

# آسیب‌شناسی بافتی ناشی از مسمومیت تحت حاد علف کش پاراکوات در

## بافت کبد ماهی بنی انگشت قد (*Barbus sharpeyi*)

امید کوهکن<sup>۱</sup>، رحیم عبدی<sup>۲\*</sup>، رضا سلیقه‌زاده<sup>۳</sup>، یعقوب جادی<sup>۳</sup>

### چکیده

سموم کشاورزی از جمله علف‌کش‌ها یکی از مهمترین عوامل آلودگی اکوسیستم‌های آبی می‌باشند. هدف از این تحقیق بررسی ضایعات بافتی ناشی از مسمومیت تحت حاد علف کش پاراکوات در بافت کبد ماهی بنی انگشت قد می‌باشد. تعداد ۶۰ قطعه بچه ماهی بنی در ۴ گروه، شامل سه تیمار مختلف LC<sub>50</sub> 96h یعنی (۲۵ و ۵۰ و ۷۵ درصد LC<sub>50</sub> 96h)، و یک گروه شاهد به مدت ۹۶ ساعت در معرض علف‌کش پاراکوات قرار داده شدند. در تمام طول آزمایش هیچ تلفاتی در هیچ گروهی مشاهده نگردید. پس از دوره تیمار نمونه‌های مورد نظر از بافت کبد پس از پایدارسازی در فرمالین سالین ۱۰٪ مراحل رایج پاسباز بافتی انجام و برش‌های ۵ میکرونی از بافت‌های مورد نظر تهیه و پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین در زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. ضایعات بافتی مشاهده شده در بافت کبد ماهیان تیمار شده شامل تغییرات در شکل هسته، پیکنوز و نکروز، سیتوپلاسم واکوتوله، مرز نشینی هسته هیاتوسیت‌ها و پرخونی در رگ‌های خونی کبدی بود که با افزایش مقدار سم بر شدت آن افزوده می‌شد. نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از آن بوده که پاراکوات برای ماهی بنی سمی بوده و باعث ایجاد صدمات هیستوپاتولوژیک در کبد این ماهی می‌شود. این نتایج با مشاهدات سایر محققین همخوانی دارد.

واژگان کلیدی: ضایعات کبدی، سمیت تحت حاد، پاراکوات، *Barbus sharpeyi*

تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۲۷

### مقدمه

با توجه به رشد سریع صنایع، کاربرد کودهای شیمیایی و استفاده از آفت‌کش‌های مختلف، کیفیت منابع آبی به سرعت در حال کاهش است (۱۴). یکی از عوامل مهم آلودگی اکوسیستم‌های آبی سموم کشاورزی هستند، که برای مقابله با آفات، گیاهان هرز و بیماری‌های کشاورزی استفاده می‌شوند و دارای اثرات سوئی بر محیط هستند (۱۸). این آفت‌کش‌ها در عرض چند هفته پس از استفاده در فعالیت‌های کشاورزی از طریق روان‌آب‌های سطحی و زهکشی زیر سطحی، وارد

اکوسیستم‌های آبی می‌شوند. بسیاری از این آفت‌کش‌ها در نهایت وارد رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و برکه‌ها می‌شوند و اثرات بسیار سمی آنها بر موجودات غیر هدفی که ساکن در محیط‌های طبیعی و نزدیک به زمین‌های کشاورزی هستند واقع می‌شود (۷). حدود ۴۰٪ از تولیدات آفت‌کش‌ها در جهان مربوط به علف‌کش‌ها می‌باشد (۱۴ و ۱).

با ورود این مواد به منابع آبی ترکیب شیمیایی اکوسیستم آبی دچار تغییر می‌شود. آلودگی برخی از زیستگاه‌ها از این طریق به اثبات رسیده است. این ترکیبات علاوه بر دارا بودن اثرات سوء مستقیم بر ماهی بصورت غیرمستقیم نیز باعث از بین بردن جوامع پلانکتونی و زنجیره‌های غذایی موجود در محیط‌های آبی و همچنین سایر گیاهان و جانوران آبی می‌شوند (۵).

