

## تعیین سمیت کشنده و اثرات سم سایپر مترین بر شاخص‌های هماتولوژیکی ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*, Richardson 1845)

\* محسن تجری<sup>۱</sup>، سیدعلی اکبر هدایتی<sup>۲</sup>، حامد کلنگی میاندره<sup>۲</sup> و عبدالرضا جهانبخشی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه شیلات، دانشکده آزاد اسلامی، واحد بندرگز، بندرگز، ایران

<sup>۲</sup> گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۲۳

### چکیده

در این مطالعه اثر سم کشاورزی سایپر مترین بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور نقره‌ای مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا با تعیین دامنه‌ای از غلظت‌های سایپر مترین به منظور تعیین  $LC_{50}$  تلفات ماهیان کپور نقره‌ای در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه شد. سپس با توجه به میزان  $LC_{50}$  آزمایش جداگانه‌ای طراحی شد و با القای غلظت تحت کشنده این ماده پارامترهای خون‌شناسی ماهی مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش از نرم‌افزارهای *spss* و پروبیت آنالیز استفاده شد. طی انجام آزمایش هیچ کدام از ماهیان گروه شاهد تلفاتی نداشتند.  $LC_{50}$  سم سایپر مترین برای ماهی کپور نقره‌ای  $1/27 \pm 0/31$  به دست آمد. ماهیان به مدت ۹۶ ساعت در معرض سایپر مترین قرار گرفته و آزمایشات خون‌شناسی تغییرات معنی‌داری را در افزایش گلبول‌های سفید و قرمز خون نشان داد همچنین شاخص لمفوسیت کاهش یافت اما هموگلوبین، هماتوکریت، *M.C.H*، *M.C.H.C* و *M.C.V* و نوتروفیل افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). نتایج این آزمایش نشان می‌دهد، که سم سایپر مترین یک ماده دارای سمیت بسیار بالا در ماهی کپور نقره‌ای می‌باشد و باید تا حد ممکن از ورود این سم به اکوسیستم‌های آبی جلوگیری شود.

واژه‌های کلیدی: آبیروزی، سم کشاورزی، هماتولوژی

### مقدمه

می‌باشند، لذا چنین محیط‌هایی گرچه به‌عنوان محیط هدف و اثر سموم آفت‌کش مدنظر نمی‌باشند با این وجود نتایج برخی از مطالعات پایشی حضور سایپر مترین و متابولیت آن دیازوکسون را در آب‌های سطحی نمایان ساخته است (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲). این مواد سمی ممکن است در زنجیره غذایی تجمع یابند و باعث مشکلات جدی اکولوژیکی و سلامتی شوند. حضور مواد سمی در آب‌های سطحی از ۵۰ سال پیش تاکنون در کانادا، آمریکای شمالی و اروپا گزارش شده بود و مدارک زیادی اثرات این آلوده‌کننده‌ها را در محیط آبی نشان می‌دهد (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲).

تحولات ایجاد شده در بخش‌های صنعتی و کشاورزی و ارتقاء سطح زندگی بشر در دهه‌های اخیر، کاربرد سموم را در زمینه‌های مختلف اجتناب‌ناپذیر نموده است. این سموم به دلیل تاثیرات منفی آنها بر آبزیان نظیر کاهش رشد، تغییرات ژنتیکی، مرگ و میر و همچنین به سبب سمیت و تمایل به تجمع در زنجیره غذایی موجب ایجاد نگرانی در مصرف آبزیان گردیده‌اند. اکوسیستم‌های آبی به‌عنوان بزرگترین محیط طبیعی همواره با تهدیدهایی نظیر محدودیت ژنتیکی و تنوع زیستی مواجه

\* نویسنده مسئول: [tajari@bandargaziau.ac.ir](mailto:tajari@bandargaziau.ac.ir)

