غلظت کشندگی (LC50 96 h) حشره کش دیازینون و اثرات آن روی پارامترهای خونی، بافت کبد و آبشش بچه‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)

مهدی رزاقی قاضیانی*[1]،جاوید ایمانپور نمین[1]،ذبیح ا... پژند[2]

۱ گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران، صندوق پستی: ۱۱۴۴

۲ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، گروه اکولوژی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۳۴۶۴ ۴۱۶۳۵

تاریخ دریافت: ۲۸ مرداد ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: ۲ بهمن ۱۳۹۵

چکیده

اثر غلظت‌های مختلف سم دیازینون به منظور تعیین LC50 96h بر روی بچه‌ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) در مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش تعداد ۱۸۰ قطعه بچه‌ماهی استرلیاد با وزن ۱/۲۸± ۶/۴۸ گرم در شش تیمار و سه تکرار (پنج گروه آزمایشی و یک گروه شاهد) در مخازن فایبرگلاس به ابعاد (۷۵*۵۰*۱۵cm) رهاسازی شدند. آزمایش بصورت ساکن و به روش O.E.C.D (Organization of Economic Cooperation and Development) به‌مدت ۹۶ ساعت انجام گرفت. فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب از قبیل دما، اکسیژن، pH و سختی کل در طول دوره اندازه‌گیری و ثبت شد. بچه‌ماهیان در غلظت‌های ۳، ۳/۴۱، ۳/۸۷، ۴/۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند و نتایج حاصل از LC_{10}، LC_{50}، LC_{96} به روش آماری Probit Analysis به ترتیب ۲/۴۸، ۳/۵۸ و ۵/۱۷ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید. در بررسی هماتولوژی نیز شاخص‌های PCV، RBC و WBC در دو گروه آزمایشی و شاهد تفاوت معنی‌داری نشان دادند ($P<0/05$). در بافت آبشش بچه‌ماهیان، ادم رشته‌های اولیه، الحاق تیغه‌های ثانویه، بالونینگ و پهن شدن و الحاق تیغه‌های ثانویه، واکوئل‌دار شدن، پوسته پوسته شدن تیغه‌های ثانویه و جدا شدن سلول‌ها، نکروز، پرخونی عمومی مشاهده شد که شدت آن در غلظت‌های ۴/۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سایرین بیش‌تر مشاهده شد. در بافت کبد نیز واکوئل‌دار شدن سلول‌های ادم، از بین رفتن غشای سیتوپلاسمی، از بین رفتن ظاهر دانه‌دار سیتوپلاسم، پیکنوزه شدن هسته سلول‌ها، کاریورکسیس، کاریولیز، نکروز و تجزیه کامل غشای سلول‌های کبدی مشاهده گردید که عارضه در غلظت ۴/۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سایرین بیش‌تر بود.

کلمات کلیدی: دیازینون، LC50، سمیت حاد، ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*).

* عهده‌دار مکاتبات (✉). Mehdi.rzg.gh@gmail.com

مقدمه

دیازینون از گروه آفت‌کش ارگانوفسفره با پایداری متوسط است که به طور گسترده در کشاورزی استفاده می‌گردد و مانند دیگر آفت‌کش‌ها می‌تواند منجر به بروز اختلال در وضعیت فیزیولوژیکی گردد (Banaee *et al.*, 2011). با توجه به تاثیر آفت‌کش‌ها در ماهی‌ها، نخستین هدف مطالعات اکوتوکسیکولوژی بدست آوردن نشانگر زیستی مناسب برای بررسی این تاثیرات است. مطالعات نشان می‌دهند که حداکثر ۱۰٪ از آفت‌کش‌های استفاده شده صرف از بین بردن آفات شده و مقادیر قابل توجهی از آن‌ها وارد محیط زیست گردیده و منابع آبی و خاکی را آلوده می‌کنند (Yaung and Baumann, 2006). براساس گزارشات آژانس حفاظت زیستی (Environmental Protection Agency) عوامل متعددی می‌توانند سمیت دیازینون را تشدید کنند که از جمله آن‌ها می‌توان به دما و رطوبت پایین همراه با قلیائیت بالا و فقدان شرایط میکروبیولوژیکی مناسب اشاره کرد، از نظر بیولوژیکی این سم می‌تواند به مدت ۱۴ روز یا بیش‌تر در آب باقی بماند (Eisler, 1986). ماهیان بعلت ارزش اقتصادی و حساسیت در برابر آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردار بوده و به همین دلیل در آزمایشات زیست سنجی در بعد وسیعی از آن‌ها استفاده می‌گردد. تحمل غلظت سم دیازینون برای گونه‌های مختلف ماهی، متفاوت می‌باشد. مقادیر LC50 96h از چند دهم میلی‌گرم بر لیتر تا چندین میلی‌گرم بر لیتر در نوسان می‌باشد (Tsuda *et al.*, 1996; Keizer *et al.*, 1991).

استرلیاد یکی از گونه‌های با ارزش تاسماهیان و بومی آب‌های شیرین می‌باشد که در سراسر بخش‌های شمالی دریای خزر، اروپا و سیبری پراکنده شده است. این ماهی در رودخانه‌های حوزه دریای خزر، دریای سیاه، بالتیک، آزوف، سفید، بارنتس و کارا زندگی می‌کند. استرلیاد کوچک‌ترین گونه از این تاسماهیان بوده و دوره زندگی کوتاهی دارد. کوچک بودن اندازه نسبت به سایر گونه‌های خاویاری و دوره باروری کوتاه و تولید دورگه‌های استرلیاد و بلوگاه (بستر) و همچنین سهولت پرورش، از مزیت‌های این گونه برای پرورش و تولید خاویار در مقایسه با سایر تاسماهیان می‌باشد. نظر به اهمیت اقتصادی ماهیان خاویاری و از جمله استرلیاد و احتمال انقراض نسل این گونه ماهیان در حوزه‌ی دریای خزر، و از جمله تکثیر و پرورش این گونه در مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی با استفاده از آب رودخانه سفیدرود انجام می‌گیرد و به دلیل ورود پساب کشاورزی که حاوی سم دیازینون نیز است (گزارش شرکت آب منطقه‌ای ۱۳۸۸)، سبب شد تا این تحقیق با هدف تعیین غلظت کشندگی (LC_{50}) سم دیازینون بر روی بچه‌ماهی استرلیاد و نیز بررسی پارامترهای بافت‌شناسی پس از مقابله با سم و مقایسه مقاومت استرلیاد با سایر گونه‌های تاسماهیان انجام گیرد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۸۰ قطعه بچه‌ماهی استرلیاد با میانگین وزنی ۱/۲۸ ± ۶/۴۸ گرم در مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش از ۱۸ عدد مخزن فایبرگلاس با ابعاد (۷۵×۵۰×۱۵ cm) استفاده شد. به منظور انجام بررسی، هر مخزن با ۴۰ لیتر آب چاه آبگیری شده و تعداد ۱۰ قطعه بچه‌ماهی در آن قرار داده شد. آزمایش با ۵ تیمار و یک شاهد و هر کدام با

