Archive of SID

بررسی خون‌شناسی وآسیب‌شناسی بافتی در مسمومیت تجربی با دیازینون در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

مهدی بنایی[1]، علیرضا میرواقفی[*2]، باقر مجازی‌امیری[3]، غلامرضا رفیعی[4] و بهزاد نعمت‌دوست[5]

[1] دانش آموخته دکتری رشته آبزی‌پروری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

[2] استادیار دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

[3] استاد دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

[4] دانشیار دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

[5] مربی دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه صنعتی بهبهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۲۷، تاریخ تصویب: ۸۹/۵/۲۲)

چکیده

استفاده از دیازینون جهت کنترل آفات نباتی در بسیاری از مزارع کشاورزی که در مجاورت منابع آب شیرین واقع شده‌اند بسیار رایج می‌باشد. از اینرو در این مطالعه به بررسی سمیت زیر کشنده این آفت‌کش ارگانوفسفره به عنوان یک آلاینده بوم سازگان‌های آبی، بر روی تغییرات آسیب‌شناسی بافت کلیه و طحال و تغییرات برخی از فاکتورهای خونی ماهی کپور معمولی، *Cyprinus carpio*، پرداخته شده است. در این آزمایش ماهی‌ها به مدت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز در معرض غلظت زیر کشنده ۰/۰۶ و ۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر دیازینون قرار داده شدند. کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز، مقدار هموگلوبین و هماتوکریت، گلبول‌های سفید، لنفوسیت، مونوسیت و بازوفیل و افزایش معنی‌دار حجم متوسط گلبولی، غلظت متوسط هموگلوبین، نوتروفیل و ائوزینوفیل در ماهیانی که در معرض سمیت مزمن دیازینون قرار داشتند در مقایسه با ماهیان گروه شاهد کاملا مشهود بود. تاثیرات آسیب شناسی بافتی دیازینون بر روی بافت‌های کلیه، طحال و آبشش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، نیز با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. سم دیازینون باعث از بین رفتن و تحلیل سلول‌های اپیتلیوم مجاری کلیوی، نکروز مجاری کلیوی، تحلیل گلومرول‌ها و افزایش فضای کپسول بومن در بافت کلیه ماهی‌ها گردید. افزایش اندازه و فراوانی قابل توجه مراکز ملانوماکروفاژی و تغییرات ریختی سلول‌های الیپسوئیدی در بافت طحال از مهمترین تغییرات مشاهده شده در این بافت است. هیپرپلازی لاملاها، بهم‌چسبیدگی لاملاها و افزایش ترشحات موکوسی از جمله تغییراتی است که در ساختار آبشش ماهی‌های تحت تیمار سم دیازینون دیده شد.

واژه‌های کلیدی: دیازینون، فاکتورهای خونی، آسیب شناسی، کلیه، طحال، آبشش

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۶۱-۲۲۴۵۹۰۹ فاکس: ۰۲۶۱-۲۲۴۵۹۰۹ E-mail: vaghefi@nrf.ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دیازینون یکی از کاربردی‌ترین سموم ارگانوفسفره شناخته شده در ایران است که معمولا از طریق زهکش مزارع کشاورزی وارد آب‌های سطحی و حتی زیرزمینی می‌گردد (Sohrabi *et al*., 2001). در مطالعاتی که اخیرا در بسیاری از آب‌های سطحی، ساحلی و مصبی و حتی پساب تصفیه خانه های مناطق شهری مناطق مختلف جهان از جمله ایران صورت گرفته، مقادیر قابل توجهی از این سموم گزارش شده است (Shayeghi *et al*., 2001; U.S. EPA, 2005) که از آن جمله می‌توان وجود دیازینون در زهکش شالیزارهای مناطق مختلف استان-های شمالی (Nouri *et al*., 2000; Tavakol, 2007)و رودخانه‌ها مهاباد و سیمینه‌رود (Honarpajouh, 2003)، نهند رود (Tarahi Tabrizi, 2001)، رودخانه‌ی کر و سیوند (Shayeghi *et al*., 2007)، رودخانه‌ی شاه‌پور، مند و دالکی (Shayeghi *et al*., 2007)، گرگان‌رود و قره‌سو (Bagheri, 2007)، رودخانه‌ی کرج (Arjomandi *et al*., 2010) و اغلب رودخانه‌های استان مازندران اشاره کرد (Shayeghi *et al*., 2007; Arjomandi *et al*., 2010). ورود دیازینون به آب‌های سطحی و سفره‌های زیرزمینی، می‌تواند بر طیف وسیعی از موجودات غیرهدف مانند بی‌مهرگان، پستانداران، پرندگان و ماهی‌ها، که در اکوسیستم‌های آبی زیست می‌کنند تاثیر بگذارد (Burkepile *et al*., 2000)، که این امر بسیار نگران کننده است. مطالعه آسیب‌شناسی بافتی و فاکتورهای خونی، به عنوان یک ابزار پاراکلینیکی در بررسی وضعیت سلامت فیزیولوژیکی ماهی‌ها از اهمیت بسزایی برخوردار است (Benarji and Rajendranath, 1990; Soldatov, 2005). لذا از تغییرات فاکتورهای خونی و آسیب‌های بافت‌های مختلف ماهی‌ها می‌توان به عنوان یک شاخص در پایش آلودگی اکوسیستم‌های آبی اعم از دریایی و آب‌های شیرین استفاده کرد (Trachman *et al*., 1992). در طی سال‌های اخیر مطالعه گسترده‌ای درباره اثرات سوء سموم و آلاینده‌های شیمیایی بر بسیاری از جنبه‌های زیستی و فیزیولوژیکی ماهیان مختلف صورت گرفته است، که از این جمله می‌توان به تاثیر دیازینون بر روی سیستم تولید مثلی ماهی‌ها و نیز اختلال در فعالیت سیستم ترشحی غدد درون ریز (Dutta and Arends, 2003; Banaee *et al*., 2009; Banaee *et al*., 2009)، اختلال سیستم ایمنی (Banaee *et al*., 2009) و نیز در عملکرد آنزیم‌های کبدی و نروترانسمیترها (Üner *et al*., 2006; Banaee *et al*., 2008) و همچنین کاهش رشد و بقای ماهی‌ها اشاره کرد. ماهی کپور یکی از مهمترین گونه‌های پرورشی در مناطق مختلف ایران محسوب می‌شود و اغلب در نزدیکی زمین های کشاورزی پرورش داده می‌شود. از نظر زیست شناسی نیز شباهت بسیاری بین این ماهی و ماهی‌های بومی رودخانه‌های ایران وجود دارد و به خوبی با شرایط آزمایشگاهی، سازگار می‌شود. از آنجایی که در مطالعات قبل، تاثیر حاد مسمومیت ماهی کپور با دیازینون مورد بررسی قرار گرفته، در این تحقیق تلاش شده است تا تاثیر مسمومیت مزمن با غلظت‌های زیر کشنده دیازینون در طولانی مدت بر روی تغییرات فاکتورهای خونی و مطالعه آسیب‌های بافت‌شناسی بافت-های کلیه، طحال و آبشش این ماهی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

