مجله شیلات
سال اول، پیش‌شماره اول، خرداد ۸۶

تأثیر سم متاسیستوکس بر مرگ و میر و فاکتورهای خونی گونه فیل ماهی (*Huso huso*)

مهشید شاملوفر[۱]، ابوالقاسم کمالی[۲]، محمد پیری[۳] و نورمحمد مختومی[۴]

[۱] دانشگاه آزاداسلامی واحد آزادشهر، [۲] دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳] اداره کل منابع طبیعی استان سمنان و [۴] مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی

چکیده

سمیت حاد و اثرات سم متاسیستوکس بر برخی فاکتورهای خونی بچه ماهیان فیل ماهی براساس دستورالعمل O.E.C.D[1]، به‌صورت استاتیک (ساکن)، در شرایط کیفی ثابت آب و دمای ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد مورد مطالعه قرار گرفت. در آزمایش‌ها سمیت حاد میانگین وزنی بچه ماهیان فیل ماهی ۰/۵۶±۴/۲۸ گرم بود. میزان LC_{50} ۹۶ ساعته این سم برای گونه فیل ماهی ۱/۳۳۶۲ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. همچنین حداکثر غلظت مجاز سم متاسیستوکس در محیط‌های طبیعی بر گونه فیل ماهی ۰/۱۳۳۶ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد. براساس طبقه‌بندی جدول سطوح سمیت حشره‌کش‌ها، سم متاسیستوکس برای گونه فیل ماهی جزو سموم سمی طبقه‌بندی شد. از نظر بالینی ماهیان مسموم دچار انحناء ستون فقرات و فلج عصبی شدند و عوارض غیر طبیعی مثل از دست دادن تعادل، قرار گرفتن به پهلو و شنای نیم دایره‌ای و تیره شدن سطح بدن در ناحیه پشتی در این بچه ماهیان مشاهده شد. مطالعه فاکتورهای خونی بچه فیل ماهیان با میانگین وزنی ۱۷/۱ گرم تحت تأثیر سم متاسیستوکس در غلظت‌های کمتر از LC_{50} ۹۶ ساعته (۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) انجام شد. نتایج حاصله نشان داد که تعداد کل گلبول‌های سفید و قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCH، MCV و درصد گلبول‌های سفید لنفوسیت و ائوزینوفیل بچه فیل ماهیان در معرض سم متاسیستوکس کاهش معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد داشته است ($P<0/05$). همچنین افزایش معنی‌دار درصد هتروفیل‌های تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ($P<0/05$). اما تغییر معنی‌داری در MCHC (متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز) و درصد گلبول‌های سفید مونوسیت و بازوفیل مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: فیل ماهی، متاسیستوکس، سمیت حاد، فاکتورهای خونی

مقدمه

استفاده از سموم آفت‌کش تا زمانی که شیوه‌های مبارزه بیولوژیک با آفات گیاهی مرسوم نشود امری اجتناب‌ناپذیر است. بنابراین توصیه بر این است که حداقل از آفت‌کش‌های با درجه سمیت و نیمه عمر کمتر استفاده شود. سموم و آفت‌کش‌ها در حال حاضر از عمده‌ترین عوامل ایجاد مسمومیت در ماهی هستند که ممکن است در غلظت کم، تأثیر مستقیمی روی ماهی نداشته باشند ولی در طولانی مدت روی مراحل اولیه تکامل ماهی مؤثر می‌باشند. به هر حال آفت‌کش‌ها در بیشتر موارد منجر به آسیب ماهیان می‌شوند (۷). از این رو تحقیقات اکولوژیکی و بیولوژیکی برای تعیین اثرات مواد غیرطبیعی بر حیات محیط زیست در سال‌های اخیر افزایش یافته است (۱۷).

1- Organisation Economic Coopration Development

داده‌های مربوط به سمیت ناشی از استعمال آفت‌کش‌ها و تأثیر آن برروی موجودات غیر هدف مثل ماهی به‌عنوان مبنا و پایه‌ای برای سنجش و تعیین خطرات اکوتوکسیکولوژیکی آفت‌کش‌ها برروی سیستم‌های آبی می‌باشد (۱۳). حساسیت گونه‌های مختلف ماهی به مواد سمی متفاوت، متغیر است، از این رو آزمایش‌های سم‌شناسی برروی ماهیان مختلف صورت می‌گیرد (۱۲). همچنین بررسی کمی فاکتورهای خونی در مراحل اولیه رشد و نمو ماهیان به‌عنوان یک شاخص مهم وضعیت فیزیولوژیک محسوب می‌گردد که در تکثیر و پرورش تاسماهیان حائز اهمیت است (۱۰).

در این تحقیق با توجه به اینکه اغلب رودخانه‌های محل مهاجرت، تخمریزی و پرورش اولیه لاروی ماهیان مهاجر آب شیرین به‌طور عام و محل رها کرد بچه ماهیان خاویاری (فیل ماهی) به‌طور خاص در مجاورت اراضی کشاورزی مصرف‌کننده سم متاسیستوکس به‌عنوان سم آفت‌کش قرار داشتند، آثار این سم روی فاکتورهای خونی فیل ماهیان جوان مورد مطالعه قرار گرفت. میزان مصرف سم متاسیستوکس در سال ۱۳۸۱ در استان گلستان ۱۸ تن بوده است (سازمان جهاد کشاورزی استان گلستان، ۱۳۸۱، مکاتبات شخصی). سم حشره‌کش ارگانوفسفره اکسی دیمتون متیل ۲۵ درصد، با نام تجاری متاسیستوکس و سیستوکسی ـ آر به بازار عرضه می‌گردد و فرمول مولکولی آن "$C_6H_{15}O_4PS_2$" می‌باشد. این ترکیب سیستمیک و پایدار با اثر تماسی و گوارشی بوده و دارای خاصیت شته‌کشی و کنه‌کشی می‌باشد. این سم بسیار خطرناک برای انسان و سایر موجودات است و در آب و اکثر حلال‌های آلی به خوبی حل می‌شود. در بازار به‌صورت امولسیون ۲۵ درصد وجود دارد و برای کنترل شته‌ها، پسیل‌ها، تریپس‌ها، آفات پنبه و سیب به کار می‌رود (۲).

