

## تأثیر دما و شوری بر سمیت سایپرمترین در بافت کبد ماهی گورخری (*Aphanius sophiae*)

مریم نصراله پورمقدم<sup>۱\*</sup>، هادی پورباقر<sup>۲</sup>، سهیل ایگدری<sup>۳</sup>

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران، کرج
- ۲- دانشیار گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران، کرج
- ۳- استادیار گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران، کرج

تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۲۴

\*نویسنده مسئول مقاله: pourmoghadamm@yahoo.com

### چکیده:

سمیت سایپرمترین (cypermethrin) با غلظت ۰/۰۲ میکروگرم در لیتر در ارتباط با شوری (صفر و ۱ppt) و دما ( $16 \pm 1$  و  $25 \pm 1$  درجه سانتیگراد) در ماهی گورخری (*Aphanius sophiae*) برای مدت ۱۴ روز در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. با تغییر شوری و دما، تغییرات واضحی در بافت کبد مشاهده شد که روی هم افتادگی هپاتوسیت‌ها، شکل نامنظم نوکلئوس‌ها، تورم ابری، آتروفی، دژسانس چربی، پیکنوزیز، نکروز کانونی، کاریولیز، تجمع سلول‌های کوپفر، نکروز هپاتوسیت‌ها و رکود صفرا از جمله تغییرات بود. نتایج نشان داد، با کاهش شوری و افزایش دما، سایپرمترین موجب تخریب بیشتر کبد ماهی می‌گردد. از این رو، این ماهی به علت یکسان عمل نکردن در شرایط محیطی مختلف، نمی‌تواند شاخص زیستی مناسبی باشد و در صورت استفاده از این گونه برای ارزیابی سایپرمترین در اکوسیستم‌های آبی، این شرایط محیطی نیز باید مد نظر قرار گیرند.

کلید واژگان: کبد، Cypermethrin، ماهی گورخری، متغیرهای محیطی

## مقدمه

حشره‌کش‌های پایتروئید به‌طور گسترده برای کنترل انواع مختلف آفات و افزایش تولید محصولات کشاورزی استفاده می‌شوند (Wengatz et al., 1996). این مواد شیمیایی بیشترین سمیت را برای ماهیان و دیگر موجودات آبی و کمترین سمیت را برای پستانداران دارند (Milam et al., 2000). به‌دلیل استفاده بیش از حد از پایتروئیدهای مصنوعی، محیط زیست و منابع آبی در حال آلوده شدن است، در نتیجه حیات منابع آبی به‌طور مستقیم و زندگی انسان به‌طور غیرمستقیم در خطر است (Hill, 1989).

Cypermethrin، آلفا-سیانو-۳-فنوکسی بنزیل استر ۲،۲-دی متیل-۳-(۲،۲-دی کلروونیل) سیکلو پروپان کربوکسیلیک اسید، یکی از سموم پایتروئید مصنوعی است که بیش از دو دهه به‌عنوان جایگزینی برای سموم ارگانوفسفره، ارگانوکلره و کاربامات‌ها استفاده می‌شود (Asztalos et al., 1990). وزن مولکولی آن ۴۱۶/۳ گرم بر مول و فرمول مولکولی آن  $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$  است. از این سم به‌طور گسترده برای کنترل آفات بسیاری از جمله آفات محصولات گیاهی و انگل‌های خارجی گاو، گوسفند، مرغ و همچنین برای مبارزه با انگل خارجی (*Lepeophtheirus salmonis*) در پرورش ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) در قفس، استفاده می‌شود (Treasurer and Wadsworth, 2004).

ماهیان گورخری (*Aphanius*) تنها جنس خانواده کپور ماهیان دندان‌دار (Cyprinodontidae) (Coad, 1988) شامل یوری هالین (Euryhaline) و یوری ترم (Eurytherm) در ایران هستند (Frenkel and Goren, 2000). مطالعات سال‌های اخیر نشان داد که در ایران نیز تنوع گونه‌های این جنس زیاد است. این ماهیان در حوضه‌های دریاچه نمک،

خلیج فارس، هرمز، مکران، جازموریان، مشکید، کارون، اصفهان و کر زندگی می‌کنند و در قسمت‌های پایین رودخانه‌ها و آبگیرهای پوشیده از گیاهان آبی حضور دارند (Abdoli, 2000).

آزمون‌های سم‌شناسی اغلب، موجودات زنده را در شرایط بهینه آزمایش می‌کنند، در حالی‌که این موجودات به‌ندرت شرایط طبیعی و وضعیت بهینه را تجربه می‌نمایند و در بیشتر طول عمر خود مجبور به کنار آمدن با شرایط زیر حد مطلوب و گاهی اوقات استرس‌های شدید هستند. اثر متقابل یک عامل استرس‌زای طبیعی و یک ماده سمی می‌تواند بیشتر از تأثیر یک عامل استرس‌زا به‌تنهایی باشد (Holmstrup et al., 2009). بنابراین روش‌های ارزیابی خطر به‌طور معمول باید شامل تمامی عوامل عدم قطعیت به‌منظور حصول اطمینان در تخمین غلظت مواد شیمیایی در محیط باشند تا خطر ناشی از این مواد را برای موجودات به حداقل برسانند (Chapman et al., 1998).

