Archive of SID

مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۵، دوره ۷۱، شماره ۳، ۳۰۱-۲۹۵
Original Article
Journal of Veterinary Research. 71,3:295-301, 2016

بررسی سمیت حاد و تحت‌کشنده علف‌کش آترازین بر شاخص‌های خونی ماهی شیربت (*Tor grypus*)

علی خبازیان زاده[1*] علی دادالهی سهراب[2] مجتبی علیشاهی[3] سید حسین خزاعی[2] حسین محمد عسگری[2]

۱) دانش آموخته محیطزیست دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خوزستان- ایران
۲) گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خوزستان- ایران
۳) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران

(دریافت مقاله: ۱۰ اسفند ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۶ اردیبهشت ماه ۱۳۹۵)

چکیده

زمینه مطالعه: علف‌کش آترازین یکی از مهمترین آلاینده‌های اکوسیستم‌های آبی است که متاسفانه به فور در مزارع نیشکر استان خوزستان مورد استفاده قرار گرفته و موجب آلودگی منابع آبی می‌گردد. **هدف:** محاسبه سمیت حاد آترازین در ماهی شیربت (*Tor grypus*) و سپس اثر مسمومیت مزمن این سم بر برخی شاخص‌های خونی می‌باشد. **روش کار:** LC_{50} ۹۶ ساعته آترازین در ماهی شیربت با وزن ۱/۱۲g ±۱۰ با استفاده از نرم افزار Probit تعیین شد. سپس ۱۸۰ قطعه ماهی شیربت با وزن ۱۵g±۱۰۲ در ۴ گروه (۵، ۱۰ و ۲۰٪ LC۵۰ ۹۶ و گروه شاهد) در سه تکرار تقسیم گردیدند. ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از شروع آزمایش خون‌گیری انجام شده و شاخص‌های خون‌شناسی شامل: هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خونی و اندیس‌های گلبولی، در مراحل مختلف مقایسه گردید. **نتایج:** LC_{50} ۹۶ ساعته آترازین $mg\,l^{-1}$ ۶۵ محاسبه شد و تقریباً تمام فاکتورهای خونی تحت تأثیر مسمومیت با این سم قرار گرفت ($p<0/05$). در مورد اندیس‌های گلبولی، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p>0/05$). **نتیجه‌گیری نهایی:** در مجموع با توجه به نتایج، آترازین تأثیر عمیقی بر روی فاکتورهای خونی ماهی شیربت دارد، و قرار گرفتن طولانی مدت در معرض غلظت بالای این سم منجر به ایجاد تغییرات فیزیولوژیک در ماهی شیربت می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آترازین، شاخص‌های خونی، سمیت تحت‌کشنده، ماهی شیربت

مقدمه

از علف‌کش‌ها با اهداف مختلف در کشاورزی استفاده می‌گردد که عمده‌ترین این اهداف، مبارزه با علف‌های هرز می‌باشد (۵). دراین میان آترازین از پرمصرف‌ترین علف‌کش‌ها است. از سوی دیگر استفاده از علف‌کش‌ها جهت کنترل علف‌های هرز استخرهای پرورش ماهی نیز، معمول است (۷).

آترازین در چهل سال گذشته کاربرد وسیعی در بسیاری از کشورها از جمله ایران داشته است. این سم بعد از تأثیر در محیط باقی‌مانده و با شستشو توسط باران یا آبیاری زمین‌های کشاورزی وارد منابع آبی می‌شود و موجودات آبزی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. راه یافتن آترازین به آب‌های سطحی تأثیر نامطلوبی بر اکوسیستم آب خواهد داشت (۱۴). هر چند این سم در کشاورزی به‌علت اثرات کم‌تر بر گیاهان زراعی ایده‌آل به‌نظر می‌رسد، ولی به‌علت ماندگاری بالا در خاک و احتمال راه یافتن آن به آب، اثرات زیست‌محیطی نامطلوب دارد (۱۱). طبق مصوبه آژانس حفاظت از محیط‌زیست ایالات متحده (EPA)، حداکثر سطح مجاز تداخل آترازین در آب ۳ بخش در یک میلیارد (ppb) و در غذا ۰/۰۲ بخش در یک میلیون (ppm) در نظر گرفته شده است (۲۶). این سم توسط موجودات آبزی جذب شده و اثرات متعددی روی قسمت‌های بدن ازجمله سیستم خونی، سلول‌های کلیوی، متابولیسم چربی، غدد درون‌ریز و سیستم ایمنی موجودات آبزی به‌ویژه ماهی‌ها دارد (۱۰،۱۷،۱۹،۲۰،۲۲). هدف این تحقیق در وهله‌ی اول محاسبه سمیت حاد آترازین در ماهی شیربت (*Tor grypus*) و سپس بررسی اثرات مسمومیت مزمن با این سم بر برخی شاخص‌های خونی ماهی شیربت می‌باشد.

مواد و روش کار

۳۵۰ قطعه ماهی شیربت (۱۷۰ قطعه با وزن ۱/۱۲g±۱۰ و ۱۸۰ قطعه با وزن ۱۵g±۱۰۲) از مرکز پرورش ماهی پور افشاری واقع در کیلومتر ۱۰ جاده شوشتر - مسجدسلیمان خریداری و با استفاده از مخازن مخصوص، با اعمال کم‌ترین استرس به سالن آکواریوم بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی اهواز منتقل و ذخیره‌سازی گردیدند. ماهی‌ها از نظر بیماری‌های انگلی و باکتریایی مورد بررسی قرار گرفته و به مدت ۷ روز به‌منظور سازش‌یابی با شرایط در مخازن نگه‌داری شدند. هدف از دوره‌ی سازش‌یابی، کم‌شدن و برطرف شدن استرس حمل و نقل، سازش‌یافتن ماهی به شرایط نگهداری می‌باشد.