۳ تکرار انجام شد. سم دیازینون مورد استفاده از نوع امولسیون ۶۰٪ و با فرمول isopropyl-6-o,o- methylprimidin-4-yl phosphorothioate dietyl o -2- بوده و آزمایش سمیت حاد بر اساس O.E.C.D انجام گردید (O.E.C.D, 1989). برای تعیین (LC_{50} 96h) تعداد ۱۲ مخزن آبگیری و به مدت ۴۸ ساعت هوادهی شدند. سپس بچه ماهیان به مخازن انتقال داده شدند تا به محیط جدید سازگار شوند. ابتدا چهار آزمایش اولیه (پایلوت) با غلظت‌های مختلف بر روی بچه‌ماهیان استرلیاد انجام گردید و غلظت کشندگی در محدوده ۵-۳ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. مخازن‌ها پس ازشستشوی کامل مجددا آبگیری شده و پس از هوادهی به مدت ۲۴ ساعت، به استثنای مخازن شاهد که هیچگونه سمی اضافه نگردید، در سایر مخازن آزمایشی غلظت‌های ۳، ۳/۴۱، ۳/۸۷، ۴/۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر سم دیازینون اضافه شد. میزان LC_{50} بر اساس روش آماری Probit Analysis انجام گردید. رفتار بچه‌ماهیان در طول دوره، مورد بررسی قرار گرفت و بچه‌ماهیان تلف شده نیز جمع آوری گردیدند. به منظور بررسی‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی خون، در پایان دوره ۹۶ ساعته از هر تیمار بصورت تصادفی تعداد ۳ قطعه بچه‌ماهی گرفته شده و از ناحیه ساقه دمی آن‌ها خون‌گیری بعمل آمد. نمونه‌های خون درون لوله‌های اپندروف هپارینه ریخته شده و همزمان گسترش خونی نیز داده شد. میزان اریتروسیت، لکوسیت، هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد لکوسیت افتراقی (لنفوسیت، نوتروفیل، منوسیت) تعیین گردید. در مطالعه بیوشیمیایی خون، سرم خون جداسازی و مقادیر گلوکز و پروتئین کل اندازه گیری شد. آنالیز آماری با آنالیز واریانس یک طرفه Anova و آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۸ انجام شد و برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel ۲۰۱۳ استفاده گردید.

به منظور بررسی هیستوپاتولوژیک اثرات سم دیازینون در پایان دوره ۹۶ ساعت تعداد دو قطعه بچه‌ماهی از هر تکرار مورد آزمایش به طور تصادفی انتخاب شدند. بافت کبد و آبشش بچه‌ماهیان استرلیاد جهت این بررسی جدا سازی شده و در ظرف حاوی فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. نمونه‌های بافتی در آزمایشگاه طی فرآیند عمل‌آوری، بوسیله دستگاه میکروتوم برش و سپس با هماتوکسین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و سپس به وسیله میکروسکوپ نوری مجهز به مانیتور و دوربین عکاسی و فیلمبرداری مورد بررسی قرار گرفتند. درطول دوره آزمایش دما، اکسیژن، pH و سختی کل اندازه‌گیری شدند.

نتایج

محدوده کشندگی حشره‌کش دیازینون برروی بچه‌ماهیان ۸-۵ گرمی پس از آزمایش اولیه ۵-۳ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید. بر اساس روش آماری Probit Analysis مقادیر LC_{10}، LC_{50}، LC_{90} سم فوق در۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ اندازه‌گیری شد و مقدار غلظت مجاز (LC_{50} 96h) برای بچه‌ماهیان استرلیاد ۳/۵۸ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید (جدول‌های ۱ و ۲).

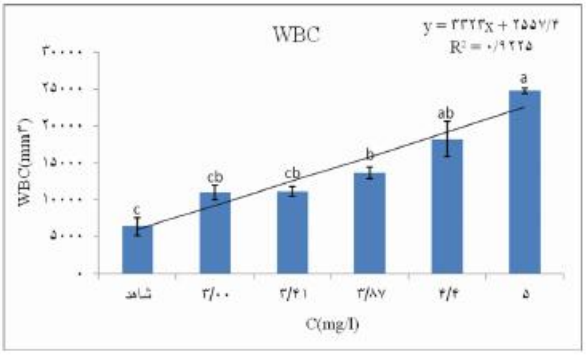
جدول ۱: مقایسه اثر تیمارهای مختلف دیازینون روی مرگ و میر بچه‌ماهیان ۵ ـ ۳ گرمی استرلیاد (میانگین سه تکرار) در طی ۹۶ ساعت

تیمار	غلظت دیازینون (ppm)	۲۴ساعت		۴۸ ساعت		۷۲ ساعت		۹۶ ساعت		تغییرات نسبت به شاهد(ساعت)				لگاریتم غلظت ذرات معلق	Probit value			
		مرده	زنده	مرده	زنده	مرده	زنده	مرده	زنده	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶		۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
شاهد	۰	۰	۱۰	۰	۱۰	۰	۱۰	۰	۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
I	۴	۰	۱۰	۳/۳۳	۹/۶	۱/۳	۸/۶	۲/۳	۷/۶	۰	۳/۳	۱۳/۳	۲۳/۳	۰/۴۷	۰	۳/۱۶	۴/۱۵	۴/۲۷
II	۳/۴۱	۰/۶۶	۹/۳۳	۲	۸	۳/۶	۶/۳	۴/۳	۶/۵	۶/۶	۲۰	۳۶/۶	۴۳/۳	۰/۵۳	۳	۴/۱۵	۴/۶۵	۴/۸۲
III	۳/۸۷	۱	۹	۴	۶	۵	۵	۷	۳	۱۰	۴۰	۵۰	۷۰	۰/۵۸	۳/۷۱	۴/۷۴	۴/۹۱	۵/۵۲
IV	۴/۴	۱	۹	۵	۵	۶	۴	۷/۳	۲/۶	۱۰	۵۰	۶۰	۷۳/۳	۰/۶۴	۳/۷۱	۵	۵/۲۵	۵/۶۲
V	۵	۲	۸	۶	۴	۷	۳	۸/۶	۱/۳	۲۰	۶۰	۷۰	۸۶/۶	۰/۶۹	۴/۱۵	۵/۲۵	۵/۷۲	۶/۱

