

## مطالعه سمیت تحت کشنده آفت کش ارگانوفسفره دیازینون بر برخی پارامترهای خونی بچه ماهی سیم دریای خزر

یعقوب جادی<sup>۱\*</sup>، علیرضا صفاهیه<sup>۱</sup>، عبدالعلی موحدی نیا<sup>۱</sup>، سهراب دزندیان<sup>۲</sup>، علی حلاجیان<sup>۳</sup>، راحین سادات هاشمی<sup>۴</sup>

(۱) گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر-ایران

(۲) گروه فیزیولوژی، پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی کشور، بندر انزلی-ایران

(۳) گروه فیزیولوژی و بیوشیمی، موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت-ایران

(۴) گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، رشت-ایران

(دریافت مقاله: ۱۸ آبان ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۲۳ دی ماه ۱۳۹۴)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** دیازینون یک آفت کش ارگانوفسفره است که علیرغم منع مصرف در بسیاری از کشورهای جهان همچنان به طور گسترده در مزارع برنج شمال ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف: در این مطالعه سمیت تحت کشنده دیازینون بر پارامترهای خونی ماهی سیم مورد مطالعه قرار گرفت. **روش کار:** در تست سمیت تحت کشنده ماهیان به مدت ۱۴ روز در معرض غلظت‌های ۰/۰۴، ۰/۰۳۶، ۰/۰۳، ۰/۰۲۴ و ۰/۰۱۶ mg/l قرار داده شدند و پارامترهای خونی آنها شامل شمارش گلبول سفید، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، شمارش گلبول‌های قرمز، اندازه‌گیری درصد هماتوکریت، میزان هموگلوبین، شاخص‌های MCH، MCV و MCHC خون مطالعه شد. **نتایج:** نتایج حاصل از تست سمیت تحت کشنده نشان داد که با افزایش غلظت سم کاهش معنی‌داری در شاخص‌های گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و شاخص MCH بعد از ۷ و ۱۴ روز در معرض دیازینون ایجاد می‌شود ( $p < 0.05$ ). پس از ۷ روز کاهش معنی‌داری در تعداد لنفوسیت‌ها مشاهده شد که این کاهش در روز ۱۴ به ۸۱٪ رسید این در حالی است که تعداد نوتروفیل‌ها در همین مدت به میزان ۱۵٪ افزایش یافته بود. **نتیجه‌گیری نهایی:** با توجه به اثرات متعدد دیازینون بر پارامترهای خونی و غلظت این سم در آبهای کشور و همچنین محل زیست ماهیان در آبهای منتهی به دریای خزر به نظر می‌رسد سم دیازینون قادر است بقای ماهی مورد مطالعه را تحت تأثیر قرار دهد.

**واژه‌های کلیدی:** *Abramis Brama*، ماهی سیم، دیازینون، پارامترهای فیزیولوژیک، سم شناسی

### مقدمه

ارزش اقتصادی است که هر ساله توسط این سازمان در مصب تالاب انزلی ورودی به دریای خزر رها سازی می‌گردد. اثرات سم دیازینون بر ماهیان بومی کشور از جمله تاسماهی ایرانی (۲۵)، فیل ماهی (۱۷) و کپور معمولی (۶) تاکنون توسط محققین مختلف مطالعه گردیده است و همه این مطالعات حاکی از اثرات سو بر پارامترهایی نظیر گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، هموگلوبین، هماتوکریت و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید بوده است. با توجه به اثرات سو سم دیازینون بر آبزیان احتمال می‌رود به دلیل همزمانی رها سازی ماهیان و استفاده سم دیازینون در مزارع برنج در فصل تابستان ورود بیش از حد این سم به داخل اکوسیستم‌های آبی استان منجر به تلفات شدید بچه ماهیان رها سازی شده گردد. این مسئله علاوه بر زیان اقتصادی و هدر رفتن هزینه و نیروی به کار رفته برای تکثیر و آماده سازی بچه ماهیان اثرات سو زیادی نیز بر ذخایر این گونه در بر خواهد داشت. هدف از انجام این مطالعه تعیین اثرات غلظت‌های تحت کشنده دیازینون بر پارامترهای خونی (گلبول‌های سفید، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و شاخص‌های MCH، MCV و MCHC) ماهی سیم می‌باشد.

### مواد و روش کار

در این مطالعه به منظور انجام سمیت تحت کشنده ۱۵۰ عدد بچه

تولید غذا به مقدار زیاد برای بر آورده ساختن نیاز جمعیتی کشورهای در حال توسعه باعث افزایش استفاده از آفت کش‌ها در کشاورزی شده است (۳۴). در طی دهه‌های اخیر میزان قابل توجهی از آلاینده‌ها از جمله آفت کش‌ها به محیط زیست راه پیدا کرده‌اند (۵). دیازینون phosphorothioate [۲- (۶-methyl-pyrimidyl-4-isopropyl-O,O-diethyl-O)] آفت کشی از گروه ارگانو فسفره و دارای فرمول مولکولی،  $C_{12}H_{21}N_2O_2PS$  می‌باشد که دارای اثرات تماسی، گوارشی و تنفسی بر آبزیان می‌باشد (۱۸). این سم استفاده گسترده‌ای در بخش کشاورزی و فعالیت‌های خانگی برای کنترل حشرات در خاک، گیاهان، میوه جات و سبزی جات می‌شود. دیازینون بعد از مصرف شدن در کشاورزی به آسانی شسته شده و وارد آبهای سطحی و زیر زمینی گردیده و در نهایت به دریاها راه پیدا می‌کند (۱۱). تحقیقات مختلف نشان داده است که دیازینون می‌تواند منجر به مرگ و میر آبزیان (۷) و اثرات زیان بار بر پارامترهای خونی (۲۵) و پارامترهای بیوشیمیایی خون آبزیان (۱۶) شود. اداره کل شیلات استان گیلان به منظور حفظ و بازسازی ذخایر آبزیان این استان هر ساله اقدام به تکثیر مصنوعی و رها سازی انواعی از ماهیان شیلاتی به رودخانه‌ها و مصب تالاب انزلی به دریای خزر می‌نماید. ماهی سیم *Abramis brama* یکی از گونه‌های با



هموگلوبین محاسبه گردید (۸). شاخص‌های خونی شامل میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (MCH) و میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC)، از روابط زیر بدست آمد: (۱۵)

$$\begin{aligned} 10 \times \text{MCV (fl)} &= \text{[تعداد گلبول قرمز بر حسب میلیون در } \text{mm}^3 \text{]} / \text{[مقدار هماتوکریت]} \\ 10 \times \text{MCH (pg)} &= \text{[تعداد گلبول قرمز بر حسب میلیون در } \text{mm}^3 \text{]} / \text{[مقدار هموگلوبین]} \\ \text{MCHC (g/dL)} &= \text{[مقدار هموگلوبین]} / \text{[مقدار هموگلوبین]} \times 100 \end{aligned}$$

آزمایش شدند. برای تعیین اختلاف معنی‌دار در مورد پارامترهای خونی که نرمال بودند، از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد و در مورد داده‌هایی که غیر نرمال بودند توسط آزمون کروسکال-والیس (Kruskal-Wallis) میزان معنی‌داری محاسبه شد (۴).

