مقاله علمی – پژوهشی:

اثر زیر حد کشندگی سم دیازینون بر استروئیدزایی و وضعیت جنسی مولدین نر ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

حنانه صمدی[۱]، سید روح الله جوادیان*[۱]، محمدرضا ایمان‌پور[۲]

*Ro.javadian@gmail.com

۱- گروه شیلات، واحد قائم‌شهر دانشگاه آزاداسلامی، قائم شهر، ایران

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

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۹

چکیده

تعیین اثرات زیر حد کشندگی سم دیازینون بر استروئیدزایی و وضعیت جنسی در مولدین نر ماهی قرمز در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تعیین میزان LC_{50} ماهیان در غلظت‌های ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲/۵، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر دیازینون، در آکواریوم قرار گرفتند. پس از تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم‌افزار پروبیت، مقدار LC_{50} در ۹۶ ساعت مشخص شد. مقادیر LC_{50} طی ۹۶ ساعت (۱۱/۴۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌دست آمد و ماهیان براساس غلظت‌های، ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ درصد LC_{50} در ۹۶ ساعت، و گروه شاهد (فاقد سم دیازینون) تیماربندی شدند و به مدت ۲ ماه در غلظت‌های مذکور قرار گرفتند. در پایان دوره آزمایش، سطوح استروئیدهای جنسی (۱۷ بتا استردایول و تستوسترون) و فاکتورهای کیفیت اسپرم از قبیل جمع اسپرم‌دهی، طول دوره تحرک، درصد اسپرم‌های متحرک، تراکم اسپرم، اسپرماتوکریت و شاخص گنادی در مولدین نر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که سم دیازینون سبب کاهش معنی‌دار تستوسترون و ۱۷ بتا- استرادیول در تیمارهای ۰/۵۰ و ۰/۷۵ درصد نسبت به شاهد (صفر درصد) شد ($p<۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری در برخی از پارامترهای کیفی اسپرم مثل حجم اسپرم، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت بین تیمار شاهد و تیمار ۰/۲۵ مشاهده نشد، اما با افزایش میزان سم دیازینون (۰/۷۵-۰/۲۵ درصد) طول دوره تحرک اسپرم کاهش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). درصد اسپرم‌های متحرک نیز در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دریافت‌کننده بالاتر بود و با افزایش غلظت سم دیازینون روند کاهشی داشت ($p<۰/۰۵$). شاخص گنادوسوماتیک در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دریافت‌کننده به طور معنی‌داری بالاتر بود ($p<۰/۰۵$) و با افزایش میزان سم روند کاهشی نشان داد. در مجموع، سم دیازینون در محیط‌های آبی حتی در غلظت‌های زیر حد کشنده سبب تغییرات منفی در سطوح استروئیدهای جنسی و کیفیت گناد نر در ماهی قرمز می‌شود.

لغات کلیدی: ماهی قرمز، دیازینون، استروئیدهای جنسی، کیفیت اسپرم

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5]

مقدمه

امروزه آفت‌کش‌ها در کشاورزی و برای کنترل آفات در محیط‌های آبی و نیز برای حفظ سلامت بشر و حیوانات به‌کار می‌روند، اما کاربرد روزافزون و بیش از حد آفت‌کش‌ها سلامت بشر را نیز به مخاطره انداخته و اثرات معکوسی بر موجودات غیر هدف داشته و موجب آلودگی منابع آب، خاک و هوا گردیده است (پژند، ۱۳۷۸).

در حال حاضر، سموم و آفت‌کش‌ها از عمده‌ترین موارد مسمومیت ماهیان هستند که ممکن است در غلظت کم، تاثیر مستقیمی بر ماهی نداشته باشند ولی در طولانی مدت بر مراحل اولیه تکامل ماهی موثر خواهند بود (کشتکارلنگرودی و تهرانی‌فرد، ۱۳۹۷). به‌هرحال، آفت‌کش‌ها در بیشتر موارد منجر به آسیب به ماهیان می‌شوند. از این‌رو، تحقیقات اکولوژیک و بیولوژیک برای تعیین اثرات غیر طبیعی بر حیات محیط زیست در سال‌های اخیر افزایش یافته است (Tehranifard *et al.*, 2007). استفاده از سموم آفت‌کش تا زمانی که شیوه‌های مبارزه بیولوژیک با آفات گیاهی مرسوم نشود، امری اجتناب‌ناپذیر است. بنابراین، توصیه بر این است که حداقل از آفت‌کش‌هایی با درجه سمیت و نیمه عمر کمتر استفاده شود (Vandergeest *et al.*, 1997). از چند دهه قبل، ارگانوفسفره‌ها به منزله دسته‌ای از آفت‌کش‌ها که پایداری کمتری در محیط زیست نسبت به ارگانوکلره‌ها دارند، جانشین آنها شدند (Giron-Perez *et al.*, 2007). دیازینون یکی از آفت‌کش‌های گروه ارگانوفسفره است که مکانیزم آثار سمی آن مانند سایر سموم ارگانوفسفره، موجب مهار شدن کلیه آنزیم‌ها به‌ویژه استیل‌کولین‌استراز (آنزیمی که نقش حیاتی در عملکرد مناسب سیستم‌های عصبی در جانداران ایفاء می‌کند) می‌گردد. حساسیت ویژه جانداران به دیازینون تا حدود زیادی به قابلیت‌های جذب، مهار استیل‌کولین‌استراز و دفع مواد سمی از موجود بستگی دارد. دیازینون سمیت بسیار بالایی برای ماهیان آب شیرین، بی‌مهرگان آبزی، ارگانیسم‌های مصب و دریایی دارد. اثر بازدارندگی کولین استراز در آزمایش‌های سمیت حاد ماهی در مواجهه با غلظت‌های بسیار پایین این حشره‌کش مشاهده شده است (Hayes and Laws, 1990). این سم می‌تواند در غلظت‌هایی که کشندگی ندارند، باعث سایر اختلالات بیولوژیک و اکولوژیک مثل عقیم کردن، کاهش هماوری و تولید مثل، عدم رشد کافی در موجودات یا بوجود آمدن نسل‌های مریض و ناسالم شود که از این طریق باعث نابودی نسل‌های جانداران می‌گردند (پژند، ۱۳۷۸).