روش تعیین سمیت حاد: بعد از گذراندن دوره‌ی سازش‌یابی با محیط، برای مطالعه سمیت حاد، از روش OECD NO. ۲۰۳ (Static- renewal test condition) استفاده گردید (۴). غلظت‌های متوالی آترازین در ۷ تیمار و هر تیمار در سه تکرار (مجموعاً ۲۴ آکواریم) تهیه شد و به هر آکواریوم تعداد ۸ قطعه ماهی با وزن ۱/۱۲g±۱۰ اضافه گردید. براساس نتایج به‌دست آمده در جدول ۱ و آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار Probit غلظت‌های ایجاد کننده ۵۰٪ تلفات بعد از ۹۶ ساعت $mg\,l^{-1}$ ۶۵ محاسبه شد.

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۶۱۳-۶۲۲۸۶۶۲، نمابر: ۰۶۱۳-۶۲۲۸۶۶۲، Email: Alikhabazian2011@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

ایجاد سمیت مزمن: بعد از محاسبه LC_{50} ۹۶ ساعته، اقدام به ایجاد سمیت مزمن در ماهی گردید. به این منظور میزان ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰٪ میزان LC_{50} ۹۶ ساعته آترازین در دوازده آکواریوم (سه تکرار برای هر تیمار) تهیه شده که این میزان به‌ترتیب برابر ۰ (گروه شاهد)، ۳/۲۵ $mg\,l^{-1}$، ۶/۵ و ۱۳ بود و به هر آکواریوم ۱۵ قطعه ماهی با وزن ۱۵ ±۱۰۲ g و ۱۵۰ l آب اضافه گردید. هر ۳ روز یک‌بار آب آکواریوم‌ها با همان غلظت سم تعویض گردید.

خون‌گیری: در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ ماهی‌ها صید شده با ۳۰۰۱ mg^{-1} از ماده بیهوشی دو فنوکسی اتانول بیهوش می‌شدند. سپس خونگیری از ورید ساقه دمی با سرنگ ۲ml آغشته به هپارین انجام گرفت. نمونه خون در لوله‌های آزمایش حاوی ماده ضد انعقاد هپارین برای اندازه‌گیری پارامترهای خون جمع‌آوری گردید.

اندازه‌گیری پارامترهای خون‌شناسی: بلافاصله پس از خون‌گیری سنجش پارامترهای خون‌شناسی به روش‌های معمول و متداول آزمایشگاهی به شرح زیر صورت می‌گرفت:

شمارش کلی گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید به روش هموسیتومتر با استفاده از لام نئوبار و محلول رقیق کننده نات- هریک صورت گرفت (۲۸). میزان هماتوکریت به روش میکروهماتوکریت با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت صورت گرفت. هموگلوبین به روش استاندارد سیانومت هموگلوبین و محلول تجارتی درابکین و اندیس‌های گلبولی شامل شامل حجم متوسط سلولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC) نیز با استفاده از میزان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز مورد محاسبه قرار گرفت (۲۸).

روش تحلیل آماری: برای تعیین میزان سمیت آترازین از نرم افزار Probit ویرایش ۱/۵ استفاده گردید. برای آنالیز اطلاعات مربوط به فاکتورهای خونی از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها از آزمون Leven statistic test برای بررسی یک‌نواخت بودن خطای استاندارد اطلاعات استفاده گردید و پس از اطمینان از یک‌نواختی خطای استاندارد اطلاعات، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه برای بررسی تفاوت میانگین اطلاعات تیمارهای تحقیق استفاده‌گردید. برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها از تست تکمیلی Duncan در سطح معنی‌داری ۹۵ ٪ استفاده گردید (۲).

نتایج

تعیین LC_{50}: نتایج حاصل از درصد تلفات ایجاد شده در ماهی شیربت مجاور شده با غلظت‌های مختلف سم آترازین بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در جدول ۱ آورده شده است.

نتایج مربوط به فاکتورهای خونی وابسته به گلبول‌های قرمز: نتایج مربوط به میزان فاکتورهای خونی وابسته به گلبول قرمز در غلظت‌ها و مراحل مختلف نمونه‌گیری در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱. مقایسه درصد تلفات ایجاد شده در ماهی شیربت مجاور شده با غلظت‌های مختلف سم آترازین بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت (خروجی نرم افزار Probit).

دوز کشنده	۲۴ساعته	۴۸ساعته	۷۲ساعته	۹۶ساعته
LC_{10}	۸۸/۰۷۳	۵۷/۱۷۲	۴۲/۸۴۶	۳۵/۲۶۱
LC_{50}	۱۹۲/۶۰۵	۱۵۳/۰۷۸	۹۲/۴۹۵	۶۵/۰۴
LC_{80}	۳۸۳/۶۵۸	۳۷۱/۳۱۸	۱۷۲/۳۴	۱۰۸/۵۲۰
LC_{90}	۴۴۶/۰۴۲	۴۵۷/۹۲۴	۱۹۹/۶۷۷	۱۲۲/۲۲۴

نتایج نشان داد، میزان هماتوکریت، تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سم آترزین قرار گرفته است ($p<0/05$)، بطوریکه میزان هموگلوبین در روز ۲۱ در هر سه تیمار (mg^{-1} 13 l، ۶/۲۵ و ۳/۲۵) و در روز ۷ در تیمار $mg\,l^{-1}$ ۶/۲۵ کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد داشته است. همچنین میزان هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز در روز ۷، ۱۴ و ۲۱ در تیمار $mg\,l^{-1}$ ۱۳ کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. تقریباً در هر سه غلظت مورد استفاده‌ی آترازین میزان هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز با افزایش زمان مجاورت با سم کاهش معنی‌دار نشان داد ($p<0/05$).