همچنین با علم به اینکه تعیین میانه غلظت کشنده یا LC50 برای مطالعات توکسیکولوژی ضروری است، ابتدا میزان LC50 در مورد سم دیازینون در این گونه، طی ۹۶ ساعت تعیین شد و به موازات این اقدام آثار رفتاری و خون شناسی نیز مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش تعداد ۱۸۶ قطعه فیل ماهی با میانگین وزنی ۰/۵۶±۴/۲۸ گرم مورد استفاده قرار گرفت. این آزمایش در ۱۸ عدد وان گرد فایبر گلاس با حجم ۵۰ لیتر و قطر و ارتفاع به‌ترتیب ۵۳ و ۲۵ سانتی‌متر به‌صورت استاتیک یا ساکن (نوعی از آزمایش‌ها سمیت است که محلول آزمایش در طی آزمایش تغییر نکرده و جایگزین نمی‌شود) براساس دستورالعمل OECD انجام شد.

بچه ماهیان از استخرهای آماده رهاسازی در بخش تکثیر کارگاه شهید مرجانی گرگان تهیه و در حوضچه‌های مصنوعی جهت رفع استرس و سازگاری، به مدت ۸ روز نگهداری و تغذیه شدند. سپس تعداد مورد نیاز به‌صورت اتفاقی جمع‌آوری و ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش‌ها به ۱۸ عدد وان که کاملاً ضد عفونی و شستشو داده شده بودند، منتقل شدند. این وان‌ها در هر آزمایش به میزان ۳۰ تا ۴۰ لیتر با آب دکلرینه شده آبگیری شدند و به ازای هر لیتر آب یک گرم بچه ماهی به هروان اضافه شد. پس از قرار گرفتن بچه ماهیان در وان‌ها غذادهی کلاً قطع گردید. برای تعیین محدوده کشندگی سم متاسیستوکس در گونه فیل‌ماهی، تعداد ۱۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی ۳/۴۷ گرم در وان‌هایی که به میزان ۳۵ لیتر آبگیری شده بود، قرار گرفتند. در این آزمایش غلظت بین ۲ تا ۵ میلی‌گرم در لیتر به روش لگاریتمی به ۵ تیمار (۲، ۲/۵، ۳/۲، ۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) میلی‌گرم در لیتر تقسیم شد. این آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و یک تیمار شاهد، نیز در نظر گرفته شد در ماهیان مورد آزمون در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر هم تلفات در مدت ۹۶ ساعت زیاد بود به همین دلیل برای انجام آزمایش‌های اصلی، غلظت بین ۱/۵ تا ۳ میلی‌گرم در لیتر به ۵ تیمار (۱/۵، ۱/۸، ۲/۱، ۲/۵۲ و ۳) تقسیم گردید.

میزان LC50 بعد از ۹۶ ساعت در معرض قرارگیری با استفاده از نرم‌افزارMini tab و روش پروبیت آنالیز محاسبه شد. میانگین فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب محیط آزمایش به شرح زیر بود:

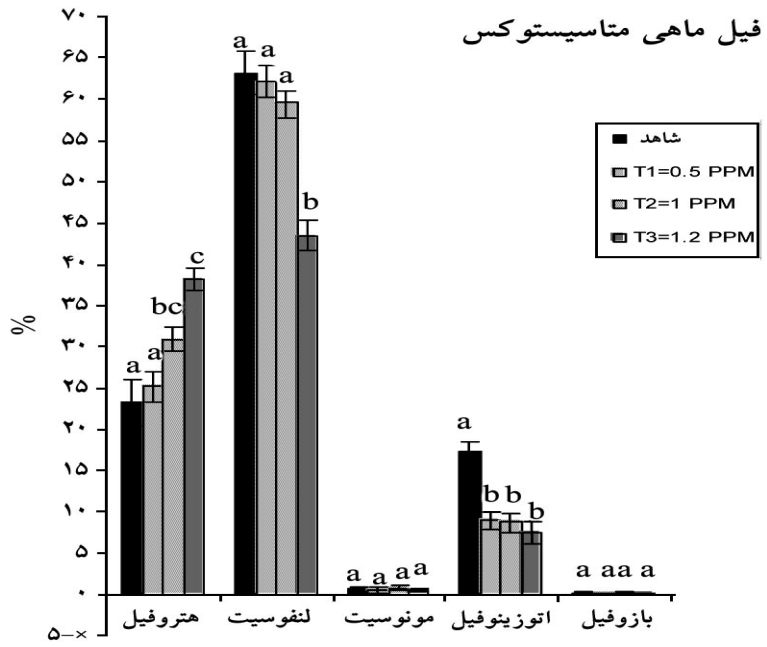
درجه حرارت ۲±۲۰ سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۴mg/l±۷/۹، نیتریت ۰/۰۲۷ mg/l، سختی کل