ماهی قرمز (*Carassius auratus*) از خانواده کپور ماهیان می‌باشد. ماهی قرمز در ایران، در حوضه‌های دریای خزر، دریاچه ارومیه و هامون و رودخانه کارون پراکنش یافته است (وثوق و مستجیر، ۱۳۷۳). گونه بسیار مناسبی جهت مطالعات تولیدمثلی، مطالعات غدد درون ریز، سلولی، ایمنی شناسی، سم شناسی و مولکولی می‌باشد، زیرا از اندازه مناسبی جهت تحقیقات آزمایشگاهی برخوردار است و نیز در محیط‌های آزمایشگاهی سریع به بلوغ می‌رسد و تولیدمثل می‌نماید. در واقع، از این گونه به عنوان مدل جهت بررسی کپورماهیان استفاده می‌شود و به صورت گسترده در مطالعات تولید مثلی، کنترل هورمون و مطالعات بر سموم و سایر آلاینده‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Lee *et al.*, 1997). در دهه‌های اخیر، به مواد شیمیایی که سیستم غدد درون‌ریز را به‌هم می‌ریزند، توجه زیادی شده است که از جمله این مطالعات می‌توان به مطالعه حنایی کاشانی و همکاران (۱۳۹۶) در مورد تعیین درجه سمیت سم دیازینون بر استروئیدزایی و شاخص‌های بیوشیمیایی مولدین ماهی قرمز اشاره کرد. نتایج این مطالعه نشان داد که سم دیازینون بر کبد مولدین ماهی قرمز نر تاثیر منفی می‌گذارد و ترشح آنزیم‌های کبدی را دچار اختلال می‌کند. همچنین میزان گلوکز و پروتئین کل در ماهیان تغییر می‌یابد که سبب اختلال در متابولیسم ماهی و در نتیجه کاهش رشد و بقاء ماهیان می‌شود (حنانی‌کاشانی و همکاران، ۱۳۹۶). کشتکارلنگرودی و تهرانی‌فرد (۱۳۹۷) به تاثیر زیر حد کشندگی سم دیازینون بر پارامترهای خونی و بافت‌های آبشش و عضله بچه ماهی قره‌برون (*Acipenser persicus*) پرداختند و نشان دادند که تغییرات آسیب‌شناسی بافتی و میزان مرگ و میر با افزایش غلظت سم به طور معنی‌داری افزایش یافت (کشتکارلنگرودی و تهرانی‌فرد، ۱۳۹۷). در مطالعه Banaee و همکاران

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5]

(۲۰۱۳) صدمات شدید به ساختمان سلول‌ها و بافت‌های کلیه و طحال و کبد در مواجه با سم دیازینون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mikiss*) مشاهده شد (Banaee *et al*., 2013). همچنین تحقیقات نشان داد که این مواد می‌توانند با تداخل در سیستم غدد درون‌ریز، تولیدمثل را تحت تاثیر قرار دهند. شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد این مواد شیمیایی می‌توانند فنوتیپ نرها را به‌واسطه دخالت در فعالیت طبیعی هورمون های جنسی تغییر دهند (Sofikitis *et al*., 2008).

مطالعه بر تأثیرات عواملی نظیر سموم و بسیاری از فاکتورهای متغیر دیگر بر فرایند تولیدمثل ماهیان یکی از بحث‌های بسیار مهم می‌باشد. با توجه به موارد مذکور، اغلب رودخانه‌های محل مهاجرت، تخم‌ریزی و پرورش ماهیان در مجاورت اراضی کشاورزی مصرف‌کننده سم دیازینون به عنوان آفت‌کش قرار دارند. بنابراین، این تحقیق به منظور اثر این سم بر هورمون‌های استروئیدی و برخی پارامترهای کیفی اسپرم در مولدین نر ماهی قرمز به عنوان یک مدل زیستی انجام شد.

مواد و روش کار

ماهی و شرایط پرورش

این تحقیق در سالن آبزی‌پروری باران کوه استرآباد در شهرستان بندرترکمن به مدت دو ماه انجام شد. برای این منظور ابتدا ۲۱۰ قطعه ماهی قرمز نر با میانگین وزنی ۲۹/۶۰±۲/۷۶ گرم (میانگین±انحراف معیار) تهیه شد. سپس مولدین در ۱۵ آکواریوم ۵۰ لیتری با تراکم ۱۴ قطعه ماهی در هر آکواریوم به صورت تصادفی توزیع شدند و ماهیان به مدت یک هفته به منظور سازگاری با محیط جدید نگهداری شدند. هر یک از آکواریوم‌ها به صورت جداگانه به سیستم هوادهی مجهز شدند تا سطح اکسیژن آب در سطح استاندارد قرار گیرد. طی دوره آزمایش ماهیان در این مدت روزانه به مقدار ۳ درصد وزن بدن و در دو وعده غذایی (ساعت ۹ صبح و ۴ بعدازظهر) در روز با غذای مخصوص ماهی قرمز (انرژی- ساخت کشور تایلند) حاوی ۳۳/۷۱ درصد پروتئین خام، ۸/۴۱ درصد چربی خام، ۹/۲۱ درصد خاکستر و ۱/۹۲ درصد فیبر خام تغذیه شدند (Bagheri *et al*., 2013). عوامل فیزیکی و شیمیایی آب از قبیل درجه حرارت، pH و اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه (Water checker-U10, HURIBA, Japan) اندازه‌گیری شد (جدول ۱). روزانه به میزان ۲۵ درصد حجم آب تعویض صورت می‌گرفت. تمامی آکواریوم‌ها به‌گونه‌ای هوادهی می‌شدند تا حداقل آشفتگی در آنها ایجاد شود. تنها در نوبت‌های غذادهی، هوادهی به طور موقت قطع و سپس مجدداً برقرار می‌شد.