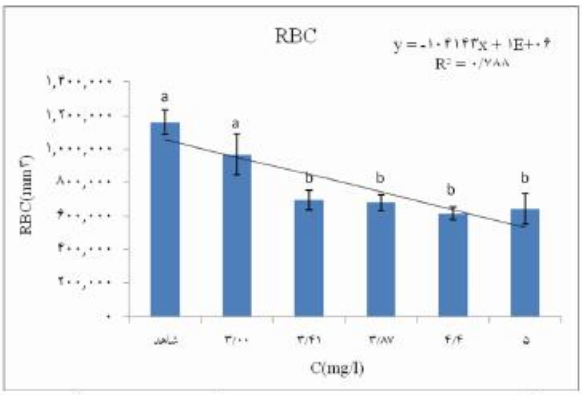
جدول ۲: تعیین غلظت‌های کشنده دیازینون در طی ۹۶ ساعت بر روی بچه‌ماهی استرلیاد

زمان / LC	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
۱۰	۴/۳۰	۳/۲۰	۲/۵۸	۲/۴۸
۵۰	۵/۲۱	۴/۴۳	۳/۹۵	۳/۵۸
۹۰	۶/۳۱	۶/۱۴	۶/۱۲	۵/۱۷

نتایج پروفیل خونی در هر دو گروه شاهد و آزمون بچه‌ماهیان استرلیاد در شکل‌های ۱،۲،۳و۴ آورده شده است. میزان لکوسیت، اریتروسیت، و هماتوکریت کاهش معنی‌داری نشان دادند ($P<0/05$). مقادیر هموگلوبین در دو گروه آزمون و شاهد دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد.



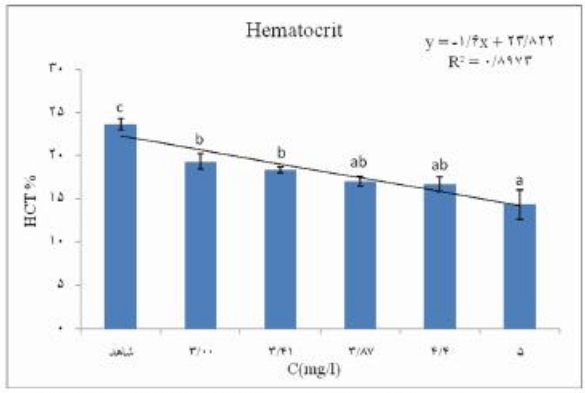
شکل ۱: میزان لکوسیت ماهی *Acipenser ruthenus* قرارگرفته در معرض دیازینون نمودار براساس mean ± SEاست



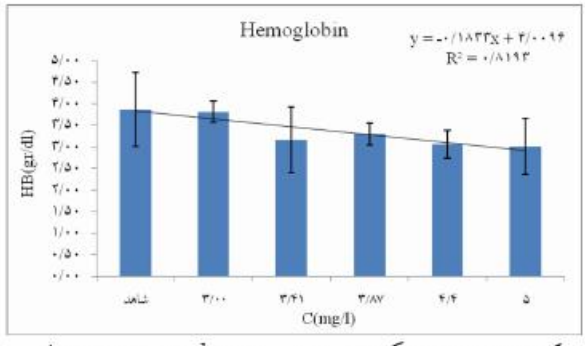
شکل ۲: میزان اریتروسیت ماهی *Acipenser ruthenus* قرارگرفته در معرض دیازینون نمودار براساس mean ± SE است

بررسی علائم بالینی

در بررسی علائم بالینی پس از ۹۶ ساعت، انحنای ستون فقرات (فلج عصبی)، قرمزی روی سطح زیرین بدن و آبشش، شنای چرخشی، باز و بست سریع آبشش‌ها و وجود مخاط روی سطح بدن و خوابیدن به پشت و در نهایت تلف شدن مشاهده گردید.

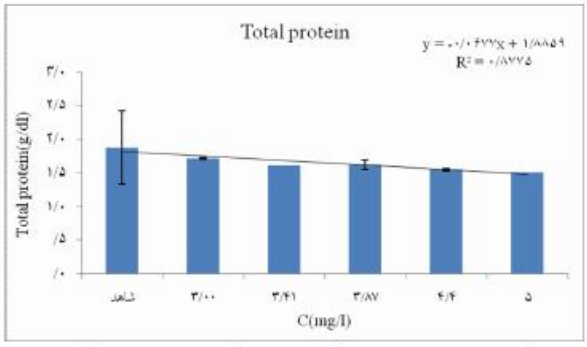


شکل ۳: درصد هماتوکریت ماهی *Acipenser ruthenus* قرارگرفته در معرض دیازینون نمودار براساس mean ± SE است

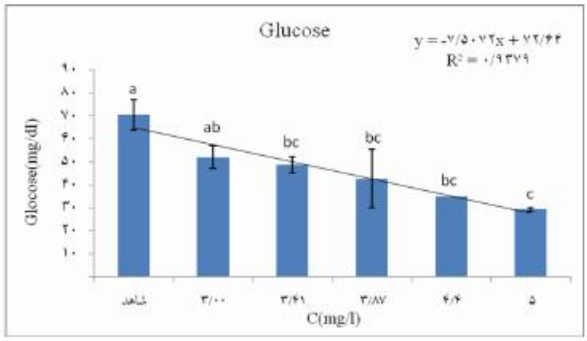


شکل ۴: میزان هموگلوبین ماهی *Acipenser ruthenus* قرارگرفته در معرض دیازینون نمودار براساس mean ± SE است

نتایج حاصل از بیوشیمی خون در شکل ۶ و۷ بیان کننده کاهش غیر معنی‌دار پروتئین کل وکاهش معنی‌دار گلوکز می باشد (P<۰/۰۵).



