bonariensis*). Ecotoxicolal Environmental Healthy. Vol. 99, pp: 43-45.

58. **Srivastava, A.S.; Oohara, I.; Suzuki, T.; Shenouda, S.; Singh, S.N.; Chauhan, D.P. and Carrier, E., 2004.** Purification and properties of cytosolic alanine aminotransferase from the liver of two freshwater fish (*Clarias batrachus*) and (*Labeo rohita*). Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Biochemistry and Molecular Biology. Vol. 137, pp: 197-207.

59. **Swain, P.; Dash, S.; Sahoo, P.K.; Routray, P.; Sahoo, S.K.; Gupta, S.D.; Meher, P.K. and Sarangi, N., 2007.** Nonspecific immune parameters of brood Indian major carp *Labeo rohita* and their seasonal variations. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 22, pp: 38-43.

60. **Tellez-Bañuelos, M.C.; Santerre, A.; Casas-Solis, J., Bravo-Cuellar, A. and Zaitseva G., 2009.** Oxidative stress in macrophages from spleen of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to sublethal concentration of endosulfan. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 27, No. 2, pp: 105-111.

61. **Tietz, N.W., 1986.** Textbook of clinical chemistry. WB Saunders, London.

62. **Van der, R.O.; Jonny, B. and Vermeulen, N.P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment, a review. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 13, pp: 57-149.

63. **Velisek, J.; Dobsikova, R.; Svobodova, Z.; Modra, H. and Luskova, V., 2006.** Effect of deltamethrin on the biochemical profile of common carp. Bulletin Environmental Contamination Toxicology. Vol. 76, pp: 992-998.

64. **Waisberg, M.; Joseph, P.; Hale, B. and Beyersmam, D., 2003.** Molecular and cellular mechanisms of cadmium. Toxicology. Vol. 192, pp: 95-117.

65. **Wedemeyer, G.A.; Barton, B.A. and Mcleay, D.J., 1990.** Stress and acclimation. In: Methods for Fish Biology. Schreck, C.B. and Moyle, P.B., (ed). Bethesda, Maryland. USA. pp: 451-490.

stress and genotoxicity in the South American cichlid, Australoheros facetus, after short-term sublethal exposure to endosulfan. Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. 105, pp: 102-110.

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

28. **Doumas, B.T.; Watson, W.A. and Biggs, H.G., 1977.** Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. Clinica Chimica Acta. Vol. 258, pp: 21-30.

29. **El-Sayed, Y.S. and Saad, T.T., 2008.** Sub-acute intoxication of a deltamethrin-based preparation (Butox 5%EC) in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus L.* Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. Vol. 102, pp: 293-299.

30. **Ezemonye, L. and Ikpesu, T., 2011.** Evaluation of sub-lethal effects of endosulfan on cortisol secretion glutathione S-transferase and acetylcholinesterase activities in *Clarias gariepinus*. Food and Chemical Toxicology. Vol. 49, No. 9, pp: 1898-1903.

31. **Haschek, W.M.; Walling, M.A. and Rousseax, C., 2010.** Fundamental of Toxicological pathology. NewYork, NY: Academic Press. pp: 211-686.

32. **Hoseinifar, S.H.; Mirvaghefi, A.; Mojazi Amiri, B.; Merrifield, D. and Darvish Bastami, K., 2010.** The study of some haematologic and serum biochemical parameters of juvenile beluga fed dietary prebiotic oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 31, pp: 91-96.

33. **Hrubec, T.C. and Smith, S.A., 1999.** Differences between plasma and serum sample for the evaluation of blood chemistry value in Rainbow trout, Channel catfish, Hybrid tilapia, and hybrid striped bass. Journal of Aquatic Animal Health. Vol. 11, pp: 116-122.

34. **Hrubec, T.C.; Cardinale, J.L. and Smith, S.A., 2000.** Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured Tilapia (*Oreochromis* hybrid). Verterinary Clinical Pathology. Vol. 29, No. 1, pp: 7-12.

35. **Iwama, G.K.; Takemura, A. and Takano, K., 1999.** Oxygen consumption rates of tilapiain fresh water, sea water, and hypersaline sea water. Jouranl of Fish Biology. Vol. 51, pp: 886-894.

36. **Jee, J.H.; Masroor, F. and Kang, J.C., 2005.** Responses of cypermethrin-induced stress in haematological parameters of Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. Aquaculture Research. Vol. 36, No. 9, pp: 898-905.

37. **John, P.J., 2007.** Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to Metasystox and Sevin. Fish Physiology Biochemistry. Vol. 33, pp: 15-20.

38. **Joseph, B. and Raj, S.J., 2011.** Impact of pesticide toxicity on selected biomarkers in fishes. International Journal of Zeological Research. Vol. 7, No. 2, pp: 212-220.

39. **Kim, S.G.; Park, D.K.; Jange, S.W.; Lee, J.S.; Kim, S.S. and Chung, M.H., 2008.** Effects of dietary benzo[a]pyrene on growth and hematological parameters in juvenile rockfish (*Sabates schlegeli*). Bulltin of Environmental Contamination and Toxicology. Vol. 81, pp: 470-474.

40. **Knowles, S.; Hrubec, T.C.; Smith, S.A. and Bakal, R.S., 2006.** Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Veterinary Clinical Pathology. Vol. 35, pp: 434-440.

41. **Koaud, H.A.; Zaki, M.M.; EI-Dahshan, A.R.; Saeid, S.H. and EL-Zorba, H.Y., 2011.** Amelioration the toxic effects of cadmium exposure in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by using (*Lemna gibba*). Vol. 8, No. 1, pp: 185-195.

42. **Kumar, S.; Sahu, N.P.; Pal, A.K.; Choudhury, D.; Yengkokpam, S. and Mukherjee, S.C., 2005.** Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in (*Labeo rohita*) juveniles. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 19, pp: 331-344.

43. **Lucas, A., 1996.** Physical concepts of bioenergetics. Bioenergetics of aquatic animals. English edition, Taylor and Francis, France.

44. **Luskova, V., 1995.** Determination of normal values in fish. Acta Universitatis carolinae Biologica. Vol. 39, pp: 191- 200.

45. **Mc Donald, D.G. and Milligan, C.L., 1992.** 2 Chemical Properties of the Blood. Fish physiology. Vol. 12, pp: 55-133.

46. **Murray, R.K.; Granner, D.K.; Mayes, P.A. and Rodwell, V.W., 2003.** Harper's Illustrated Biochemistry, Twenty-Sixth Edition; Lange Medical Books/McGraw-Hill (Medical Publishing Division). New York. 402 p.

47. **Negro, C.L., 2015.** Histopathological effects of endusolfan to hepatopancreas, gills and ovary of the fresh water crab (*Zilchiopsis collastinensis*). Ecotoxicology and Environmental Saftey. Vol. 113, pp: 87-94.

48. **Nordlie, F.G., 2009.** Environtal influences on regulation of blood/ plasma component in teleost fishes. Rev Fish Biol Fisheries. Vol. 19, pp: 481-564.