جدول۱: پارامترهای کیفی آب (میانگین±انحراف معیار) طی دوره پرورش ماهی قرمز

Table 1: Water quality parameters (mean ± SD) during goldfish rearing

متغیر	شاهد (صفر)	تیمار۲ (۲۵ درصد)	تیمار۳ (۵۰ درصد)	تیمار۴ (۷۵ درصد)
دما (درجه سانتی‌گراد)	۲۱/۷۰۰±۰/۱۴۰	۲۱/۷۰۰±۰/۱۴۰	۲۱/۷۰۰±۰/۱۴۰	۲۱/۷۰۰±۰/۱۴۰
pH	۸/۰۲۰±۰/۶۴۰	۸/۰۵۰±۰/۷۸۰	۸/۱۲۰±۰/۶۵۰	۸/۲۷۰±۰/۲۴۰
اکسیژن‌محلول (mg/L)	۸/۷۱۰±۰/۲۱۰	۸/۵۲۰±۰/۳۱۰	۸/۳۲۰±۰/۳۳۰	۸/۱۵۰±۰/۵۲۰

تعیین محدوده کشندگی غلظت سم دیازینون

ابتدا آزمایش مقدماتی تعیین محدوده کشندگی غلظت سم دیازینون آزمایش LC_{50} انجام شد. برای تعیین LC_{50-96h} سم، ابتدا ماهیان در غلظت‌های ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲/۵، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر از سم دیازینون (کاوش، ایران) به مدت ۹۶ ساعت قرار گرفتند و میزان تلفات ثبت شد. سپس نتایج با استفاده از نرم‌افزار پروبیت آنالیز و میزان LC_{50} سم دیازینون در ۹۶ ساعت برابر با ۱۱/۴۰ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. سپس برای بررسی اثر زیر حد کشندگی سم دیازینون بر استروئیدزایی و وضعیت جنسی مولدین نر ماهی قرمز تیماربندی براساس غلظت‌های، ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ درصد LC_{50} در ۹۶ ساعت سم

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5]

دیازینون برابر با ۲/۸۵ میلی گرم بر لیتر (تیمار دوم)، ۵/۷ میلی‌گرم بر لیتر (تیمار سوم)، ۸/۵۵ میلی‌گرم بر لیتر (تیمار چهارم) و گروه شاهد (فاقد سم دیازینون) انجام شد و به مدت ۶۰ روز در غلظت‌های فوق قرار گرفتند در هر تیمار (۳ تکرار) ۱۴ قطعه ماهی قرار داده شد.

تکثیر ماهیان

ماهیان تحت شرایط دمایی و تغذیه‌ای مناسب در آکواریوم‌های ۵۰ لیتری مجهز به سیستم تنظیم‌کننده نوری و دمایی به مدت دو ماه نگهداری شدند. بعد از یک ماه از شروع آزمایش به منظور تکثیر مولدین در ابتدا یک کمون سرمایی ۱۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از کاهش دمایی به صورت مرحله‌ای و به میزان حداکثر ۲ درجه سانتی‌گراد در روز اعمال گردید. همزمان با کاهش دما، نور نیز با دامنه ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی با استفاده از کاهش تدریجی ۱۵ دقیقه در روز، تنظیم گردید. ماهیان به مدت ۱۰ روز در شرایط ذکر شده نگهداری شدند. پس از پایان دوره کمون سرمایی، به منظور تحریک مولدین درجه حرارات آب با استفاده از افزایش تدریجی به میزان ۲ درجه سانتی‌گراد افزایش داده شد (Tan-Fermin *et al*., 1977). همزمان با افزایش درجه حرارت دوره نوری نیز با استفاده از افزایش تدریجی ۱۵ دقیقه در روز، به دامنه ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی تغییر داده شد. ماهیان به مدت دو هفته در شرایط مذکور نگهداری شدند (ایمان‌پور و کمالی، ۱۳۸۵). تنظیم دوره نوری و درجه حرارت به‌ترتیب با لامپ‌های فلورسنت ۲۰ واتی متصل به یک زمان‌سنج دیجیتالی و یخچال مجهز به سیستم گرمایی هیتر صورت گرفت. پس از بروز رفتارهای تولیدمثلی و شناسایی مولدین، ماهیان نر و ماده هر تیمار جدا و در آکواریوم‌های جداگانه قرار داده شدند. برای تکثیر ماهیان از هورمون اوواپریم استفاده شد. تزریق هورمون در ماهیان نر طی یک مرحله صورت گرفت. پس از حصول اطمینان از رسیدگی کامل، مولدین نر به میزان ۰/۳ میلی‌لیتر به ازاء کیلوگرم وزن بدن تزریق شدند. پس از تزریق به ماهیان و قرار گرفتن آنها در آکواریوم‌های جداگانه، ماهیان طی فواصل زمانی منظم جهت رسیدگی بررسی شدند. پس از گذشت ۱۲ساعت از تزریق دوم، منفذ تناسلی و بدن ماهیان نر با حوله خشک شد و با فشار ملایم به ناحیه شکمی، از ماهیان مولد نر اسپرم‌گیری به‌عمل آمد و این کار به‌گونه‌ای صورت گرفت که اسپرم فاقد هر گونه آلودگی با آب یا ادرار باشد. سپس مقداری از نمونه‌های اسپرم ماهیان جهت انجام آزمایش‌های لازم ذخیره شد (Olsen *et al*., 2006).