۱۹۸ mg/l، pH ۸/۸±۰/۱۱، هدایت الکتریکی ۲۹۹۲/٤۳±۳٦۰/۱٤ میکروموس در لیتر. در زمان انجام آزمایش‌ها سمیت حاد رفتارهای بالینی بچه ماهیان مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام مطالعات خونشناسی تعداد ٤۸ عدد بچه ماهی با میانگین وزنی ۱۷/۱ گرم مورد استفاده قرار گرفت. این آزمایش‌ها در یک تیمار شاهد و سه تیمار آزمایشی از سم متاسیستوکس با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر انجام شد. خونگیری پس از ۹٦ ساعت قرار گرفتن ماهیان در معرض این سم به روش قطع ساقه دمی انجام شد. خون داخل و یال‌های پنیسیلین حاوی[1] IU ۲۰۰-۲۵۰ هپارین[2] در دمای حدود صفر درجه به آزمایشگاه منتقل شد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۰). در آزمایشگاه تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)[3]، هماتوکریت (PCV)، هموگلوبین (Hb)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC)، تعداد گلبول‌های سفید و درصد هر یک از گلبول‌های سفید هتروفیل، لنفوسیت، ائوزینوفیل، مونوسیت و بازوفیل تعیین گردید (۸ و ۲۲).

نتایج

مسمومیت‌زایی: میزان LC50 ۹٦ ساعته سم متاسیستوکس در گونه فیل ماهی ۱/۳۳٦۲ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. جدول ۱ و شکل ۱ مقادیر LC سم متاسیستوکس برروی بچه فیل ماهیان را در زمان‌های ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت نشان می‌دهد.

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد بین مقدار LC_{10} و LC_{50} در ۲٤ ساعت اول آزمایش تفاوت زیادی وجود دارد ولی طی ۷۲ ساعت بعد این مقادیر تقریباً خیلی به هم نزدیک می‌باشد. همچنین در ۲٤ ساعت اول، فاصله بین غلظتی که ۵۰ درصد بچه ماهیان در آن تلف می‌شوند با غلظتی که ۹۰ درصد بچه ماهیان در آن تلف می‌شوند کمتر از روزهای دوم، سوم و چهارم است.



شکل ۱- درصد گلبول‌های سفید هتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل و بازوفیل بچه فیل ماهیان در معرض سم متاسیستوکس

1- International unit
2- Heparin
3- Red - blood – cell

جدول ۱- مقادیر عددی LC سم متاسیستوکس برای بچه ماهیان فیل ماهی (میلی‌گرم در لیتر)

LC	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹٦ ساعت
10	۱/٤۳۱۸	۱/۲٦٦۷	۱/۲٤۸۲	۱/۱۹۲
50	۳/۰۲۷٦	۱/٤۹٦	۱/٤۳۳۱	۱/۳۳٦۲
90	۳/۷۱٤٦	۲/۹۰۸۰	۲/۸۱۱۹	۲/٤۰٥٤

جدول ۲ معادلات رگرسیون و ضریب همبستگی بین ستون لگاریتم غلظت سم متاسیستوکس با میزان مرگ و میر بچه فیل ماهیان در ستون مقادیر آماری را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود معادلات رگرسیون همگی درجه سه هستند و مقادیر همبستگی بالایی بین میزان مرگ و میر بچه ماهیان (Y) و افزایش غلظت سم (X) وجود دارد. به‌عنوان مثال در زمان ٤۸ ساعت (R^2=۰/۹۹۷۸) به این معنی است که ۹۹ درصد میزان مرگ و میر به افزایش غلظت سم بستگی دارد.

همچنین از مقادیر LC_{10} و LC_{50} مقدار حداقل غلظت مؤثر (LOEC) سم متاسیستوکس بر گونه فیل ماهی ۱/۱۹۲ mg/ l و حداکثر غلظت مجاز (MAC) این سم بر گونه یاد شده ۰/۱۳۳٦ mg/l محاسبه شد.

معمول‌ترین عارضه برای ماهیان مسموم شده با این سم، انحناء ستون فقرات (Lordosis) و فلج عصبی بود. ماهیانی که در معرض سم متاسیستوکس قرار گرفته بودند دچار اختلالات تنفسی شده به‌طوری که سرپوش‌های آبششی را تندتر باز و بسته کرده و اطراف سنگ هوا و حباب‌های هوا شنا می‌کردند. اضطراب ماهیان به‌صورت افزایش عکس‌العمل در مقابل محرک‌های بیرونی، گرفتگی عضلات دور دهانی و باله‌ای و تنفس ناموزون و غیر عادی نمود یافت. بیرون زدگی چشم وجود مخاط فراوان روی سطح بدن و ایجاد لکه‌های خونی در اطراف چشم و پرخونی آبشش‌ها از عوارض ظاهری قرار گرفتن ماهیان در معرض این سم بود.

هماتولوژی: نتایج مقایسات بین فاکتورهای خونی فیل ماهیانی که در معرض سم متاسیستوکس قرار داشتند با فیل ماهیان شاهد در جدول‌های ۳ و ٤ و شکل ۲ آمده است.

نتایج بررسی مورفولوژی سلول‌های خونی: پس از تهیه گسترش خونی ماهیان گروه شاهد و گروه‌های آزمایشی، اشکال گلبول‌های خونی این ماهیان با میکروسکوپ نوری و در بزرگنمایی ۱۰×۱۰۰ بررسی شد و تغییرات گلبول‌های خونی گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد بررسی شد.

شکل ۲ گلبول‌های خونی بچه فیل ماهیان گروه شاهد را نشان می‌دهد و شکل‌های ۳ و ٤ مربوط به خون بچه فیل ماهیانی است که در معرض سم متاسیستوکس قرار داشتند.