### نتایج

در طی انجام آزمایش فاکتورهای فیزیوشیمیایی (دما، pH، اکسیژن محلول و سختی کل آب) آکوارיום‌ها بطور روزانه سنجیده و ثبت گردید (جدول ۱).

نتایج تعداد کل گلبول‌های سفید و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون ماهی سییم پس از ۷ و ۱۴ روز از قرار گرفتن در معرض آفت کش دیازینون به ترتیب در جدول‌های ۲ و ۳ آمده است. مقایسه بین میانگین گلبول‌های سفید شمارش شده نشان داد که پس از مدت زمان ۷ و ۱۴ روز از در معرض قرار گیری با دیازینون، کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید خون مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در این مطالعه نشان داد که درصد لنفوسیت‌ها، ائوزینوفیل‌ها، منوسیت‌ها و بازوفیل‌ها در تمام تیمارها پس از گذشت مدت زمان‌های ۷ و ۱۴ روز کمتر از گروه شاهد بود. پس از گذشت ۷ و ۱۴ روز از در معرض قرار گیری با دیازینون کاهش معنی‌داری در درصد لنفوسیت‌ها در تیمارهای مختلف با تیمار شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در این مطالعه علاوه بر کاهش لنفوسیت‌ها، درصد ائوزینوفیل‌ها، منوسیت‌ها و بازوفیل‌ها در تمام تیمارها پس از گذشت مدت زمان ۷ و ۱۴ روز کمتر از گروه شاهد بود اما اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). شمارش نوتروفیل‌های خونی در این مطالعه نشان داد که بر عکس سایر گلبول‌های سفید (لنفوسیت‌ها، ائوزینوفیل‌ها، منوسیت‌ها و

جدول ۱. مقادیر پارامترهای فیزیوشیمیایی آب مورد استفاده طی انجام آزمایش‌ها.

پارامتر	مقدار
دما (C°)	23/23 ± 0/45
pH	7/33 ± 0/14
اکسیژن محلول (mg/l)	6/87 ± 0/29
سختی کل آب (mg/l Caco <sub>3</sub> )	236 ± 2/44

ماهی سییم از مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت در فصل تابستان ۱۳۹۰ تهیه گردید. جهت سازگارش بچه ماهیان با شرایط محیط به مدت یک هفته در وان‌های سالن پرورش مرکز شهید انصاری نگهداری شدند. در دوره آدآپتاسیون هوادهی در وان‌ها صورت گرفت و بچه ماهیان توسط پلیت (روزانه به ازای ۰/۰۲ وزن بدن) تغذیه شدند. در این مطالعه از سم دیازینون امولسیونه ۶۰٪ با فرمول مولکولی C<sub>۱۲</sub>H<sub>۲۱</sub>N<sub>۲</sub>O<sub>۳</sub>PS و حلال استون ۴۰٪، ساخت شرکت پرتونار ایران استفاده شد. پارامترهای مؤثر فیزیوشیمیایی آب شامل pH، اکسیژن محلول و دما به طور روزانه ثبت گردید (جدول ۱). در این مطالعه از ۵ تیمار که سه تیمار بر اساس درصد‌های مختلف ۹۶h I.C<sub>50</sub> (۵، ۱۰ و ۲۰٪ ۹۶h I.C<sub>50</sub>)، یک تیمار براساس غلظت آفت کش دیازینون در تالاب انزلی که به مقدار ۰/۴ μg/l در تابستان ۱۳۹۰ توسط اداره کل محیط زیست گیلان اندازه‌گیری شده و یک تیمار شاهد (بدون افزودن سم) به مدت ۱۴ روز در معرض آفت کش دیازینون استفاده شد. در هر آکوارיום (۶۰ لیتری) ۱۰ عدد بچه ماهی سییم به طور تصادفی با وزن متوسط ۶/۰۱ ± ۰/۱۸ توزیع شدند. در این مطالعه از روش استاندارد O.E.C.D (۴۱) و به صورت نیمه استاتیک (روزانه ۲۰٪ از آب آکواریم‌ها تعویض شد) بر روی ماهی سییم انجام شد. غذا دهی به ازای ۰/۰۲ وزن بدن روزانه یک ساعت قبل از تعویض آب صورت گرفت. پس از روز هفتم و چهاردهم از قرار دادن ماهی‌ها در معرض دیازینون، ناحیه زیر باله دمی نمونه‌های مورد مطالعه (۵ عدد در هر مرحله) قطع گردید و نمونه خونی توسط لوله موئینه آغشته به هیپارین از کمان خونی واقع در قسمت زیرین ستون مهره گرفته شد. برای تهیه سرم نمونه خون بلافاصله به داخل تیوب‌های (اپندورف) ضد عفونی شده حاوی هیپارین به عنوان ماده ضد انعقاد ریخته و فوراً به آزمایشگاه منتقل شد (۷). اندازه‌گیری پارامترهای خونی در بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دامن رشت انجام شد. از لام هموسیتومتر (نئوبار) برای شمارش گلبول‌های سفید خون استفاده گردید و تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از پیت‌های حباب دار (ملانژور) آبی شمارش گردید (۳۱). جهت شمارش افتراقی گلبول‌های سفید ابتدا نیاز به تهیه لام‌های گسترش خونی است. برای این منظور بعد از خونگیری ابتدا گسترش خونی تهیه گردید. پس از تثبیت گسترش‌های خونی با استفاده از متانول، رنگ آمیزی گسترش‌ها به روش رنگ‌آمیزی گیمسا انجام شد. پس از انجام این مراحل، گسترش‌های خونی برای مشاهده و بررسی به وسیله عدسی‌های میکروسکوپ آماده شدند (۳۴). شمارش تعداد گلبول قرمز با پیت‌های حباب دار (ملانژور) قرمز بدست آمد. تعداد گلبول قرمز با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق سازی خون منعقد نشده با محلول هایم شمارش شد (۱۵). اندازه‌گیری هماتوکریت با روش میکروهماتوکریت و توسط میکروسانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در ۵ دقیقه) و خط کش مخصوص هماتوکریت سنجیده شد (۲۷). تعیین مقدار هموگلوبین از روش سیانومت



جدول ۲. تعداد کل گلبول‌های سفید و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون ماهی سیم پس از ۷ روز قرار گرفتن در معرض دیازینون. توجه: تیمارهای مشخص شده با حروف مختلف، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند ( $p < 0.05$ ).