نتایج ارزیابی اندیس‌های خونی شامل MCV، MCH و MCHC در مراحل مختلف و غلظت‌های متفاوت از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p>0/05$) (جدول ۳).

نتایج نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید خونی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سم آترزین قرار گرفته است ($p<0/05$). بطوریکه در روز ۲۱ در هر سه تیمار ($mg\,l^{-1}$ 13، ۶/۲۵ و ۳/۲۵) کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌ها نسبت به شاهد مشاهده‌گردید ($p<0/05$). همچنین در روز ۲۱ تیمار مجاور شده با $mg\,l^{-1}$ ۱۳ کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید نسبت به دو تیمار دیگر داشت ($p<0/05$). در هر سه غلظت مورد استفاده آترزین تعداد گلبول‌های سفید خونی با افزایش زمان مجاورت با سم کاهش نشان داد (جدول ۴).

بحث

تعیین سمیت آترازین: نتایج این بررسی نشان داد که اولاً آترازین در ماهی شیربت سمیت بالایی دارد و سمیت آن هم با افزایش زمان مجاورت و هم با افزایش دوز سم افزایش می‌یابد، بطوریکه غلظت ایجاد کننده ۵۰ ٪ تلفات پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به‌ترتیب برابر: $mg\,l^{-1}$ ۱۹۲/۶۰۵، ۱۵۳/۰۷۸، ۹۲/۴۹۵ و ۶۵/۰۴ می‌باشد.

Solomon و همکاران در سال ۱۹۹۶ LC_{50} ۹۶ ساعته آترازین را در قزل‌آلای کانادایی ۱۶۳۰۰-µg l گزارش نمودند. Bekeh و همکاران در سال ۲۰۱۲ LC_{50} ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته آترازین در تیلاپیای نیل با میانگین وزن ۹/۸ g و اندازه ۶/۸۳ cm را به‌ترتیب $mg\,l^{-1}$ ۷/۹، ۷/۶، ۷/۳ و ۷/۲ اعلام کردند. Ramesh و همکاران در سال ۲۰۰۹ LC_{50} ۲۴ ساعته آترازین در کپور معمولی با میانگین وزن ۶g و اندازه ۷/۵ cm را $mg\,l^{-1}$

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. مقایسه میانگین شمارش گلبول‌های قرمز بعد از ۷، ۱۴ و ۲۱ روز مجاورت با غلظت‌های مختلف سم آترازین در ماهی شیربت (نتایج براساس میانگین ± خطای استاندارد) حروف کوچک لاتین غیر همنام روی خطای استاندارد نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هرردیف و حروف بزرگ لاتین غیر همنام روی خطای استاندارد نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.

پارامترهای	غلظت آترازین	روز صفر	روز هفت	روز چهارده	روز یست‌ویک
هموگلوبین (g/dl)	۳/۲۵ mg l^{-1}	۱۰/۸۶±۰/۵۹ ^{aA}	۱۰/۰۴±۰/۷۷ ^{ab}	۹/۷۷±۰/۴۹ ^{abAB}	۷/۴۴±۰/۶۴ ^{bB}
	۶/۵ mg l^{-1}	۱۰/۷۵±۰/۸۵ ^{aA}	۷/۷۷±۰/۵۱ ^{bB}	۷/۷۴±۰/۶۵ ^{bC}	۷/۸۸±۰/۶۱ ^{bB}
	۱۳ mg l^{-1}	۱۰/۸۳±۰/۸۲ ^{aA}	۸/۹۱±۰/۷۰ ^{abAB}	۸/۹۵±۰/۴۵ ^{abBC}	۷/۸۸±۰/۶۲ ^{bB}
	کنترل	۱۱/۰۱±۰/۸۴ ^{aA}	۱۰/۸۵±۰/۷۰ ^{aA}	۱۱/۰۰±۰/۵۶ ^{aA}	۱۱/۱۶±۰/۷۸ ^{aA}
هماتوکریت (٪)	۳/۲۵ mg l^{-1}	۴۴/۴۰±۰/۸۷ ^{aA}	۴۴/۸±۳/۳۰ ^{aA}	۴۴/۶±۲/۷ ^{aA}	۴۵/۰۰±۲/۰۸ ^{aA}
	۶/۵ mg l^{-1}	۴۴/۲۰±۲/۳۵ ^{aA}	۳۹/۲۰±۱/۶۵ ^{aA}	۳۹/۰۰±۲/۸۱ ^{aAB}	۳۹/۳۳±۱/۷۶ ^{aA}
	۱۳ mg l^{-1}	۴۴/۰۰±۲/۷۷ ^{aA}	۳۳/۴۰±۲/۵۸ ^{bB}	۲۹/۲۰±۲/۳۳ ^{bB}	۲۸/۰۰±۱/۱۵ ^{bB}
	کنترل	۴۴/۲۰±۲/۸۱ ^{aA}	۴۱/۴۰±۲/۶۳ ^{aA}	۴۶/۲۵±۳/۴۹ ^{aA}	۴۳/۲۰±۱/۷۷ ^{aA}
تعدادگلبول‌های قرمز (۱۰۶در l µ)	۳/۲۵ mg l^{-1}	۲/۲۹±۰/۱۶ ^{aA}	۲/۰۲±۰/۳۹ ^{abA}	۱/۴±۰/۱۰ ^{bB}	۱/۷۵±۰/۱۲ ^{abAB}
	۶/۵ mg l^{-1}	۲/۱۲±۰/۲۴ ^{aA}	۱/۸۵±۰/۲۲ ^{aA}	۱/۵۳±۰/۱۱ ^{abB}	۱/۱۹±۰/۱۷ ^{bBC}
	۱۳ mg l^{-1}	۲/۳۴±۰/۳۲ ^{aA}	۱/۲۱±۰/۲۱ ^{bA}	۱/۱۵±۰/۰۸ ^{bB}	۱/۰۴±۰/۱۵ ^{bC}
	کنترل	۲/۱۴±۰/۳۱ ^{aA}	۲/۱۱±۰/۰۵ ^{aA}	۲/۳۰±۰/۲۰ ^{aA}	۱/۹۵±۰/۲۶ ^{aA}