وفور در مزارع کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد و پس مانده‌های این سم در آب‌های زیرزمینی و همچنین در رودخانه‌ها یافت می‌شود. همچنین برخی از سموم ارگانوفسفره در دامپزشکی به‌عنوان یک داروی مهم ضدانگلی موضعی در مواردی که مهار طولانی مدت استیل کولین استراز لازم باشد مورد استفاده قرار می‌گیرند. از این رو مطالعه اثرات سمیت این سموم که از انواع رایج سموم مصرفی در کشور ما محسوب می‌شود ضروری می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در تابستان سال ۱۳۹۲ در کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان هیرکان واقع در استان گلستان، شهر گرگان انجام گرفت. ماهی کپور نقره‌ای (با میانگین وزن پانزده گرم) ابتدا به وسیله پلاستیک‌های حمل ماهی از مرکز تکثیر ماهی واقع در شهرستان گنبد به کارگاه انتقال داده شد. ماهیان قبل از انجام آزمایش اصلی، جهت سازگاری با شرایط اسارت در محیط مصنوعی به‌مدت دو هفته در آب شهری کلرزدایی شده، در دمای ۲۱-۱۹ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۷/۲-۸ میلی‌گرم در لیتر، pH بین ۷/۶-۸/۵، سختی کل و دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. در دوره آدپتاسیون در طول روز دو بار غذادهی صورت گرفت. تعویض آب و سیفون کردن ۳۰ دقیقه بعد غذادهی انجام می‌گرفت. تمام شرایط تیمارها را روزانه کنترل کرده و هوادهی به‌طور منظم انجام گرفت. pH با دستگاه قابل حمل سنجش pH مدل تی اس ۱ و اکسیژن محلول با دستگاه دیجیتال اندازه‌گیری اکسیژن مدل دی او ۵۵۱۰ به‌طور روزانه اندازه‌گیری می‌شد. در دوره آزمایش از آب شهری که در مخازن ۱۰۰ لیتری، کلرزدایی می‌شدند استفاده می‌شد بدین‌منظور ۲۴ ساعت قبل از افزودن آب به تانک‌های

امروزه انواع گوناگونی از ترکیبات شیمیایی به اکوسیستم‌های آبی وارد شده اند که می‌توانند اثرات خطرناک زیادی بر موجودات آب شیرین و دریایی داشته باشند (Di Giulio و همکاران، ۲۰۰۸). شدت سمیت سموم کشاورزی در بین گونه‌های مختلف از تغییرات زیادی برخوردار می‌باشد و میزان این تغییرات به‌طور عمده تابع سن، جنسیت، اندازه بدن ماهی، شرایط اقلیمی، ترکیب شیمیایی سم، شیمی محیط‌زیست و سایر فاکتورها می‌باشد (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲). علایم ظاهری مسمومیت ماهیان به سم سایپرترین شامل تیرگی ناحیه قدامی بدن، اضطراب بیش از حد، گرفتگی شدید عضلانی و شنای سریع و ناگهانی دورانی و علایم فیزیولوژیک داخلی از جمله مهار شدن کولین، انباشتگی استیل کولین استراز، اختلال در کارکرد عصبی و اختلال در حرکات تنفسی می‌باشد (ساستری و شارما، ۱۹۸۰). اثرات غلظت تحت کشندگی سموم کشاورزی بر ماهی شامل انحنای ستون فقرات، تغییر ترکیبات خونی (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲)، اختلالات تولید مثلی و مهار فعالیت استیل کولین استراز، کاهش رشد مرحله لاروی و بالغ ماهیان، شنای نامتعادل و تغییر میزان رنگدانه‌ها و ساختمان آبشش (Dutta و همکاران، ۱۹۹۳) می‌باشد.

سایپرترین یکی از سموم ارگانوفسفره‌ای است که در فعالیتهای کشاورزی و خانگی برای کنترل حشرات مورد استفاده قرار می‌گیرد. این سم به علت توزیع گسترده در محیط آبی، قادر به اثرگذاری وسیع در جانداران غیرهدف از قبیل بی‌مهرگان، پستانداران، پرندگان و ماهی‌ها می‌باشد. سایپرترین از جمله سموم ارگانوفسفره و حشره‌کش نسبتاً فرار است و برای از بین بردن مگس و کنه به مقدار زیاد استفاده می‌شود چرا که با کارایی خوب و صرفه اقتصادی آفات بسیاری را مهار می‌کند. این سم به تنهایی به

سایپرترین استفاده شده،  $n$  تعداد ماهیان مورد استفاده در هر گروه،  $W$  میانگین وزن ماهیان مورد استفاده (Hotos و Vlahos، ۱۹۹۸) است.