ماهی بنی با نام علمی *Barbus sharpeyi* عضوی از خانواده کپور ماهیان و از جنس باربوس ماهی است. نام‌های دیگر این گونه *Mesopotamichthys sharpeyi* و *Barbus*

*faoensis* می‌باشد (۲). ماهی بنی از نسب هندی Torini یک تیره در کپورماهیان است و عمدتاً بومی حوزه دجله و فرات بوده و برخی نواحی ایران از جمله مارش‌های هورالعظیم، تالاب شادگان و رودخانه‌های واقع در بخش شمالی خلیج فارس مانند زهره و تالاب الحامر در کشور عراق زیستگاه این ماهی محسوب می‌شوند. در ایران در رودخانه‌های کارون و کرخه، بهمن‌شیر، هورالعظیم و هور شادگان گزارش شده است (۴ و ۲).

۱- مربی گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

۲- استادیار گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی abdir@kmsu.ac.ir

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

## مواد و روش کار

### تهیه ماهی، سم و سازگاری

در این مطالعه از سم پاراکوات امولسیون ۲۰ درصد، ساخت شرکت پرتونار ایران که از مرکز فروش سموم دفع آفات نباتی تهیه گردیده بود استفاده شد. برای انجام این مطالعه که در اردیبهشت ماه ۱۳۹۱ صورت پذیرفت، ماهیان انگشت قد بنی با میانگین وزنی ۳-۴ گرم حاصل از تکثیر مصنوعی استفاده گردید. بچه ماهیان جهت سازگارش با شرایط محیط به مدت یک هفته در وان‌های آزمایشگاه خیس دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر نگهداری شدند و متغیرهای موثر فیزیوشیمیایی آب شامل pH، اکسیژن محلول و دما به طور روزانه ثبت گردید. در این مدت ضمن هوادهی مناسب، غذادهی توسط پلیت (روزانه به ازای ۰/۰۲ وزن بدن) تهیه شده از شرکت چینه صورت گرفت. تغذیه بچه ماهیان ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش سمیت تحت حاد متوقف شد (۷).

### گروه‌بندی

طبق تحقیقات انجام شده میزان  $LC_{50}$  96h علف کش پاراکوات در ماهی بنی ۱/۴۹ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمده است (۱۶). برای مطالعات سمیت تحت کشنده تعداد ۶۰ عدد بچه ماهی بنی در ۴ گروه شامل سه گروه تیمار بر اساس درصدهای مختلف  $LC_{50}$  96h یعنی (۲۵ و ۵۰ و ۷۵ درصد  $LC_{50}$  96h) (۱۹)، و یک گروه کنترل به مدت ۹۶ ساعت در معرض علف‌کش پاراکوات قرار داده شدند. ۱۵ عدد بچه ماهی بنی به طور تصادفی درون ظروف پلاستیکی ۲۰ لیتری توزیع شدند. آزمایشات بر اساس روش استاندارد O.E.C.D (۱۹) و به صورت ثابت روی ماهی بنی انجام شد (۱۹).

### نمونه برداری

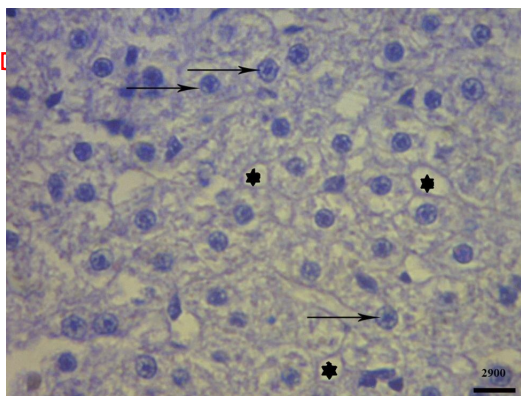
بعد از سپری شدن دوره تماس با پاراکوات یعنی ۹۶ ساعت، نمونه برداری انجام گردیده و نمونه‌هایی از بافت کبد جدا گردیدند. نمونه‌ها در فرمالین ۱۰٪ پایدار شدند و پس از انجام