ماهی

تعداد ۹۰ عدد ماهی کپور معمولی (۲۲/۶ g ± ۲۶۵) از مزرعه تحقیقاتی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه و پس از انتقال به آزمایشگاه تکثیر و پرورش گروه شیلات و محیط زیست دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران بطور تصادفی در ۹ مخزن فایبرگلاس ۲۰۰ لیتری توزیع و به مدت ۱۴ روز با شرایط آزمایشگاهی (دمای آب ^{o}C ۴ ±۲۵ ، غلظت اکسیژن محلول mg/l ۶ تا ۷) سازگار و در این مدت با غذای تجاری ۲ بار در روز و به نسبت ۲٪ وزن بدن تغذیه شدند. این آزمایش براساس دستورالعمل OECD و بصورت نیمه استاتیک در سازگان نیمه مدار بسته و در قالب یک طرح کاملا تصادفی در ۳ تیمار با ۳ تکرار (دو تیمار سم به غلظت mg/l ۰/۰۶ و ۰/۱۲ و یک

www.SID.ir

Archive of SID

تیمار شاهد) انجام گردید. غلظت سم در این آزمایش معادل $\frac{1}{40}$ و $\frac{1}{20}$ مقدار سمیت LC_{50} ۹۶ ساعته دیازینون برای کپور (۳/۰۱-۲/۲ mg/l) در نظر گرفته شد (Banaee *et al*., 2008). ماهی‌ها به مدت ۳۰ روز در معرض سم دیازینون قرار می‌گیرند و پس از گذشت۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز پس از مواجه با سم، ۹ ماهی از هر تیمار (۳ ماهی از هر مخزن) بصورت تصادفی صید و پس از بیهوشی با پودر گل میخک (۱ به ۵۰۰۰)، از آنها خون گیری صورت گرفت.

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

شمارش سلول‌های قرمز (RBC) و سفید (WBC) خون به روش هموسیتومتری انجام گرفت (Rabitto *et al*., 2005). مقدار هماتوکریت (Hct) و غلظت هموگلوبین (Hb) نیز به ترتیب به روش میکروهماتوکریت و سیانومت هموگلوبین سنجش گردید، شاخص‌های مهم سلول‌های قرمز خون نظیر حجم متوسط گلبولی (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و تغییرات غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) نیز مطابق با فرمول‌های ذیل تعیین گردید (Goldenfarb *et al*., 1971; Köprücü *et al*., 2006). در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نیز، گسترش خونی تهیه و با گیمسا رنگ آمیزی گردید. به منظور کاهش احتمال خطای آزمایش در حین شمارش گلبول‌های سفید و قرمز و نیز مطالعه‌ی شاخص‌های گلبول‌ها قرمز خونی، اندازه‌گیری شاخص‌های خونی در طی ۳ مرتبه انجام شد.

$$MCV = \frac{Hct}{RBC\,(10^6)} \times 10 \; ; \; MCH = \frac{Hb}{RBC\,(10^6)} \times 10 \; ; \; MCHC = \frac{Hb}{Hct} \times 100$$

بافت شناسی

پس از گذشت ۳۰ روز از آغاز زمان قرار گرفتن ماهی‌ها در معرض سم دیازینون و در پایان دوره‌ی آزمایشی، از هر تیمار ۹ ماهی صید و پس از کالبد شکافی، از بخش میانه‌ی بافت کلیه، طحال و آبشش ۳ قطعه بافت جدا گردید و در محلول بوئن به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. تهیه بافت براساس روش ارائه شده توسط گنجی و آروند (Ganji and Arvand, 2002) صورت گرفت. در مجموع به ازای هر نمونه ۳ لام (۹ لام به ازای هر بافت از هر ماهی) تهیه و به روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین رنگ آمیزی شد و با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ عدسی شیئی مشاهده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده ها به روش تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و با استفاده از نرم افزار Mintab 13 انجام شد. آزمون نرمال بودن داده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirovانجام گردد و جهت نرمال کردن داده‌های درصدی به صورت Arcsin عمل شد. مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون آماری توکی در سطح اطمینان ۹۵٪ (α = ۰/۰۵) صورت گرفت. در تمامی این مقاله تغییر معنی دار معادل است با $P < ۰/۰۵$.

نتایج

تغییر تعداد و شاخص‌های گلبول قرمز در جدول ۱ ارائه شده است. کاهش معنی دار تعداد گلبول‌های قرمز، مقدار هموگلوبین و درصد هماتوکریت و افزایش معنی دارشاخص های گلبول‌های قرمز خون اعم از حجم متوسط گلبولی و غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول‌های قرمز از مهمترین تغییراتی است که در مطالعات خونی ماهیان در معرض دیازینون دیده می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تغییر شاخص گلبول‌های قرمز خونی ماهی کپور که به مدت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز، در معرض سطوح مختلف سم دیازینون (۰، ۰/۰۶ و ۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر) قرار داشته‌اند

فاکتور / تیمار	گلبول قرمز (10^6 cell)	هموگلوبین (g/100 ml)	هماتوکریت (٪)	حجم متوسط گلبولی (10^{-4} mm^3)	غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (10^{-5} pg)	تغییرات غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (%)
پس از ۱۰ روز						
۱	۲/۰ ± ۰/۱۶^a	۷/۸۷ ± ۰/۵^a	۳۶/۰ ± ۱/۲^a	۲/۳۹ ± ۱/۲^a	۳/۹ ± ۰/۴۲^a	۲۱/۸ ± ۱/۴۳^a
۲	۱/۶ ± ۰/۱۲^b	۷/۰۱ ± ۰/۳^b	۳۳/۳ ± ۱/۰^b	۲/۱۶ ± ۰/۱۹^a	۴/۵ ± ۰/۳۶^b	۲۱/۵ ± ۲/۱۱^a
۳	۱/۴ ± ۰/۰۷^c	۶/۷۰ ± ۰/۱^b	۳۲/۱ ± ۱/۲^b	۲/۳۶ ± ۰/۱۵^a	۵/۲ ± ۰/۲۷^c	۲۱/۸ ± ۰/۷۶^a
پس از ۲۰ روز						
۱	۲/۰ ± ۰/۱۲^a	۷/۹۲ ± ۰/۳^a	۳۶/۳ ± ۰/۷^a	۱/۸۱ ± ۰/۱۲^a	۳/۹۸ ± ۰/۳^a	۲۱/۹ ± ۱/۲۰^a
۲	۱/۴ ± ۰/۱۴^b	۶/۸۶ ± ۰/۲^b	۳۳/۰ ± ۱/۲^b	۲/۳۴ ± ۰/۲۴^b	۴/۹ ± ۰/۴۵^b	۲۰/۸ ± ۰/۸۴^a
۳	۱/۲ ± ۰/۰۹^c	۶/۷۶ ± ۰/۲^b	۳۱/۷ ± ۱/۲^c	۲/۵۹ ± ۰/۲۱^c	۵/۵ ± ۰/۴۵^c	۲۱/۴ ± ۰/۷۹^a
پس از ۳۰ روز						
۱	۲/۰ ± ۰/۱۲^a	۷/۹۲ ± ۰/۳^a	۳۶/۳ ± ۰/۷^a	۱/۷۹ ± ۰/۱۲^a	۳/۹ ± ۰/۱۸^a	۲۱/۸ ± ۱/۱۱^a
۲	۱/۴ ± ۰/۱۷^b	۶/۶۲ ± ۰/۳^b	۳۲/۸ ± ۱/۶^b	۲/۳۴ ± ۰/۳۲^b	۴/۷ ± ۰/۷۱^b	۲۰/۳ ± ۱/۵۲^a
۳	۱/۲ ± ۰/۱۰^c	۶/۳۲ ± ۰/۶^b	۲۹/۷ ± ۱/۶^c	۲/۵۴ ± ۰/۳۲^b	۵/۴ ± ۰/۶۸^b	۲۱/۴۴ ± ۲/۹^a