اندازه‌گیری پارامترهای اسپرم شناختی

از تعداد ۵ قطعه ماهی مولد نر جهت تعیین پارامترهای اسپرم‌شناختی نمونه‌برداری صورت گرفت. برای جمع‌آوری اسپرم، پس از خشک‌کردن ناحیه شکمی مولدین نر با پارچه خشک، با فشار ملایم به ناحیه شکمی، اسپرم به‌وسیله لوله‌های موئینه میکروهماتوکریت ۷۷ میلی‌متر طول، ۲/۱-۱/۱ میلی‌متر قطر داخلی و ۶/۱ میلی‌متر قطر خارجی جمع‌آوری گردید. اسپرم‌های حاصله روی یخ یا داخل یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز، نگهداری شدند (Perchec *et al*., 1995). با استفاده از سرنگ‌های ۱ میلی‌لیتری انسولین، حجم اسپرم‌دهی ماهیان اندازه‌گیری شد (Tiersch *et al*., 2001). برای شروع حرکت، اسپرم با محلول فعال کننده (آب مقطر به نسبت ۲۰۰۰: ۱) رقیق شد و پارامترهای حرکتی اسپرم بلافاصله با تأخیر زمانی کمتر از ۷ ثانیه بعد از شروع فعالیت اسپرم تا زمانی‌که ۱۰۰درصد اسپرم‌ها غیر متحرک شدند، با میکروسکوپ فازکنتراست، ثبت و روی صفحه مانیتور نشان داده شد. مشاهدات در دمای اتاق ۲۲-۲۰ سانتی‌گراد صورت گرفت (Turner and Montgomerie, 2002). در ادامه با استفاده از نرم‌افزار Adobe Premeier هر ثانیه به ۶ قاب تبدیل شد و با مقایسه دو قاب متوالی، درصد اسپرم‌های متحرک محاسبه شد. برای اندازه‌گیری مدت زمان حرکت اسپرم، زمان تحرک از لحظه فعال شدن تا زمانی که همه اسپرم‌ها از حرکت باز ایستادند، اندازه گیری گردید (Turner and Montgomerie, 2002). برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، سمن جمع‌آوری شده از هر ماهی درون ۳ عدد لوله موئینه میکروهماتوکریت قرار داده شد. در حدود ۷۰ درصد هر لوله موئینه با اسپرم پر و

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5]

یکی از انتهای لوله با خمیر هماتوکریت مسدود گردید. سپس لوله‌های موئینه با دستگاه سانتریفوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۸ دقیقه، سانتریفیوژ شدند. در نهایت با استفاده از دستگاه هماتوکریت خوان، درصد اسپرم به پلاسمای سمینال اندازه‌گیری شد (Butts *et al*., 2010). محاسبه تراکم اسپرم با روش استاندارد هموسیتومتری صورت گرفت (Alavi *et al*., 2006).

اندازه‌گیری شاخص های گنادی

پس از توزین گناد ماهیان، شاخص گنادی به صورت درصد و با استفاده از فرمول ذیل برای ماهیان نر و ماده به صورت جداگانه محاسبه گردید:

شاخص گنادی= وزن گناد/وزن کل بدن × ۱۰۰

سنجش هورمون تستوسترون و ۱۷بتا- استرادیول

هورمون تستوسترون با روش الایزا با دستگاه الایزا ریدر و سنجش جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر و رسم منحنی‌های مخصوص مقادیر هورمون‌ها سنجیده شد (Guzman *et al*., 2008). همچنین هورمون ۱۷ بتا - استرادیول با کیت تک‌باندی به روش الایزا اندازه‌گیری شد. در طول موج ۴۵۰ نانومتر و رسم منحنی‌های کالیبراسیون سنجش انجام شد (Guzman *et al*., 2008).

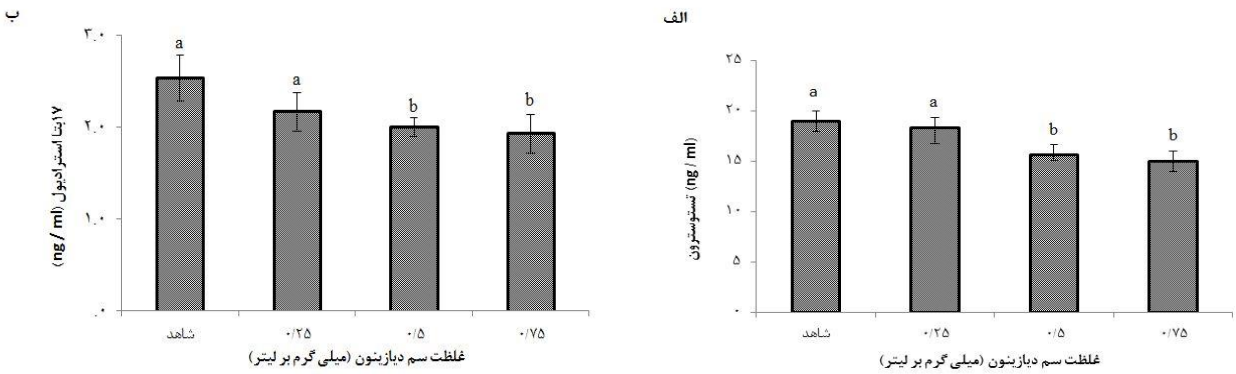
روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها

شیوه نمونه‌برداری در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. داده‌های مربوط به هورمون‌های تستوسترون، ۱۷ بتا استرادیول، طول دوره تحرک اسپرم، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، حجم اسپرم و شاخص‌گنادی توسط آنالیز واریانس یک طرفه به کمک آزمون دانت در سطح ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج

هورمون‌های جنسی

سم دیازینون سبب کاهش معنی‌دار هورمون‌های تستوسترون و ۱۷ بتا- استرادیول پس از در معرض قرارگیری شد (شکل ۱، الف و ب) به‌گونه‌ای که بین تیمار شاهد و غلظت ۰/۲۵ درصد سم دیازینون اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. اما در تیمارهای ۰/۵۰ و ۰/۷۵ درصد نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$).