پاراکوات (۱، ۱- دی متیل ۴، ۴- بی پیریدینیوم)، علف‌کش مورد استفاده در مناطق گرمسیری برای نابودی علف‌های هرز است، که به‌عنوان یک روان‌آب وارد اکوسیستم‌های آبی می‌شود و دارای اثر سمی بر ماهی است (۱۴). این گروه از علف‌کش‌ها که در اواسط سال ۱۹۵۰ کشف شدند. پاراکوات اولین بار در سال ۱۸۸۲ ساخته شد اما اثر آفت‌کشی آن تا سال ۱۹۵۹ ناشناخته ماند این سم دارای دو حلقه پیریدیل می‌باشد (۱۱). احتمال می‌دهند که پاراکوات یک محرک قوی در تشکیل آنیون‌های سوپراکسید باشد. این رادیکالها بسیار سمی بوده و به‌شدت با ماکرومولکولها ترکیب می‌شوند و باعث ایجاد آسیب‌های جدی در اندام‌های مختلف می‌گردند. تغییراتی در کبد و کلیه در اثر ایجاد رادیکالهای آزاد توسط پاراکوات گزارش شده است (۳). این ترکیبات علاوه بر دارا بودن اثرات سوء مستقیم بر ماهی بصورت غیرمستقیم نیز باعث از بین بردن جوامع پلانکتونی و زنجیره‌های غذایی موجود در محیط‌های آبی و همچنین سایر گیاهان و جانوران آبی می‌شوند (۵). اثرات سمی پاراکوات در انسان و آبزیان بصورت حاد و مزمن دیده می‌شود و موجب ناتوانی و آسیب در کبد می‌گردد. از آنجا که کبد ارگانی است که متابولیسم اولیه مواد غیرزیستی را انجام می‌دهد و سم‌زدایی نیز در این ارگان صورت می‌پذیرد. تأثیر این مواد سمی ممکن است باعث ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک کبدی گردد (۱). میزان این تغییرات وابستگی مستقیم به گونه ماهی، نوع و غلظت علف‌کش و مدت زمان تیمار دارد. لذا مطالعات هیستوپاتولوژیک کبد، راه مناسبی برای بررسی و ارزیابی اثرات سمی این علف‌کش می‌باشد. این تحقیق به منظور بررسی بیشتر اثرات سموم آسیب رسان به ماهیان روی ماهی بنی انجام گرفته است. هدف از این مطالعه در واقع بررسی اثر سمی علف‌کش پاراکوات و مطالعه هیستوپاتولوژیک آن بر بافت کبد ماهی بنی می‌باشد.

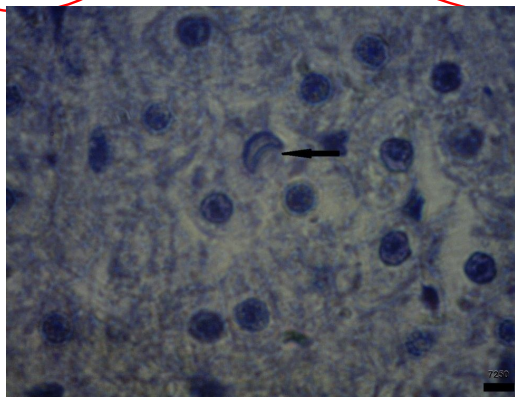
جدول ۱- ضایعات بافتی مشاهده شده در کبد ماهی بنی بعد از ۹۶ ساعت در دوزهای مختلف

نمونه ضایعه	شاهد	25% LC <sub>50</sub>	50% LC <sub>50</sub>	75% LC <sub>50</sub>
نکروز	-	-	+	++
واکوئولاسیون	-	+	++	++
پرخونی	-	+	++	+++
التهاب	-	-	+	+

(-) بدون آسیب. (+) آسیب > ۲۰٪. (++) آسیب بین ۲۰-۶۰٪. (+++) آسیب < ۶۰٪.



نگاره ۱- نمای ریز بینی ساختار بافتی طبیعی هپاتوسیت‌های کبد ماهی بنی. هسته مرکزی و هستک (فلش‌ها) به خوبی مشخص هستند. (ستاره‌ها) مجاری صفراوی. ساختار لوپولی بطور کامل شکل نگرفته است (H&E, X40).



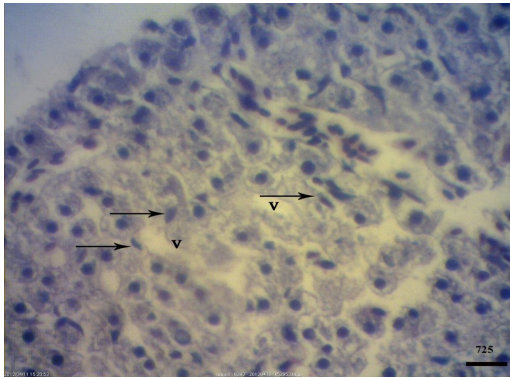
نگاره ۲- کبد ماهی بنی تیمار شده با غلظت ۷۵٪ LC<sub>50</sub> 96h. پیکنوز هسته (فلش) به خوبی دیده می‌شود (H&E, X100).