جدول ۲- معادلات رگرسیون و ضریب همبستگی بین لگاریتم غلظت سم متاسیستوکس با میزان مرگ و میر بچه فیل ماهیان

زمان	معادله خط رگرسیون	ضریب تبیین (R^2)
۲٤ ساعت	$Y = ۱۱۷/۰۲۲ x^3 - ۱۱٥/۸٦۹ x^2 + ۲۹/۰٤۲ x + ۰/۰۰٤۲۱$	۰/۹۸۲٤
٤۸ ساعت	$Y = ۱٤۹/۲۰٤ x^3 - ۱٤۷/۲۸٦ x^2 - ٤۹/۷٦۳۲x + ۰/۰۰۰۲$	۰/۹۹۷۸
۷۲ ساعت	$Y = ۱۳۸/۹۱٦ x^3 - ۱٤٥/٥٦۱ x^2 + ٥۱/۲۲۷۹ x + ۰/۰۰۱٦٤$	۰/۹۹۷۸
۹٦ ساعت	$Y = ۳۰٦/۹۹٥ x^3 - ۲٤۷/۲٦ x^2 + ٦٦/۱۹٦x - ۰/۰۲۷۳$	۰/۹۹۷۸

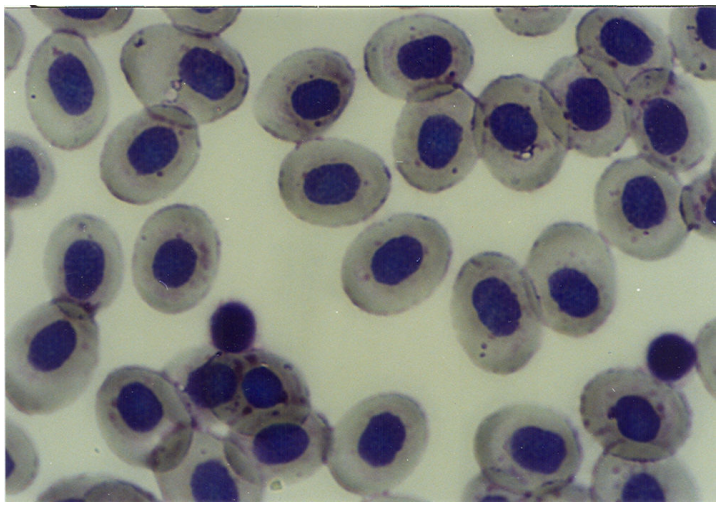
جدول ۳- شاخص‌های خونی فیل ماهی در معرض غلظت‌های مختلف سم متاسسیتوکس در مقایسه با گروه شاهد

(a: با شاهد اختلاف معنی‌دار ندارد، b: با شاهد اختلاف معنی‌دار دارد)

شاخص‌ها	واحدها	تیمار	تعداد	میانگین	خطای معیار	P
WBC	عدد/ mm^3	شاهد	۱۱	۳۳۷۲/۷ a	۱٤٤/۰۳۲	۰/۰۰۲
		۰/۵ppm	۹	۲۵۵۵/٦ b	۲۵۱/۱٦٦	
		۱ ppm	۹	۲۲۸۳/۳b	۲۷۸/۵۸۸	
		۱/۵Ppm	۸	۲٦۱۲/۵ b	۱۰٤/۲٦۲	
Hb	gr/dl	شاهد	۱۱	٤/۰۱۸۲a	۰/۲۰۹	۰/۲٦٤
		۰/۵ppm	۹	۳/۳۷۲۲a	۰/٤۸۱	
		۱ ppm	۹	۳/۱۵ a	۰/٤۱٦	
		۱/۵ppm	۸	۳/۳۱۲۵a	۰/۲۱۷	
PCV	٪	شاهد	۱۱	۲۲/۷۲۷ a	۱/۷۱٦	۰/۰۰۷
		۰/۵ppm	۹	۱٦/۸۸۹ b	۱/٦۱۱	
		۱ ppm	۹	۱۵/۱٦۷b	۱/۸۱۵	
		۱/۵ppm	۸	۱٦/۲۵ b	۱/۱۰۳	
RBC	عدد×$۱۰^٦$/ µl	شاهد	۱۱	۰/۸۸۸۹a	۰/۰۰۸	۰/۲٤۵
		۰/۵ppm	۹	۰/۸۷۵٤a	۰/۰۱۹	
		۱ ppm	۹	۰/۸٦٦۵ a	۰/۰۲۹	
		۱/۵ppm	۸	۰/۸۵۱٤a	۰/۰۱۵	
MCV	fl	شاهد	۱۱	۲۵۵/٦۷ a	۱۸/٤۷٦	۰/۰۰۵
		۰/۵ppm	۹	۱۹۲/۹۲ b	۱٤/۷۳۳	
		۱ ppm	۹	۱۷۵/۰۳۷b	۱۵/۷۳۳	
		۱/۵ppm	۸	۱۹۰/۸٦۲ b	۱۰/۱۵	
MCH	pg	شاهد	۱۱	٤۵/۲۰٤a	۲/٤۰۲	۰/۳۵۲
		۰/۵ppm	۹	۳۸/۵۱b	۲/٤۰۳	
		۱ ppm	۹	۳٦/۳۵b	۵/۳۳	
		۱/۵ppm	۸	۳۸/۹۰٦b	۳/۷۲۷	
MCHC	gr/dl	شاهد	۱۱	۱۷/٦۸۰a	۱/۲۳۲	۰/۷۵۸
		۰/۵ppm	۹	۱۹/۹٦٦a	۳/۲٦۹	
		۱ ppm	۹	۲۰/۷٦۸ a	۱/٤	
		۱/۵ppm	۸	۲۰/۳۸٤a	۱/۸۷٦	