شکل ۱: تأثیر سم دیازینون بر هورمون‌های جنسی در ماهی مولد نر قرمز
Figure 1: The effect of diazinon toxin on sex hormones of goldfish

پارامترهای اسپرم‌شناختی و شاخص گنادوسوماتیک

نتایج حاصل از پارامترهای اسپرم‌شناختی و شاخص گنادوسوماتیک در جدول ۲ ارائه و شکل ۲ نشان داده شده است. حجم اسپرم‌دهی و تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت اختلاف معنی‌داری بین تیمار (شاهد) و تیمار ۰/۲۵ درصد مشاهده نشد. اما این دو تیمار اختلاف

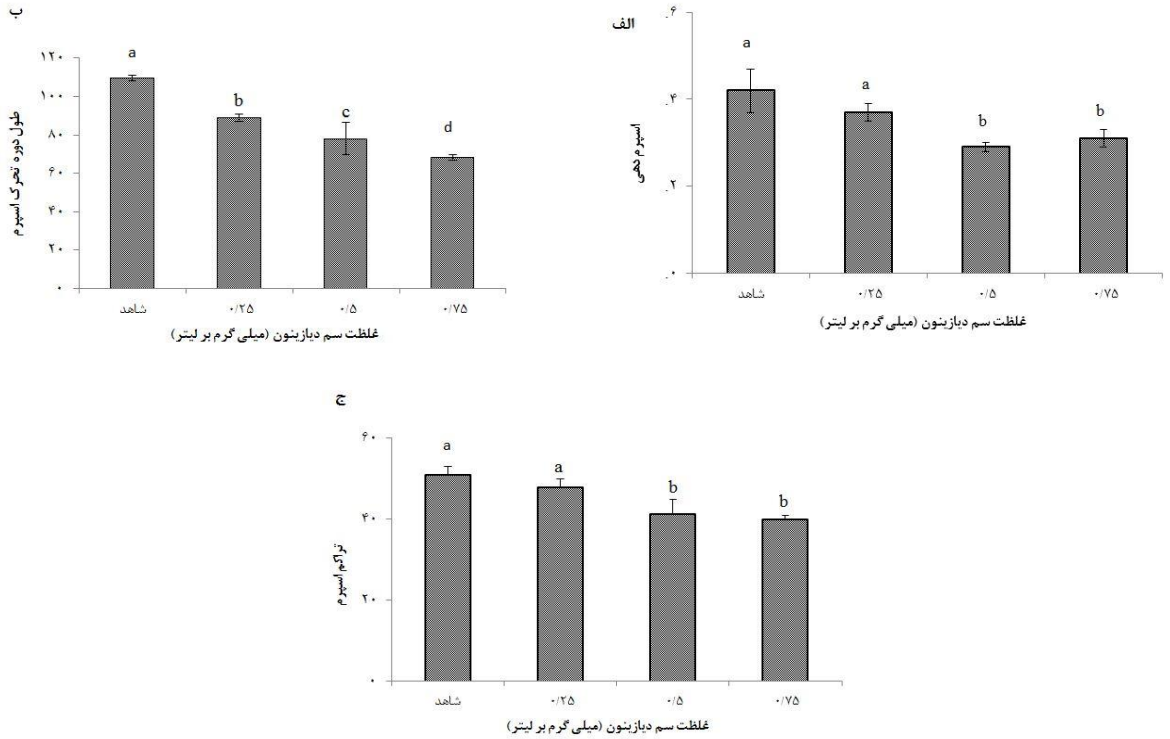
[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5]

معنی‌داری با تیمارهای ۰/۵۰ و ۰/۷۵ درصد داشتند به‌طوری‌که با افزایش میزان سم در حجم اسپرم‌دهی، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$). طول دوره تحرک اسپرم تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و با افزایش میزان سم دیازینون طول دوره تحرک اسپرم کاهش معنی‌داری داشت ($p<0/05$). درصد اسپرم‌های متحرک نیز در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دریافت کننده سم به طور معنی‌داری بالاتر بود ($p<0/05$). شاخص گنادوسوماتیک در تیمار شاهد ۴/۱۰±۰/۵۳ اندازه‌گیری شد و نسبت به تیمارهای دریافت کننده سم اختلاف معنی‌داری داشت ($p<0/05$).

جدول ۳: مقایسه میانگین‌های پارامترهای اسپرم شناختی و شاخص گنادوسماتیک در ماهی قرمز تحت تأثیر سم دیازنیون
Table 3: Comparison of mean sperm parameters and gonadosomatic index in goldfish affected by diazinon toxin

متغیر	شاهد (صفر)	تیمار ۲ (۲۵ درصد)	تیمار ۳ (۵۰ درصد)	تیمار ۴ (۷۵ درصد)
درصد اسپرم‌های متحرک (٪)	۹۰/۰۰±۱/۰۰^{a}	۸۴/۰۰±۵/۲۹^{b}	۷۲/۳۳±۱/۱۵^{c}	۶۹/۰۰±۱/۷۳^{c}
اسپرماتوکریت	۵۰/۶۷±۳/۰۵^{a}	۴۶/۳۳±۱/۵۳^{a}	۴۰/۰۰±۱/۷۳^{b}	۳۸/۳۳±۰/۵۸^{b}
گنادوسوماتیک (٪)	۴/۱۰±۰/۵۳^{a}	۳/۱۳±۰/۴۰^{b}	۲/۶۳±۰/۳۱^{b}	۲/۶۰±۰/۲۰^{b}

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ردیف می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌است.