جدول ۳. مقایسه میانگین اندیس‌های گلبولی بعد از ۷، ۱۴ و ۲۱ روز مجاورت با غلظت‌های مختلف سم آترازین در ماهی شیربت (نتایج براساس میانگین ± خطای استاندارد) حروف کوچک لاتین غیر همنام روی خطای استاندارد نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هرردیف و حروف بزرگ لاتین غیر همنام روی خطای استاندارد نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.

فاکتور موردبررسی	غلظت آترازین	روز صفر	روز هفت	روز چهارده	روز یست ویک
MCH (pg)	۳/۲۵ mg l^{-1}	۴۸/۱۱±۴/۲۳ ^{aA}	۵۲/۹۱±۳/۹۳ ^{aA}	۶۲/۹۹±۳/۹۰ ^{aA}	۵۵/۶۲±۴/۷۰ ^{aA}
	۶/۵ mg l^{-1}	۵۳/۸۳±۷/۴۰ ^{aA}	۴۶/۵۸±۵/۴۷ ^{aA}	۵۷/۳۲±۲/۲۶ ^{aA}	۶۱/۲۸±۱۳/۵۸ ^{aA}
	۱۳ mg l^{-1}	۵۰/۵۱±۸/۲۹ ^{aA}	۶۴/۵۸±۱۴/۴۹ ^{aA}	۶۴/۳۰±۱/۹۱ ^{aA}	۷۳/۳۰±۸/۲۷ ^{aA}
	کنترل	۵۶/۵۹±۹/۵۹ ^{aA}	۵۱/۷۲±۴/۵۵ ^{aA}	۵۶/۴۱±۱/۰۱ ^{aA}	۵۳/۵۰±۳/۲۱ ^{aA}
MCV (fl)	۳/۲۵ mg l^{-1}	۱۹۸/۰۸±۱۷/۱۵ ^{aA}	۲۳۷/۰۱±۷۱/۵۱ ^{aA}	۲۶۴/۷۷±۱۸/۵۶ ^{aA}	۲۵۹/۹۱±۲۶/۳۹ ^{aA}
	۶/۵ mg l^{-1}	۲۲۷/۰۵±۴۱/۵۵ ^{aA}	۲۳۱/۴۴±۴۲/۴۹ ^{aA}	۲۵۳/۹۷±۱۰/۰۱ ^{aA}	۲۷۹/۱۵±۸۷/۷۲ ^{aA}
	۱۳ mg l^{-1}	۲۰۹/۸۰±۴۶/۳۶ ^{aA}	۲۹۴/۸۴±۳۷/۹۱ ^{aA}	۲۵۷/۹۵±۲۶/۳۱ ^{aA}	۳۰۹/۹۳±۶۹/۸۳ ^{aA}
	کنترل	۲۳۶/۲۷±۵۷/۲۲ ^{aA}	۲۳۲/۰۳±۳۰/۶۲ ^{aA}	۲۲۶/۴۵±۱۵/۰۳ ^{aA}	۲۴۶/۱۸±۵۰/۵۸ ^{aA}
MCHC (٪)	۳/۲۵ mg l^{-1}	۲۴/۴۹±۱/۴۱ ^{aA}	۲۰/۴۹±۲/۲۵ ^{aA}	۲۲/۲۵±۲/۳۰ ^{aA}	۲۱/۵۴±۲/۳۹ ^{aA}
	۶/۵ mg l^{-1}	۲۴/۵۳±۲/۰۱ ^{aA}	۲۲/۰۱±۱/۴۹ ^{aA}	۲۰/۰۸±۱/۶۹ ^{aA}	۱۹/۶۰±۲/۳۳ ^{aA}
	۱۳ mg l^{-1}	۲۴/۹۹±۲/۲۸ ^{aA}	۲۷/۶۳±۳/۷۴ ^{aA}	۲۵/۶۱±۱/۵۲ ^{aA}	۲۶/۹۴±۳/۵۱ ^{aA}
	کنترل	۲۵/۴۵±۲/۸۲ ^{aA}	۲۶/۷۳±۲/۶۰ ^{aA}	۲۳/۷۶±۲/۰۰ ^{aA}	۲۵/۹۰±۱/۶۶ ^{aA}

جدول ۴. مقایسه میانگین شمارش تام گلبول‌های سفید بعد از ۷، ۱۴ و ۲۱ روز مجاورت با غلظت‌های مختلف سم آترازین در ماهی شیربت (نتایج براساس میانگین ± خطای استاندارد) حروف کوچک لاتین غیر همنام روی خطای استاندارد نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هرردیف و حروف بزرگ لاتین غیر همنام روی خطای استاندارد نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.