غلظت‌های مورد استفاده (بر حسب mg/l و $\mu\text{g/l}$ )					پارامتر خونی
۷۴۶ mg/l	۰/۷۳ mg/l	۰/۳۶ mg/l	محیطی (۰/۴ $\mu\text{g/l}$ )	شاهد	
$8000 \pm 1732 / 0.5^b$	$9666 \pm 577 / 3.5^b$	$10333 \pm 1154 / 7.0^b$	$14667 \pm 288 / 67^a$	$15333 \pm 577 / 3.5^a$	گلبول‌های سفید ( $\text{N/mm}^3$ )
$8 \pm 1^b$	$8 \pm 1^b$	$83 / 66 \pm 1 / 52^{ab}$	$85 / 33 \pm 1 / 52^a$	$86 \pm 1^a$	لنفوسیت (%)
$15 \pm 1^c$	$14 / 33 \pm 1 / 52^c$	$17 / 66 \pm 3 / 21^{bc}$	$7 \pm 1^{ab}$	$5 / 33 \pm 1 / 52^a$	نوتروفیل (%)
$2 \pm 1^a$	$1 / 66 \pm 1 / 52^a$	$2 \pm 1^a$	$3 \pm 1^a$	$3 \pm 1^a$	ائوزینوفیل (%)
$2 \pm 1^a$	$2 \pm 1^a$	$2 \pm 1^a$	$3 \pm 1^a$	$3 \pm 1^a$	منوسیت (%)
$0 / 33 \pm 1 / 57^a$	$0 / 66 \pm 1 / 15^a$	$1 / 33 \pm 1 / 57^a$	$1 / 66 \pm 1 / 57^a$	$2 / 33 \pm 1 / 57^a$	بازوفیل (%)

جدول ۳. تعداد کل گلبول‌های سفید و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون ماهی سیم پس از ۱۴ روز قرار گرفتن در معرض دیازینون. توجه: تیمارهای مشخص شده با حروف مختلف، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند ( $p < 0.05$ ).

غلظت‌های مورد استفاده (بر حسب mg/l و $\mu\text{g/l}$ )					پارامتر خونی
۷۴۶ mg/l	۰/۷۳ mg/l	۰/۳۶ mg/l	محیطی (۰/۴ $\mu\text{g/l}$ )	شاهد	
$6000 \pm 500^b$	$8500 \pm 500^b$	$10000 \pm 500^b$	$13500 \pm 500^a$	$14833 / 33 \pm 763 / 76^a$	گلبول‌های سفید ( $\text{N/mm}^3$ )
$8 \pm 1^b$	$82 / 66 \pm 1 / 52^{ab}$	$83 \pm 1^{ab}$	$84 / 33 \pm 1 / 52^a$	$85 \pm 1^a$	لنفوسیت (%)
$15 \pm 1^c$	$13 \pm 1^c$	$1 \pm 1^b$	$8 \pm 1^{ab}$	$6 \pm 1^a$	نوتروفیل (%)
$2 / 33 \pm 1 / 57^a$	$2 / 33 \pm 1 / 52^a$	$2 / 33 \pm 1 / 57^a$	$2 / 66 \pm 1 / 57^a$	$2 / 66 \pm 1 / 15^a$	ائوزینوفیل (%)
$1 \pm 1^b$	$2 \pm 1^{ab}$	$3 \pm 1^{ab}$	$3 \pm 1^{ab}$	$4 \pm 1^a$	منوسیت (%)
$0 / 33 \pm 1 / 57^a$	$0 / 33 \pm 1 / 57^a$	$1 / 33 \pm 1 / 15^a$	$1 / 66 \pm 1 / 57^a$	$2 / 66 \pm 1 / 57^a$	بازوفیل (%)

جدول ۴. پارامترهای خونی ماهی سیم پس از ۷ روز قرار گرفتن در معرض دیازینون. توجه: تیمارهای مشخص شده با حروف مختلف، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند ( $p < 0.05$ ).

غلظت‌های مورد استفاده (بر حسب mg/l و $\mu\text{g/l}$ )					پارامتر خونی
۷۴۶ mg/l	۰/۷۳ mg/l	۰/۳۶ mg/l	محیطی (۰/۴ $\mu\text{g/l}$ )	شاهد	
$754 \pm 2 / 51^c$	$1 / 61 \pm 3 / 0.5^b$	$1 / 64 \pm 1 / 52^b$	$7 / 71 \pm 1 / 52^a$	$7 / 78 \pm 3 / 60^a$	گلبول‌های قرمز ( $\text{N/mm}^3$ )
$19 / 93 \pm 1 / 61^c$	$19 / 66 \pm 1 / 57^{ab}$	$23 / 50 \pm 1 / 86^{ab}$	$25 / 66 \pm 1 / 28^a$	$25 / 83 \pm 1 / 28^a$	هماتوکریت (%)
$6 / 35 \pm 1 / 44^b$	$6 / 37 \pm 1 / 33^b$	$7 / 21 \pm 1 / 23^{ab}$	$7 / 10 \pm 1 / 42^a$	$8 / 09 \pm 1 / 15^a$	هموگلوبین (gr/dl)
$129 / 27 \pm 12 / 31^{bc}$	$127 / 22 \pm 5 / 74^c$	$142 / 75 \pm 6 / 55^{ab}$	$149 / 51 \pm 1 / 10^{ab}$	$145 / 15 \pm 1 / 45^a$	MCV (fl)
$47 / 18 \pm 2 / 65^{ab}$	$39 / 42 \pm 1 / 32^b$	$45 / 81 \pm 1 / 04^{ab}$	$44 / 48 \pm 1 / 15^a$	$45 / 47 \pm 1 / 15^a$	MCH (pg)
$32 / 12 \pm 4 / 47^a$	$32 / 47 \pm 2 / 65^a$	$30 / 75 \pm 2 / 08^a$	$30 \pm 1 / 62^a$	$31 / 33 \pm 1 / 72^a$	MCHC (gr/dl)

سیم نشان داد که پس از مدت زمان ۷ روز از در معرض قرار گیری با دیازینون، کاهش معنی‌داری در این شاخص تا غلظت  $0.73 \text{ mg/l}$  مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) ولی بعد از آن شاهد افزایش شاخص MCV بودیم. پس از گذشت مدت زمان ۱۴ روز، کاهش معنی‌داری در میزان شاخص MCV خون در تیمارهای مختلف مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). همچنین مقایسه بین میانگین شاخص MCH ماهی سیم نشان داد که پس از مدت زمان ۷ و ۱۴ روز از در معرض قرار گیری با دیازینون، کاهش معنی‌داری در میانگین شاخص MCH خون مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در مقایسه بین میانگین شاخص MCHC خون ماهی سیم مشاهده شد که پس از مدت زمان ۷ روز از در معرض قرار گیری با دیازینون، افزایشی در میانگین شاخص MCHC خون ماهی سیم مشاهده شد ولی این افزایش معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). پس از گذشت مدت زمان ۱۴ روز از در معرض قرار گیری، کاهش معنی‌داری در میانگین شاخص MCHC در تیمارهای مختلف مشاهده شد ( $p < 0.05$ ).