* اختلاف آماری بین میانگین عددی نتایج با حروف الفبای انگلیسی نشان داده شده است.

تغییر تعداد و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در جدول ۲ ارائه شده است. کاهش معنی دار تعداد گلبول‌های سفید، لنفوست، مونوسیت و بازوفیل و افزایش معنی دار نوتروفیل و ائوزینوفیل از مهمترین تغییراتی است که در مطالعات خونی ماهیان در معرض دیازینون دیده می‌شود.

تغییرات آسیب‌شناسی بافتی، بافت کلیه ماهی‌های تحت تیمار سم دیازینون در مقایسه با بافت کلیه ماهی‌های گروه کنترل مقایسه گردیده است. از بین رفتن مجاری کلیوی (شکل ۵-۱)، دژنره شدن اپیتلیوم مجاری کلیوی (شکل ۵-۱)، افزایش فضای ادراری (شکل ۳-۱، ۶-۱)، دژنره شدن و تحلیل گلومرول‌ها (شکل ۴-۱) و افزایش فضای بومن (شکل ۶-۱) نیز از مهمترین تغییرات در کلیه ماهیانی است که در معرض سم دیازینون قرار داشتند. این تغیرات بطور معنی داری با افزایش غلظت سم مشهودتر است.

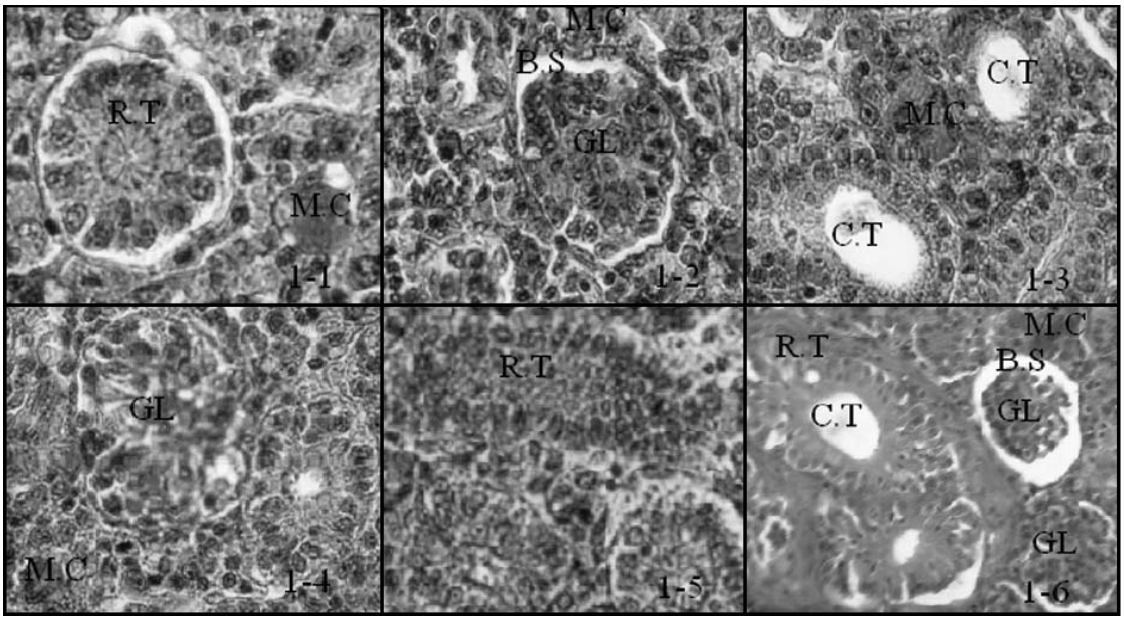
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- تغییر در انواع گلبول‌های سفید خونی ماهی کپور که به مدت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز، در معرض سطوح مختلف سم دیازینون (۰، ۰/۰۶ و ۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر) قرار داشته‌اند

فاکتور / تیمار	WBC (10^4 cell)	لنفوسیت (٪)	مونوسیت (٪)	ائوزینوفیل (٪)	نوتروفیل (٪)	بازوفیل (٪)
پس از ۱۰ روز						
۱	۱۴/۱ ± ۰/۷^{a}	۷۶/۳ ± ۱/۴^{a}	۲/۶ ± ۱/۰^{a}	۲/۷ ± ۰/۸۳^{a}	۲/۴ ± ۰/۷^{a}	۲/۸ ± ۰/۸۳^{a}
۲	۱۱/۹ ± ۰/۶^{b}	۷۴/۳ ± ۱/۵^{b}	۱/۷ ± ۰/۶۶^{ab}	۵/۷ ± ۱/۳۲^{b}	۳/۳ ± ۰/۷^{b}	۲/۳ ± ۰/۵^{ab}
۳	۱۰/۷ ± ۰/۷^{c}	۷۳/۱ ± ۱/۳^{b}	۱/۶ ± ۰/۷۰^{b}	۸/۴ ± ۰/۸۸^{c}	۴/۱ ± ۰/۸^{b}	۱/۷ ± ۰/۸۶^{b}
پس از ۲۰ روز						
۱	۱۴ ± ۰/۸۲^{a}	۷۵/۲ ± ۱/۲^{a}	۲/۷ ± ۱/۰^{a}	۲/۸ ± ۰/۸۳^{a}	۲/۵ ± ۰/۷^{a}	۳/۱ ± ۰/۷۸^{a}
۲	۱۱/۷ ± ۰/۷^{b}	۷۴/۱ ± ۱/۳^{ab}	۱/۸ ± ۰/۶۶^{ab}	۶/۴ ± ۰/۸۸^{b}	۳/۲ ± ۰/۷^{ab}	۲/۲ ± ۰/۴۴^{b}
۳	۱۰/۸ ± ۰/۶^{c}	۷۳/۴ ± ۱/۰^{b}	۱/۶ ± ۰/۷۰^{b}	۹/۲ ± ۱/۳۹^{c}	۳/۸ ± ۰/۸^{b}	۱/۳ ± ۰/۵۰^{c}
پس از ۳۰ روز						
۱	۱۴ ± ۱/۸^{a}	۷۶/۰ ± ۱/۰^{a}	۲/۷ ± ۱/۰^{a}	۲/۷ ± ۰/۸۳^{a}	۲/۴ ± ۰/۷^{a}	۲/۶ ± ۰/۷۰^{a}
۲	۱۱/۴ ± ۰/۱^{b}	۷۴/۶ ± ۰/۸^{b}	۱/۸ ± ۰/۶۶^{ab}	۶/۴ ± ۱/۴۲^{b}	۳/۱ ± ۰/۶^{ab}	۱/۸ ± ۰/۴۴^{b}
۳	۱۰/۷ ± ۰/۸^{c}	۷۴/۳ ± ۰/۶^{b}	۱/۷ ± ۰/۷۰^{b}	۸/۳ ± ۱/۵۸^{c}	۳/۳ ± ۰/۷^{b}	۱/۳ ± ۰/۵۰^{b}