فاکتورموردبررسی	غلظت سم آترازین	روز صفر	روز هفت	روز چهارده	روز یست‌ویک
تعدادگلبول‌های سفید (۱۰۳)	۳/۲۵ mg l^{-1}	۹/۲±۰/۶۶ ^{aA}	۱۰/۸±۱/۹۳ ^{aA}	۶/۸۸±۰/۲۲ ^{aA}	۶/۳۳±۰/۰۸ ^{aB}
	۶/۵ mg l^{-1}	۹/۴±۰/۸۱ ^{aA}	۷/۵±۱/۷۵ ^{abA}	۶/۸±۰/۲۷ ^{abA}	۵/۲۵±۰/۴۷ ^{bB}
	۱۳ mg l^{-1}	۸/۸±۰/۶۶ ^{aA}	۸/۸±۰/۴۸ ^{a}	۶±۰/۵۷ ^{bA}	۳/۷۶±۰/۳۴ ^{cC}
	کنترل	۹±۰/۷ ^{a}	۹±۱/۱۵ ^{aA}	۸/۲±۰/۲ ^{aA}	۸/۴±۰/۴۶ ^{aA}

۱۸/۵ گزارش کردند. Abdali و همکاران در سال ۲۰۱۱ LC_{50} ۹۶ ساعته آترازیـن در ماهی کپور علف‌خوار با میانگیـن وزن ۳۳/۶۳ g و اندازه cm ۱۴/۱۱±۱/۱ را ۸۰ mg l^{-1} گزارش کردند.

فاکتورهای خونی وابسته به گلبول‌های قرمز: فاکتورهای خونی یکی از مناسب‌ترین شاخص‌های در ارزیابی تأثیر سموم محیطی می‌باشند (۷). در این مطالعه غلظت‌های ۳/۲۵ mg l^{-1} ، ۶/۵ و ۱۳ آترازین بعد از مجاورت به‌مـدت ۷، ۱۴ و ۲۱ روز باعـث ایجاد تغییـرات معنـی‌دار ($p<0/05$) در فاکتورهای خون‌شناسی شامل هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول‌های

www.SID.ir

Archive of SID

قرمز و تعداد گلبول‌های سفید گردید. جدول ۲ نشان می‌دهد که میزان هماتوکریت، تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سم آترازین قرار گرفت ($p<0/05$)، بطوریکه میزان هموگلوبین در روز ۲۱ در هر سه تیمار ($13\ mg\ l^{-1}$، ۶/۲۵ و ۳/۲۵) و در روز ۷ در تیمار $6/25\ mg\ l^{-1}$ کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد مشاهده‌گردید. همچنین میزان هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ در تیمار $13\ mg\ l^{-1}$ کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد مشاهده‌گردید. تقریباً در هر سه غلظت مورد استفاده آترازین میزان هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز با افزایش زمان مجاورت با سم کاهش معنی‌دار نشان داد ($p<0/05$).

Hussein و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز خونی ماهی تیلاپیای نیل که در معرض $3\ mg\ l^{-1}$ و ۶ آترازین قرار گرفتند کاهش پیدا کردند. Ramesh و همکاران در سال ۲۰۰۹ به نتیجه مشابهی رسیدند، آن‌ها یکی از علل کم خونی ایجاد شده را اثر سم آترازین بر کاهش مقدار اکسیژن آب دانستند (۲۱). همچنین Rehwoldt و همکاران در سال ۱۹۷۸ و Joshi در سال ۲۰۰۲ کاهش معنی‌دار میزان هموگلوبین خون را در گونه‌های ماهی در معرض آترازین نشان دادند (۱۵،۲۲). Bekeh و همکاران در سال ۲۰۱۲ کاهش میزان هموگلوبین خون را در ماهی کپورعلف‌خوار مسموم‌شده با آترازین گزارش کردند و بیان نمودند که این کاهش به معنی کاهش توانایی حمل اکسیژن می‌باشد که این کم خونی به‌همراه کاهش غلظت اکسیژن محلول در آب (مرتبط با افزایش غلظت سم آترازین) می‌تواند سلامت ماهی را به‌خطر اندازد. گزارشاتی متعدد دیگری از تأثیر سایر سموم بر فاکتورهای خونی ماهی نیز وجود دارد، مثلاً Koprucu و همکاران در سال ۲۰۰۶ و همچنین Tavares در سال ۱۹۹۹ کاهش هموگلوبین خون گربه‌ماهی به‌دنبال اثر سم دیازینون را گزارش کردند، Koprucu و همکاران دلیل آن‌را آسیب به بافت‌های خون‌ساز ماهی به‌ویژه کبد دانست که میزان تولید و طول عمر گلبول‌های قرمز را تحت تأثیر قرار داده است. احتمالاً کاهش میزان هموگلوبین در این تحقیق نیز به‌دلیل تأثیر سم بر بافت‌های خون‌ساز و فرایند خون‌سازی بوده است، یا احتمال دارد سم آترازین فرایند تخریب گلبول‌های قرمز را تسریع نموده و یا در کاهش طول عمر گلبول‌ها تأثیر داشته باشد.

Rehwoldt و همکاران در سال ۱۹۷۸ و Joshi در سال ۲۰۱۲ کاهش معنی‌دار میزان هماتوکریت خون را در گونه‌های ماهی در معرض آترازین نشان دادند (۱۵،۲۲). Bekeh و همکاران در سال ۲۰۱۲ افزایش میزان هماتوکریت را در ماهی کپور معمولی به‌دنبال سمیت مزمن آترازین گزارش کردند (۵). مشابه تحقیق فوق، Puigdoller و همکاران در سال ۲۰۰۷ نیز گزارش کردند که افزایش معنی‌داری درهماتوکریت ماهی آزاد اقیانوس اطلس هنگامی که در معرض آترازین قرار می‌گیرد مشاهده می‌شود. گزارشاتی از تأثیر سایر سموم بر هماتوکریت ماهی نیز وجود دارد. Koprucu و همکاران در سال ۲۰۰۶ و همچنین Tavares در سال ۱۹۹۹ کاهش هماتوکریت خون گربه‌ماهی به‌دنبال اثر سم دیازینون را گزارش کردند آن‌ها دلیل این کاهش را آسیب به‌بافت‌های خون‌ساز ماهی به‌ویژه کبد و در نتیجه کاهش میزان تولید و طول عمر گلبول‌های قرمز دانستند.