جدول ٤- مقادیر میانگین و خطای معیار درصد گلبول‌های سفید هتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل و بازوفیل بچه فیل ماهیان در معرض سم متاسیستوکس

	تیمار	تعداد	میانگین	خطای معیار	P
هتروفیل	شاهد	۱۱	۲۳/۲۵[a]	۲/۸۸۵۱	۰/۰۰۰
	۰/۵ppm	۹	۲۵/۱۷۶[a]	۱/۸۳۱	
	۱ppm	۹	۳۰/۷۷۸ [b]	۱/۵۵۸	
	۱/۵ppm	۸	۳۸/۱۸۲ [c]	۱/۲٦٤	
لنفوسیت	شاهد	۱۱	٦۳/۱۲۵ [a]	۲/٦۱۲	۰/۰۰۰
	۰/۵ppm	۹	٦۲/۱ [a]	۲/۹۲۳	
	۱ppm	۹	۵۵/۵۵٦ [a]	۱/۳۱٦	
	۱/۵ppm	۸	٤۳/٤٤۵[b]	۲/۸۷٤	
مونوسیت	شاهد	۱۱	۰/۷۲۷۳[a]	۰/۲۳۷	۰/۸٤٤
	۰/۵ppm	۹	۰/۵۵۵٦[a]	۰/۳٤۷	
	۱ppm	۹	۰/۸۳۳۳ [a]	۰/۳۰۷	
	۱/۵ppm	۸	۰/۵ [a]	۰/۱۸۸	
ائوزینوفیل	شاهد	۱۱	۱۷/۳٦٤ [a]	۱/۲۰۸	۰/۰۰۰
	۰/۵ppm	۹	۹[b]	۱/۰۵٤	
	۱ppm	۹	۸/۳۸۳ [b]	۱/۰۷۷	
	۱/۵ppm	۸	۷/۵[b]	۱/۳٤۹	
بازوفیل	شاهد	۱۱	۰/۲۷۷۲ [a]	۰/۱٤	۰/۷۹۷
	۰/۵ppm	۹	۰/۱۱۱۱ [a]	۰/۱۱۱۱	
	۱ppm	۹	۰/۱٦٦۷[a]	۰/۱٦٦٤	
	۱/۵ppm	۸	۰/۱۲۵ [a]	۰/۱۲۵۰	



شکل ۲- گسترش خونی بچه فیل ماهیان گروه شاهد

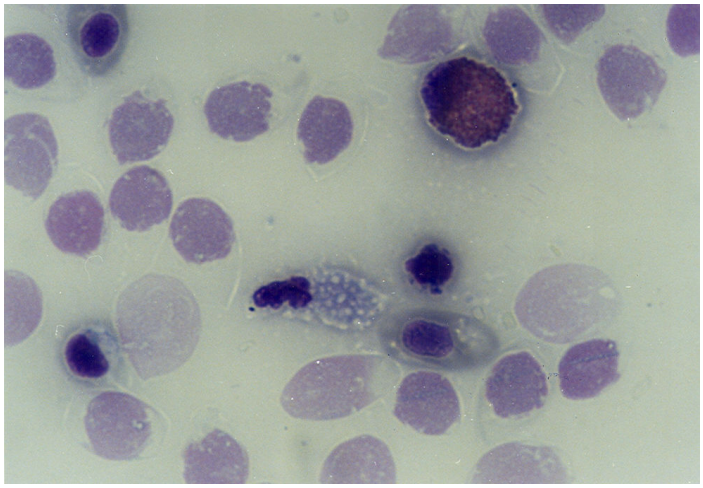
عوارض مشاهده شده در گسترش خونی ماهیان مسموم عبارت بود از:

هایپوکرومیا: کاهش رنگ‌پذیری گلبول‌ها در ماهیان مسموم در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد که این امر نشان‌دهنده کاهش میزان هموگلوبین خون است.

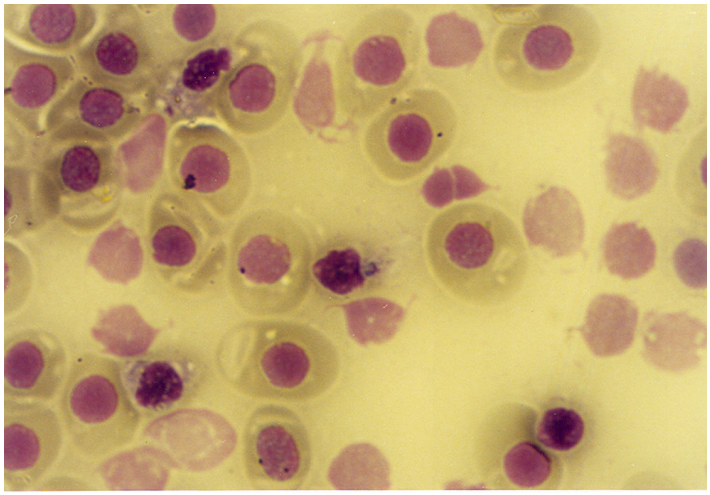
پیکیلوسیتوز: شکل گلبول‌ها در ماهیان مسموم یکنواخت و یکدست نیست در حالی که گلبول‌های گروه شاهد همگی تقریباً یک شکل و یکدست بودند. در گروه شاهد تعداد گلبول‌های قرمز هسته‌دار خیلی بیشتر از تعدادی است که در مرحله پایانی عمر (در حال تجزیه شدن) قرار دارند. اما در گسترش خونی ماهیان مسموم تعداد گلبول‌های قرمز هسته‌دار خیلی کاهش یا فته و بیشتر گلبول‌های قرمز در حال از بین رفتن هستند.