پس از پایان دوره آزمایش، ماهیان به آرامی به وسیله یک تور دستی صید شده و هرکدام جداگانه در تشت‌های پلاستیکی ۱۰ لیتری با محلول ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک بیهوش شدند. بلافاصله پس از بیهوشی، از هر ماهی نمونه خون استخراج گردید، خون هر ماهی در ویال‌های حاوی ماده ضدانعقاد (EDTA) ریخته و پس از حدود پنج دقیقه حرکت آرام به فلاسک حاوی یخ خشک منتقل و در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه هماتولوژی انتقال یافت.

در آزمایشگاه هماتولوژی تعداد گلبول‌های سفید، هموگلوبین، درصد هماتوکریت و شمارش افتراقی (درصد لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل) سنجیده شد. هماتوکریت نسبت حجم گلبول‌های قرمز فشرده شده به حجم خون تام است که بر حسب درصد بیان می‌شود و برای اندازه‌گیری آن از لوله موئینه ساده، میکروسانتریفیوژ و صفحه مدرج استفاده شد. اندازه‌گیری میزان هماتوکریت با استفاده از میکروهماتوکریت خوان صورت گرفت. لوله‌های موئینه حاوی نمونه، خون درون سانتیفیوژ قرار داده شده و در سرعت ۳۰۰۰ دور دقیقه به مدت ۱۴ دقیقه سانتیفیوژ شدند. روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری هموگلوبین وجود دارد اما روش سیانومت هموگلوبین به‌عنوان روش استاندارد مورد پذیرش قرار گرفته است. جذب نوری استاندارد و مجهول در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت و با استفاده از رابطه زیر میزان هموگلوبین نمونه محاسبه گردید: غلظت هموگلوبین بر حسب گرم در دسی لیتر = غلظت استاندارد  $\times$  جذب نوری استاندارد / جذب نوری نمونه خون مورد آزمایش (Di Giulio و Hinton، ۲۰۰۸). تعداد کل گلبول‌های

نگهداری ماهیان، هوادهی می‌شد. ماهیان با کنسانتره پلت تجاری با قطر تقریبی ۲ میلی‌متر به نسبت ۲ درصد وزن بدن برای هر روز تغذیه می‌شدند. با توجه به نتایج آزمایش تعیین محدوده کشندگی غلظت‌های سایپرترین آزمایش سمیت کشنده در این محدوده انجام گرفت. چهار تیمار به همراه سه تکرار برای ماهی کپور نقره‌ای درون آکواریوم (جهت محاسبه مقدار سمیت کشنده سموم) نگهداری شدند. سپس در هر تیمار غلظت‌های مختلفی از سم به همراه یک تیمار شاهد قرار داده شد. غلظت‌های مورد آزمایش برای گونه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و ماهیان در گروه‌های ۷ تایی به مدت ۹۶ ساعت قرار گرفتند. با توجه به نتایج آزمایش تعیین محدوده کشندگی غلظت‌های سایپرترین، آزمایش LC50 در این محدوده انجام گرفت. تمامی ماهیان به مدت ۹۶ ساعت در غلظت‌های مورد نظر نگهداری شده و میزان مرگ و میر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه شد (Hotos و Vlahos، ۱۹۹۸).

مقادیر LC50 و محدوده اطمینان ۹۵ درصد مطابق دستورالعمل اصلاح یافته فینی توسط Boudou و Ribeyre (۱۹۹۷) با روش Probit analysis مرگ و میر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ محاسبه شد. در روش پروبیت لگاریتم غلظت‌های سموم در محور X و مقادیر پروبیت درصد مرگ و میر در محور Y قرار گرفت. علاوه بر LC50، مقادیر کشنده دیگر شامل LC10، LC30، LC70، LC90 با استفاده از جدول پروبیت، جدول مرگ و میر پروبیت و رگرسیون آن محاسبه شد. مقادیر محدوده اطمینان ۹۵ درصد با فرمول

$$SE(LC_{50}) = \frac{1}{b\sqrt{pnw}}$$

محاسبه می‌شود در حالی

که:  $b$  شیب خط رگرسیون سم / پروبیت،  $p$  مقدار

یک سمت لام ریخته شده و با یک لام دیگر طوری روی آن کشیده شد که یک گسترش بر روی لام ایجاد شود. گسترش آماده شده در مجاورت هوا خشک و با استفاده از متانول فیکس شد. گسترش‌های فیکس شده با استفاده از رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شدند (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲).