بنابراین احتمال کاهش میزان هماتوکریت در این تحقیق را می‌توان به تأثیر سم بر بافت‌های خون‌ساز و فرایند خون‌سازی یا تسریع تخریب گلبول‌های قرمز و یا تأثیردر کاهش طول عمر گلبول‌ها دانست. افزایش میزان هماتوکریت در روز ۲۱ در غلظت $3/25\ mg\ l^{-1}$ می‌تواند به‌دنبال پاسخ جبرانی سیستم خون‌ساز ماهی باشد، بدین معنی که ماهی توانسته بعد از سمیت حاد اولیه و کاهش هماتوکریت، با شرایط سازش یافته و به‌تدریج وضعیت هماتوکریت ماهی بهبود یافته است. Ramesh و همکاران در سال ۲۰۰۹ علت کاهش میزان گلبول‌های قرمز را حضور سم آترازین در آب دانستند زیرا باعث کاهش مقدار اکسیژن آب و در نتیجه کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین می‌شود، وی کاهش بیشتر در تعداد کل گلبول قرمز را به کاهش در فعالیت خون‌سازی کلیه در نتیجه اختلال در تنظیم اسمزی در سراسر سلول‌های پوششی آبشش نسبت دادند. Rehwoldt و همکاران در سال ۱۹۷۸ و Joshi در سال ۲۰۰۲ کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز خون را در گونه‌های ماهی در معرض آترازین گزارش و علت آن‌را اثر سم آترازین روی طحال، کبد و کلیه قدامی ماهی را ذکر نمودند (۱۵،۲۲). در خصوص اثر سایر سموم بر گلبول‌های قرمز Koprucu و همکاران در سال ۲۰۰۶ و Tavares در سال ۱۹۹۹کاهش تعداد گلبول‌های قرمز خون گربه‌ماهی به‌دنبال اثر سم دیازینون را گزارش کردند، Koprucu دلیل آن‌را آسیب وارده به بافت‌های خون‌ساز ماهی به‌ویژه کبد دانست که باتوجه به نقش بافت کبد در سم‌زدایی، فعالیت خون‌سازی آن و درنتیجه میزان تولید و طول عمر گلبول‌های قرمز تحت تأثیر قرار می‌گیرد، در این پژوهش دلیل کاهش گلبول‌های قرمز را احتمالاً می‌توان آسیب وارده به بافت‌های خون‌ساز (طحال، کبد و کلیه قدامی) دانست.

اندیس‌های گلبولی: جدول ۳ تفاوت در میزان MCV، MCH و MCHC را در مراحل مختلف نمونه‌گیری و غلظت‌های متفاوت سم نشان می‌دهد، ولی این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشند ($p>0/05$). Drastichova و همکاران در سال ۲۰۰۴ افزایش اریتروسیت‌های با هسته غیرطبیعی را در ماهیان مسموم شده با سم آترازین به‌دلیل واکنش جبرانی در برابر آسیب آبشش و کاهش تبادل اکسیژن با آزادسازی بیش از حد گلبول‌های نابالغ خونی از مخازن این سلول‌ها دانستند. با توجه به عدم تغییر اندیس‌های گلبولی ماهی شیربت بعد از مجاورت با غلظت‌های مختلف سم آترازین می‌توان احتمال داد که علیرغم تأثیر این سم بر تعداد گلبول‌های قرمز خونی و القای کم‌خونی (آنمی) در ماهی، این سم اثر

www.SID.ir

Archive of SID

مستقیمی روی اندازه و شکل و میزان هموگلوبین گلبول‌های قرمز خونی ندارد و کم‌خونی بیشتر حاصل کم شدن تعداد (یا عمر) گلبول‌های قرمز خونی می‌باشد. تحقیقات در مورد تأثیر سم آترازین روی شاخص‌های گلبولی بسیار محدود است، ولی در مورد اثر سایر سموم بر این شاخص‌ها مطالعات مختلفی صورت گرفته است.

Koprucu و همکاران در سال ۲۰۰۶ عدم تغییر MCHC را در مسمومیت مزمن با دیازینون در گربه‌ماهی مشاهده کردند. Bekeh و همکاران در سال ۲۰۱۲ کاهش میزان MCH را گزارش کردند. تفاوت نتایج تحقیق جاری با تحقیقات سایر محققین در تأثیر سموم بر شاخص‌های گلبولی می‌تواند به‌دلیل تفاوت گونه ماهی، نوع سم، غلظت سم، شرایط محیطی و اندازه ماهی باشد.