مراحل مختلف پاساژ بافتی، قالب‌گیری شده و در نهایت برش‌های ۵ میکرونی از بافت‌های مورد نظر تهیه گردید. مقاطع بافتی پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین در زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. تصاویر توسط لنز دیجیتال Dinolite و نرم افزار Dinocapture تهیه گردید.

## نتایج

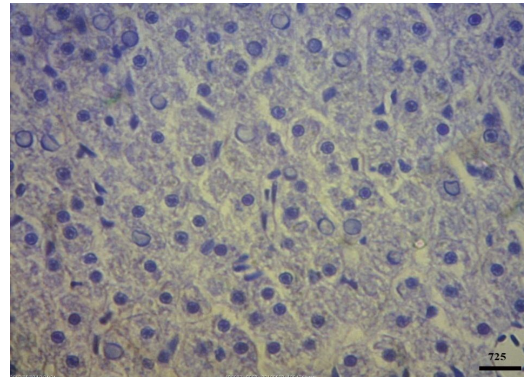
ماهیان شاهد در تمام شرایط آزمایشگاهی بجز تیمار با پاراکوات با سایر ماهیان گروه‌های تیمار یکسان بودند. مطالعه بافت‌شناسی کبد ماهی بنی کنترل هیچگونه عارضه و حالت غیر طبیعی را نشان نداد. هسته‌های مرکزی و درشت با هستک مشخص به خوبی دیده شدند. سیتوپلاسم و غشای سلولی کاملاً مشخص بود (نگاره ۱). ساختار لوپولی با کمی دقت قابل تشخیص بود. در نمونه‌های تیمار شده با پاراکوات اولین چیزی که مشاهده شد تغییر شکل و پیکنوز هسته‌ای بود. به نحوی که در غلظت ۲۵ درصد LC<sub>50</sub> 96h هسته‌های تغییر یافته به راحتی قابل مشاهده بودند (نگاره ۲). در دوزهای بالاتر با افزایش غلظت پاراکوات میزان این تغییرات بسیار بیشتر بود. در غلظت ۷۵ درصد LC<sub>50</sub> 96h بافت کبد تماماً نکروتیک بود و هسته‌های تخریب شده و سیتوپلاسم واکوئوله در سراسر کبد مشاهده می‌گردید (نگاره ۳). مرز نشینی هسته هپاتوسیت‌ها در غلظت ۵۰ درصد LC<sub>50</sub> 96h و بیشتر مشاهده شد (نگاره ۴). علاوه بر این پرخونی در رگ‌های خونی کبدی نیز رخ داده که در غلظت‌های بالاتر پاراکوات شدیدتر بود (نگاره ۵). علاوه بر این واکوئولاسیون شدید در غلظت ۷۵ درصد LC<sub>50</sub> 96h مشاهده شد (نگاره ۶). گسترده‌گی ضایعات مختلف در هپاتوسیت‌های کبدی در ماهی بنی تحت دوزهای مختلف علف‌کش پاراکوات در جدول ۱ بصورت خلاصه آورده شده است.

پرخونی و افزایش سلول‌های خونی (فلش) در کبد.



نگاره ۶- کبد ماهی بنی تیمار شده با غلظت LC<sub>50</sub> 96h ٪۷۵

واکوئولاسیون (V) و هسته‌ها با نمایی حاکی از تغییرات نکروز در سلول (فلش‌ها) در اطراف واکوئول دیده می‌شود (H&E, X10).