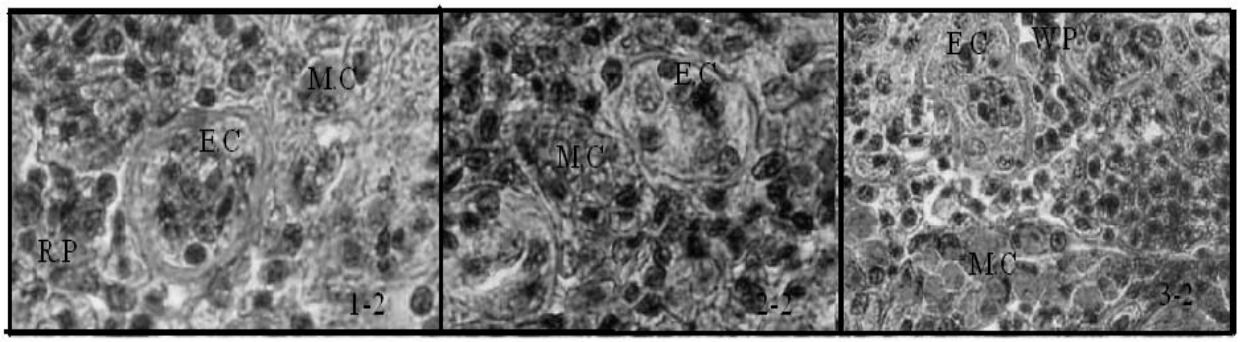
* اختلاف آماری بین میانگین عددی نتایج با حروف الفبای انگلیسی نشان داده شده است.



شکل ۱- به ترتیب از بالا به پایین بافت‌شناسی کلیه ماهیان گروه شاهد، تحت تیمار سم دیازینون در غلظت های ۰/۰۶ و ۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر پس از گذشت ۳۰ روز. لوله کلیوی (RT)، گلومرول (GL)، فضای بومن (BS)، مراکز ملانوماکروفاژ (MC) متعلق به ماهیان گروه شاهد (۱-۱ و ۲-۱). از بین رفتن سلول‌های پوششی مجرای کلیوی و افزایش فضای ادراری (CT)، دژنره شدن گلومرول و از بین رفتن سلول‌های پوششی مجرای کلیوی در ماهیان تحت تیمار سم دیازینون با غلظت ۰/۰۶ میلی‌گرم در لیتر (۳-۱ و ۴-۱). از بین رفتن مجاری کلیوی، افزایش فضای بومن، گشاد شدن مجرای ادراری و دژنره شدگی و از بین رفتن سلول‌های پوششی مجرای کلیوی در ماهیان تحت تیمار سم دیازینون با غلظت ۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر(۵-۱ و ۶-۱).

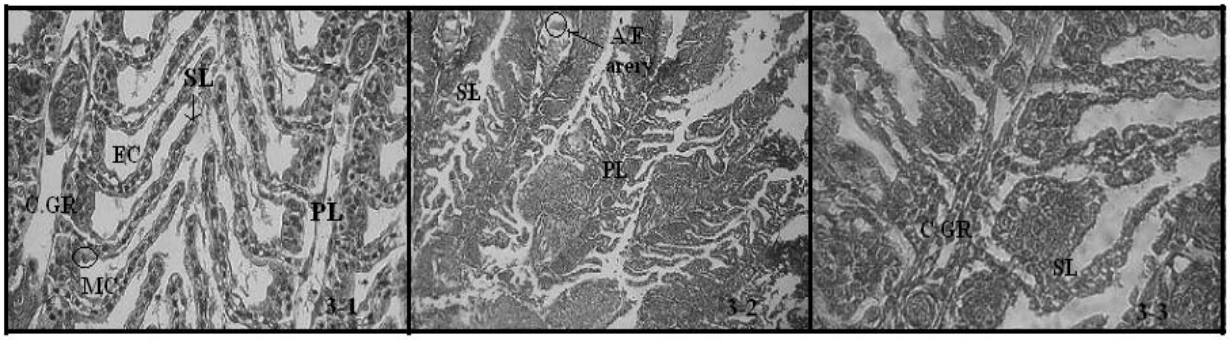
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- به ترتیب از چپ به راست بافت‌شناسی طحال ماهیان گروه شاهد، تحت تیمار سم دیازینون در غلظت های ۰/۰۶ و ۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر پس از گذشت ۳۰ روز. طحال ماهیان سالم، به ترتیب سلول‌های الیپسوئیدی (EC)، مراکز ملانوماکروفاژ (MC)، قسمت غنی از گلبول قرمز (RP)، قسمت غنی از گلبول سفید (WP) (۱-۲). افزایش تراکم و حجم مراکز ملانوماکروفاژی، توسعه قسمت های غنی از گلبول سفید در ماهیان تحت تیمار غلظت ۰/۰۶ میلی‌گرم در لیتر دیازینون (۲-۲). بی نظمی در ساختار سلول‌های الیپسوئیدی، افزایش تراکم و حجم مراکز ملانوماکروفاژی، توسعه قسمت های غنی از گلبول سفید در ماهیان تحت تیمار غلظت ۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر دیازینون (۳-۲).

تغییرات آسیب‌شناسی بافتی، بافت طحال ماهی‌های تحت تیمار سم دیازینون در مقایسه با بافت طحال ماهی‌های گروه کنترل مقایسه گردیده است. افزایش معنی دار تعداد مراکز ملانوماکروفاژ و تجمع رنگدانه‌های هموسیدرینی (شکل ۳-۲ و ۲-۲) و همچنین تغییرات ریختی در سلول‌های الیپسوئیدی (شکل ۳-۲ و ۲-۲) به خوبی در طحال ماهیانی که در معرض سم دیازینون قرار داشته‌اند مشهود است. این تغییرات با افزایش غلظت سم محسوس‌تر است.