تأثیر سموم بر موجودات آبی از سوی محققان مختلفی گزارش شده است، اما عوامل محیطی مثل pH، کدورت، دما، اکسیژن، شوری و سایر عوامل نیز ممکن است بر اثرهای کشنده این مواد در موجودات آبی مؤثر باشد (Fagbenro, 2002). در اکوسیستم‌های آبی درجه حرارت و شوری از متغیرهای مهم زیست محیطی هستند (Brown, 1982). دما یکی از عوامل استرس‌زای مهم است که می‌تواند سیستم‌های بیولوژیکی را تغییر دهد. درباره سمیت آلاینده‌ها در ارتباط با درجه حرارت در موجودات آبی گزارش‌های محدودی در دسترس است (1989 Haya)، اما تعامل دمای آب و شوری و تأثیر آن بر سمیت آفت‌کش‌ها کمتر شناخته شده است. بنابراین مطالعه حاضر بر آن است که سمیت Cypermethrin را در شرایط دمایی

و شوری‌های مختلف با توجه به تغییرات بافتی در کبد ماهی آفانیوس صوفیا بررسی کند.

#### مواد و روش‌ها

۱۰۰ عدد ماهی گورخری صوفیا (*A. sophiae*) با وزن متوسط ۰/۶ گرم و میانگین طولی ۳/۳ سانتی‌متر از رودخانه شور اشتهارد (N) (۳۵°۵۰' و ۵۱°۹' E با ساچوک صید و به آزمایشگاه منتقل شدند. برای سازگاری با شرایط آزمایشگاهی، ماهیان به مدت یک هفته در ۴ آکواریوم ۲۰ لیتری حاوی آب کلرزدایی شده با دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و سختی ۴۰۰-۵۰۰ میلی‌گرم کربنات کلسیم بر لیتر نگهداری شدند. در این مدت با استفاده از آرتیمیا و غذای بایومار به صورت پودر شده (Biomar®) تغذیه شدند و همچنین آب آکواریوم‌ها هر ۲۴ ساعت یکبار تعویض گردید. از آنجا که شوری آب رودخانه در زمان نمونه‌گیری ۱۴ ppt بود، برای سازگاری نیمی از جمعیت ماهیان (۵۰ عدد)، هر روز به میزان ۲ ppt از شوری آب آکواریوم‌های مورد نظر کاسته شد، به این صورت پس از گذشت یک هفته عمل سازگاری به آب شیرین برای این ماهیان صورت پذیرفت. پس از سازگاری ماهیان با شرایط آزمایشگاه، ۸ تیمار آزمایشی شامل (۱) عدم حضور سم، دمای ۲۵ °C، شوری ۱۴ ppt، (۲) عدم حضور سم، دمای ۲۵ °C، شوری صفر، (۳) عدم حضور سم، دمای ۱۶ °C، شوری ۱۴ ppt، (۴) عدم حضور سم، دمای ۱۶ °C، شوری صفر، (۵) حضور سم، دمای ۲۵ °C، شوری ۱۴ ppt، (۶) حضور سم، دمای ۲۵ °C، شوری صفر، (۷) حضور سم، دمای ۱۶ °C، شوری ۱۴ ppt و (۸) حضور سم، دمای ۱۶ °C و شوری صفر آماده و در هر آکواریوم ده عدد ماهی به طور تصادفی معرفی شد و در مورد هر تیمار سه تکرار (۳ ماهی برای هر تکرار) برای انجام آزمایش در نظر گرفته شد. برای این مطالعه ۸ آکواریوم شیشه‌ای ۱۰ لیتری مجهز به سیستم هوادهی و بخاری‌های