شکل۲: مقایسه میانگین‌های پارامترهای اسپرم‌دهی (الف) طول دوره تحرک اسپرم (ب) و تراکم اسپرم (ج) در ماهی قرمز تحت تأثیر سم دیازنیون
Figure 2: Comparison of mean sperm parameters in goldfish affected by diazinon toxin

بحث

دیازینون قادر به تجمع در بافت ماهیچه، کبد، گناد و آبشش می‌باشد (Sapozhnikova *et al*., 2004) و از این طریق بر هوموستازی، تولیدمثل، رشد و یا رفتار ماهیان تاثیرگذار است (Abadin *et al*., 2009). ترکیبات شیمیایی با اختلال در سنتز و ترشح هورمون‌ها، سبب اختلال در سیستم هورمونی بدن می‌شوند. بنابراین، اطلاع از مکانیسم اختلال هورمون‌ها می‌تواند به تعیین

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5]

نشانگرهای زیستی اختصاصی آلاینده‌های مختلف کمک کند. از این نشانگرهای زیستی می‌توان در برنامه‌های ارزیابی زیست محیطی و سلامت جمعیت ماهیان در محیط‌های آلوده استفاده کرد (Di Giulio and Hinton, 2008). نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش غلظت سم دیازینون سبب کاهش سطح هورمون‌های تستوسترون و ۱۷-بتا-استرادیول در ماهیان قرمز نر مولد شده است. بنابراین، یک رابطه بین غلظت سم دیازینون با سطح هورمون‌های استروئیدی دیده می‌شود. استروئیدهای جنسی (از قبیل اندروژن و پروژسترون) ترکیبات غیر آلی می‌باشند که نقش ضروری در کنترل هورمونی تولیدمثل در ماهیان ایفاء می‌کنند (Barannikova *et al*., 2004). در مطالعه Eman و همکاران (۲۰۱۱) در ماهیان تیلاپیا که تحت تماس با مالاتیون بودند، میزان تستوسترون و ۱۷-بتا-استرادیول در نرها نسبت به شاهد کاهش یافت. همچنین در مطالعه شموشکی و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی تغییرات استروئیدهای جنسی مولدین نر ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) در غلظت‌های تحت کشنده سم دیازینون، میزان هورمون تستوسترون به طور معنی‌داری کاهش یافت.

هورمون‌های جنسی از جمله تستوسترون و ۱۷–بتا-استرادیول ممکن است به دلیل تاثیر سم دیازینون بر محور هیپوفیز-گناد باعث افزایش یا کاهش بعضی از آنها شود و سیستم تولیدمثل را دچار آسیب نمایند (Sarkar *et al*., 2000). از سوی دیگر، این نکته را نیز باید مد نظر داشت که سموم ارگانوفسفره نظیر دیازینون با ایجاد اختلال در عملکرد نوروترانسمیترها و نیز فعالیت غده هیپوفیزی به طور مستقیم فعالیت غدد جنسی را مهار می‌کنند (Sarkar *et al*., 2000) در واقع، دیازینون با تاثیر گذاشتن بر سلول‌های گنادوتروپ هیپوفیز، در سنتز و ترشح گنادوتروپین‌ها نیز اختلال ایجاد می‌کند که این امر نیز به‌نوبه خود می‌تواند فرایند گامتوژنز و سنتز هورمون‌های جنسی را در ماهی‌ها مختل نمایند (Maxwell and Dutta, 2005). بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که سطوح زیرکشنده این ترکیبات حتی در غلظت‌های کم که در محیط زیست وجود دارد، می‌تواند سبب تغییر فعالیت آنزیم‌ها و در برخی موارد سبب اختلال در روند استروئیدزایی و تولیدمثل شود. مطالعه تولید مثل ماهی شامل دو دسته شاخص‌های بلندمدت و کوتاه‌مدت است (Hedayati and Arsham, 2012). شاخص‌های بلندمدت شامل بررسی وضعیت گناد و گامت‌زایی و شاخص‌های کوتاه‌مدت بررسی استروئیدزایی و فعالیت هیپوفیز است (Matthiessen, 2003).

در مطالعه حاضر کیفیت تولیدات جنسی در ماهی قرمز تحت تأثیر غلظت زیر حد کشندگی سم دیازینون قرار گرفت. اختلاف معنی‌داری در پارامتر اسپرم‌دهی، طول دوره تحرک اسپرم و تراکم اسپرم بین تیمارها مشاهده شد و با افزایش غلظت سم دیازینون مقدار آنها کاهش یافت. نتایج این تحقیق با نتایج کردجزی و ایمانپور (۱۳۸۷) هم‌خوانی داشت این محققین اثر سم بنومیل را بر خصوصیات اسپرم شناختی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند که سم بنومیل اثر معنی‌داری بر این پارامترها داشت.

در مطالعه حاضر، شاخص‌های گنادوسوماتیک، درصد اسپرم‌های متحرک و اسپرماتوکریت تحت تاثیر سم دیازینون قرار گرفت و با افزایش غلظت این سم مقدا آنها کاهش یافت که از این نظر با مطالعه Eman و همکاران (۲۰۱۱) بر ماهیان تیلاپیای در معرض تماس با مالاتیون که پارامترهای اسپرم شناختی کاهش یافت، هم‌خوانی داشت. همچنین در مطالعه Fadakar و همکاران (۲۰۱۱) اثر سم دیازینون بر تحرک اسپرم در ماهی سفید نر در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید و نتایج نشان داد که با افزایش میزان سم دیازینون، درصد اسپرم‌های متحرک و مدت زمان تحرک اسپرم کاهش یافت. همچنین تاثیر مخرب سم دیازینون بر ماهی سالمون و کاهش تولید مایع اسپرمی در غلظت‌های مختلف این سم مشاهده شد (Cox, 2000). سموم ارگانوفسفره علاوه بر تاثیر مستقیم بر بافت تولیدمثلی (بافت بیضه) که سبب اختلال در روند اسپرماتوژنزیز و تولید اسپرم می‌شود، قادر به ایجاد آسیب در مکانیزم‌های فیزیولوژیک تولیدمثل از طریق اختلال در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد و تولید هورمون‌های

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5]

گنادوتروپینی نیز می‌باشد به‌طوری‌که بر رشد و توسعه گنادها از طریق اثر بر روند سنتز، ذخیره‌سازی، رهاسازی، انتقال، متابولیسم، فعالیت یا حذف هورمون‌های داخلی دخالت دارند (Maxwell and Dutta, 2005).