شکل ۳- به ترتیب از چپ به راست بافت‌شناسی آبشش ماهیان گروه شاهد، تحت تیمار سم دیازینون در غلظت های ۰/۰۶ و ۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر پس از گذشت ۳۰ روز. آبشش ماهی‌های گروه شاهد، لاملای ثانویه (SL)، لاملای اولیه (PL)، سلول اپیتلیال (EC)، سلول موکوسی (MC)، شعاع غضروفی آبشش (CGR) (۱-۳)، عروق آوران و وابران آبششی (A/E artery) (۲-۳). هیپرپلازی آبششی، بهم چسبیدگی لاملاهای ثانویه و افزایش سطح موکوس در ماهی‌های تحت تیمار سم دیازینون (۲-۳ و ۳-۳).

تغییرات آسیب‌شناسی بافتی، بافت آبشش ماهی‌های تحت تیمار سم دیازینون در مقایسه با بافت آبشش ماهی‌های گروه کنترل مقایسه گردیده است. هیپرپلازی اپیتلیوم بین لاملاهای ثانویه و بهم‌چسبیدگی آنها در بافت آبشش ماهی های تحت تیمار سم بوضوح مشخص است. تورم سلول‌های موکوسی، افزایش بیش از حد موکوس، هیپرپلازی سلول‌های کلراید در آبشش این ماهی‌ها می‌تواند در تنفس و تبادلات گازی و همچنین تبادلات یونی و تنظیم اسمزی آنها اختلال ایجاد نماید.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری

ترکیبات ارگانوفسفره بطور کل چربی دوست بوده و به راحتی از طریق پوست، آبشش و سیستم گوارش جذب شده و از سد خون و مغز عبور می‌کنند (Vale, 1998) و در اثر ممانعت از فعالیت استیل کولین استراز در ماهیان می‌تواند موجب ایجاد تغییراتی در الگوی رفتاری، اختلالات شدید در رشد و تغذیه، کاهش نرخ بقا و بروز اختلالات رفتاری در تولید مثل آنها شود (Dutta and Arends, 2003). از سوی دیگر مغز ماهی‌ها واجد مقادیر بسیار اندکی آنتی اکسیدان، مقادیر قابل توجهی کاتاکول آمین قابل اکسیداسیون و همچنین لیپیدهای غیر اشباع قابل اکسیداسیون می باشند (Song *et al*., 2006). که این امر موجب شده تا این بافت در مقایسه با دیگر بافت‌ها نسبت به آسیب‌های اکسایشی ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی آسیب پذیرتر باشد. از اینرو رادیکال‌های آزاد ناشی از متابولیسم دیازینون می‌تواند با ممانعت از فعالیت نوروترانسمیترها و نیز تخریب غشای سلول‌های عصبی بر روی رفتارهای ارادی و غیرارادی ماهیان تحت تیمار سم تاثیرگذار باشند.

از مهمترین شاخص های رفتاری ماهیانی که در معرض سم دیازینون قرار داشتند می توان به بروز رفتارهای غیر طبیعی، شنای نامتعادل، افزایش حساسیت نسبت به شرایط محیطی، افزایش ضربات سرپوش آبششی و شنا در سطح آب اشاره کرد، که با افزایش غلظت و گذشت زمان تشدید گردید. مشابه این رفتارها در ماهیان گوپی *Poecilia eticulate* (Viran *et al*., 2003)، گربه ماهی اروپایی، *Silurus glanis* (Köprücü *et al*., 2006)، اسبله، *Heteropneustes fossilis* (Saha and Kaviraj, 2003) کپور آینه ای، *Cyprinus carpio* (alta and ÇUral, 2004) که در معرض سموم مختلف قرار داشته اند گزارش شده است.

در این مطالعه بین تغییرات شاخص های خونی و غلظت سم و همچنین مدت زمانی که ماهیان در معرض سم قرار داشتند رابطه معنی داری وجود دارد. کاهش معنی دار تعداد سلول‌های قرمز خونی (RBC)، مقدار هماتوکریت (Hct) و هموگلوبین (Hb) در ماهیان تحت تیمار سم دیازینون در مقایسه با ماهیان گروه شاهد از مهمترین پاسخ خونی مشاهده شده در این آزمایش است. کاهش تعداد سلول‌های قرمز خونی و مقدار هموگلوبین یکی از شاخص های بارز کم خونی در جانوران می باشد. رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در طی متابولیسم دیازینون توسط آنزیم‌های سیستم سیتوکروم P_{450} سبب تخریب اکسیداسیونی اسیدهای چرب غیراشباع موجود در ساختار غشای سلولی گلبول‌های قرمز می‌شوند. پراکسیداسیون لیپیدی در غشای سلول‌های قرمز خونی مهمترین عامل از بین رفتن گلبول‌های قرمز خونی و کاهش تعداد آنها می‌باشد (Weinstein *et al*., 2000). کاهش مقدار هموگلوبین و هماتوکریت، می تواند در پی کاهش و اندازه گلبول‌های قرمز، تخریب گلبول‌های قرمز، خونریزی داخلی، کم خونی و مسمومیت رخ دهد (Munker *et al*., 2007). کاهش تعداد سلول‌های قرمز خونی و مقدار هموگلوبین در ماهی آب شیرین (*Channa punctatus*) و ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) که در معرض سمیت حاد دیازینون قرار گرفتند گزارش شده است (Anees, 1978; Svoboda *et al*, 2001). نتایج بدست آمده توسط دیگر محققین نیز موید همین مطلب است (Singh and Srivastava, 1994; Baerjee and Bhattacharya, 1994; Khattak and Hafeez, 1996). غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول‌های قرمز (MCH) و حجم متوسط گلبولی (MCV) بطور معنی داری در ماهیان تحت تیمار سم دیازینون (٠/٠٦ و ٠/١٢ میلی‌گرم در لیتر) افزایش یافته است. تغییرات غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) در هیچ یک از تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبوده است. در واقع افزایش MCV و MCH و نیز تغییر در شاخص MCHC می تواند نشان دهنده بروز اختلال

www.SID.ir

Archive of SID

در عملکرد طحال، کبد، مسمومیت و کم خونی باشد (Munker *et al.*, 2007).

همولیز گلبول‌های قرمز در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی غشای آنها، تغییر غلظت هموگلوبین و میزان هماتوکریت خون و نیز افزایش معنی دار شاخص‌های سلول‌های قرمز خون ماهی‌های تحت تیمار سم، ممکن است نشانه‌ی کم خونی ماهی‌ها در اثر مسمومیت با دیازینون باشد و این امر می‌تواند بقا و سلامت آنها را به مخاطره اندازد.