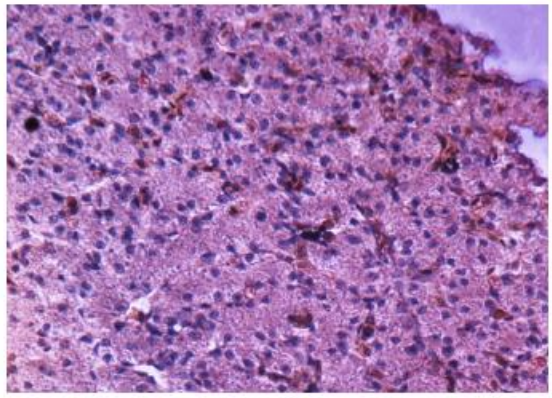
شکل ۵: میزان پروتئین کل *Acipenser ruthenus* قرارگرفته در معرض دیازینون نمودار براساس mean ± SE است



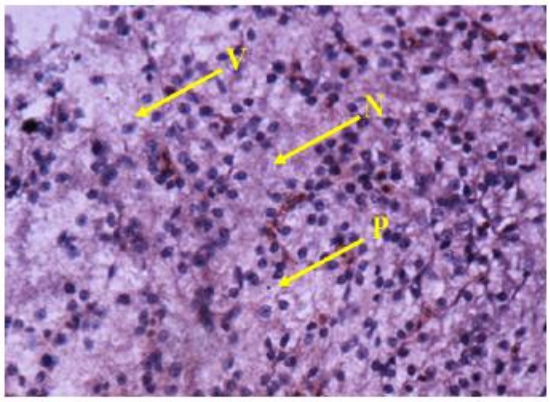
شکل ۶: میزان گلوکز ماهی *Acipenser ruthenus* قرارگرفته در معرض دیازینون. نمودار براساس mean ± SE است

مطالعه آسیب‌شناسی کبد استرلیاد

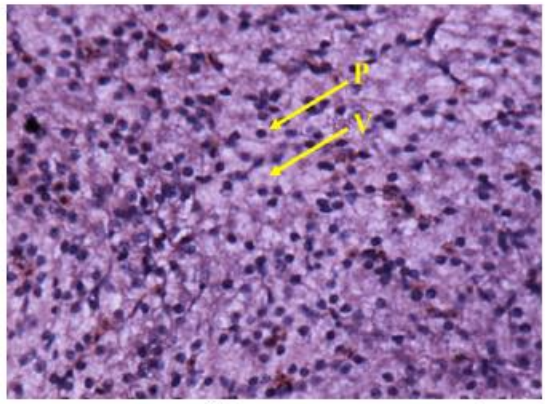
بطورکلی در تیمارهای مورد آزمون عوارضی همچون واکوئل‌دار شدن سلولهای ادم، از بین رفتن غشای سیتوپلاسمی، از دست دادن ظاهر دانه‌دار سیتوپلاسم، پیکنوزه شدن هسته سلول‌ها، کاریورکسیس، کاریولیز و تجزیه کامل غشای سلول‌های کبدی مشاهده گردید که شدت عارضه درغلظت‌های ۴/۴ و ۵ میلی گرم در لیتر نسبت به سایرین بیش‌تر می‌باشد (شکل‌های ۸-۱۳).



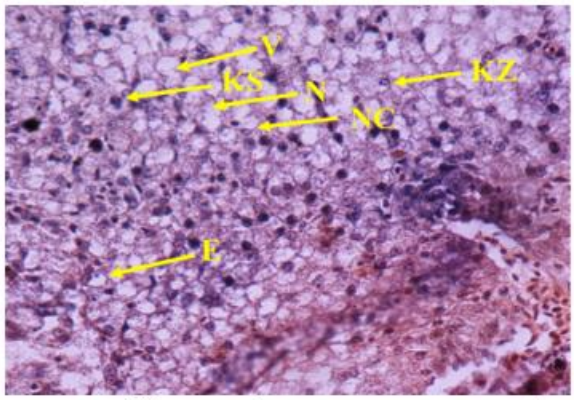
شکل۷: بافت کبد (شاهد)



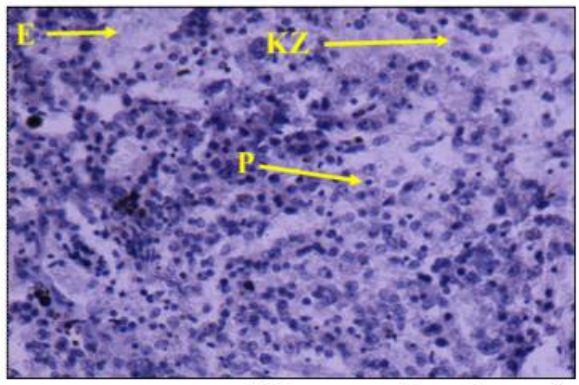
شکل۸: واکوئل‌دار شدن سلول‌های کبدی به‌همراه نکروز موضعی (N,V) و پیکنوزه شدن هسته سلول‌ها (P) (غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر)



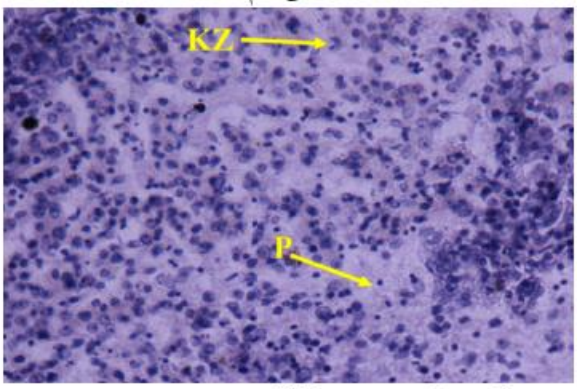
شکل۹: واکوئل‌دار شدن بیشتر سلول‌ها (V)، از بین رفتن غشای سیتوپلاسمی و پیکنوز (P)
(غلظت ۳/۴۱ میلی‌گرم در لیتر)



شکل ۱۰: بیشتر سلول‌ها متورم و واکوئله شده (V)، سیتوپلاسم ظاهر دانه‌دار خود را از دست داده است (NC)، نکروز (N)، کاریورکسیس (KS) کاریولیز (KZ) و ادم (E)
(غلظت ۳/۸۷ میلی‌گرم در لیتر)