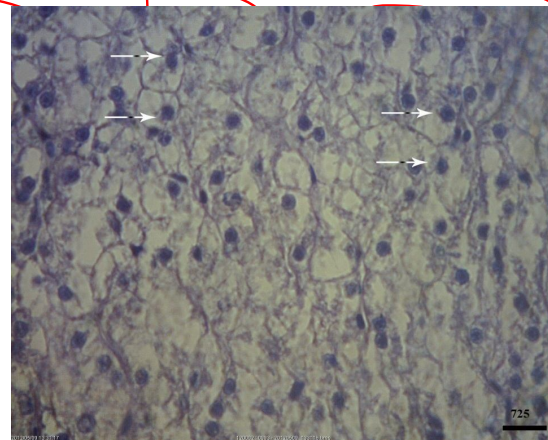


نگاره ۳- کبد ماهی بنی تیمار شده با غلظت LC<sub>50</sub> 96h ٪۷۵ سلول‌های نکروزه و متورم در تمام پارانشیم بافت کبد به فراوانی مشاهده می‌شوند (H&E, X10).

### بحث

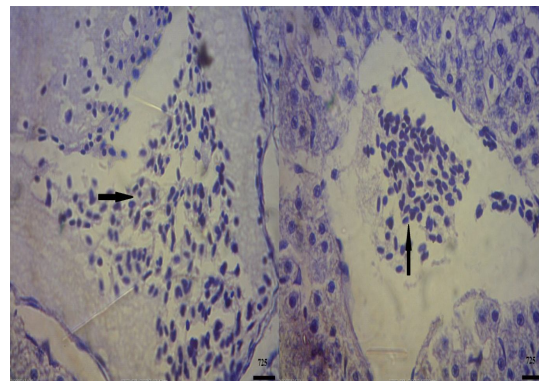
آسیب‌شناسی بافتی در واقع یک روش مناسب برای بررسی آلودگی یک اکوسیستم محسوب می‌شود، و در این میان بافت کبد به دلیل نقش در متابولیسم مواد سمی، بافت مناسب برای مطالعه بوده و از اهداف اولیه علفکش پاراکوات محسوب می‌گردد (۱). پاراکوات به عنوان یک علفکش قادر است بافت و سیستم‌های یک موجود زنده را تحت تأثیر قرار دهد که در این میان بیشترین آسیب متوجه کبد موجود خواهد بود (۳) هدف از تحقیق حاضر بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد ماهی بنی در مواجهه با علفکش پاراکوات می‌باشد که در معرض غلظت‌های مختلف تحت حاد و به مدت ۹۶ ساعت قرار گرفته‌اند. آسیب‌های بافتی حاصل در کبد ماهیان شامل تغییر در شکل هسته، پیکنوز و نکروز، واکوئوله شدن، مرز نشینی هسته هپاتوسیت‌ها و پرخونی در رگ‌های خونی کبدی بود که با افزایش مقدار سم بر شدت آن افزوده می‌شد.

نتایج حاصل نشان‌دهنده اثرات سمی پاراکوات بر بافت کبد ماهی بنی بود که این اثرات با افزایش غلظت سم افزایش نشان داد، نتایج مشابهی در تحقیق Ladipo و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی گربه ماهی *Clarias Gariepinus* به دست



نگاره ۴- کبد ماهی بنی تیمار LC<sub>50</sub> 96h ٪۷۵

تورم سلولی و مرز نشینی هسته‌ها (فلش‌ها) قابل تشخیص است (H&E, X10).



نگاره ۵- کبد ماهی بنی تیمار با غلظت LC<sub>50</sub> 96h ٪۷۵ (H&E, X10).



بسیاری از ارگان‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد با این وجود مرگ بخاطر فیروز اندام تنفسی رخ می‌دهد(۸).

از طرف دیگر Salazar-Lugo و همکاران (۲۰۱۱) افزایش واکوئولاسیون در غلظت‌های بالاتر را به دلیل افزایش تجمع چربی در هیپاتوسیت‌ها و در نهایت ایجاد واکوئول می‌دانند (۱۷). این در حالی است که Figueiredo-Fernandes و همکاران (۲۰۰۶) اعلام کردند که پاراکوات در کبد باعث افزایش فعالیت آنزیم زنبوبوتیک ترانسفراز و در نتیجه واکوئولاسیون و نکروز می‌گردد (۹).

این تحقیق نشان داد که پاراکوات برای ماهی بنی سمی بوده و باعث ایجاد صدمات هیستوپاتولوژیک در کبد این ماهی می‌شود. با این وجود تغییر در زمان مواجهه سازی و افزایش تیمارها و دوز پاراکوات می‌تواند آسیب‌های بافتی ایجاد شده را بهتر نشان دهد.