کاهش معنی دار تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و همچنین بازوفیل‌ها و افزایش معنی دار نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها در ماهیانی که در معرض سم دیازینون قرار داشته اند، در مقایسه با گروه کنترل کاملا مشهود است. این تغییرات با افزایش غلظت سم و مدت زمان قرار گرفتن در معرض سم محسوس تر است. یافته های دیگر محققین، نیز نتایج ما را تائید می کند (Khattak *et al.*, 1996; Pourgholam *et al.*, 2006). Nazifi *et al.*, 2000 نشان دادند که با افزایش غلظت سم تری کلروفن تغییرات مشابهی در پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره ای صورت گرفته است. تغییر در تعداد گلبول‌های سفید، کاهش مونوسیت‌ها و بازوفیل‌ها و نیز افزایش نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها در پی مسمومیت با داروها و دیگر مواد شیمیایی حاکی از تضعیف سیستم ایمنی و نکروز بافتی است (Munker *et al.*, 2007).

استفاده از شاخص‌های آسیب شناسی بافتی، در مطالعات و ارزیابی تاثیر سموم بر روی آبزیان از جایگاه ویژه ای در سم شناسی محیطی برخوردار است (Poleksic *et al.*, 1999; Rabitto *et al.*, 2005) و امروزه به عنوان یک ابزار حائز اهمیت در بررسی پیامدهای نامطلوب آلاینده ها بر روی سلامت ماهی‌ها محسوب می‌شود.

ایجاد ضایعات گلومرولی، افزایش فضای بومن، از بین رفتن مجاری کلیوی، نکروز سلولی مجاری کلیوی و از بین رفتن سلول‌های پوششی مجاری کلیوی، افزایش فضای ادراری در ماهیان تحت تیمار تحت کشنده سم دیازینون، مهمترین تغییرات آسیب شناسی بافتی مشاهده شده است. تحلیل رفتن گلومرول ها منتج به افزایش فضای بومن و در نتیجه اختلال در فرایند فیلتراسیون و افزایش حجم ادرار دفعی از ماهیانی که در معرض دیازینون قرار داشته اند می گردد. در واقع افزایش تولید رادیکال های آزاد احتمالا می تواند نقش مهمی در پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای سلولی، کاهش تعداد نفرون، ایجاد ضایعات گلومرولی، کاهش سرعت فیلتراسیون گلومرولی و ضایعات پارانشیمال و لوله های کلیوی داشته باشد (Trachman *el al.*, 1992). نتایج بدست آمده توسط دیگر محققین در ماهیان مختلف که تحت تاثیر سموم و آلاینده های شیمیایی مختلف قرار داشته اند، نیز موید همین مطلب است (Benarji and Rajendranath, 1990; Banerjee and Bhattacharya, 1994; Yildirim *et al.*, 2006; Altnok and Capkin, 2007).

مراکز خون ساز یکی از مهمترین بافت های جانوری است که تحت تاثیر سموم دچار پیامدها و عوارض نامطلوبی می گردد. یکی از مهمترین بخش های مراکز خون ساز در ماهیان، مراکز ملانوماکروفاژی است که معمولا در اندام های مختلف ماهیان، اعم از کلیه، کبد و طحال یافت می‌شود. این مراکز واجد ملانین، کارتنوئید و رنگدانه های هموسیدرین می باشند. افزایش اندازه و تعداد مراکز ملانوماکروفاژ بالاخص در طحال یکی از مهمترین شاخص های زیستی مورد استفاده در تشخیص شرایط استرس زا و بیماری های عفونی است (Schwindt *et al.*, 2006).

مراکز ملانوماکروفاژی طحال، مهمترین مکان انهدام و تخریب گلبول‌های قرمز آسیب دیده و فرسوده می‌باشد و در مجموع این مراکز نقش بسزایی در تجمع متابولیت‌های گلبول‌های قرمز در طحال ایفا می‌نمایند (Agius and Agbede, 1984; Zapata and Cooper,

www.SID.ir

Archive of SID

1990)، از اینرو حذف گلبول‌های قرمز آسیب دیده در پی پراکسیداسیون لیپیدی و تجمع متابولیت‌های آنها در مراکز ملانوماکروفاژی طحال ماهیان کپور معمولی که در معرض دیازینون قرار داشته‌اند، موجب انباشتگی پروتئین‌های حاوی آهن نظیر هموسیدرین و فریتین در طحال این ماهی‌ها می‌گردد. مشابه این نتایج در طحال موش های صحرایی که در معرض انیلین کلر قرار داشته اند مشاهده شده است (Guilhermino *et al*., 1998). ازاینرو می‌توان افزایش رنگدانه‌های هموسیدرین و فریتین را به عنوان شاخص خوبی در مطالعه اثرات نامطلوب سموم و آلاینده های شیمیایی بر روی طحال این جانوران در نظر گرفت. تغییرات ریختی سلول‌های الیپسوئیدی و افزایش مراکز گلبول‌های سفید از دیگر تغییرات ریختی در بافت طحال ماهیان تحت تیمار دیازینون می باشد. تغییرات مشابه آسیب شناسی بافتی در طحال ماهیان، *Notropis hudsonius*، (Thilakaratne *et al*., 2007)، *Limanda limanda*، (Pulsfor *et al*., 1994) نیز گزارش شده است.

آبشش در ماهی‌ها یکی از مهمترین اندام‌هایی است که بطور مستقیم در تماس با آلاینده‌ها قرار دارد. تغییر ساختاری در آبشش ماهی‌های تحت تیمار دیازینون به خوبی گویای این امر است. تغییرات ساختاری در آبشش ماهی‌های تحت تیمار دیازینون اعم از هیپرپلازی آبشش، بهم‌چسبیدگی لاملاها و افزایش بیش از حد موکوس در دیگر ماهی‌های تحت تیمار سموم و آلاینده‌های دیگر نیز مشاهده شده است (Poleksic and Karan, 1999).

رادیکال‌های آزاد تولید شده در طی فرایند متابولیسم دیازینون توسط منواکسیژنازها با ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی موجب تخریب غشای سلول‌ها و بروز اختلال در فعالیت کانال‌های تنظیم یونی در سطح آنها می‌گردد. بروز اشکال در فرایند تنظیم یونی، بویژه یون کلسیم و دیگر یون‌های موجب مهار فسفورلاسیون اکسایشی درون سلولی می‌شود و این پدیده منجر به برهم خوردن توان تنظیم اسمزی غشاهای زیستی و سلولی، افزایش حجم هسته و هستک‌ها و در نهایت مرگ سلولی می‌شود و در نهایت به صورت تغییرات آسیب‌شناسی بافتی نمود می‌یابد. از سوی دیگر پراکسیداسیون لیپیدی اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع موجود در غشای گلبول‌های قرمز، موجب همولیز شدن این سلول‌ها می‌شود. آهن موجود در هموگلوبین نیز به عنوان یک کاتالیزور قوی موجب تسریع فرایند پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود و این امر می‌تواند برشدت کم خونی ماهیان تحت تیمار سم بیافزاید. حتی در غلظت‌های تحت کشنده در دراز مدت می تواند تاثیرات مخربی بر روی بافت‌های خون ساز کلیه و طحال ماهیان بگذارد. تغییرات وسیع آسیب‌شناسی بافت‌های کلیه، طحال و آبشش نیز موجب برهم خوردن هموستازی جانور و بروز تغییراتی در فاکتورهای خونی و به تبعیت آن کاهش توان سیستم ایمنی و بقای آبزیان می‌گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات و همکاری های ارزشمند جناب آقای مهندس عاشوری و سرکار خانم‌ها مهندس موسوی و خلیلی کارشناسان آزمایشگاه شیلات و بیوتکنولوژی آبزیان صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم. لازم به ذکر است که بخشی از هزینه‌های این تحقیق از محل اعتبارات طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه تهران تامین گردیده است.