از آن‌جایی که سلول‌های جنسی اجزاء اساسی در فرایند اسپرماتوژنز می‌باشند، کاهش تعداد و کیفیت آنها در تولید اسپرم سالم و بی‌نقص تاثیرگذار خواهد بود. کاهش تولید اسپرم سالم و فعال در قابلیت باروری مولدین نر نیز تاثیر به‌سزایی خواهد داشت. در واقع، بروز چنین تغییراتی در هورمون‌های استروئیدی کیفیت و بازماندگی محصولات جنسی را کاهش می‌دهد و در مجموع، قابلیت باروری ماهیان نر کاهش خواهد یافت. کاهش همزمان کیفیت و کمیت گامت‌های تولیدی مولدین نر و ماده می‌تواند بر میزان تولیدمثل و بقاء بچه ماهیان آثار منفی بر جا گذارد و ادامه این روند بر نسل آینده ماهیان نیز تاثیرگذار خواهد بود.

بنابراین، این تاثیرات مستقیم یا غیر مستقیم آلاینده‌های محیط‌های آبی بر بیضه ماهیان، به کاهش یا توقف رشد و توسعه اسپرماتوزوئید خواهد انجامید. از این‌رو، تلاش برای جلوگیری از ایجاد آلودگی بیشتر در محیط آبی و مدیریت سازمان یافته در استفاده مناسب از سموم ارگانوفسفره در مزارع کشاورزی جهت کاهش حجم آلاینده‌های ورودی به اکوسیستم رودخانه‌ها و نهایتاً دریا امری ضرروری در حفظ ذخایر ماهیان خواهد بود.

منابع

ایمانپور، م.ح. و کمالی، ا.، ۱۳۸۵. بررسی تکثیر مصنوعی و پرورش لاروهای ماهی قرمز (*Carassius carassius gibelio*) توسط HCG. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۳(۲): ۱۷۲-۱۶۵

پژند، ذ.، ۱۳۷۸. تعیین غلظت کشنده سموم حشره‌کش دیازینون و علف کش بوتاکلر بر روی دو گونه از ماهیان خاویاری قره‌برون و ازون برون. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. صفحات ۱۲-۱۶.

حنانی کاشانی، ز.، ایمانپور، م.ح.، زادمجید، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۶. تعیین درجه سمیت و تاثیر سم دیازینون بر شاخص‌های بیوشیمایی خون مولدین نر ماهی قرمز (*Carassius auratus*). فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. ۵(۱): ۶۶- ۵۹.

شموشکی، م.، سلطانی، م.، شریف پور، ع. و ایمانپور، م.ر.، ۱۳۹۰. بررسی اثر سم دیازینون بر پارامترهای خونی مولدین نر ماهی سفید. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، ۵(۳): ۳۳-۲۳.

کردجزی، م. و ایمانپور، م.ح.، ۱۳۸۷. اثر سم بنومیل روی برخی خصوصیات اسپرم شناختی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). اولین همایش ملی تالاب‌های ایران. اهواز.

کشتکارلنگرودی، ل. و تهرانی‌فرد، ا.، ۱۳۹۷. تاثیر زیر حد کشندگی سم دیازینون بر پارامترهای خونی و بافت‌های آبشش و عظله بچه ماهی قره‌برون. نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۲(۳): ۱۲۹-۱۱۹.

وثوق، غ.ح. و مستجیر، ب.، ۱۳۷۳. ماهیان آب شیرین . انتشارات دانشگاه تهران، ۳۱۷ ص.

Abadin, H., Todd, D., Wohlers, D. and Hard, C.M., 2009. Priority data needs for Diazinon. Syracuse Research Corporation. 75 P.

Alavi, S.M.H., Cosson, J. and Kazemi, R., 2006. Semen characteristics in *Acipenser persicus* in relation to sequential stripping. *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 400-405. DOI:10.1111/j.1439-0426.2007.00994.x.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R. and Ahmadi, K., 2013. Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pesticide bBiochemistry and*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5]

Physiology, 99: 1-6. DOI:10.1016/j.pestbp.2010.09.001.

Bagheri, T., Imanpoorb, M.R., Jafarib, V. and Bennetau-Pelissero, C., 2013. Reproductive impairment and endocrine disruption in goldfish by feeding diets containing soybean meal. *Animal Reproduction Science*, 139: 136-144. DOI:10.1016/j.anireprosci.2013.02.003

Barannikova, I.A., Bayunova, L. and Semenkova, T.B., 2004. Serum levels of testosterone, 11- ketotestosterone and oestradiol-17β in three species of sturgeon during gonadal development and final maturation induced by hormonal treatment. *Journal of Fish Biology*, 64: 1330-1338. DOI:10.1111/j.0022-1112.2004.00395.x

Butts, I.A.E., Litvak, M.K. and Trippel, E.A., 2010. Seasonal variations in seminal plasma and sperm characteristics of wild-caught and cultivated Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Theriogenology*, 73: 873-885. DOI:10.1016/j.theriogenology.2009.11.011

Cox, J., 2000. Diazinon use threatens Salmon survival, Environmental science. http://www.pesticide.org.

Di Giulio, R.T. and Hinton, D.E., 2008. The toxicology of fishes. Taylor and Francis Group. 1101 P.

Eman, A., Abd, E.G., Mohamed, M.M., Kandiel, A., Abbass Adel, A. and Shaheen, A., 2011. Impact of some organophosphorus insecticides on growth performance, fecundity and semen charachteristics in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Lucrari Stiinifice seria Medicina Veterinara*, 54:150-160.

Fadakar, F., Majazi Amiri, B., Mirvaghefi, A.R. and Nematollahi, M.A., 2011. In vitro effects of diazinon on male reproductive tissue and sperm motility of Caspian kutum (*Rutillus frissi kutum*). *Research Journal of Environmental Toxicology*, 5(2): 108-116. DOI:0.3923/rjet.2011.108.116

Giron-Perez, M.I., Santerre, A., Gonzalez-Jaime, F., Casas-Solis, J., Hernández-Coronadoa, M., Peregrina-Sandoval, J., Takemura, A. and Zaitseva, G., 2007. Immunotoxicity and hepatic function evaluation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to diazinon. *Fish and Shellfish Immunology*, 23: 760-769. DOI:10.1016/j.fsi.2007.02.004.