برقی استفاده شد. غلظت ۰/۰۲ میکروگرم بر لیتر Cypermethrin در ۴ آکواریوم ۱۰ لیتری تزریق شد، در حالی که ۴ آکواریوم دیگر فاقد سم بود. تناوب دوره نوری در طول دوره آزمایش مشابه شرایط بیرون آزمایشگاه یعنی ۱۰ ساعت تاریکی و ۱۴ ساعت روشنایی بود. همچنین آب آکواریوم‌ها هر ۲۴ ساعت یکبار تعویض شد. پس از پایان آزمایش در یک دوره ۱۴ روزه، تأثیر عوامل محیطی نظیر دما و شوری در مدت مسمومیت ماهی آفانیوس توسط Cypermethrin با توجه به تغییرات آسیب‌شناسی بافتی، در بافت کبد بررسی شد. به این منظور، ابتدا ماهیان در پودر گل میخک با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بیهوش شدند، سپس بافت کبد آن‌ها استخراج و در محلول بوئن تثبیت شد. محلول بوئن مورد استفاده ترکیبی از ۷۰ درصد اسید پیریک اشباع شده، ۲۵ درصد فرمالین تجاری و ۵ درصد اسید استیک بود. در مرحله بعد بافت‌های مذکور در پارافین برای مدت ۱۰-۱۲ ساعت قرار گرفتند و پس از آن برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه گردید و برای رنگ‌آمیزی از روش هماتوکسیلین و ائوزین استفاده شد. برای تهیه رنگ هماتوکسیلین، یک گرم هماتوکسیلین را در ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل مطلق حل و سپس ۲۰ گرم آلوم پتاس در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. سپس این دو محلول تا نقطه جوش حرارت داده شد و سپس به آنها ۰/۵ گرم اسید مرکوریک اضافه گردید و پس از سرد شدن، محلول فوق به ۸ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه و رنگ ساخته شده صاف گردید. رنگ ائوزین نیز از مخلوط یک گرم ائوزین در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد (Banaee et al., 2013). سرانجام از بافت‌های مورد نظر توسط میکروسکوپ نوری و نرم‌افزار Dino Capture 2 عکس‌برداری شد. در این آزمایش همه آسیب‌های وارد شده بر کبد بررسی و شدت تخریب

رتبه‌دهی و به ۵ مرحله تقسیم گردید. به این ترتیب که با افزایش رتبه، شدت آسیب‌ها بیشتر شد (جدول ۱).  
جدول ۱ رتبه بندی تغییرات آسیب شناسی بافتی مشاهده شده در کبد در تیمارهای مختلف

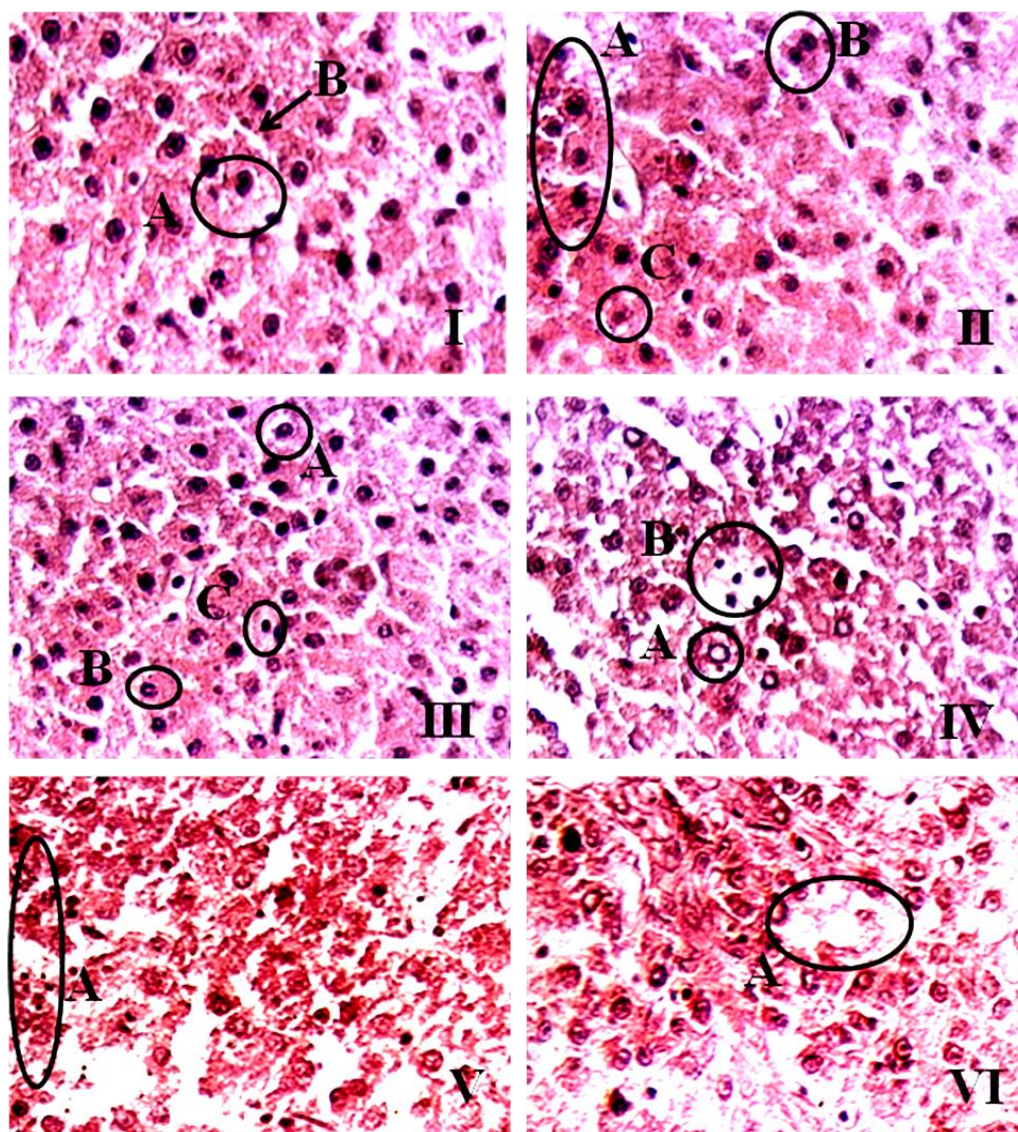
| رتبه تخریب بافت | تغییرات آسیب‌شناسی بافتی                                                               |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| ۱               | کبد دارای حالت طبیعی است.                                                              |
| ۲               | روی هم افتادگی سلول‌های کبدی (هپاتوسیت‌ها)، شکل نامنظم هسته‌ها (نوکلئوس‌ها)، تورم ابری |
| ۳               | لاغری سلول‌های کبدی (آتروفی)، فساد چربی (دژرسانس چربی)، پیکنوزیز                       |
| ۴               | نکروز کانونی، کاریولیز، تجمع سلول‌های کوپفر                                            |
| ۵               | نکروز هپاتوسیت‌ها، رکود صفرا                                                           |