تعداد گلبول‌های سفید خونی: تعداد گلبول‌های سفید خونی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سم آترازین قرار گرفت ($p<0/05$). بطوریکه در هر سه غلظت مورد استفاده آترازین تعداد گلبول‌های سفید خونی با افزایش زمان مجاورت با سم کاهش نشان داد. کاهش تعداد گلبول‌های سفید در غلظت‌های $mg\,l^{-1}$ ۳/۲۵، ۶/۵ و ۱۳ تقریباً در تمامی روزهای نمونه‌گیری، احتمالاً می‌تواند به‌دلیل ضعیف شدن بدن در برابر غلظت حداکثر سم، در نتیجه تأثیر بر بافت‌های خون‌ساز باشد و افزایش تعداد گلبول‌های سفید در غلظت $mg\,l^{-1}$ ۳/۲۵ در روز هفتم نمونه‌گیری نسبت به گروه شاهد، می‌تواند به‌دلیل افزایش مقاومت بدن در برابر غلظت حداقل سم باشد. Ramesh و همکاران در سال ۲۰۰۹ مسمومیت حاد ماهی کپور معمولی با آترازین تغییر معنی‌داری در گلبول‌های سفید مشاهده کردند، اگرچه در مسمومیت مزمن تعداد گلبول‌های سفید افزایش پیدا کرد. Bekeh و همکاران در سال ۲۰۱۲ کاهش غیرمعنی‌دار در تعداد گلبول‌های سفید را گزارش و علت آن‌را آسیب وارده به هسته سلول ذکر کردند. Ajani و همکاران در سال ۲۰۰۷ کاهش تعداد گلبول‌های سفید را در گربه‌ماهی‌آفریقایی متأثر از نیتریت نشان دادند که علت آنرا تأثیر سم بر گلبول‌های سفید جوان و از بین بردن آن‌ها دانستند. که این با یافته‌های Prasad و همکاران در سال ۱۹۹۱، Sood در سال ۱۹۹۹، Ayoola در سال ۲۰۰۸، Ubogu در سال ۲۰۰۸ و Ramesh و همکاران در سال ۲۰۰۹ مغایر بود (۳،۱۶،۲۰،۲۱،۲۳).

نتیجه‌گیری: با توجه به مطالعه حاضر، آترازین سمیت نسبتاً بالایی در ماهی شیربت داشته و این سم تأثیر عمیقی روی فاکتورهای خونی ماهی شیربت دارد و قرار گرفتن طولانی مدت در معرض غلظت بالای این سم منجر به ایجاد تغییرات فیزیولوژیک در ماهی شیربت می‌گردد، در نتیجه استفاده از علف‌کش آترازین باید در حداقل میزان مؤثر و ترجیحاً در مناطقی که زهآب مزارع به آب‌های آزاد راهی ندارد، مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

تحقیق جاری با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفت.

References

1. Abdali, S., Yousefi Jourdehi, A., Kazemi, R., Yazdani, M.A. (2011) Effects of Atrazine (Herbicide) on Blood Biochemical Indices of Grass Carp (*Ctenopharhyngoden idella*). J Persian Gulf. 2: 51-56.
2. Atamanalp, M., Yanik, T. (2003) Alterations in hematological parameters of rainbow trout Oncorhynchus mykiss exposed to mancozeb. Turk J Vet Anim Sci. 27: 1213-1217.
3. Ayoola, S. (2008) Histopathological effects of glyphosate on juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*). Am Eur J Agric Environ Sci. 4: 362-367.
4. Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., Ahmadi, K. (2011) Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Pestic Biochem Physiol. 99: 1-6.
5. Bekeh Ada, F., Ayotunde, E.O., Bayim, B.P.-R. (2012) Some biological and hematological responses of *Oreochromis niloticus* juveniles exposed to Atrazine herbicide. Int J Bioflux Society (AACL). 5: 369-379.
6. Cerdeira, A., Santos, N., Ueta, J., Shuhama, I., Pessoa, M., Smith, S., Lanchote, V. (2004) Atrazine in water and biodegradation in a recharge area of Guarany Aquifer in Brazil. Bull Environ Contamin Toxicol. 73: 117-124.
7. Correll, D.L., Wu, T.L. (1982) Atrazine toxicity to submersed vascular plants in simulated estuarine microcosms. Aquatic Botany. 14: 151-158.
8. Devos, S., Bosscher, K.D., Staels, B., Bauer, E., Roels, F., Berghe, W., Haegeman, G., Hooghe, R., Hooghe-Peters, E.L. (2003) Inhibition of cytokine production by the herbicide atrazine: Search for nuclear receptor targets. Biochem Pharmacol. 65: 303-308.
9. Drastichova, J., Svobodova, Z., Luskova, V., Machova, J.(2004) Effect of cadmium on hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Bull Environ Contam Toxicol. 72: 725-732.
10. Fischer-Scherl, T., Veeser, A., Hoffmann, R.W.,

www.SID.ir

Archive of SID

Kühnhauser, C., Negele, R.-D., Ewringmann, T. (1991) Morphological effects of acute and chronic atrazine exposure in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Arch Environ Contam Toxicol. 20: 454-461.