اختلاف بین این داده‌ها و مقایسه میانگین نمونه‌ها در تیمارهای مختلف با آنالیز واریانس یکطرفه در نرم‌افزار Spss Ver. 11.0 تحت سیستم عامل ویندوز انجام و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها، پس آزمون توکی برای مقایسه دوبه دوی داده‌ها استفاده شد و اختلاف در سطح اطمینان بالای ۹۵ درصد ( $P < 0/05$ ) پذیرفته می‌شد.

### نتایج

در طی آدآپتاسیون تلفاتی در ماهیان مشاهده نشد. همچنین طی انجام آزمایش نیز هیچ کدام از ماهیان گروه کنترل تلفاتی نداشتند. مرگ و میر ماهی کپور نقره‌ای برای غلظت‌های ۰، ۲، ۴ و ۸ قسمت در میلیون برای سم سایپرمتترین در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت مورد آزمایش قرار گرفت که نتایج آن در جداول ۱ آمده است.

سفید با استفاده از پپت ملائزورهای سفید (برای رقیق کردن خون)، لام نئوبار و محلول‌های رقیق‌کننده تورک شمارش گردید. برای شمارش گلبول‌های سفید مقدار ۰/۵ میلی‌گرم از نمونه خون را به داخل پپت ملائزور سفید کشیده و برای رقیق کردن از محلول نات استفاده شد. تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ صورت گرفت). برای شمارش گلبول‌های سفید نمونه خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق‌کننده نات- هر یک رقیق گردید. پس از پر کردن لام هموسیتومتر تعداد گلبول‌های سفید در ۹ خانه بزرگ شمارش شده و تعداد گلبول‌های سفید از رابطه زیر محاسبه گردید:  $200 \times (\text{تعداد گلبول‌های سفید در } 9 \text{ خانه بزرگ} + 1) / 100 = \text{تعداد گلبول‌های سفید در هر میلی‌متر مکعب خون}$ . گلبول‌های سفید در یک گسترش خونی به لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل قابل تفکیک می‌باشند. برای شمارش افتراقی گلبول سفید گسترش‌های تهیه شده را با استفاده از میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ مشاهده کرده و نسبت سلول‌های مختلف گلبول سفید شمارش شدند. به‌منظور شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، گسترش خونی بر روی لام تهیه شد. برای تهیه گسترش خونی یک قطره خون در

جدول ۱- میزان تلفات ماهی کپور نقره‌ای تحت تاثیر سم سایپرمتترین ( $n = 7$ )

تعداد مرگ و میر				غلظت (پی پی ام)
۹۶ ساعت	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت	
۰	۰	۰	۰	شاهد
۴	۳	۲	۰	۰/۵۰
۴	۴	۲	۱	۲
۷	۶	۵	۳	۴
۷	۷	۷	۷	۸
۷	۷	۷	۷	۱۶

بر اساس جدول ۱، مرگ و میر در ماهی کپور بر اساس جدول ۲، غلظت کشندگی ایجاد کننده نقره‌ای تحت تاثیر سم سایپرترین از غلظت ۰/۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بعد از ۴۸ ساعت آغاز شده و در غلظت ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم بعد از ۹۶ ساعت همچنین غلظت ۸ میلی‌گرم در کیلوگرم بعد از ۲۴ ساعت تمامی ماهیان با تلفات ۱۰۰ درصد مواجه شدند.

جدول ۲- غلظت تحت کشندگی (LC<sub>1-99</sub>) غلظت تجاری سم سایپرترین (میانگین ± انحراف معیار) در ماهی کپور نقره‌ای