برخی قسمت‌ها نشان داد، که مهم‌ترین این تغییرات شامل آتروفی، دژرسانس چربی و پیکنوزیز بود.  
بیشترین تغییرات در زمان عدم حضور سم، دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۱۶ و شوری ppt ۱۴ پس از گذشت چهارده روز شامل روی هم افتادگی هپاتوسیت‌ها، شکل نامنظم نوکلئوس‌ها و تورم ابری بود. تغییرات در شرایط نبود سم، دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۱۶ و شوری صفر به‌صورت آتروفی، دژرسانس چربی، پیکنوزیز و تجمع سلول‌های کوپفر بود. بیشترین تغییرات مشاهده شده در شرایط حضور سم، دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۲۵ و شوری ppt ۱۴ شامل نکروز کانونی، کاریولیز و تجمع سلول‌های کوپفر بود. کبد در زمان حضور سم، دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۲۵ و شوری صفر تغییرات شدیدی را نشان داد، به‌طوری که در این شرایط نکروز هپاتوسیت‌ها و رکود صفرا به وفور در این بافت مشاهده شد. تغییرات در کبد در زمان حضور سم، دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۱۶ و شوری ppt ۱۴ شامل نکروز کانونی، کاریولیز و تجمع سلول‌های کوپفر بود. کبد در شرایط حضور سم، دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۱۶ و شوری صفر پس از چهارده روز تغییرات زیادی را نشان داد که این آسیب‌ها شامل نکروز کانونی، نکروز هپاتوسیت‌ها و رکود صفرا بود.

تمام آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار R 3.0.1 انجام شد (R Core Team, 2013). تجزیه به روش ANOVA سه طرفه رتبه‌بندی شده<sup>۱</sup> برای ارزیابی اثر سم، دمای آب و شوری استفاده شد. برای این منظور از پکیج Rfit (Kloke and MCKean, 2012) استفاده گردید. در هر یک از اثرهای متقابل معنادار، تفاوت بین هر یک از دو سطح یک عامل در ترکیبی از سطوح عوامل دیگر (Underwood, 1997) با آزمون Exact Mann-Whitney با استفاده از پکیج Coin (Hothorn, 2006) سنجیده شد و خطای نوع اول با تنظیم بونفرونی (Bonferroni) تصحیح شد (Quinn and Keough, 2002).

## نتایج

در پایان دوره ۱۴ روزه، کبد ماهیان در گروه کنترل و در شرایط عدم حضور سم، دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۲۵ و شوری ppt ۱۴ دارای حالت طبیعی بود و هپاتوسیت‌ها و سینوزئیدها تغییراتی را نشان ندادند. پس از گذشت چهارده روز از آغاز آزمایش، ساختار طبیعی بافت کبد در شرایط عدم حضور سم، دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۲۵ و شوری صفر تغییرات جزئی در



شکل ۱ تغییرات در بافت کبد: شکل I. A: هپاتوسیت، B: سینوزوئید. شکل II. A: تورم ابری، B: روی هم افتادگی هپاتوسیت‌ها، C: شکل نامنظم نوکلئوس. شکل III. A: آتروفی هپاتوسیت‌ها، B: دژرسانس چربی، C: پیکنوزیز. شکل IV. A: کاریولیز، B: تجمع سلول‌های کوپفر. شکل V. A: رکود صفرا. شکل VI. A: نکروز هپاتوسیت‌ها.