بازوفیل‌ها) تعداد نوتروفیل‌ها با افزایش غلظت دیازینون از یک روند افزایشی برخوردار بود. مقایسه بین درصد نوتروفیل‌های خون شمارش شده نشان داد که پس از مدت زمان ۷ و ۱۴ روز از در معرض قرار گیری با دیازینون، افزایش معنی‌داری بین درصد نوتروفیل‌های خون مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در جدول‌های ۴ و ۵ نتایج پارامترهای خونی ماهی سیم به ترتیب پس از ۷ و ۱۴ قرار گرفتن در معرض آفت کش دیازینون آمده است. در این مطالعه، مقایسه بین میانگین گلبول‌های قرمز شمارش شده نشان داد که پس از مدت زمان ۷ و ۱۴ روز از در معرض قرار گیری با دیازینون، کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز خون گروه‌های مختلف مشاهده می‌شود ( $p < 0.05$ ). مشابه گلبول‌های قرمز خون، با مقایسه بین میانگین میزان هماتوکریت خون و میزان هموگلوبین خون ماهی سیم مشاهده شد که پس از مدت زمان ۷ و ۱۴ روز از در معرض قرار گیری با دیازینون، کاهش معنی‌داری در میزان هماتوکریت خون هموگلوبین خون ماهی سیم دیده می‌شود ( $p < 0.05$ ). مقایسه بین میانگین شاخص MCV خون ماهی



جدول ۵. پارامترهای خونی ماهی سیم پس از ۱۴ روز قرار گرفتن در معرض دیازینون. توجه: تیمارهای مشخص شده با حروف مختلف. اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند. (p<۰/۰۵).

غلظت‌های مورد استفاده (بر حسب mg/l و µg/l)				پارامتر خونی	
۷۴۶ mg/l	۰/۷۳ mg/l	۰/۳۶ mg/l	محیطی (۰/۴ µg/l)	شاهد	
۷۵±۲/۰۸ <sup>b</sup>	۷۵۷±۷۵۲ <sup>b</sup>	۷۶±۷۵۲ <sup>b</sup>	۷۷۵±۱ <sup>a</sup>	۷۷۸±۱ <sup>a</sup>	گلبول‌های قرمز (N/mm <sup>3</sup> )
۱۹/۸۳±۷/۴۴ <sup>b</sup>	۲۰/۳۳±۰/۲۸ <sup>b</sup>	۲۲/۱۶±۰/۲۸ <sup>b</sup>	۲۴±۰/۸۶ <sup>a</sup>	۲۴/۶۶±۰/۲۸ <sup>a</sup>	هماتوکریت (%)
۶/۵۲±۰/۴۴ <sup>b</sup>	۶/۵۲±۰/۴۴ <sup>b</sup>	۶/۵۲±۰/۴۴ <sup>b</sup>	۷/۵۲±۰/۳۱ <sup>a</sup>	۸/۰۷±۰/۳۰ <sup>a</sup>	هموگلوبین (gr/dl)
۱۳۷/۶۷±۱۰/۲۳ <sup>a</sup>	۱۲۸/۹۸±۲/۸۹ <sup>a</sup>	۱۳۷/۴±۲/۹۰ <sup>a</sup>	۱۳۷/۱۴±۵/۰۱ <sup>a</sup>	۱۳۸/۵۷±۷/۷۹ <sup>a</sup>	(fl) MCV
۳۲/۱۳±۷/۰۱ <sup>c</sup>	۳۴/۷±۲/۱۷ <sup>c</sup>	۴۰/۴۴±۲/۴۳ <sup>b</sup>	۴۲/۹۸±۷/۵۹ <sup>ab</sup>	۴۵/۳۲±۷/۵۲ <sup>a</sup>	(pg) MCH
۲۴/۴۹±۱/۹۴ <sup>c</sup>	۲۶/۸۹±۱/۱۴ <sup>bc</sup>	۲۹/۴۴±۲/۰۸ <sup>ab</sup>	۳۷/۳۷±۷/۹۴ <sup>ab</sup>	۳۲/۷۲±۷/۵۰ <sup>a</sup>	(gr/dl) MCHC

جدول ۶. معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی پارامترهای خونی ماهی سیم پس از ۷ و ۱۴ روز قرار گرفتن در معرض دیازینون.

روز چهاردهم		روز هفتم		واحد	پارامتر خونی
ضریب همبستگی	معادله خط رگرسیون	ضریب همبستگی	معادله خط رگرسیون		
r=۰/۹۰	y = ۴۷۶۹/۸-x + ۱۴۰۳۳	r=۰/۹۰	y = ۴۷۶۹/۸-x + ۱۴۰۳۳	number/mm <sup>3</sup>	گلبول‌های سفید
r=۰/۹۶	y = ۲/۴۵۹۶-x + ۸۴/۴۵۳	r=۰/۹۵=۲	y = ۳/۳۰۶۱-x + ۸۵/۲۸۴	%	لنفوسیت
r=۰/۹۵	y = ۵/۶۷۱۸-x + ۷/۵۰۶۹	r=۰/۸۸	y = ۶/۲۷۱۸-x + ۷/۴۶۵۳	%	نوتروفیل
r=۰/۷۶	y = ۰/۲۲۵۴-x + ۲/۵۷۷	r=۰/۷۱	y = ۰/۷۳۳-x + ۲/۷۰۵۹	%	اوتوزینوفیل
r=۰/۹۴	y = ۱/۷۶۱۲-x + ۳/۴۹۸۴	r=۰/۷۶	y = ۰/۶۸۲۹-x + ۲/۷۴۸۴	%	منوسیت
r=۰/۸۴	y = ۱/۳۵۰۴-x + ۱/۹۵۰۸	r=۰/۹۱	y = ۱/۱۸۹۱-x + ۱/۸۶۸۵	%	بازوفیل
r=۰/۸۵	y = ۰/۱۸۵۱-x + ۱/۷۲۸۴	r=۰/۸۵	y = ۰/۱۳۹۸-x + ۱/۷۲۷۳	%	گلبول‌های قرمز
r=۰/۹۲	y = ۳/۲۳۳۹-x + ۲۳/۸۴۶	r=۰/۸۹	y = ۴/۳۶۹۹-x + ۲۵/۱۴۵	%	هماتوکریت
r=۰/۹۴	y = ۲/۰۹۴۲-x + ۷/۵۵۲۲	r=۰/۸۸	y = ۱/۱۳۸۷-x + ۷/۷۲۴۸	gr/dl	هموگلوبین
r=۰/۷۵	y = ۵/۱۹۷۳-x + ۱۳۷/۴۱	r=۰/۷۶	y = ۱۴/۸-x + ۱۴۵/۲۳	fl	MCV
r=۰/۹۴	y = ۸/۶۶۶-x + ۴۳/۵۳۴	r=۰/۷۶	y = ۳/۲۵۲-x + ۴۴/۶۱۱	Pg	MCH
r=۰/۹۴	y = ۵/۳۰۳۸-x + ۳۱/۶۸۷	r=۰/۷۲	y = ۱/۱۸۲۷-x + ۳۰/۷۳۱	gr/dl	MCHC