آنیسوسیتوز: اندازه سلول‌ها در گروه ماهیان مسموم متغییر است ولی در گروه شاهد تقریباً همگی یکدست هستند.

میکروسیتی: در گروه ماهیان مسموم اندازه هسته و کل گلبول‌های قرمز کاهش یافته به‌طوری که در گروه شاهد نسبت هسته به سیتوپلاسم $\frac{1}{3}$ تا $\frac{1}{2}$ است . اما در گروه ماهیان در معرض سم این نسبت به $\frac{1}{4}$ کاهش یافته است . در کل نتایج حاصل نشان‌دهنده ایجاد آنمی در بچه ماهیان در معرض سم از نوع "میکروسیتر هایپوکروم" می‌باشد (۸).



شکل ۳- گسترش خونی بچه فیل ماهیان در معرض سم متاسیستوکس



شکل ٤- گسترش خونی بچه فیل ماهیان در معرض سم متاسیستوکس

بحث

مسمومیت‌زایی سم متاسیستوکس در فیل ماهی همراه با تأثیر آن بر رفتار بالینی و نیز برخی فاکتورهای خونی در دمای ۲۰/۲۷ درجه سانتی‌گراد و سایر شرایط کیفی آب مورد مطالعه قرار گرفت. طی ۹۶ ساعت آزمایش مسمومیت‌زایی با متاسیستوکس هیچگونه تلفاتی در ماهیان گروه شاهد مشاهده نشد، همچنین میزان اکسیژن در هر دو گروه شاهد و آزمون تنزل پیدا نکرد. براساس میزان LC50 ۹۶ ساعته محاسبه شده (۱/۳۳۶۲ mg/l متاسیستوکس) و با مقایسه آن با جدول طبقه‌بندی سمیت سموم برروی موجودات زنده (۱۷) می‌توان این ماده سمی را در گروه مواد سمی برای فیل ماهی طبقه‌بندی کرد.

رفتارهای غیرطبیعی مشاهده شده در ماهیان در معرض سمیت حاد متاسیستوکس، نظیر بی‌تابی شدید، انحناء ستون فقرات، شنای نیم‌دایره‌ای و تیرگی سطح بدن در ناحیه پشتی با علائم اشاره شده در سایر گزارش‌های منتشر شده مشابه است (۱، ۱٤، ۱۹ و ۲۰).

همچنین آلیسون (۱۹۹۷) بیان کرد که اثرات سم متاسیستوکس در غلظت غیرکشنده روی جمعیت ماهیان شامل تغییر شکل ستون فقرات، تغییر شیمی خون، ممانعت از فعالیت استیل کولین استراز، کاهش رشد در مرحله لاروی و بلوغ، شنای نامتعادل، هیستوپاتولوژی غیر نرمال عضلات و آبشش‌ها می‌باشد. نتایج بدست آمده برای LC_{50} در مدت ۹٦ ساعت آزمایش‌ها نشان می‌دهد که میزان LC_{50} با افزایش ساعات آزمایش کاهش یافته است. به عبارت دیگر با افزایش ساعات آزمایش میزان غلظت کمتری از سم لازم است تا ۵۰ درصد از جمعیت ماهیان تلف شوند و مقدار LC_{50} در ۲٤ ساعت اولیه آزمایش همواره بیشتر از LC_{50} در پایان ۹٦ ساعت می‌باشد در نتیجه برخی از محققین معتقدند که یکی از عوامل تأثیرگذار در مسمومیت آبزیان عامل زمان است. هنگامی که ماهی در معرض غلظت ثابتی از سم باشد، به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می‌رود و هم سم فرصت بیشتری برای تأثیرگذاری روی ماهی دارد (٦).

تغییرات عمده هماتولوژیکی فیل ماهیان در مقابل سمیت متاسیستوکس در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر را می‌توان به‌صورت کاهش معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت و مقدار MCV (حجم متوسط گلبول قرمز)، MCH (وزن متوسط هموگلوبین در یک گلبول قرمز) و درصد گلبول سفید لنفوسیت، هتروفیل و ائوزینوفیل خون این بچه ماهیان در مقایسه با شاهد ذکر کرد. همچنین افزایش معنی‌دار درصد هتروفیل‌های تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) .در بیشتر موارد در این آزمایش با افزایش غلظت سم میزان کاهش فاکتورهای خون نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود و این موضوع تأییدکننده نتایج بدست آمده در تأثیر سوء سموم بر فاکتورهای خونی این بچه ماهیان است.

اما تغییر معنی‌داری در MCHC (متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز) و در صد گلبول‌های سفید مونوسیت و بازوفیل مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$).

نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر همگی مؤید نتایج سایر محققین در بررسی تأثیر سموم ارگانوفسفره بر فاکتورهای خونی ماهیان می‌باشد اما مکانیسم یا مکانیسم‌های دقیق کاهش فاکتورهای خونی فوق‌الذکر نامشخص است. تغییرات عمده هماتولوژی ماهی چالباش در مقابل سم دیازینون در غلظت ٦/۰۹ میلی‌گرم در لیتر به‌صورت کاهش معنی‌دار ($P< ۰/۰۵$) تعداد گلبول قرمز، میزان هماتوکریت، هموگلوبین، مقدار MCV و MCH در مقایسه با گروه شاهد گزارش شد و دلیل احتمالی این نوع تغییرات را ناشی از تأثیر مستقیم سم بر بافت‌های خون ساز کلیه و طحال دانستند (٤).