به منظور ایجاد معیارهای موثر برای حفاظت از گونه‌های حساس ماهی و کلاً حیات وحش در برابر پاراکوات اطلاعات بیشتری در مناطق مختلف مورد نیاز است. این موارد از قبیل: میزان انتقال پاراکوات از خاک به زنجیره غذایی خاکی، پتانسیل وجود پاراکوات در زنجیره غذایی دریایی، بویژه گیاهان، دتریتوس‌های گیاهی، دوزیستان، خزندگان، میران تاثیر ترکیب همزمان پاراکوات با سایر علفکشها، و حساسیت بالایی لارو سخت پوستان و جنین مرغ دریایی به پاراکوات می‌باشد که نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

### فهرست منابع

۱. آقامحمدی، م، فرخی، ف، توکمه چی، ا. (۱۳۹۰): بررسی اثرات سمی غلظت‌های مختلف علف‌کش پاراکوات بر بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی rainbow trout همایش ملی تغییر اقلیم و تاثیر آن بر کشاورزی و محیط زیست.
۲. بساک کاهکش، ف، صالحی، ح، امیری، ف، نیک پی، م. (۱۳۸۹): پرورش توأم ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) با کپورماهیان چینی و مقایسه اقتصادی آن با

آمد. وی ضمن گزارش صدمات بافتی در کبد ماهی نشان دادند که میزان صدمات و گستردگی آنها ارتباط مستقیم با میزان سم مصرف شده دارد (۱۲).

Neibor و همکاران در سال ۱۹۸۰ گزارش کردند که میزان سمیت هر علفکش به تجمع بافتی، نوع و ساختار ماده مورد مطالعه و برهمکنش این ماده با جانور در معرض سم، بستگی دارد. بنابراین کبد به‌عنوان محل اصلی تجمع مواد سمی دارای اهمیت خاصی است (۱۳). در مطالعه حاضر در تیمار ۲۵٪  $LC_{50}96h$  ضایعات عمده بصورت نکروز، واکوئولاسیون و پرخونی با غلظت کم مشاهده گردید و با افزایش غلظت سم

میزان این صدمات نیز بیشتر شد بطوریکه در غلظت ۷۵٪  $LC_{50}96h$  قسمت عمده پارانشیم کبدی حاوی نکروز و واکوئولاسیون بود. آقامحمدی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند که با افزایش غلظت سم پاراکوات، واکوئول‌های مشاهده شده در کبد بزرگتر شده و ضمن پاره شدن غشا، ایجاد نکروز می‌کند(۱). این نتایج ضمن تایید مشاهدات تحقیق حاضر،

می‌تواند نشان‌دهنده فرآیند واکوئولاسیون حاصل از پاراکوات در کبد باشد. تغییرات پیکنوتیک هسته از همان مراحل اولیه پدیدار شد که احتمالاً به دلیل سمیت بالای این ماده در ماهیان بوده و در غلظت‌های بالاتر واکوئولاسیون و در نهایت نکروز بافتی دیده می‌شود. صدمات مشاهده شده در کبد ماهیان بنی

مواجه شده با پاراکوات، بسیار مشابه ضایعات ایجاد شده توسط سایر مواد سمی مثل آفتکش‌ها و فلزات سنگین که توسط سایر محققین گزارش شده است (۲۰، ۱۵، ۱۰). همچنین سم پاراکوات در گونه‌های مختلف اغلب علایم مشابهی نشان می‌دهد که بسته به گونه ماهی و نوع و غلظت سم شدت متفاوتی دارند(۱۷).

مکانیسم بیوشیمیایی سمیت پاراکوات به واسطه چرخه اکسیداسیون - احیا در بافت‌ها است که منجر به تولید آنیون‌های سوپراکسید و دیگر رادیکال‌های آزاد و در نهایت پراکسید هیدروژن با قدرت تخریب بالا می‌گردد. اگرچه پاراکوات