از خود نشان می‌دهند (۷). پارامترهای خونی به عنوان یک شاخص جهت بررسی تغییرات فیزیولوژیکی در آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. سن، جنس، شرایط تغذیه‌ای و استرس از جمله عوامل شناخته شده‌ای هستند که سبب تغییر در سطوح فاکتورهای خونی می‌شوند (۲۰). این پارامترها در سال‌های اخیر به عنوان یک روش آسان و مفید، برای ارزیابی اثرات سمیت تحت کشنده آفت کش‌ها بر ماهی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳). همان‌طور که از نتایج به دست آمده مشخص گردیده است تعداد گلبول‌های سفید در همه تیمارها بعد از در معرض قرار گیری با دیازینون، کمتر از گروه شاهد بود. تغییرات حاصله در سطوح گلبول‌های سفید متعاقب قرار گرفتن در معرض دیازینون ممکن است ناشی از بروز اختلال در روند خونسازی و به دنبال آن کاهش یا تضعیف سیستم ایمنی غیر اختصاصی ماهی باشد (۶). آزمایش‌های مشابهی که قبلاً با استفاده از آفت کش‌های ارگانوفسفره بر روی دیگر ماهیان انجام گرفته این تغییرات را تأیید می‌نماید که در واقع این کاهش تعداد گلبول‌های سفید موجب ضعف ماهی در برابر عوامل بیماری‌زا و افزایش حساسیت آن نسبت به بیماری‌های واگیر می‌شود. Svoboda و همکاران در سال ۲۰۰۱ با مطالعه سمیت حاد دیازینون بر پارامترهای خونی کپور معمولی *Cyprinus carpio*، کاهش تعداد

در این مطالعه بین پارامترهای مختلف خونی و غلظت‌های مختلف دیازینون در روزهای ۷ و ۱۴ همبستگی ایجاد شده است. با توجه به معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی بالا می‌توان اظهار نمود که با افزایش غلظت دیازینون در تیمارهای مختلف کاهش آشکاری در تعداد گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها، اوتوزینوفیل‌ها، منوسیت‌ها، بازوفیل‌ها، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و شاخص‌های MCH، MCV و MCHC دیده می‌شود و این امر نشان دهنده یک رابطه معکوس بین تعداد و میزان این پارامترها و افزایش غلظت دیازینون می‌باشد (جدول ۶). با توجه به معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی بالا در جدول ۶ نوتروفیل‌ها تنها سلول‌هایی بودند که با افزایش غلظت دیازینون در تیمارهای مختلف افزایش آشکاری را از خود نشان دادند که این نشان دهنده یک رابطه مستقیم بین تعداد نوتروفیل‌ها و افزایش غلظت دیازینون می‌باشد.

### بحث

غلظت‌های بالای آفت کش‌ها در فاضلاب‌های کشاورزی ورودی به اکوسیستم‌های آبی اندازه‌گیری شده است (۲۳). در بین موجودات آبی ماهی‌ها حساسیت خاصی به آلاینده‌های زیست محیطی (آفت کش‌ها)



شاهد گزارش نمودند. از جمله تحقیقات دیگر در این زمینه می‌توان به تحقیقات Svoboda و همکاران بر ماهی کپور معمولی در سال ۲۰۰۱، Khoshbavar-Rostami و همکاران بر فیل ماهی در سال ۲۰۰۶ و Padash و همکاران بر تاسماهی ایرانی در سال ۲۰۱۰ اشاره کرد.

گلبول‌های قرمز خون نقش مهمی در انتقال اکسیژن در بدن ایفا می‌کنند و مقادیر ناکافی گلبول‌های قرمز اثر منفی بر روی بدن آبزیان داشته و باعث کاهش پروتئین کل پلاسما می‌شود (۱۴). در این مطالعه همان طور که از نتایج به دست آمده مشخص گردید تعداد گلبول‌های قرمز در همه تیمارها بعد از در معرض قرارگیری با دیزینون، کمتر از گروه شاهد بود. بر طبق نتایج این تحقیق و تحقیقات سایر محققین، کاهش تعداد گلبول‌های قرمز متعاقب قرار گرفتن در معرض دیزینون، ممکن است ناشی از بروز اختلال در روند تنظیم اسمزی و آسیب به آبشش ماهی‌ها باشد (۲). Koprucu و همکاران در سال ۲۰۰۶ کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) تعداد گلبول‌های قرمز را در مطالعه اثرات سمیت حاد دیزینون بر پارامترهای خونی گربه ماهی اروپایی *Silurus glanis* L گزارش نمودند. در این مطالعه علت کاهش تعداد گلبول‌های قرمز را اثرات تخریبی آفت‌کش‌ها بر روی بافت‌های سازنده گلبول‌های قرمز بیان کردند که نتیجه آن آسیب به گلبول‌های قرمز می‌باشد (۱۸). در مطالعه دیگر کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز خون گربه ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* در معرض دیزینون گزارش گردید (۲). Yekeen و Fawole در سال ۲۰۱۱، اثرات آفت‌کش آندوسولفان را بر پارامترهای خونی ماهی *Clarias gariepinus* مطالعه کردند و کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) تعداد گلبول‌های قرمز را به علت همولیز گلبول‌های قرمز خون تحت تأثیر آندوسولفان بیان کردند.

در این مطالعه میزان هموگلوبین خون در همه تیمارها بعد از در معرض قرارگیری با دیزینون، کمتر از گروه شاهد بود. علت کاهش هموگلوبین، ممکن است ناشی از اثرات تخریبی آفت‌کش‌ها بر روی بافت‌های سازنده هموگلوبین‌ها باشد که نتیجه آن آسیب به هموگلوبین‌ها می‌باشد. با توجه به نقش هموگلوبین خون در انتقال و توزیع اکسیژن محلول در خون به بافت‌ها جهت سوخت و ساز بدن، کاهش هموگلوبین خون، بچه ماهی سیم را به اختلالات تنفسی و کمبود اکسیژن دچار می‌کند که مشکلاتی را برای ماهی به وجود می‌آورد (۳۲). مطالعات زیادی در زمینه اثرات آفت‌کش‌ها بر میزان هموگلوبین خون صورت گرفته است. پاسخ خونی کپور معمولی *Cyprinus carpio* در تست سمیت حاد دیزینون، کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) میزان هموگلوبین در مقایسه با گروه شاهد بوده است و علت آن را کم خونی بیان کردند (۳۲). Banaee و همکاران در سال ۲۰۰۸، اثرات تحت کشنده دیزینون را بر پارامترهای خونی کپور معمولی *Cyprinus carpio*، مطالعه نمودند و کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) میزان هموگلوبین را گزارش نمودند. محققین در این مطالعه علت کاهش

گلبول‌های سفید را گزارش کردند و کاهش ایمنی غیر اختصاصی در این گونه را به علت کاهش تعداد گلبول‌های سفید دانستند. که این گونه ماهیان به آسانی به عوامل ثانویه پاتوژن مستعد و بیمار می‌شوند. این موضوع به ویژه در مورد ماهی سیم، به علت رها سازی هر ساله میلیون‌ها بچه ماهی سیم به دریا، از اهمیت خاصی برخوردار است. در صورت آلودگی محل‌های رها سازی بچه ماهیان و ایجاد مسمومیت‌های مزمن، زمینه تلفات بالای بچه ماهیان فراهم می‌شود. به عبارت دیگر حتی اگر ماهیان در اثر دیزینون کشته نشوند ولی احتمال بیمار شدن و تلف شدن آنها در اثر بیماری بیشتر خواهد شد (به دلیل ضعف سیستم ایمنی). Banaee و همکاران در سال ۲۰۰۸ سمیت تحت کشنده آفت‌کش دیزینون را بر ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* مورد مطالعه قرار دادند و کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) تعداد گلبول‌های سفید را مشاهده نمودند. در سال ۲۰۱۱، Kumar و همکاران اثرات سمیت حاد آفت‌کش آندوسولفان بر پارامترهای خونی ماهی تیلاپیا *Oreochromis mossambicus* مطالعه کردند و تعداد گلبول‌های سفید را به طور معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) پایین‌تر از گروه کنترل مشاهده نمودند.