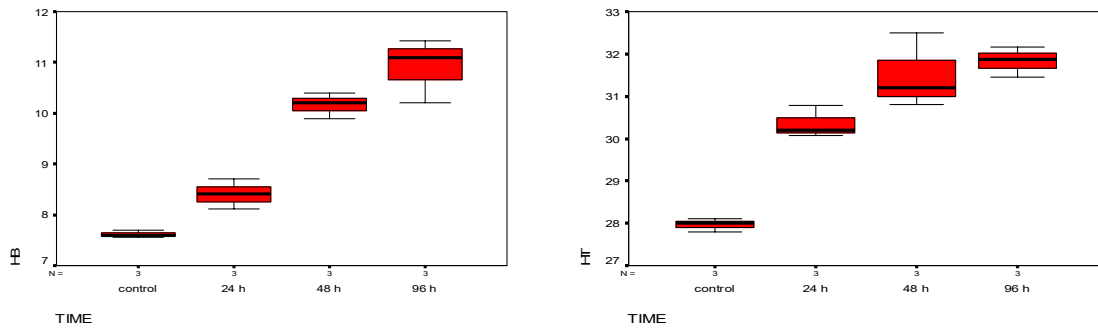
۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	
۰/۹۰ ± ۰/۴۷	-	-	-	LC <sub>1</sub>
۰/۹۰ ± ۲/۰۹	۰/۵۵ ± ۰/۱۳	-	-	LC <sub>10</sub>
۰/۹۰ ± ۲/۷۷	۰/۵۵ ± ۱/۰۴	۰/۳۱ ± ۰/۲۴	۰/۳۱ ± ۰/۱۳	LC <sub>20</sub>
۰/۹۰ ± ۳/۲۶	۰/۵۵ ± ۱/۷۰	۰/۳۱ ± ۰/۸۲	۰/۳۱ ± ۰/۵۶	LC <sub>30</sub>
۰/۹۰ ± ۳/۶۸	۰/۵۵ ± ۲/۲۵	۰/۳۱ ± ۱/۳۱	۰/۳۱ ± ۰/۹۲	LC <sub>40</sub>
۰/۹۰ ± ۴/۰۷	۰/۵۵ ± ۲/۷۸	۰/۳۱ ± ۱/۷۷	۰/۳۱ ± ۱/۲۷	LC <sub>50</sub>
۰/۹۰ ± ۴/۴۷	۰/۵۵ ± ۳/۳۰	۰/۳۱ ± ۲/۲۳	۰/۳۱ ± ۱/۶۱	LC <sub>60</sub>
۰/۹۰ ± ۴/۸۸	۰/۵۵ ± ۳/۸۸	۰/۳۱ ± ۲/۸۳	۰/۳۱ ± ۱/۹۷	LC <sub>70</sub>
۰/۹۰ ± ۵/۳۸	۰/۵۵ ± ۴/۵۱	۰/۳۱ ± ۳/۳۱	۰/۳۱ ± ۲/۴۰	LC <sub>80</sub>
۰/۹۰ ± ۶/۰۶	۰/۵۵ ± ۵/۵۴	۰/۳۱ ± ۴/۱۱	۰/۳۱ ± ۲/۹۹	LC <sub>90</sub>
۰/۹۰ ± ۷/۶۷	۰/۵۵ ± ۷/۵۷	۰/۳۱ ± ۶/۰۱	۰/۳۱ ± ۴/۳۹	LC <sub>99</sub>

هموگلوبین، هماتوکریست، M.C.H.C، M.C.H و M.C.V و نوتروفیل افزایش یافت. نتایج آنالیزهای خون‌شناسی و ایمنی شناسی ماهی کپور نقره‌ای در معرض سایپرترین در شکل‌های ۴-۱ آورده شده است.

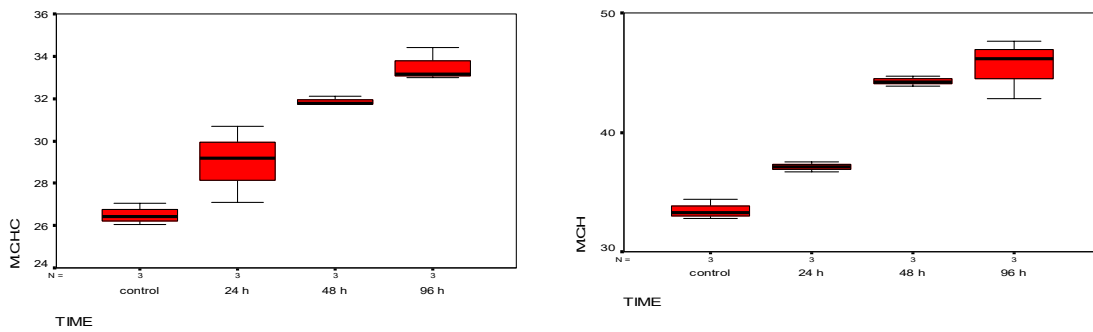
ماهیان به مدت ۹۶ ساعت در معرض سایپرترین قرار گرفته و آزمایشات خون‌شناسی تغییرات معنی‌داری را در افزایش گلبول‌های سفید و قرمز خون نشان داد (جدول ۳). همه شاخص‌های مورد ارزیابی تغییرات معنی‌داری در مواجهه با سایپرترین نشان دادند. همچنین شاخص لمفوسیت کاهش یافت اما