www.SID.ir

Archive of SID

References

- Agius, C. and S. A. Agbede, 1984. An electron microscopical study on the genesis of lipofuscin, melanin and haemosiderin in the haemopoietic tissues of fish. *Journal of Fish Biology* 24**,** 471–488.
- Altnok, I., and E. Capkin, 2007. Histopathology of rainbow trout exposed to sublethal concentrations of methiocrab or endosulfan. Toxicol Pathol. 35: 405-410.
- Anees, M.A., 1978. Haematological abnormalities in a freshwater teleost, *Channa punctatus* (Bloch), exposed to sublethal and chronic levels of three organophosphorus insecticides. International Journal of Ecology and Environmental Science, 4:53-60.
- Arjmandi, R., M., Tavakol, and M., Shayeghi, 2010. Determination of organophosphorus insecticide residues in the rice paddies. International Journal Environmental Science Technology, 7, 175-182.
- 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.
- Banaee, M., A. R. Mirvaghefei, K. Ahmadi and S. Banaee, 2008. Acute toxic effects of diazinon on hematology and biochemical parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Marine Science and Technology, Azad University, Tehran North Unit. pp.1-10.
- Banaee, M., A. R. Mirvaghefi, K. Ahmadi and R. Ashori, 2009. The effect of diazinon on histophatological changes of testis of immature male common carp (*Cyprinus carpio*). Abstract Proceeding of 1st Congress Wetland of Iran. Islamic Azad Ahvaz University. March 2009. 96 p.
- Banaee, M., A. R. Mirvaghefi, K. Ahmadi, Gh. R. Rafei and D. Bagheri, 2009. Study adverse effects of acute toxicity of diazinon on histopathology and blood parameters of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Abstract Proceeding of National Conference of Coldwater Fish, Tonekabon. May 2009. 201 p.
- Banaee, M., A. R. Mirvaghefi, K. Ahmadi, Gh. R. Rafei and R. Ashori, 2009. Acute toxic effects of diazinon on blood biochemical indices of rainbow fish Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Abstract Proceeding of National Conference of Coldwater Fish, Tonekabon. May 2009. 202 p.
- Banerjee, S. and S. Bhattacharya, 1994; Histopathology of kidney of *Channa punctatus* exposed to chronic nonlethal level of Elsan, mercury and ammonia. Ecotoxicology and Enviromental Safety. 29: 265-275.
- Benarji, G. and T. Rajendranath, 1990. Hematological changes induced by an organophosphorous insecticide in a freshwater fish *Clarias batrachus* (Linnaeus). Tropical Freshwater Biology, 2: 197–202.
- Bravo, M. I., J. Medina, S. Marcano, H. J. Finol and A. Boada-Sucre, 2005. Effect of herbicide on kidneys of two Venezuelan cultured fish: Caquetaia kraussi and Colossoma macropomum (Pisces: Ciclidae and Characeae). Rev Biol Trop. 53 (1): 55-60.
- Burkepile, D.E., M.T., Moore and M.M., Holland, 2000. The susceptibility of five nontarget organisms to aqueous diazinon exposure. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 64, 114–121.
- Çalta, M., and M.ş. Ural, 2004. Acute toxicity of the synthetic pyrethroid deltamethrin to young mirror carp, *Cyprinus carpio*, Fresenius Environ. Bull. 13 (11a) 1179–1183.
- Dutta, H. M., and D. Arends, 2003. Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile bluegill sunfish. *Environmental Research 91, 157–162.*
- Ganji, F. K. and M. Arvand, 2002. Histology practical. University of Medical Sciences and Health Services Mashhad. ISBN 7 - 08 - 5627 - 964, pp. 15-19.
- Goldenfarb, P.B., F.P. Bowyer, T. Hall and E. Brosious, 1971 Reproductibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. Am. J. Clin. Pathol. 56, 35–39.
- Guilhermino, L., A.M. Soares, A.P. Carvalho and M.C. Lopes, 1998. Acute effects of 3,4-dichloroaniline on blood of male Wistar rats. Chemosphere 37, 619–632.
- Honarpajouh, K., 2003. Study and Identification of OP pesticides residues (Azinphosmethyl and Diazinon) in the Mahabad and Siminerood Rivers, M.Sc. Thesis, Tehran University of Medical Science. Tehran, Iran.
- Khattak, I.U.D., and M.A. Hafeez, 1996. Effect of malathion on blood parameters of the fish, *Cyprinion watsoni*, Pak. J. Zool. 28: 45–49.
- Khoshbavar Rostami, H.A., M. Soltani and S. Yelghi, 2005. Effects of Diazinon on The Hematological Profiles of *Acipenser stellatus* and determination of LC_{50}. Journal of Agriculture Sciences and Natural Resources. 12:100-108.

www.SID.ir

Archive of SID

- Köprücü, S. Ş., K. Köprücü, M. Ş. Ural, Ü. İspir and M.Pala, 2006. Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis* L.). Pesticide Biochemistry and Physiology, 86: 99–105.

- Munker, R., E. Hillwe, J. Glass and R. Paquette, 2007. Modern *Hematology: Biology and Clinical Management, Second Edition,* Humana Press Inc. 513 p..

- Nazifi, S., F. Firozbakhsh and M. Bolouki. 2000. Evaluation of Serum Biochemical Parameters in Experimental Intoxication with Trichlorofon in Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Valencrennes). Journal of Veterinary Research, 55:55-60.

- Nouri, J., R., Arjmandi, and H., Bayat, 2000. Ecological investigation of application of pesticides in rice fields. Iran Journal Public Health, 29, 137-146.

- Poleksic, V., and V. Karan, 1999. Effects of Trifluralin on Carp: Biochemical and Histological Evaluation. Ecotoxicology and Enviromental Safety, 43, 213-221.

- Pourgholam, R., M. Soltani, M., M. D. Hassan, A. Ghoroghi, R. Nahavandi and H. Porgholam, 2006. Determination of Diazinon LC_{50} in Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) and the effect of Sublethal Concentration of Toxin on Some Hematological and Biochemical Indices. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 5: 67-82.

- Pulsford, A. L., S. Lemaire-Gony, M. Tomlinson, N. Collongwood and P. J. Glynn, 1994. Effects of acute stress on the immune system of the dab, *Limanda limanda*. *Biochem. Physiol.* 109C, pp. 129–139.