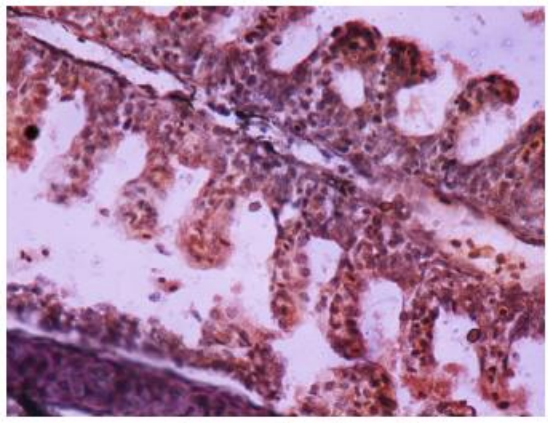
شکل ۱۱: پیکنوز (P)، کاریولیز (KZ)، تجزیه کامل غشای سلول‌های کبدی و مراحل مختلف نکروز سلول‌های کبدی
(غلظت ۴/۴میلی‌گرم در لیتر)



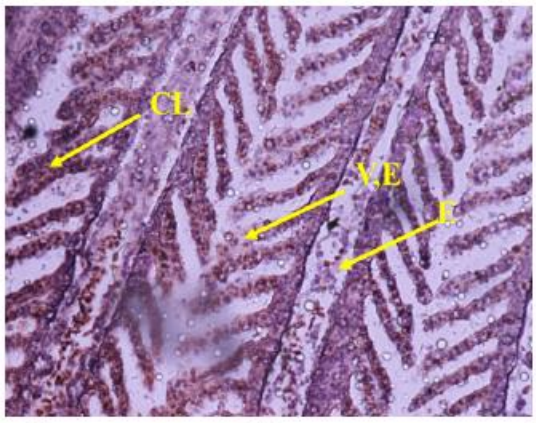
شکل۱۲: پیکنوز (P)، کاریولیز (KZ)، تجزیه کامل غشای سلول-های کبدی و مراحل مختلف نکروز سلول‌های کبدی(غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر)

مطالعه آسیب‌شناسی آبشش استرلیاد

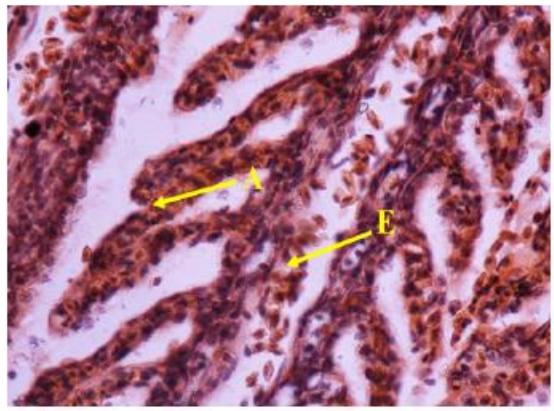
بطورکلی در تیمارهای مورد آزمون عوارضی همچون ادم رشته‌های اولیه، الحاق تیغه‌های ثانویه، بالونینگ و پهن شدن و الحاق تیغه‌های ثانویه، واکوئل‌دار شدن، پوسته پوسته شدن تیغه‌های ثانویه و جدا شدن سلول‌ها، نکروز، پرخونی عمومی مشاهده گردید که عارضه درغلظت ۴/۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سایرین بیش‌تر می‌باشد (شکل‌های ۱۴-۱۹).



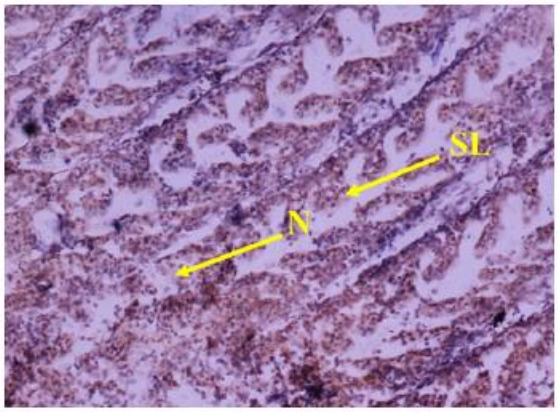
شکل۱۳: (بافت آبشش شاهد)



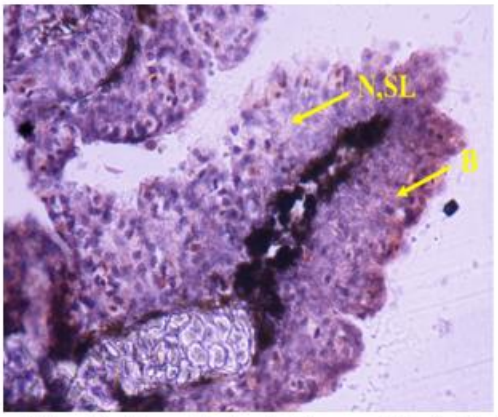
شکل۱۴: الحاق تیغه‌های ثانویه (CL)، ادم رشته‌های اولیه (E)، واکوئل‌دار شدن (V) (غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر)



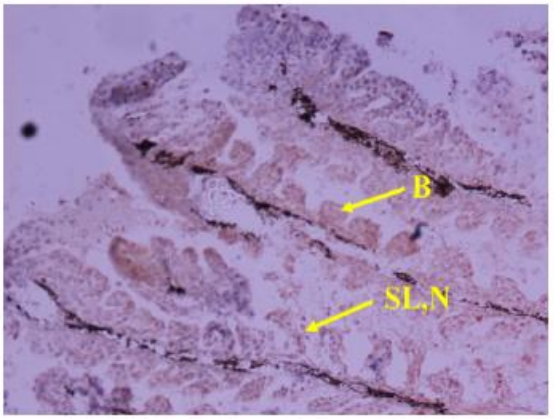
شکل۱۵: الحاق تیغه‌های ثانویه (A)، ادم (E)، پر خونی عمومی (غلظت ۳/۴۱ میلی‌گرم در لیتر)



شکل۱۶: پوسته پوسته شدن تیغه‌های ثانویه و جدا شدن سلول-ها (SL)، نکروز (N) (غلظت ۳/۸۷ میلی‌گرم در لیتر)



شکل۱۷: بالونینگ و پهن شدن و الحاق تیغه‌های ثانویه (B) نکروز و پوسته پوسته شدن سلول‌های ثانویه (N,SL) (غلظت ۴/۴ میلی گرم در لیتر)



شکل۱۸: بالونینگ و پهن شدن تیغه‌های ثانویه (B)، پوسته پوسته شدن وسیع تیغه‌های ثانویه (SL)، نکروز (N) (غلظت ۵ میلی گرم در لیتر)

در طول دوره آزمایش دما، اکسیژن، pH و سختی کل به ترتیب ^{o}c ۱/۱۲±۲۱/۸، ۰/۲۵ppm±۸، ۰/۱۱±۷/۱۹ و ۱۵ppm±۲۷۵ اندازه‌گیری شد.