11. Forouzangohar, M., Haghnia, G.H., Koocheki, A. (2005) Organic amendments to enhance atrazine and metamitron degradation in two contaminated soils with contrasting textures. Soil & Sedim Contam. 14: 345-355.
12. Ghosh, P.K., Philip, L. (2004) Atrazine degradation in anaerobic environment by a mixed microbial consortium. Water Res. 38: 2277-2284.
13. Hussein, S., El-Nasser, M., Ahmed, S. (1996) Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on freshwater fish *Oreochromis niloticus* and Chrysichthyes auratus at Assiut, Egypt. Bull Environ Contam Toxicol. 57: 503-510.
14. Joshi, P., Bose, M., Harish, D. (2002) Haematological changes in the blood of Clarias batrachus exposed to mercuric chloride. J Ecotoxicol & Environ Monit. 12: 119-122.
15. Köprücü, S.Ş., Köprücü, K., Ural, M.Ş., İspir, Ü., Pala, M. (2006) Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish Silurus glanis. Pestic Biochem Physiol. 86: 99-105.
16. Kori-Siakpere, O., Ubogu, E.O. (2008) Sublethal haematological effects of zinc on the freshwater fish, Heteroclarias sp. (Osteichthyes: Clariidae). Afr J Biotech. 7: 2068-2073.
17. Moore, A., Waring, C.P. (2001) The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic salmon. Aquatic Toxicol. 52: 1-12.
18. Nieves-Puigdoller, K., Björnsson, B.T., McCormick, S.D. (2007) Effects of hexazinone and atrazine on the physiology and endocrinology of smolt development in Atlantic salmon. Aquatic Toxicol. 84: 27-37.
19. Prasad, T., Srinivas, T., Rafi, G.M., Reddy, D. (1991) Effect in vivo of atrazine on haematology and O2 consumption in fish, Tilapia mossambica. Biochem Int. 23: 157-161.
20. Prasad, T., Srinivas, T., Rafi, M., Reddy, D. (1990) Chronic effect of atrazine on hydromineral balance in the crab. Biochem Int. 22: 435-440.
21. Ramesh, M., Srinivasan, R., Saravanan, M. (2009) Effect of atrazine (Herbicide) on blood parameters of common carp *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes). Afr J Environ Sci Technol. 3: 453-458.
22. Rehwoldt, R. (1978) Investigations into the acute toxicity and some chronic effects of selected herbicides on several freshwater fishes. Appl Ecol J. 4: 316-327.
23. Rusia, V., Sood, S.K. (1992) Routine haematological tests. In: Mukerjee, Kanai, Medical laboratory technology. (1st ed.) Tata McGraw Hill Publishing Company Limited. USA, New York, chapter 1. p. 252-258.
24. Rymuszka, A., Siwicki, A.K., Sieroslawska, A. (2007) Determination of modulatory potential of atrazine on selected functions of immune cells isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Cent Eur J Immunol. 32: 97-100.
25. Solomon, K.R., Baker, D.B., Richards, R.P., Dixon, K.R., Klaine, S.J., La Point, T.W., Kendall, R.J., Weisskopf, C.P., Giddings, J.M., Giesy, J.P. (1996) Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. Environ Toxicol Chem. 15: 31-76.
26. Stoker, T.E., Robinette, C.L., Cooper, R.L. (1999) Maternal exposure to atrazine during lactation suppresses sucklinginduced prolactin release and results in prostatitis in the adult offspring. Toxicol Sci. 52: 68-79.
27. Tavares, M.D., Martins, M.L., Nascimento, K.S. (1999) Evaluation of haematological parameters in praractus mesopotamicos. Holmberg (osteichthyes, characidae) with Argulus sp. Crustacea, branchiura) infestation and treatment with organophosphat. Rev Bras. 16: 553-555.
28. Thrall, M.A., Baker, D.C., Lassen, E.D. (2004) Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. (1st ed.) John Wiley publication. UK, London.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of acute and sub-lethal toxicity of herbicide, Atrazine, on hematological parameters of *Tor grypus*

Khabazian Zadeh, A.[1], Dadolahi Sohrab, A.[2], Alishahi, M.[3], Khazaei, S.H.[2], Mohammad Asgari, H.[2]

[1]*Graduated from the Marine Environment Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khozestan- Iran*

[2]*Department of Environmental Sciences, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khozestan- Iran*

[3]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran*

(Received 2 February 2016, Accepted 25 April 2016)

Abstract:

BACKGROUND: Atrazine is one of the most important and effective pollutants in aquatic ecosystems. The widest sugar cane farms of the Middle East are located in Khouzestan province, Iran. Large amounts of Atrezine are being used in farming on these farms. **OBJECTIVES:** The aims of this study were to investigate acute toxicity (LC_{50} 96 h) of atrazine on *Barbus grypus* and the effects of chronic toxicity with sub-lethal concentration of atrazine on hematological parameters as well. **METHODS:** 180 B grypus were divided into 4 equal groups (5, 10 and 20% of LC_{50} 96 h and control). Blood samples were taken on days 0, 7, 14 and 21 of experiment. Hematological parameters including hemoglobin level, hematocrit, and red blood cells (RBC), white blood cells (WBC), and globular indices were measured and compared among the groups. **RESULTS:** LC_{50} 96 h was measured 65 mg l^{-1}. Hematological parameters were significantly affected by chronic toxicity of atrazine. Hemoglobin, hematocrit and RBC were decreased at all sampling periods in fish exposed to different levels of atrazine ($p<0.05$). There were no significant changes in globular indice values among the groups in sampling periods ($p>0.05$). For all samples, WBC value was decreased significantly on day 21 ($p<0.05$). **CONCLUSIONS:** Based on the results, it can be concluded that chronic atrazine toxicity adversely affects hematological parameters of *B. grypus*.

Keyword: atrazine, hematological parameters, sub-lethal toxicity, *Barbus grypus*

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Comparison of induced mortality percentage of *Tor grypus* exposed to different level of diazinon after 24, 48, 72 and 96 hours.

Table 2. Comparison of some haematological parameters of *Tor grypus* after 7, 14 and 21 days explosion to different concentrations of diazinon. Results are expressed as Mean ± SE. Values in rows with different small letters significantly differ ($p<0.05$) and values in column with different capital letters significantly differ ($p<0.05$).

Table 3. Comparison of globular indexes of *Tor grypus* after 7, 14 and 21 days explosion to different concentrations of diazinon. Results are expressed as Mean ± SE. Values in rows with different small letters significantly differ ($p<0.05$) and values in column with different capital letters significantly differ ($p<0.05$).

Table 4. Comparison of White Blood cell Count (WBC) of *Tor grypus* after 7, 14 and 21 days explosion to different concentrations of diazinon. Results are expressed as Mean ± SE. Values in rows with different small letters significantly differ ($p<0.05$) and values in column with different capital letters significantly differ ($p<0.05$).

***Corresponding author's email: Alikhabazian2011@gmail.com, Tel: 0613-6228662, Fax: 0613-6228662**

www.SID.ir