گلبول‌های سفید شامل لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، اتوزینوفیل‌ها، منوسیت‌ها و بازوفیل‌ها می‌باشند که هر کدام نقش متفاوتی در بدن آبزیان ایفا می‌کنند. مرکزیت مکانیزم دفاعی اختصاصی، لنفوسیت‌ها هستند. لنفوسیت‌ها در گردش خون، ارگان‌های لنفی و دیگر بافت‌ها به ویژه در طی واکنش‌های التهابی دیده می‌شوند. لنفوسیت‌ها با تولید آنتی‌بادی (ایمونوگلوبین) در فرایند دفاعی بدن آبزیان نقش دارند (۲۸). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در این مطالعه نشان داد که درصد لنفوسیت‌ها، اتوزینوفیل‌ها، منوسیت‌ها و بازوفیل‌ها در تمام تیمارها پس از گذشت مدت زمان‌های ۷ و ۱۴ روز کمتر از گروه شاهد بود. بر طبق نتایج این تحقیق و سایر تحقیقات، تغییرات حاصله در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید متعاقب قرار گرفتن در معرض دیزینون ممکن است ناشی از بروز اختلال در روند خونسازی و به دنبال آن کاهش یا تضعیف سیستم ایمنی غیر اختصاصی ماهی سیم می‌شود و در پی آن مقاومت بدنی ماهیان در معرض دیزینون کاهش یافته و به آسانی به عوامل بیماریزا مستعد می‌شوند (۶). کاهش درصد لنفوسیت‌ها، اتوزینوفیل‌ها، منوسیت‌ها و بازوفیل‌ها در معرض دیزینون توسط محققین مختلف گزارش شده است. - Khoshbavar-Rostami و همکاران در سال ۲۰۰۶، اثر سم دیزینون را بر پارامترهای خونی ماهی ازون برون مطالعه نمودند و کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) لنفوسیت‌ها و افزایش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) نوتروفیل‌ها را گزارش نمودند. Fourgholam و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثرات غلظت‌های تحت کشنده دیزینون را بر ماهی کپور علفخوار *Ctenopharyngodon idella* مطالعه نمودند و افزایش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) درصد نوتروفیل و کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) درصد لنفوسیت‌ها و منوسیت‌ها را در مقایسه با گروه



در این مطالعه ممکن است ناشی از کاهش تولید هموگلوبین خون در پی قرار گرفتن در معرض دیازینون باشد (۲۹) علت دیگر کاهش MCHC در تحقیق حاضر کاهش هموگلوبین سلولی یا hypochromic است (۳). در طی کم خونی مقادیر MCHC کاهش می‌یابد، چون سلول‌های بزرگ تولید شده دارای غلظت هموگلوبین کمتری هستند (۱۲). کاهش MCHC حاکی از افزایش تولید و ترشح reticulocytes است که دارای اندازه بزرگتری بوده ولی محتوای هموگلوبین کمتری از گلبول‌های قرمز بالغ دارند (۲۱).

آزمایش‌های مشابهی که قبلاً با استفاده از آفت کش‌ها بر روی دیگر ماهیان انجام گرفته این تغییرات را تأیید می‌نمایند. Koprucu و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثرات سمیت دیازینون را بر روی شاخص‌های خونی (MCH، MCV، MCHC) گربه ماهی اروپایی *Silurus glanis L.* بررسی نمودند و کاهش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) شاخص‌های MCH، MCV و MCHC را در نمونه‌های مورد آزمایش گزارش نمودند. Saravanan و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثرات سمیت آفت کش لیندان را بر روی شاخص‌های خونی (MCH، MCV، MCHC) ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* مورد مطالعه قرار دادند و کاهش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) شاخص‌های خونی MCH، MCV و MCHC را در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نمودند. در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۱۱، Da Cuna و همکاران اثرات سمیت حاد آفت کش اندوسولفان با غلظت‌های  $1 \mu\text{g/l}$  و ۲۱ و بیشتر را بر شاخص‌های خونی MCH، MCV، MCHC و ماهی استخوانی *Cichlasoma dimerus* بررسی کردند. در این مطالعه شاخص میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV) در غلظت‌های  $1 \mu\text{g/l}$  و ۴ روندی کاهشی داشت. شاخص میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (MCH) در غلظت‌های  $1 \mu\text{g/l}$ ، ۳ و ۴ در مقایسه با گروه شاهد کاهش پیدا کرد و شاخص میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC) نیز در غلظت‌های  $1 \mu\text{g/l}$  و ۳ در مقایسه با گروه شاهد روند کاهشی از خود نشان داد.

در مجموع با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش و نتایج سایر محققین می‌توان گفت آفت کش دیازینون اثرات زیانبار مستقیم و غیر مستقیمی بر روی اکوسیستم‌های آبی و آبریزان می‌گذارد که کاهش این اثرات مضر مستلزم مدیریت پایدار جهت استفاده بهینه از این سم می‌باشد. همچنین از آنجایی که ماهی سیم یکی از ماهیان با ارزش دریای خزر است و رودخانه‌های دریای خزر و تالاب انزلی از محیط‌های تخم ریزی این ماهی محسوب می‌شوند، به نظر می‌رسد با توجه به آلودگی این مناطق به آفت کش‌ها در آینده‌ای نزدیک تکثیر و بقا این ماهی با تهدید جدی مواجه شود. با اتخاذ روش‌های نوین کشاورزی در جهت توسعه پایدار عملاً ضریب بازگشت ماهیان به مصب‌ها و رودخانه‌ها جهت تخم ریزی بالا رفته و به محیطی سالم و امن جهت رهاسازی بچه ماهیان مبدل گشته و نهایتاً ذخایر

هموگلوبین را کم خونی ناشی از در معرض قرار گیری با دیازینون بیان کردند. همچنین کاهش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) میزان هموگلوبین خون در مطالعه اثرات سمیت حاد دیازینون بر پارامترهای خونی گربه ماهی اروپایی *Silurus glanis L.* گزارش شد (۱۸).