بحث

نتایج حاصل از تحقیق فوق نشان داد که سمیت حاد (LC_{50} 96h) سم دیازینون بر روی بچه‌ماهیان استرلیاد ۱/۲۸±۶/۴۸ گرمی ۳/۵۸ میلی گرم در لیتر می‌باشد. شاملوفر و همکاران در سال ۱۳۸۵ غلظت کشندگی(LC_{50} 96h) سم دیازینون بر روی فیل‌ماهی *Huso huso* را ۵/۸۲ میلی گرم در لیترتعیین نمودند. میزان سمیت حاد LC_{50} ۹۶ ساعت سم دیازینون برای قره‌برون برابر ۴/۳۸ میلی گرم در لیتر و برای ازون برون معادل ۲/۵۴ میلی گرم در لیتر تعیین گردید (پژند، ۱۳۷۸). سلطانی و خوش باوررستمی (۱۳۸۱) LC_{50} 96h ساعت سم دیازینون را برای ماهیان شیپ *Acipenser nudiventries* ۴/۶ میلی گرم در لیتر گزارش کردند. Sancho و همکاران (۱۹۹۲) با تحقیقی با سم دیازینون (LC_{50} 96h) بر روی مارماهی مهاجر اروپایی *Anguilla anguilla* را معادل ۰/۰۸ بدست آوردند. براساس گزارش‌های مرکز تحقیقات شیلات ایران (۱۳۷۵) میزان (LC_{50} 96h) سم دیازینون بر روی ماهی سفید ۰/۳۶ و بر روی فیتوفاک ۱/۹ میلی گرم در لیتر بوده است. جاذب نیکو(۱۳۷۵) این غلظت را بر روی ماهی سیم ۱/۲ میلی گرم بر لیتر بیان نمود. پورغلام و همکاران (۱۳۸۰) اثر سم دیازینون را بر روی بچه-ماهی آمور ۵ گرمی، برابر با ۱۵/۱۳ میلی گرم در لیتر تعیین نمودند. Svobodova و همکاران (۲۰۰۱) غلظت سمیت حاد سم دیازینون را بر روی کپور ماهی ۳۲ میلی گرم در لیتر بیان نمودند.

نتایج حاصل از اثر دیازینون بر روی بچه‌ماهی استرلیاد نشان داد که میزان اریتروسیت و هماتوکریت از کاهش معنی‌داری برخودار بوده است($P<0/05$). سلطانی و خوش باور رستمی(۱۳۸۴) نتایج مشابه درپاسخ خونی ماهی شیپ در غلظت ۷/۶۷ میلی گرم بر لیتر Maccidal-600EC با کاهش معنی‌دار ($P<0/05$) گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نمودند. Svoboda و همکاران (۲۰۰۱) دریافتند که در کپور معمولی، سمیت حاد با سم دیازینون با غلظت ۳۲ میلی گرم در لیتر از ماده

ارگانوفسفره Basudin 600EW کاهش معنی‌داری در تعداد اریتروسیت، میزان هماتوکریت و هموگلوبین در گروه آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد ایجاد کرده است (P<۰/۰۱). در شمارش افتراقی خون ماهی کپور معمولی در مسمومیت حاد با دیازینون مشاهده گردید که میزان لنفوسیت کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۱) و مقدار نوتروفیل افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) را نشان دادند. در شمارش افتراقی لکوسیت ماهیان ازون‌برون در معرض سمیت حاد دیازینون کاهش معنی‌دار لنفوسیت (P<۰/۰۱) و افزایش معنی‌دار نوتروفیل مشاهده گردید (P<۰/۰۱). سلطانی و خوش باور رستمی(۱۳۸۱) تغییرات مشابه‌ای در ماهیان شیپ که در معرض سم دیازینون با غلظت ۴/۶ قرار گرفته‌اند گزارش کردند. کاهش معنی‌دار لنفوسیت و افزایش معنی‌دار نوتروفیل در این آزمایش با نتایج Svoboda و همکاران او مطابقت دارد. سلطانی و خوشباور رستمی (۱۳۸۱) در بررسی وضعیت بیوشیمیایی خون در ماهی ازون‌برون دریافتند، میزان پروتئین کل و گلوکز تحت تاثیر سم دیازینون از کاهش معنی‌داری برخوردار می‌باشد. نتایج حاصل از اثر سم دیازینون بر روی بچه‌ماهی استرلیاد نشان داد که کاهش گلوکز معنی‌دار بوده ولی میزان کاهش پروتئین معنی‌دار نمی‌باشد.