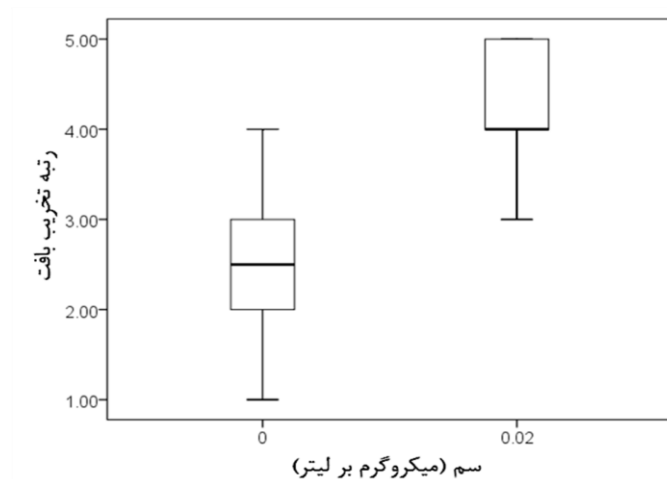
سم، دما و شوری نیز اثر متقابل معنادار دیده شد ( $P = 0.094$ ). در بررسی این اثر متقابل با استفاده از آزمون Exact Mann-Whitney (Bonferroni) ۱۲ آنالیز انجام شد. نتایج حاصل نشان داد بین دو سطح حضور و عدم حضور سم در شرایط دمایی  $25^{\circ}\text{C}$  و شوری ۱۴ ppt تفاوت معناداری وجود دارد.

تجزیه واریانس سه طرفه رتبه‌بندی شده نیز برای ارزیابی اثر سم، دما و شوری بر روی رتبه تخریب کبد انجام شد. نتایج حاصل از این آنالیز نشان داد که این سه عامل، تأثیر معناداری بر تخریب بافت کبد دارند (جدول ۲). سم و دما تأثیر مستقیم و شوری تأثیر معکوس بر تخریب بافت کبد از خود نشان دادند (شکل‌های ۱، ۲ و ۳). بین سه عامل غلظت

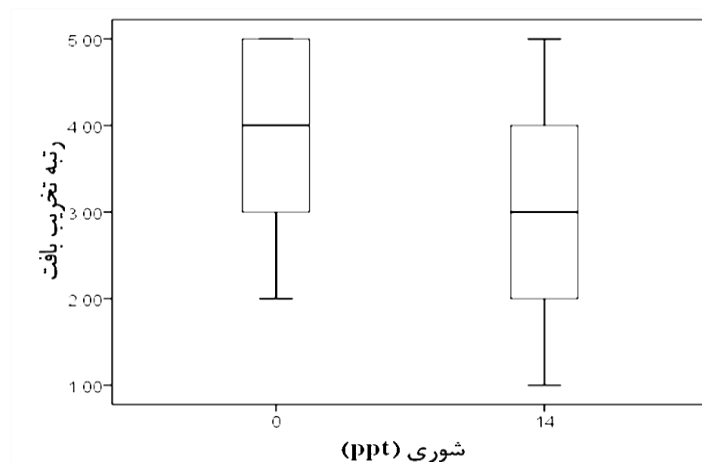
جدول ۲ تجزیه واریانس سه طرفه رتبه‌بندی شده برای ارزیابی غلظت سم، دما و شوری آب بر رتبه تخریب بافت ۲۴ عدد کبد در ماهیان مورد مطالعه

| منبع تغییرات    | درجه آزادی | میانگین <sup>۱</sup> RD | آماره (F) | احتمال معناداری        |
|-----------------|------------|-------------------------|-----------|------------------------|
| سم              | ۱          | ۲۲/۱۷                   | ۱۷۹/۳۴    | $۲/۲۲ \times ۱۰^{-۱۶}$ |
| دما             | ۱          | ۰/۳۶                    | ۲/۹۵      | $۹/۳۴ \times ۱۰^{-۲}$  |
| شوری            | ۱          | ۶/۴۱                    | ۵۱/۹۱     | $۹/۷۲ \times ۱۰^{-۹}$  |
| سم × دما        | ۱          | ۰/۴۳                    | ۳/۵۳      | $۶/۷۲ \times ۱۰^{-۲}$  |
| سم × شوری       | ۱          | ۰/۳۶                    | ۲/۹۶      | $۹/۲۷ \times ۱۰^{-۲}$  |
| دما × شوری      | ۱          | ۰/۴۳                    | ۳/۵۳      | $۶/۷۲ \times ۱۰^{-۲}$  |
| سم × دما × شوری | ۱          | ۰/۳۶                    | ۲/۹۴      | $۹/۳۶ \times ۱۰^{-۲}$  |

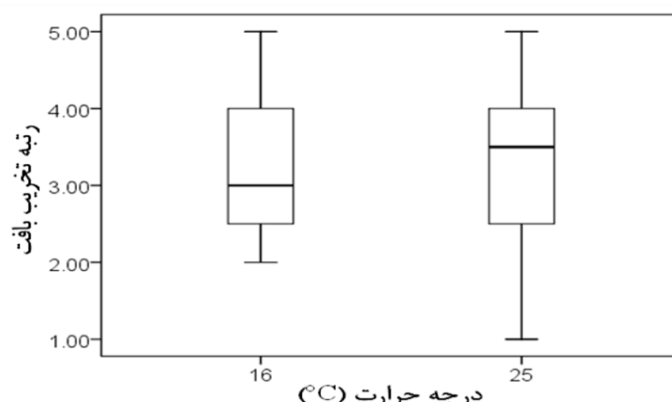
<sup>۱</sup> Rank-based distance



شکل ۱ رتبه‌بندی تخریب بافت کبد در هر یک از غلظت‌های سم صفر و  $۰/۰۲ \mu\text{g L}^{-1}$



شکل ۲ رتبه‌بندی تخریب بافت کبد در هر یک از سطوح شوری صفر و ۱۴ ppt



شکل ۳ رتبه‌بندی تخریب بافت کبد در هر یک از سطوح دمای آب ۱۶ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد

مدت می‌تواند منجر به آسیب بافت‌ها از جمله کبد شود (Buentello et al., 2000).