- Rabitto, I.S., Costa, J.R.M.A., Silva de Assis, H.C., Randi, M.A.F., Akaishi, F.M., Pelletier, E., Oliveira Ribeiro, C.A., 2005. Dietary Pb(II) and TBT (tributyltin) exposures to neotropical fish Hoplias malabaricus: Histopathological and biochemical findings. Ecotoxicol. Environ. Saf. 60, 147–156.

- Saha, S., and A. Kaviraj, 2003. Acute toxicity synthetic pyrethroid cypermethrin freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis* (Block), Int. J. Toxicol. 22: 325–328.

- Schwindt, A. R., N.Truelove, C. B. Schreck, J. W. Fournie, D. H. Landers and M. L. Kent, 2006. Quantitative evalution of macrophage aggregates in brook trout Salvelinus fontinalis and rainbow trout *Oncrohyncus mykiss*. Dis Aquat Organ. 30; 68: 101-113.

- Shayeghi M., H. Darabi, H. Abtahi M. Sadeghi, F. Pakbaz and S. R. Golestaneh. 2007. Assessment of Persistence and Residue of Diazinon and Malathion in Three Rivers (Mond, Shahpour and Dalaky) of Bushehr Province; 2004-2005. Iranian South Medical Journals. 10:54-60.

- Shayeghi, M., S. J., Shahtaheri, and M., Selseleh, 2001. Phosphorous insecticides residues in Mazandaran River Waters, Iran. Iran Journal Public Health, 30, 115-118.

- Singh, N.N., and A. K. Srivastava, 1994. Formothion induced hematological changes in the freshwater Indian catfish, *Heteropneustes fossilis*. J. Ecotoxicol. Environ. Monit. 4: 137–140.

- Sohrabi, T. Hosseini, A. and Talebi. Kh. 2001. Tailwater Quality Changes in the Rice-Paddies of Guilan and Foumanat. L.Sci. and Tech. Agric. and Nat. Resour., Vol. 5, No. 1, Isf. Univ. Tech., Isf., Iran.

- Soldatov, A. A., 2005. Peculiarities of Organization and Functioning of the Fish Red Blood System. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, Vol. 41, No. 3, pp. 272.281.*

- Song, S.B. Y. Xu and B.S. Zhou, 2006; Effects of hexachlorobenzene on antioxidant status of liver and brain of common carp (*Cyprinus carpio*). Chemosphere 65: 699–706.

- Svoboda, M., V. Luskova, J. Drastichova and V. Zlabek, 2001. The effect of Diazinon on hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*. L). *Acta Vet.Brno*, 70: 457-465.

- Tarahi Tabrizi, S., 2001. Study of pesticide residues (diazinon, malathion, metasytoux) in the Tabriz Nahand River. M.Sc. Thesis, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran.

- Tavakol, M., 2007. Environmental impact assessment of diazinon in rice fields (a Case Study on Amol Township Rice Fields), M.Sc. Thesis, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

- Thilakaratne, I. P., J. McLaughin, D. and D. J. Marcogliese, 2007. Effects of pollution and parasites on biomarkers of fish health in spottail shiners, *Notropis hudsonius* (Clinton). Journal of Fish Biology, 71: 519-538.

- Trachman, H., D. Wilson and P. S. Raop, 1992. The role of oxygen free radicals in the development of chronic renal failure. Life Sciences, 50: 1877-1883.

- Triebskorn, R., S. Adam, H. Casper, W. Honnen, E. F. Müller, M. Pawert, M. Schramm, J. Schwaiger and H. R. Köhler, 2000. Biomarkers as diagnostic tools for evaluating toxicological effects of past water quality conditions on stream organisms.

www.SID.ir

Archive of SID

- U.S. EPA, December 2005.office of Since and Thechnology Whashington, DC. Aquatic life ambient water quality criteria Diazinon Final.(CAS Registry Number 333-41-5).
- Üner, N., E. Ö. Oruç, Y. Sevgiler, N. Şahin, H.Durmaz, and D. Usta, 2006. Effects of diazinon on acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation in the brain of *Oreochromis niloticus*. Environmental Toxicology and Pharmacology, 21: 241–245.
- Vale, J. A. 1998; Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus OP insecticide poisoning. Toxicology Letters *102–103, 649.*
- Viran, R., F.Ö. Erkoç, H. Polat and Ö. Koçak, 2003. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia eticulate*). Ecotoxicol. Environ. Saf. 55: 82–85.
- Weinstein, T., A. Chagnac and A. Korzets, 2000. Haemolysis in haemodialysis patients: Evidence for impaired defense mechanisms against oxidative stress. Nephrology Dialysis Transplantation, 15: 883-887.
- Yildirim, M. Z., A. C. Benli, M. Selvi, A. Ozkul, F. Erkoc and O. Kocak, 2006. Acute toxicity, behavioral changes, and histhological effects of deltamethrin on tissues (gills, liver, brain, spleen, kidney, muscle, skin) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. Environ Toxicol. 21: 614-620.
- Zapata, A. and E. L. Cooper, 1990. The Immune System: Comparative Histophysiology. Chichester: John Wiley.

www.SID.ir

Archive of SID

Hematological and Histopathological effects of Diazinon Poisoning in common carp (*Cyprinus carpio*)

M. Banaee[1], A. R. Mirvaghefi[*2], B. Mojazi Amiri[2], G.R. Rafiee[4] and B. Nematdost[5]

[1] Ph.D. Graduated of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I.R. Iran

[2] Assistant Prof., Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I.R. Iran

[3] Professor, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I.R. Iran

[4] Associate Prof., Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I.R. Iran

[5] Educator of Faculty of Natural Resources and Environment, Behbahan Industrial University, I.R. Iran

(Received: 19 October 2009, Accepted: 13 August 2010)

Abstract

Diazinon is commonly used for pest control in agricultural farms surrounding freshwater reservoirs. This study investigated the sublethal toxicity of this organophosphorous pesticide as a pollutant of aquatic ecosystems and its effects on histopathology kidney, spleen and hematological parameters of common carp, *Cyprinus carpio*. Diazinon was applied at sublethal concentrations of 0.06 and 0.12 mg/L during 10, 20 and 30 days. Compared to the control specimens, fish after a chronic exposure to diazinon had significantly lower erythrocyte, hemoglobin, hematocrit values, leukocyte, lymphocyte, monocyte and basophil, but MCV, MCH and number of neutrophil and eosinophil increased significantly. The histhopathological effects of diazinon on kidney, spleen and gill tissues were examined by light microscopy. Degeneration in tubular epithelium, atrophy of epithelial cells of renal tubules, necrosis of tubules, contraction of glomerulus and expansion of space inside the Bowmans's capsule were observed in the kidney tissues of fish exposed to diazinon. The changes in the spleen were characterized by a significant increase in size, frequency and distribution of melanomacrophage centers and changes of ellipsoid cells morphology.

Keywords: diazinon, hematology, histopathology, kidney, spleen, gill

*Corresponding author: Tel: +98 261 2245908 , Fax: +98 261 2245908 , E-mail: vaghefi@nrf.ut.ac.ir

www.SID.ir