هماتوکریت به منظور اندازه‌گیری حجم گلبول قرمز خون به کار رفته و برحسب درصد حجم گلبول قرمز نسبت به حجم کل خون بیان می‌گردد. این آزمایش امروزه به عنوان ساده ترین تست تفکیکی برای کم خونی به کار گرفته می‌شود (۳۴). با توجه به نتایج این تحقیق، میزان هماتوکریت خون بچه ماهی سیم در معرض دیازینون، در همه تیمارها کمتر از گروه شاهد بود. با توجه به تحقیقات مشابه، کاهش درصد هماتوکریت ممکن است به علت همولیز گلبول‌های قرمز خون باشد که منجر به کاهش هماتوکریت و نتیجه آن کم خونی در ماهی می‌باشد (۳۶). Svobodova و همکاران در سال ۲۰۰۱ با مطالعه سمیت حاد دیازینون بر پارامترهای خونی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio*، کاهش معنی‌دار میزان هماتوکریت خون را مشاهده نمودند. در سال ۲۰۰۳ نیز Svobodova و همکاران اثرات غلظت‌های تحت کشنده آفت کش دلتامترین را بر پارامترهای خونی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* مورد مطالعه قرار دادند و نتایج مشابهی را در کاهش میزان هماتوکریت خون ماهی کپور معمولی به دست آوردند. Koprucu و همکاران در سال ۲۰۰۶ کاهش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) میزان هماتوکریت خون را در مطالعه اثرات سمیت حاد دیازینون بر پارامترهای خونی گربه ماهی اروپایی *Silurus glanis L.* گزارش نمودند. Banaee و همکاران در سال ۲۰۰۸، اثرات تحت کشنده دیازینون را بر پارامترهای خونی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio*، مطالعه نمودند و کاهش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) درصد هماتوکریت را گزارش نمودند. Yekee و Fawole در سال ۲۰۱۱، اثرات آفت کش آندوسولفان را بر پارامترهای خونی ماهی *Clarias gariepinus* مطالعه کردند و کاهش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) درصد هماتوکریت خون تحت تأثیر آفت کش آندوسولفان را گزارش کردند.

کاهش در اندازه و مقدار هموگلوبین گلبول‌های قرمز به وسیله شاخص‌های MCH، MCV و MCHC اندازه گیری می‌شود که می‌تواند نشانه‌ای از وضعیت کم خونی در ماهیان مورد مطالعه باشد (۹). این وضعیت کم خونی ناشی از استرس‌های عفونت‌های باکتریایی (۳۰) و در معرض قرار گیری با آفت کش‌های مورد استفاده در کشاورزی می‌باشد (۲۲). با توجه به نتایج این تحقیق، میزان شاخص‌های MCH، MCV و MCHC خون بچه ماهی سیم در معرض دیازینون، پایین‌تر از گروه شاهد بود. وجود درصد زیادی از گلبول‌های قرمز نابالغ در جریان خون ممکن است دلیلی بر کاهش میزان شاخص‌های میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV) و میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (MCH) باشد. از طرف دیگر کاهش شاخص میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC)



آزیزان به صورت کلان حفاظت می‌گردد.

## References

1. Abel, P., Axiak, V. (1990) Ecotoxicology and the Marine Environment. (1<sup>st</sup> ed.) Old University Building Press. Malta, Austria.
2. Adedeji, O., Adedeji, O., Adeyemo, O., Agbede, S. (2009) Acute Effects of Diazinon on Blood Paramters In The African Catfish (*Clarias gariepinus*). *Int J Hematol*. 5: 3940-3946.
3. Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C. T., Ayyappan, S. (2004) Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost; *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicol Environ Saf*. 58: 220-226.
4. Atamanalp, M., Yanik, T. (2003) Alterations in hematological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed to mancozeb. *Turk J Vet Animal Sci*. 27: 1213-1217.
5. Aydin, R., Koprucu, K. (2005) Acute toxicity of diazinon on the common carp *Cyprinus carpio* embryos and larvae. *Pestic Biochem Physiol*. 82: 220-225.
6. Banaee, M., Mirvagefei, R., Rafei, G., Majazi Amiri, B. (2008) Effect of sub-lethal Diazinon Concentrations on Blood Plasma Biochemistry. *Int J Environ Res Public Health*. 2: 189-198.
7. Banaee, M., Sureda, A., Mirvagefei, R., Ahmadi, K. (2011) Effect of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pestic Biochem Physiol*. 99: 1-6.
8. Blaxhall, P. C., Daisley, K. W. (1983) Roution haematological methods for use with fish blood. *Fish Biol*. 5: 771-781.
9. Da Cuna, R., Vazquez, G., Piol, M., Guerrero, N., Maggese, M., Nostro, F. (2011) Assesment of the acute toxicity of the organochlorine pesticide endosulfan in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Ecotoxicol Environ Saf*. 74: 1065-1073.
10. David, M., Mushigeri, S.B., Shivakumar, R., Philip, G.H. (2003) Response of *Cyprinus carpio* (Linn) to sublethal concentration of cypermethrin: alterations in protein metabolism profiles. *Chemosphere*. 56: 347-352.
11. Dutta, H.M., Meijer, H.J.M. (2003) Sublethal

## تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس درویشی ریاست محترم مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت، آقای دکتر پورکاظمی ریاست محترم انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت و کارشناسان محترم آن مرکز جناب آقایان مهندس کاظمی (ریاست محترم بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو)، مهندس عابدین زاده، مهندس عاشوری، مهندس قناعت پرست، دکتر ایوب یوسفی، مهندس محمد پور دهقانی و کلیه عزیزانی که در انجام کار ما را یاری فرمودند نهایت سپاسگذاری و تشکر را داریم.

effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, *Lepomis macrochirus*: a microscopic analysis. *Environ Pollut*. 125: 355-360.

12. Evans, G.O. (2009) Animal Hematotoxicology. (2<sup>nd</sup> ed.) CRC Press. Bocarton, USA.
13. Groff, J.M., Zinkl, J.G. (1999) Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish Common carp and goldfish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 2: 741-776.
14. Gross, R., Gliwitzki, M., Gross, P., Frank, K. (1996) Anaemia and haemo-globin status: A new concept and a new method of assessment. *Food Nutr Bull*. 17: 27-36.
15. Houston, A.H. (1990) Blood and circulation. In: *Methods in Fish Biology*. Schreck, C.B., Moyle, P.B. (eds.). (1<sup>st</sup> ed.) American Fisheries Society. Bethesda, Maryland, USA.
16. Inyang, I., Daka, E., Ogamba, E. (2010) Changes in electrolyte activities of *Clarias gariepinus* exposed to diazinon. *Biol Environ Sci*. 7: 198-200.
17. Khoshbavar-Rostami, H.A., Soltani, M., Hassan, H.M.D. (2006) Immune response of great sturgeon (*Huso huso*) subjected to long-term exposure to sublethal concentration of the organophosphate, diazinon. *Aquac Res*. 256: 88-94.
18. Koprucu, S.S., Koprucu, K., Ural, M.S., Ispir, U., Pala, M. (2006) Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of