همچنین اثر اصلی سم دلتامترین در غلظت ۰/۱۳ میلی‌گرم در لیتر بر فاکتورهای خونی بچه ماهی کپور کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و پروتئین پلاسما بیان شد و علت این تغییرات در

فاکتورهای خونی را تخریب احتمالی بافت‌های خونساز دانستند (۱۹).

شمارش تفریقی لکوسیت ماهیان چالباش در معرض سمیت حاد دیازینون کاهش معناداری در تعداد لنفوسیت‌ها ($P<۰/۰۵$) و افزایش معناداری در تعداد نوتروفیل‌ها ($P<۰/۰۵$) را نشان داد. همچنین تغییراتی مشابه در ماهیان شیپی، که در معرض سمیت حاد دیازینون قرار گرفته‌اند، گزارش شد (۳).

در تحقیق دیگری کاهش میزان گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها و افزایش هتروفیل‌ها در سمیت حاد دیازینون بر کپور معمولی گزارش شد (۱۹).

علت احتمالی هتروفیلی (افزایش هتروفیل‌ها)، می‌تواند ناشی از عمل بیگانه‌خواری سلول‌های دفاعی میزبان باشد که در زمان قرار گرفتن ماهی در معرض سم تعداد هتروفیل‌ها (به‌عنوان یک واکنش دفاعی) افزایش می‌یابد در حالی که لنفوسیت‌های ماهی عمدتاً در سیستم ایمنی مایعی(غیر اختصاصی) موثر می باشد و در نتیجه می توان گفت که سموم ارگانوفسفره از جمله متاسیستوکس عمدتاً موجب تضعیف سیستم ایمنی غیراختصاصی چالباش می‌شود (٤).

کاهش ایمنی غیراختصاصی در ماهیان پس از مواجهه حاد با سموم ارگانوفسفره به علت کاهش تعداد گلبول‌های سفید، لیمفوپنیا و گرانولوسیتوز در (نوتروفیل و ائوزینوفیل) می‌باشد.

تعداد زیادی از محققین لیمفوپنیا و گرانولوسیتوز را از عوارض قرار گرفتن در معرض بسیاری از مواد آلاینده دانسته‌اند (۱۸، ٢٤ و ۲۰).

با توجه به نظر سایر محققین (۳، ۱۹و ۲۰) افزایش هتروفیل‌ها را در این تحقیق می‌توان به‌عنوان یک واکنش دفاعی از جانب بدن ماهی دانست و با توجه به کاهش تعداد کل گلبول‌های سفید و همچنین کاهش در صد لنفوسیت‌ها که در ایمنی غیراختصاصی ماهی مؤثرند، می‌توان گفت که مقاومت بدنی ماهیان در معرض این سم حشره‌کش کاهش یافته است. این گونه ماهیان به آسانی به عوامل ثانویه پاتوژن مستعد و بیمار می‌شوند. این موضوع به ویژه در مورد ماهیان خاویاری، به علت رهاسازی سالانه میلیون‌ها بچه ماهی در دریا، از اهمیت خاصی برخوردار است زیرا در صورت آلودگی محل‌های رهاسازی بچه ماهیان خاویاری و ایجاد مسمومیت مزمن یا تحت حاد زمینه تلفات بالای ناشی از تهاجم عوامل ثانویه فراهم می‌شود.

بنابراین با توجه به استفاده قابل توجه سم متاسیستوکس در مزارع کشاورزی شمال کشور به خصوص استان گلستان و مجاورت این زمین‌ها با محل‌های رهاسازی بچه ماهیان خاویاری، حداقل احتمال بروز استرس‌های شدید پس از در معرض قرارگیری بچه ماهیان رها شده و در نتیجه بروز تلفات ناشی از عوامل ثانویه پاتوژن وجود دارد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات و همکاری‌های ریاست محترم و کلیه پرسنل کارگاه شهید مرجانی، همچنین از جناب آقای دکتر بهارلویی مسؤل محترم آزمایشگاه لاندا و کلیه کارکنان این آزمایشگاه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

منابع

۱- پژند، ذ.، سکری، م.، اسماعیلی ساری، ع.، پیری زیر کوهی، م.، ۱۳۸۲. تعیین غلظت کشنده LC_{50} ۹٦ ساعت سموم علف کش بوتاکلر، رنستار، ریلوف ـ اچ و حشره‌کش دیازینون روی دو گونه بچه ماهی خاویاری (قره‌برون و ازون‌برون). مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، سال دوازدهم، ص ۱۹۷.

۲- خانجانی، ع. و پور میرزا، م.، ۱۳۸۰. سم‌شناسی، چاپ اول، دانشگاه بوعلی سینا، ص ۱۵۲- ۱۵۳، ۱٦۲-۱٦٤.

۳- سلطانی، م. و خوشباور رستمی، ح.، ۱۳۸۱. تأثیر سم دیازینون بر شاخص‌های هماتولوژیکی ماهی شیپ *"A.nudiventris"* و تعیین LC_{50} آن. دومین همایش ملی ماهیان خاویاری؛ خلاصه مقالات، ص ٤۷-٤۵.

٤- سلطانی، م. و خوشباور رستمی، ح.، ۱۳۸۱. مطالعه اثر سم دیازینون بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی تاس ماهی روسی (چالباش). مجله علوم دریایی ایران؛ شماره چهارم. ص ۷۵- ٦٥.

٥- شاهسونی، د.، وثوقی، غ. و خضرائی نیا، پ.، ۱۳۸۰. تعیین برخی شاخص‌های خونی ماهیان خاویاری انگشت قد (قره‌برون و ازون برون) در استان گیلان. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۵۰. ص ۱۸- ١٤.