11. Haley, T.J. (1979): Review of the toxicology of paraquat (1, 1'-dimethyl-4, 4'-bipyridinium chloride). Clin. Toxicol. 14:1-46.
12. Ladipo, M.K., Doherty, V.F., Oyebadejo, S.A. (2001): Acute toxicity, behavioural changes and histopathological effect of paraquat dichloride on tissues of catfish *Clarias Gariepinus*. Int. J. Biol. 3: 67-74.
13. Neibor, E., Richardson, D.H. (1980): Replacement of non-descript term heavy metal by a biological and chemically significant classification of metal ions. Environ. Pol. Ser. 3: 24- 45.
14. Ovie, K.S., Kabir, A., Jennifer, O. (2007): Sublethal effect of paraquat on some plasma organic constituents (metabolic parameters) of African catfish: *Clarias gariepinus* (Osteichthys clariidae). Int. J. Zoo. Res. 3: 213- 217.
15. Ramesh, M., Srinivasan, R., Saravanan, M. (2009): Effect of atrazine (Herbicide) on blood parameters of common carp *Cyprinus carpio* (Actinopterygii-Cypriniiformes). African. J. Environ. Sc.Tech. 3: 453-458.
16. Safahieh, A., Jaddi, Y., Yavari, V., Saligeh Zadeh, R. (2013): Sub-Lethal Effects of Herbicide Paraquat on Hematological Parameters of Benny Fish Mesopotamichthys Sharpeyi. 2nd International Conference on Biotechnology and Environment Management; Salazar-Lugo, R., Mata, C., Oliveros, A., Rojas, R.M, Lemus, M., Rojas-Villarroel, E. (2011): Histopathological changes in gill, liver and kidney of neotropical fish *Colossoma macropomum* exposed to paraquat at different temperatures. Environ. Toxicol. Pharmacol. 31: 490-495.
18. Sarikaya, R., Yilmaz, M. (2003): Investigation of acute toxicity and the effect of 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) herbicide on the behavior of the common carp *Cyprinus carpio*. J. Pest. Bioch. Physiol.52: 195-201.
19. TRC: O.E.C.D. (1984): Guideline for testing if chemical section 2. on biotic systems. 39p.
20. Velmurugan, B., Mathews, T., Cengiz, E.I. (2009): Histopathological effects of cypermethrin on gill, liver and kidney of fresh water fish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) and recovery after exposure. Environ. Tech. 30: 1453-1460.
- روش پرورش مرسوم، مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، ۴(۳): ۸۵-۷۳.
۳. حمایت خواه جهرمی، و.، پرپور، ک.، بهاء‌الدینی، ا.، کفیل زاده، ف. (۱۳۸۷): بررسی اثر علف کش پاراکوات بر تغییرات هیستولوژیکی بیضه، باروری، روند اسپرماتوژنز و محورهای هورمونی هیپوفیز - گناد در موشهای نژاد Balb/C. مجله زیست شناسی ایران، ۲۱(۳): ۵۳۵-۵۲۷.
۴. محمدیان، ت.، کوچنین، پ.، نیکو، س.، شیخ‌الاسلامی، م.، بیتا، س.، اسکندری، غ.، ابهری سه گنبد، ح. (۱۳۸۸): مقایسه تاثیر آنالوگ هورمون GnRH همراه با آنتی دوپامین دامپریدون (Ova-fact) به روش لینه، با عصاره هیپوفیز ماهی کپور معمولی (CPE) بر شاخص های تولید مثلی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*). مجله دامپزشکی ایران، ۲۵(۲): ۸۰-۷۰.
5. Abdallah, I., Yu, Q., Han, H., Owen, M., Powles, S. (2008): Distinct non-target site mechanisms endow resistance to glyphosate, ACCase and ALS-inhibiting herbicides in multiple herbicide-resistant *Lolium rigidum*. J. Plan. 230: 713- 23.
6. Banace, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., Ahmadi, K. (2011): Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Pest. Bioch. Physiol. 99: 1- 6.
7. Banace, M., Mirvaghefi, R., Rafei, G., Majazi Amiri, B. (2008): Effect of sub-lethal Diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. Int. J. Environ. Res. 2: 189-198.
8. Eisler, R. 1990. Paraquat hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report 85. 28 pp.
9. Figueiredo-Fernandes, A., Fontainhas-Fernandes, A., Rocha, E., Reis-Henriques, M.A. (2006): The effect of paraquat on hepatic EROD activity, liver, and gonadal histology in males and females of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed at different temperatures. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 51: 626- 632.
10. Giari, L., Simoni, E., Manera, M., Dezfuli, B.S. (2008): Histo-cytological responses of *Dicentrarchus labrax* (L.) following mercury exposure. Ecotoxicol. Environ. Saf. 70: 400-410.