بررسی علائم بالینی

تولید بچه‌ماهی با کیفیت بالا به عوامل محیطی بستگی دارد. سموم از جمله عواملی هستند که بر رشد و تولید مثل ماهیان اثرات منفی می‌گذارند. امروزه سموم و آفت‌کش‌ها از عمده‌ترین عوامل ایجاد مسمومیت در ماهیان هستند که می‌توانند حتی در غلظت‌های کم موجب مرگ و میر زیاد شوند Sanchez-Fortun and (Barahona, 2005). سلطانی و خوشباور رستمی (۱۳۸۱) اثر سمیت حاد دیازینون را بر ماهی شیپ ۴/۶ میلی‌گرم در لیتر و معمولترین علائم بالینی را سندروم عصبی پارالتیک، بی‌تابی شدید، گرفتگی عضلات باله-ها و دور دهان، کاهش حرکات گروهی، از دست دادن جهت‌یابی، به پهلو خوابیدن و شنای نیم دایره‌ای، عکس‌العمل هیجانی با حرکات ناگهانی، تیرگی سطح بدن در ناحیه پشتی، قطع حرکات تنفسی و در نهایت مرگ ماهیان مشاهده گردید. شاملوفر و همکاران (۱۳۸۵) در مطالعه‌ی اثرات غلظت تحت کشندگی دیازینون ۳ تا ۵ میلی‌گرم در لیتر در مدت ۹۶ ساعت را بر فیل‌ماهی *Huso huso* بررسی نمودند که انحنای ستون فقرات و فلج عصبی، تنفس ناموزون و غیر عادی، افزایش عکس‌العمل در مقابل محرک‌های بیرونی، وجود مخاط فراوان روی سطح بدن، ایجاد لکه‌های خونی در اطراف چشم و پر خونی آبشش‌ها از عوارض ظاهری قرار گرفتن ماهیان در معرض این سم بوده است. این رفتارها و عوارض ظاهری غیرطبیعی مشاهده شده در ماهیان در معرض سمیت حاد دیازینون، بی‌تابی شدید، انحنای ستون فقرات، شنای نیم دایره‌ای و تیره-گی سطح بدن با علائم اشاره شده در سایر گزارش‌های منتشر شده مشابه است.

بافت کبد

بهمنی و همکاران (۱۳۸۴) اندام اصلی دخیل در سم‌زدایی آلاینده‌ها، کبد می‌باشد. سلول‌های کبد علاوه بر تولید صفرا، نقش مهمی در متابولیسم پروتئین، چربی و کربوهیدرات را داشته و به عنوان واحدهای سمیت‌زدا و تولید آنتی‌بادی نیز عمل می‌نمایند. اندازه این سلول‌ها

بستگی به وضعیت فیزیولوژیک ماهی داشته و در هنگام افزایش و کاهش متابولیت بدن، متغییر می‌باشد.

تعداد زیادی از حشره کش‌ها و سایر مواد ساخت بشری به مقدار زیاد در کبد تجمع یافته و موجب ضایعات زیادی در آن می شود (Meteleeve *et al*, 1971). تغییرات بافتی با آسیب‌های بافتی کلیه و آبشش مرتبط است، هر ماده سمی که وارد بدن ماهیان می-شود، برای ذخیره‌سازی یا به وسیله سیستم گردش خون وارد کبد می‌شود و در صورتی که در کبد تجمع نیابد وارد صفرا شده و برای دفع به آبشش و کلیه منتقل می‌شود (Lindstoma-Seppa *et al*, 1981)نتایج تحقیق یاوری و همکاران (۱۳۹۲) با بررسی ضایعات بافتی ناشی از تاثیر سم دیازینون بر روی بچه ماهیان سفیدک (*Schizothoraxu zardnyi*) با غلظت ۱۴/۷ میلی‌گرم در لیتر عوارضی نظیر، پرخونی در عروق و سینوزوئیدها و دژنراسیون واکوئلی هپاتوسیت‌ها را در بافت کبد و پرخونی، چروکیدگی و دژنرسانس بعضی لوله‌های ادراری، اتساع فضای بومن، پیکنوتیک شدن هسته بعضی سلول‌ها و افزایش سلول‌ها در بافت بینابینی را در کلیه و عوارضی نظیر پرخونی، تلانژکتازی، تورم، چروکیدگی، چماقی شدن و به‌هم‌چسبیدگی در رشته‌های ثانوی آبشش را مشاهده نمودند. مشاهدات به‌عمل آمده از آزمایش اثر سم دیازینون بر بچه‌ماهیان استرلیاد نشان داد که در تیمارهای مورد آزمون عوارضی همچون واکوئل‌دار شدن سلول‌های ادم. از بین رفتن غشای سیتوپلاسمی، از دست دادن ظاهر دانه‌دار سیتوپلاسم، پیکنوزه شدن هسته سلول‌ها، کاریورکسیس، کاریولیز و تجزیه کامل غشای سلول‌های کبدی مشاهده گردید. شدت عارضه درغلظت ۴/۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سایرین بیش‌تر بوده است. این عوارض با مشاهدات سایر محققین مطابقت دارد.

آبشش در ماهیان یکی از مهمترین اندام‌هایی است که به طور مستقیم در تماس با آلاینده‌ها قرار دارد. تغییرات وسیع آسیب‌شناسی بافت کلیه، طحال و آبشش موجب برهم خوردن هموئستازی جانور و بروز تغییراتی در عوامل خونی و به تبعیت آن کاهش توان سیستم ایمنی و بقای آبزیان می‌شود (Banaee *et al*, 2011). Dutta و همکاران (۲۰۰۳) تاثیر دیازینون را بر آبشش *Lepomis macrochiras* بررسی کردند. این سم اثرات تخریبی زیادی را بر آبشش این ماهی داشته است. ماهیان بزرگ در معرض ۵ غلظت متفاوت از این ماده قرار گرفت و آبشش آنها را توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار دادند. همه ماهیانی که در معرض سم دیازینون قرار گرفته بودند در مقایسه باگروه شاهد دارای عوارضی مانند کشیدگی لایه اپی‌تلیال، هیپرپلازی و نکروز، کوتاه شدن و جدا شدن اپی‌تلیال، به هم پیوستگی لاملا، هیپرپلازی شدید و هیپرتروفی موکوس سلول‌ها و چماقی شدن لاملا بودند. دیازینون از طریق آبشش‌ها، پوست و سیستم گوارشی به راحتی وارد بدن می‌شود. قابلیت انحلال این سم در چربی سبب شده تا این سم از ساختار فسفولیپیدی غشای زیستی عبور کند و طی کم‌تر از ۲۴ ساعت از قرار گرفتن ماهیان در معرض سم دیازینون غلظت این سم در بافت‌های مختلف بدن به ویژه خون به سطح مشابه غلظت این سم در محیط می‌رسد و در بافت‌های مختلف بدن تجمع می‌یابد(Vale, 1998). مطالعه آبشش ماهی کپور علفخوار پس از مجاورت با غلظت‌های تحت کشنده سم دیازینون نشان داد که این سم صدمات شدید به ساختمان سلول‌های آبشش وارد

می‌نماید که از جمله می‌توان هیپرپلازی و چسبندگی تیغه‌های ثانویه به هم، جدا شدن و افتادن بافت پوششی از لایه پایه دیده شد(Sharifpour *et al*, 2006). بطورکلی در تیمارهای مورد آزمون اثر سم دیازینون بر روی بچه‌ماهیان استرلیاد، بافت‌های آبشش دارای عوارضی همچون ادم رشته های اولیه، الحاق تیغه‌های ثانویه، بالونینگ و پهن شدن و الحاق تیغه‌های ثانویه، واکوئل‌دار شدن، پوسته پوسته شدن تیغه‌های ثانویه و جدا شدن سلول‌ها، نکروز، پر خونی عمومی مشاهده گردید که عارضه درغلظت‌های ۴/۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سایرین بیش‌تر بوده است. این نتایج، با اثرات سم دیازینون بر روی سایر ماهیان نیز مطابقت دارد.