شوری از عوامل مهم در مقوله کیفیت آب‌هاست و می‌توان گفت که هر یک از گونه‌های آبزیان دارای دامنه شوری مناسب تعریف شده هستند که در خارج از آن دامنه مجبور به صرف انرژی برای تنظیم اسمزی به‌جای استفاده از آن به‌منظور تغذیه و رشد هستند. تغییر شوری به مدت طولانی سبب ورود آسیب‌های مختلف به کبد و سایر اندام‌ها می‌شود. مشاهدات بافت‌شناسی، آسیب سلول‌های کبدی ماهی گورخری صوفیا را ناشی از تغییر شوری تأیید می‌کند. در تیمارهایی با آب شیرین واکوئل‌هایی در بافت کبد ظاهر شد. این موضوع نشان‌دهنده آن است که در شوری کم ماهی گورخری صوفیا توانایی کمتری برای تنظیم فیزیولوژیکی دارد که منجر به تغییرات پاتولوژیک در ساختار و عملکرد بافت کبد می‌شود. اثر تغییر شوری بر عملکرد احشایی بدن یکی از شاخصه‌های اصلی برای ماهی ساکن رودخانه شور اشتهازد است و این ماهیان درجه خاصی از سازگاری و انعطاف‌پذیری با این تغییرات را در وجود خود دارند، اما قرارگرفتن در معرض آب شیرین در طولانی مدت می‌تواند باعث ایجاد واکنش‌های مختلف و کاهش بقا شود (Wang et al., 2009).

## بحث

ماهیان دارای اندام‌های مختلفی، از جمله آبشش‌ها، کبد، کلیه و پوست برای دفع مواد سمی از بدن هستند (Heath, 1987). آسیب‌های بافت‌شناسی مشاهده شده در کبد در این مطالعه، شامل روی هم افتادگی هپاتوسیت‌ها، شکل نامنظم نوکلئوس‌ها، تورم ابری آتروفی، دژرسانس چربی، پیکنوزیز نکروز کانونی، کاریولیز، تجمع سلول‌های کوپفر، نکروز هپاتوسیت‌ها و رکود صفرا بود. به‌طور مشابه این آسیب‌های بافتی در کبد از سوی Velmorgana و همکاران (۲۰۰۶) و Velisek و همکاران (۲۰۰۶) گزارش شدند.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس سه طرفه رتبه‌بندی شده نشان داد که سه عامل سم، دما و شوری دارای تأثیر معناداری بر تخریب بافت کبد هستند، به‌طوری که سم و دما تأثیر مستقیم و شوری تأثیر معکوس بر تخریب این بافت از خود نشان دادند. کبد اندام اولیه برای سوخت‌وساز بدن، سم‌زدایی و دفع مواد مضر است، اما مکانیسم‌های تنظیم‌کننده آن می‌توانند توسط غلظت‌های بالای این مواد دچار اختلال شوند و در نتیجه این عمل، کبد دچار آسیب شود (Brusle et al., 1996). دما یک عامل مؤثر بر فرایندهای فیزیولوژیکی است، افزایش دما سبب افزایش سوخت‌وساز ماهی می‌شود و این موضوع برای طولانی

pH بر سمیت Cypermethrin در ماهی *Poecilia reticulata* انجام شد، مطابقت دارد. این در صورتی است که Evelyn و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که سمیت آفت‌کش‌های ارگانوفسفاته با افزایش شوری بیشتر می‌شود. دلیل تفاوت این نتیجه با نتایج مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل تفاوت در سموم مورد استفاده، نوع گونه و یا شرایط مختلف محیطی باشد.

در نهایت این تحقیق نشان می‌دهد که در زمان حضور آفت‌کش Cypermethrin در آب کاهش شوری و افزایش دما برای ماهی گورخری صوفیا مضر است. از این‌رو، به علت یکسان عمل نکردن این ماهی در شرایط محیطی مختلف، استفاده از آن به‌عنوان شاخص زیستی باید با دقت صورت گیرد، ولی از آنجا که ماهی آفانیوس به میزان کم آلاینده Cypermethrin نیز پاسخ می‌دهد، دلیلی برای استفاده از این ماهی به‌عنوان یک شاخص زیستی مناسب است. در نهایت استفاده از این گونه برای ارزیابی Cypermethrin در اکوسیستم‌های آبی، این شرایط محیطی نیز باید مد نظر قرار گیرد.