- fingerling European catfish (*Silurus glanis* L.). Pestic Biochem Physiol. 86: 99-105.
19. Kumar, N., Antony, P., Pal, A.K., Remya, S., Akalakur, M., Rana, R.S., Gupta, S., Raman, R.P., Jadhao, S.B. (2011) Anti-oxidative and immunohematological status of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during acute toxicity test of endosulfan. Pestic Biochem Physiol. 99: 45-52.
  20. Kumar, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Choudhury, D., Yengkokpam, S., Mukherjee, S.C. (2005) Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. Fish Shellfish Immunol. 19: 331-344.
  21. Lermen, C.L., Lappe, R., Crestani, M., Vieira, V.P., Gioda, C.R., Schetinger, M.R.C., Baldisserotto, B., Moraes, G., Morsch, V.M. (2004) Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. Aquac Res. 239: 497-507.
  22. Mikula, P., Modra, H., Nemethova, D., Groch, L., Svobodova, Z. (2008) Effects of subchronic exposure to LASSO MTX (alachlor 42% W/V) on hematological indices and histology of the common carp, *Cyprinus carpio* L. Bull Environ Contam Toxicol. 81: 475-479.
  23. Min, E.U., Kang, J.C. (2008) Effect of waterborne benomyl on the hematological and antioxidant parameters of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Pestic Biochem Physiol. 92: 138-143.
  24. Nussey, G., Vanvuren, H.J., Dupreez, H.H. (1995) Effect of copper on the differential white blood cell counts of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*. Comp Biochem Physiol. 111: 381-388.
  25. Padash-Barmchi, Z., Safahieh, A., Bahmani, M., Savari, A., Kazemi, R. (2010) Immune responses and behavior alterations of Persian sturgeon fingerlings *Acipenser persicus* exposed to sublethal concentrations of diazinon. Toxicol Environ Chem. 92: 159-167.
  26. Pourgholam, R., Soltani, M., Hassan, M. D., Ghoroghi, A., Nahavandi, R., Pourgholam, H. (2006) Determination of diazinon LC50 in Grass carp *Ctenopharyngodon idella* and the effect of sublethal concentration of toxin on some hematological and biochemical indices. Iran J Fish Sci. 5: 67-82.
  27. Rehulka, J., Minark, B., Adamec, V., Rehulka, E. (2005) Investigation of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquac Res. 36: 22-32.
  28. Sakai, M. (1999) Current research status of fish immunostimulants. Aquac Res. 172: 63-92.
  29. Saravanan, M., Kumar, K.P., Ramesh, M. (2011) Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute chronic sublethal exposure to lindane. Pestic Biochem Physiol. 100: 206-211.
  30. Silveira-Coffigny, R., Prieto-Trujillo, A., Ascencio-Valle, F. (2004) Effects of different stressors in haematological variables in cultured *Oreochromis aureus* S. Comp Biochem Physiol Part C: Toxicol Pharmacol. 139: 245-250.
  31. Stevens, M. L. (1997) Fundamentals of Clinical Hematology. (1<sup>st</sup> ed.) Saunders Company Press. Philadelphia, USA, 393 p.
  32. Svobodova, M., Lusova, V., Drastichova, J., Habek, V. (2001) The effect of diazinon on haematological indices of common carp *Cyprinus carpio*. Acta Vet Brno. 70: 457-465.
  33. Svobodova, Z., Lusova, V., Drastichova, J., Svoboda, M., Zlabek, V. (2003) Effect of deltamethrin on haematological indices of common carp *Cyprinus carpio*. Acta Vet Brno. 72: 79-85.
  34. Tabarestani, M. (1985) Medical Hematology. (1<sup>st</sup> ed.) Mashhad University Press. Mashhad, Iran. 209 p.
  35. TRC, O.E.C.D. (1984) Guideline for testing if chemical section 2, on biotic systemms. Paris, France. p. 180-202.
  36. Yekeen, T.A., Fawole, O.O. (2011) Toxic effects of endosulfan on haematological and biochemical indices of *Clarias gariepinus*. Afr J Biotechnol. 10: 14-19.





## Study of sublethal toxicity of pesticide diazinon on certain hematological parameters of caspian sea common bream fingerlings (*Abramis brama*)

Jaddi, Y.<sup>1\*</sup>, Safahieh, A.<sup>2</sup>, Movahedinia, A.A.<sup>2</sup>, Dajandian, S.<sup>3</sup>, Hallajian, A.<sup>4</sup>, Hashemi, R.S.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Graduated from the Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Tehnology, Khorramshahr-Iran

<sup>2</sup>Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Tehnology, Khorramshahr-Iran

<sup>3</sup>Department of Physiology, Inland Water Aquaculture Research Center, Bandar Anzali-Iran

<sup>4</sup>Department of Physiology, International Sturgeon Research Institute, Rasht-Iran

<sup>5</sup>Department of Fishery, Islamic Azad University, Rasht Branch, Rasht-Iran

(Received 9 November 2015, Accepted 13 January 2016)

### Abstract:

**BACKGROUND:** Diazinon is an organophosphate pesticide which is widely used in paddy fields located in northern parts of Iran, though it is prohibited to be used in many countries. **OBJECTIVES:** The purpose of the present study was to investigate sublethal effects of diazinon on blood parameters of common bream *Abramis brama*. **METHODS:** In sublethal toxicity test, fish were exposed to diazinon concentrations of 0.04, 0.36, 0.73 and 1.46 mg/l for 14 days and their hematological parameters including WBCs, white cell differential count, RBCs, Hct, Hb, MCV, MCH and MCHC were studied. **RESULTS:** The results of sublethal toxicity indicated that by increase of toxicant concentration a significant decrease was appeared in WBCs, RBCs, Hct, Hb and MCH both after 7 and 14 days ( $p < 0.05$ ). After 7 days a significant decrease was observed in lymphocytes count which accounted for about %81 of the control group. The neutrophils count was also face the same reduction so that after 14 days of diazinon exposure, the neutrophils counted decreased to about %85 of control group. **CONCLUSIONS:** Regarding the toxicity of diazinon on various hematological parameters and the diazinon concentration in Iranian waters and considering the fish habitat in the waters which are connected to the Caspian Sea it suggests that the pesticide diazinon affect the fish survival.

**Keyword:** *Abramis brama*, common bream, diazinon, hematological parameters, toxicology

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Physical and chemical parameters of water during experimental period.

**Table 2.** The total number of white blood cells and white blood cell differential count common bream after 7 days of exposure to diazinon. Treatments marked with different letters statistically significant differences with each other ( $p < 0.05$ ).

**Table 3.** The total number of white blood cells and white blood cell differential count common bream after 14 days of exposure to diazinon. Notice: Treatments marked with different letters statistically significant differences with each other ( $p < 0.05$ ).

**Table 4.** Blood parameters common bream after 7 days of exposure to diazinon. Notice: Treatments marked with different letters statistically significant differences with each other ( $p < 0.05$ ).

**Table 5.** Blood parameters common bream after 14 days of exposure to diazinon. Notice: Treatments marked with different letters statistically significant differences with each other ( $p < 0.05$ ).

**Table 6.** Blood parameters of the linear regression equation and correlation coefficient common bream after 7 and 14 days of exposure to diazinon.



\*Corresponding author's email: yaqubjaddi1987@gmail.com, Tel: 013-25711342, Fax: 013-25711342

J. Vet. Res. 71, 1, 2016