٦- شریف پور، ع.، سلطانی، م. و جوادی، م.، ۱۳۸۲. تعیین LC_{50} و ضایعات بافتی ناشی از سم آندوسولفان در بچه فیل ماهی *"Huso huso"*. مجله علمی شیلات ایران، شماره ٤، سال دوازدهم، ص ٨٤ - ٦٩.

٧- شریف روحانی، م.، ١٣٧٤. تشخیص، پیشگیری و درمان بیماری‌ها و مسمومیت‌های ماهی (ترجمه). معاونت تکثیر و پرورش شیلات ایران، ص ٢٥٦.

٨- شیشه آییان، ب. و سعیدی، ف.، ۱۳۷۰. خون شناسی پزشکی. ص ۸۹-۱۱۵.

9.Allison, D.T., 1997. Use of Exposure units for estimating aquatic toxicity of organophosphate pesticides. U. S. Environ. Protection Agen. Rep. 600: 25-31.

10.Alyakrinskyay, I.O., and Dolgora, S.N.U. 1984. Haematological features of sturgeons. J. Ichthyolog. vol 24, No 3: pp: 135-139.

11.Dutta, H.M., Quadri, N., Ojha, J.N.K., 1997. Effect of Diazinon on macrophages Blue gill sunfish. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58: 135-141.

12.Finney, D., 1971. Probit analysis. Cambridge University: 1-33. Chem :465-489.

13.Gangolli, E.D., 1999. The dictionary of toxic substances and their effects. Edition, Royal Society of Chemistry, Cambidge, Vol. 3: 351-354.

14.Hoque, M.M., Mirja, M.J.A., and Miah, M., 1993. "Toxicity of Diazinon and Sumithion topuntius gonionotus". Bangladesh j. Tran. Dev. 6 :19-26.

15.Moiseenko, T.I., 1998. Haematological indices of fishes in the evaluation of their toxicoses with reference to *Coregonus lavaretus*. J. Ichthyology, vol. 38. No. 4.

16.OECD Guideline for testing of chemicals No. 210, 2001. section 2. Effect on biotic system direction: 1-39.

17.Piri Zirkoohi, M., and Ordog, V., 1997. Effect of some pesticides commonly Iranian Agriculture on Aquatic food chain.Thesis for Ph.D. degree submitted to the academy of agricultural sciences Godollo-Hungary. P: 1-31.

18.Schwaiger, J., Hoffman, R., Negeler, R.D., 1993. Haematology in evaluation of exprimental intoxication of fish.Ichthyohaematology, Research Institute of Fish Culture a Hydrobiology VodAany, Czech Republic: 155-160.

19.Svoboda, M., Luscova, V., Drastichova, J., and Ilabek, V., 2001. The effect of diazinon on hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*).Acta vet Brno. 10: 457-465.

20.Svobodova, Z., V. Luscova, J. Drastichova, M. Svoboda, V. Zlabek., 2003. Effect of deltamethrin on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*). Acta vet. Brno. 72: 79-85.

21.Svobodova, Z., Machova, J., Kolarova, J., Vykusova, B., and Piaka, V., 1996. The effect of selected negative factors on haematological parameters of common carp, *"Cyprinus carpio"* and tench *"Tinca tinca"*. proc. sci. papers to the 75th Anniversary of foundation of the Ritch Vodnany: 95-105.

22.Stoskopf, M.K., 1993. Fish medicine. Chapter 9: Clinical pathology. W.B. Saunders Co: 113-131.

23.Wall, S.B., 2000. Sublethal effects of cadmium and diazinon on reproduction and larval behaviour in zebra fish. DISS. Abst. inter. Part B. SCI. and Eng. 60: 38-29.

24.Wlasow, T., 1985. The leukocyte system in rainbow trout, Salmo gaidneri, affected by prolonged subacute phenol intoxication. Acta Icthyol. Piscator. 15: 83-94.

The effect of Metasistox on mortality and haematological indices of beluga, *Huso huso*

M. Shamloofar[1], A. Kamali[2], M. Piri[3] and N. Makhtoomi[4]

[1]Dept., of Fisheries, Islamic Azad University of Azadshahr, [2]Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [3]General Director of Natural Resources, Semnan province,
[4]Shahid Marjanii sturgeon fish breeding and cultivation

Abstract

The acute toxicity and effects of Metasistox on some haematological indices of Beluga *"Huso huso"* with 4.28±0.56g mean body weight was assessed following the O.E.C.D. direction and performed statically in 20.27±2.05˚C. The 96h LC_{50} value of metasistox for beluga juveniles was 1.3362 .Therefore the MAC value of metasistox in natural waters for bluga was .1336 $mg.l^{-1}$. According to the table of sorting the toxicity of insecticides, metasistox was Toxic for beluga .The following clinical symptoms were observed in this study consisted of lordosis and neural paralytic syndrom in fish exposed to this pesticide. Some abnormal reactions such as losing the balance and swimming in a half circle, expressive pigmentation mainly on the dorsal part and block of respiration movements were seen in these juveniles. Examination of haematological indices was performed on control and experimental specimens of beluga with 17.1 g mean body weight after 96h exposure to metasistox in concentrations lower than LC_{50} 96h. The experimental group of bluga exposed to metasistox showed significantly lower value (P<0/05) of erytherocyte (RBC) and leukocyte(Leuko) count, haemoglobin content (Hb), and haematocrit (PCV), MCV, MCH and relative lymphocyte and eosinophil count compared to the control group .In comparison of the relative heterophil count of the juvenils to control group, there was a significant increase in experimental group (P<0/05). But there were no statistically significant differences in MCHC value and relative monocite and basophile count between groups.

Keywords: Bluga, Metasistox, Acute toxicity, Haematological indices