نتایج این تحقیق نشان داد، اثر سم دیازینون بر روی فاکتورهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی خون بچه‌ماهی استرلیاد باعث اثرات مخرب در سیستم ایمنی می‌گردد، لذا کنترل روند استفاده از سموم ارگانوفسفره به عنوان آفت‌کش در مزارع شالیزار و باغات می تواند موجب کاهش اثرات زیانبار بر روی تکثیر و پرورش این گونه با ارزش از ماهیان خاویاری گردد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که مارا در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. بهمنی، م.، کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، شریف پور، ع.، مجازی امیری، ب.، ۱۳۸۴. بررسی بافت شناسی آبشش‌ها، گناد، کلیه، کبد و دستگاه گوارش تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus* گزارش نهایی طرح های تحقیقاتی، انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، انتشارات مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۶۴-۶۷.

۲. پژند، ذ.، ۱۳۷۸. تعیین غلظت کشندگی سموم علف کش بوتاکلر و حشره کش دیازینون بر ماهیان خاویاری تاسماهی و ازون برون، دانشگاه آزاد اسلامی. واحد لاهیجان، پایان نامه کارشناسی ارشد، ۱۱۰ صفحه.

۳. پورغلام، ر.، اسماعیلی، ف.، فرهمند، ه.، سلطانی، م.، یوسفی، پ.، مهرداد، ح.، ۱۳۸۰. بررسی مشخصه‌های خونی ماهی کپور علفخوار بعد از تماس با سم ارگانوفسفره دیازینون. مجله علمی شیلات ایران۳(۲)، ۱-۱۸.

۴. سلطانی، م.، خوشباور رستمی، ح.، ۱۳۸۱. مطالعه اثر سم دیازینون بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی تاسماهی روسی *Acipenser gueldenstaedti* مجله علوم دریای ایران، ۴، ۶۵-۷۵.

۵. جاذب نیکو، ا.ک.، ۱۳۷۵. بررسی اثر سموم بوتاکلر ۶۰ ٪ و مالاتیون ۵۷ ٪ تعیین LC_{50} بر روی مرگ و میر ماهی سیم. پایان نامه کارشناسی شیلات، ۷-۳۴.

۶. شاملوفر، م.، کمالی، ا.، پیری، م.، یغمایی، ف.، ۱۳۸۵. تعیین (LC_{50} 96h) سم دیازینون و غلظت تحت کشنده آن بر عوامل خونی بچه‌فیل‌ماهی *Huso huso*، مجله علمی شیلات ایران، ۴، ۶۹-۷۸.

۷. یاوری، ا.، قرایی، ا.، غفاری، م.، شریف پور، ع.، ۱۳۹۲. تعیین LC_{50} و بررسی ضایعات بافتی ناشی از سم دیازینون در بچه ماهیان سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)، مجله علوم و فنون شیلات، ۲(۲)، ۶۳-۷۴.

8. Banaee, M., Mirvaghefi, A.R., Mojazi, A.B., Rafiee, G. R., Nematdost, B., 2011. Hematological and Histopathological effects of Diazinon Poisoning in common carp (*Cyprinus carpio*), 64(1), 1-12.

9. Dutta, H.M., Meijer, H.J.M., 2003. Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, Lepomis macrochirus: a microscopic analysis. Environmental pollution, 125(3), 355-360.
10. Eisler, R., 1986. Diazinon hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. fish and wildlife service biological report, 85(1.9), 25p.
11. Lindström-Seppä, P., Koivusaari, U., Hänninen, O., 1981. Extrahepatic xenobiotic metabolism in North-European freshwater fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology, 69(2), 259-263.
12. Meteleve, V.V., Kanaev, A.L., Diasokhva, N. G., 1971. Water toxicity. Amerind Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi.
13. O.E.C.D., 1989. Guideline for testing on chemicals.
14. Keizer, J., D'Agostino, G., Vittozzi, L., 1991. The importance of biotransformation in the toxicity of xenobiotics to fish. I. Toxicity and bioaccumulation of diazinon in guppy (*Poecilia reticulata*) and zebra fish (*Brachydanio rerio*). Aquatic toxicology, 21(3-4), 239-254.
15. Sánchez-Fortún, S., Barahona, M.V., 2005. Comparative study on the environmental risk induced by several pyrethroids in estuarine and freshwater invertebrate organisms. Chemosphere, 59(4), 553-559.
16. Sancho, E., Ferrando, M. D., Andreu, E., Gamon, M. 1992. Acute toxicity, uptake and clearance of diazinon by the European EEL, *Anguilla anguilla* (L.). Journal of Environmental Science and Health, Part B. 27(2), 209-221.
17. Svobodova, Z., Luskova, V., Drastichova, J., Svoboda, M., Žlábek, V., 2003. Effect of deltamethrin on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio L.*). Acta Veterinaria Brno, 72(1), 79-85.
18. Sharifpour, I., Pourgholam, R., Soltani, M., Hassan, M., Akbari, S., Nouri, A., 2006. Light and electron microscope studies of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) organs following exposure to various sublethal concentrations of diazinon.
19. Tsuda, T., Inoue, T., Kojima, M., Aoki, S., 1996. Pesticides in water and fish from rivers flowing into Lake Biwa. Bulletin of environmental contamination and toxicology, 57(3), 442-449.
20. Vale, J.A., 1998. Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus (OP) insecticide poisoning. Toxicology Letters, 102, 649-652.
21. Yang, X., Baumann, P.C., 2006. Biliary PAH metabolites and the hepatosomatic index of brown bullheads from Lake Erie tributaries. Ecological Indicators, 6(3), 567-574.