#### منابع

- Abdoli, A. 2000. The inland water fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife, Tehran. pp, 377. (In farsi)
- Asztalos, B., Nemcsok, J., Benedeczy, I., Gabriel, R., Szabo, A and Refaie, O. J. 1990. The effects of pesticide on some biochemical parameters of Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 19 : 275-282.
- Banaee, M., Sureda, A., Mirvagefei, A. R and Ahmadi, K. 2013. Biochemical and histological Changes in the liver tissue of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sub-lethal concentrations of diazinon. *Fish Physiology and Biochemistry*, 39 (3): 489-501.

بین سه عامل غلظت سم، دما و شوری نیز اثر متقابل معنادار دیده شد. نتایج حاصل نشان داد بین دو سطح حضور و عدم حضور سم در شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شوری ۱۴ ppt تفاوت معناداری وجود دارد ( $p=0/003$ ). سوخت‌وساز موجودات خونسرد مثل ماهی با افزایش دما بیشتر می‌شود، بنابراین نیاز به اکسیژن در آنها افزایش یافته و از سوی دیگر در دماهای بالا حلالیت اکسیژن در آب کاهش می‌یابد (Mortimer, 1971)، همچنین در این حالت جذب مواد سمی توسط موجود زنده به دلیل حلالیت بهتر، افزایش انتشار و یا جذب فعال این مواد از طریق آبشش‌ها و یا سطح بدن بهتر صورت می‌گیرد (Heugens et al., 2001)، به این ترتیب اثر سمی یک ماده در موجود زنده ممکن است با افزایش دما شدت یابد. پژوهشگران متعددی از این فرضیه که افزایش دما بیش از محدوده قابل تحمل ارگانیسم مورد نظر به‌طور بالقوه سبب افزایش سمیت مواد مضر می‌شود، حمایت می‌کنند (Heugens et al., 2001; Van Wezel and Jonker, 1998). علاوه بر این Durve (۱۹۸۱) یافت که افزایش دما از ۱۷ درجه سانتی‌گراد در زمستان به ۳۹ درجه سانتی‌گراد در تابستان سمیت دلتامترین را برای کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) افزایش می‌دهد. بنابراین افزایش درجه حرارت در زمان حضور Cypermethrin در آب سبب افزایش سمیت آن برای ماهی گورخری صوفیا می‌شود.

در مطالعه حاضر مشخص شد که افزایش سطح شوری به‌طور معناداری بر سمیت Cypermethrin تأثیر می‌گذارد به‌طوری که ماهیان در شوری ۱۴ ppt آسیب کمتری متحمل شدند، این نتیجه با نتایج به‌دست آمده از پژوهش Gupa و Gautam (۲۰۰۷) که به‌منظور بررسی تأثیر عوامل محیطی مانند سختی، درجه حرارت، شوری و

- environmental variables. *Natural Product Radiance*, 7(4): 314-319.
- Haya, K. 1989.** Toxicity of pyrethroid insecticides to fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8: 381-391.
- Heath, A. G. 1987.** Water Pollution and Fish Physiology. Florida: Lewis publishing.
- Heugens, E. H. W., Hendriks, A. J., Dekker, T., Van Straalen, N. M and Admiraal, W. 2001.** A review of the effects of multiple stressors on aquatic organisms and analysis of uncertainty factors for use in risk assessment. *Critical Reviews in Toxicology*, 31: 247-284.
- Hill, J. R. 1989.** Aquatic organisms and pyrethroids. Pesticides. *Science*, 27: 429-465.
- Holmstrup, M., Bindesbol, A. M., Oostingh, G. J., Duschl, A., Scheil, V., Kohler, H. R., Loureiro. S., Soares, A. M. V. M., Ferreira, A. L. G., Kienle, C., Gehardt, A., Laskowski, R., Kramaz, P. E., Bayley, M., Svendsen, C and Spurgeon, D. J. 2009.** Intractions between effects of environmental chemicals and natural stressors: A review *Science of the Total Environment*, 408: 3746-3762.
- Hothorn, T., Hornik, K., Van De Wiel, M. A and Zeileis, A. 2006.** A lego system for conditional inference. *The American Statistician*, 60: 257-263.
- Kloke, J.D and McKean, J.W. 2012.** Rfit: rank-based estimation for linear models. *The R Journal*, 4(2): 57-64.
- Milam, C. D., Farries, J. L and Wilhide, J. D. 2000.** Evaluating mosquito control pesticides for effect on target and non-target organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39: 324-328.
- Mortimer, C. H. 1971.** Chemical exchanges between sediments and water in the Great Lakes speculation on probable regulatory mechanisms. *Limnology and Oceanography*, 16(2): 387-440.
- Quinn, G. P and Keough, M. J. 2002.** Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge University Press. Cambridge, 537p.
- R Core Team. 2013.** R. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Brown, D. J. A. 1982.** The effect of pH and Calcium on fish and fisheries water, *air and soil pollutant*, 18: 343-351.
- Brusle, J., Gonzalez, I and Anadon, G. 1996.** The structure and function of fish liver, in Fish Morphology, J.S.D. Munshi and H.M Dutta, eds., Science Publishers, NewYork.
- Buentello, J. A., Gatlin, D. M and Neill, W. H. 2000.** Effects of water temperature and dissolved oxygen on daily feed consumption, feed utilization and growth of Channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 182: 339-352.
- Chapman, P. M., Fairbrothers, A and Browns, D. A. 1998.** Critical evaluation of safety (uncertainty) factors for ecological risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17: 99-108.
- Coad, B. W. 1988.** *Aphanius vladykovi*, a new species of tooth-carp from the zagros mountains of Iran.(osteichthyes: Cyprinodontidae). *Environmental Biology of fishes*, 23: 115-125.
- Durve, V. S and Vardia, H.K. 1981.** The toxicity of 2, 4- D to *Cyprinus Carpio* var. *Comunis* in relation to seasonal variation in the temperature. *Hydrobiology*, 77: 148-152.
- Evelyn, H., Heugens, W., Hendricks, A. J., Dekkor, T., Straalen, N. M and Admiraal, W. 2002.** A review of the effects of multiple stressors on aquatic organisms and analysis of uncertainty factors for use in risk assessment. *Critical Reviews in Toxicology*, 31: 247-284.
- Fagbenro, O. A. 2002.** Tilapia: Fish for Thought, Inaugural Lecture Series 32. Delivered at Federal University of Technology Akure, 77p.
- Frenkel, V and Goren, M. 2000.** Factors affecting growth of killifish, (*Aphanius dispar*), a potential biological control of mosquitoes. *Aquaculture*, 184: 255-265.
- Gautam, P. P and Gupta, A. K. 2007.** Toicity of cypermethrin to the juveniles of freshwater fish *Poecilia reticulata* (Peters) in relation to selected