Guzman, J.M., Norberg, B., Ramos, J., Mylonas, C.C. and Manano, E.L., 2008. Vitellogenin, steroid plasma levels and spawning performance of cultured female Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *General and Comparative Endocrinology*, 156: 285–297. DOI:10.1016/j.ygcen.2008.02.002.

Hayes, W.J. and E.R. Laws (ed.). 1990. Handbook of Pesticide Toxicology, Vol. 3, Classes of Pesticides. Academic Press, Inc., New York. USA.

Hedayati, A. and Arsham A., 2012. Endocrine Disruption Induced by Sub-Lethal Mercury Chloride on Hormone Indices of Sea bream. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4: 125-130.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5]

Lee, L.E., Caldwell, S.J. and Gibbons, J., 1997. Development of a cell line from skin of goldfish (*Carassius auratus*), and effects of ascorbic acid on collagen deposition. *Histochemistry and Cell Biology*, 29: 31–43. DOI:10.1023/A:1026412817431

Matthiessen, P., 2003. Endocrine disruption in marine fish. *Pure and Applied Chemistry*, 75: 2249-2261.

Maxwell, L.B. and Dutta, H.M., 2005. Diazinon-induced endocrine disruption in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60: 21-27. DOI:10.1016/j.ecoenv.2003.12.015.

Olsen, K.H., Sawisky, G.R. and Stacey, N.E. 2006. Endocrine and milt responses of male crucian carp (*Carassius carassius*) to periovulatory females under Weld conditions. *General and Comparative Endocrinology*, 149: 294-302

Perchec, G., Cosson, J., Andre, F. and Billard, R., 1995. Degradation of the quality of carp sperm by urine contamination during stripping. *Aquaculture*, 129: 135–136.

Sapozhnikova, Y., Bawardi, O. and Schlenk, D., 2004. Pesticides and PCBs in sediments and fish from the Salton Sea, California, USA. *Chemosphere*, 55: 797-809. DOI:10.1016/j.chemosphere.2003.12.009.

Sarkar, R. and Mohanakumar, K.P., 2000. Effects of an organophosphate pesticide, quinalphos, on the hypothalamo pituitary gonadal axis in adult male rats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 118(1): 29-38. DOI: 10.1530/jrf.0.1180029.

Sofikitis, N., Giotitsas, N., Tsounapi, P., Baltogiannis, D., Giannakis, D. and Pardalidis, N., 2008. Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 109: 323–330. DOI:10.1016/j.jsbmb.2008.03.004.

Tan-Fermin, J.D., Pagador, R.R. and Chavez, R.C., 1997. LHRHa and pimozide- induced spawning of Asian catfish *Clarias macrocephalus* (Gunther) at different times during an annual reproductive. *Aquaculture*, 148: 323-331. DOI:10.1016/S0044-8486(96)01423-8.

Tehranifard, A., Fazeli, M. S. and Piri, M., 2007. Determine the LC 96 hours of mixed Linear anionic detergent and diazinon on *Rutilus frisii kutum*. *Marine Science and Technology*, 55-59. DOI:10.2495/WP100181

Tiersch, T.R., 2001. Cryopreservation in aquarium fishes. *Marine Biotechnology*, 3: 212–223. DOI: 10.1007/s10126001-0044-z.

Turner, E. and Montgomerie, R., 2002. Ovarian fluid enhances sperm movement in Arctic charr. *Journal of Fish Biology*, 63: 1570-1579. DOI:10.1111/j.1095-8649.2002.tb02449.x.

Vandergeest, H.G., Studijfzand, S.C., Kraak, M.H.S. and Admiraal, W., 1997. Impact of diazinon calamity in 1996 on the 142 quantic macroinvertebrates in the river mesue. The Netherlands. *Journal of Aquatic Ecology*, 30:327-330.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5]

Effect of sub-lethal toxicity of diazinon on steroid detoxification and quality of sexual production in male goldfish breeders (*Carassius auratus*)

Samadi, H.[1]; Javadian, S.R.[1*]; Imanpour, M.R.[2]

[*]Ro.javadian@gmail.com

1- Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran
2-Fisheries Faculty, Gorgan University of Agricultural Resources and Natural Sciences, Gorgan, Iran

Abstract

Determination of the sub-lethal effects of diazinon toxin carried out on steroidogenesis and quality of sexual production in male goldfish breeders. For this purpose, fish were first exposed to different lethal concentrations of diazinon toxin (9, 10, 11, 12.5, 15 and 20 mg/L) and LC_{50} values were analyzed for 96 h using probit software. The amount of LC_{50} was 11.4 in 96 hours and fish were assorted according to 0, 0.25, 0.50 and 0.75 percent of LC_{50} in 96 hours and were put there for 2 months. At the end of the experiment, the level of sex hormones and the quality of sexual production were studied in male broodstock. The results showed that diazinon toxin significantly reduced testosterone and 17-β-estradiol levels in the 0.50 and 0.75 mg/L treatments compared to the control ($p<0.05$). There was no significant difference in some sperm quality parameters such as sperm volume, sperm density and spermatocrit between the control and 0.25 treatment. By increasing the concentration of diazinon toxin (from 0.25 to 0.75 %), the duration of sperm motility decreased significantly. The percentage of motile sperm in the control treatment was higher than other treatment and it was decreased with increasing diazinon toxin concentration. The Gonadosomatic Index in the control treatment was significantly higher than the other treatments ($p<0.05$) and showed a decreasing trend with increasing toxicity. In conclusion, diazinon toxin in the aquatic environment, even at sub-lethal concentrations, causes undesirable changes in the sex steroid indices and quality of male gonads in goldfish.

Keywords: Goldfish, Diazinon, Sexual steroids, Sperm quality

[*]Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5]