**Treasurer, J. W and Wadsworth, S. L. 2004.** Interspecific Comparison of experimental and natural routes of *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus elongatus* challenge and consequences for distribution of chalimus on salmonids and therapeutant screening. *Aquaculture Research*, 35: 773–783.

**Underwood, A. J. 1997.** Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance. Cambridge University Press, Cambridge.

**Van Wezel, A. P and Jonker, M. T. O. 1998.** Use of the lethal body burden in the risk quantification of field sediments; influence of temperature and salinity. *Aquatic Toxicology*, 42: 287–300.

**Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z., Dobsikova, R., Novotny, L and Dudzik, M. 2006.** Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Veterinary Medicine* 51, pp: 469–476.

**Velmurugan, B., Ambrose, T and Selvanayagam, M. 2006.** Genotoxic evaluation of lambda cyhalothrin in *Mystus gulio*, *Journal of Environmental Biology* 27, pp: 247–250.

**Wang, W. N., Zhou, J., Wang, P., Tian, T. T., Zheng, Y., Liu, Y., Mai, W. J and Wang, A. L. 2009.** Oxidative stress, DNA damage and antioxidant enzyme gene expression in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* when exposed to acute pH stress. *Comparative Biochemistry and Physiology C Toxicology and Pharmacology*, 150: 428–435.

**Wengatz, I., Harris, A.S and Gilman, S.D. 1996.** Recent developments in immunoassays and related methods for the detection of xenobiotics, ACS Symposium Series 646 (Environmental Immunochemical Methods), American Chemical Society Washington, D. C, pp: 110-126.

---

## Effects of temperature and salinity on the toxicity of cypermethrin on the liver tissue of zebra fish(*Aphanius sophiae*)

Maryam Nasrollah Pourmoghadam<sup>1\*</sup>, Hadi Poorbagher<sup>1</sup>, Soheil Eagderi<sup>1</sup>

1- M.Sc student, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj

2- Associate prof., Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj

3- Assistant professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj

Received: 24.06.2014

Accepted: 13.04.2015

\*Corresponding author: poorbagher@ut.ac.ir

---

### Abstract

The toxicity of cypermethrin at 0.02 µg L<sup>-1</sup> concentration in relation to salinity (0 and 14 ppt) and temperature (16±1 and 25 ± 1°C) was studied on the liver tissue of zebra fish (*Aphanius sophiae*) exposed to cypermethrin for 14 days under laboratory condition. The liver tissue changed significantly with changes in salinity and temperature. The major changes were overlapped hepatocytes, nucleous irregularity, cloudy swelling, atrophy, fat degeneration, pyknosis, focal necrosis, karyolysis, accumulation of kupffer cell, necrosis and bile stagnation. The results showed that sensitivity to cypermethrin increased with decrease in salinity and increase in temperature. This fish is, therefore, not a suitable indicator for cypermethrin assessment in aquatic ecosystems, and if considered as an indicator, the temperature and salinity should also be considered.

**Keywords:** Liver, Cypermethrin, Zebra fish, Environmental variables