جدول ۳- شاخص‌های سلول‌های خونی ماهی کپور نقره‌ای پس از قرارگیری تحت تاثیر سم سایپرترین (میکروگرم بر لیتر)

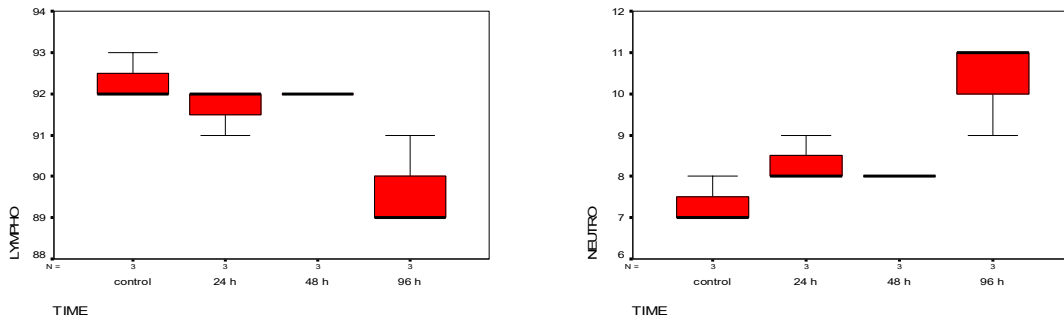
زمان مواجهه (ساعت)				
۰	۲۴	۴۸	۹۶	
۶۵۴۶ ± ۲۲ <sup>a</sup>	۸۶۶۰ ± ۴۳۳ <sup>b</sup>	۱۰۲۳۳ ± ۱۵۲ <sup>c</sup>	۱۱۴۳۶ ± ۶۱۶ <sup>c</sup>	گلبول سفید
۲/۲۱ ± ۰/۰۰۵ <sup>a</sup>	۲/۲۶ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۲/۲۴ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۲/۳۶ ± ۰/۰۶ <sup>b</sup>	گلبول قرمز



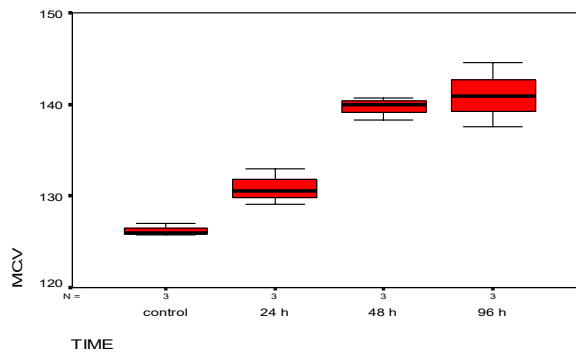
شکل ۱- تغییرات سطوح هماتوکریت و هموگلوبین خون کپور نقره‌ای در زمان‌های مختلف (۰-۲۴-۴۸-۷۲ ساعت) در مواجهه با سم سایپرمترین.



شکل ۲- تغییرات سطوح M.C.H و M.C.H.C خون کپور نقره‌ای در زمان‌های مختلف (۰-۲۴-۴۸-۷۲ ساعت) در مواجهه با سم سایپرمترین



شکل ۳- تغییرات سطوح نوتروفیل و لمفوسیت خون کپور نقره‌ای در زمان‌های مختلف (۰-۲۴-۴۸-۷۲ ساعت) در مواجهه با سم سایپرمترین



شکل ۴- تغییرات سطوح M.C.V خون کپور نقره‌ای در زمان‌های مختلف (۰-۲۴-۴۸-۷۲ ساعت) در مواجهه با سم سایپرمترین

### بحث و نتیجه‌گیری

طیف گسترده‌ای از آفت‌کش‌ها، در کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند؛ همچنین از این مواد، برای محافظت محصولات کشاورزی از آفت، حشرات، بیماری‌های قارچی و جلوگیری از آلوده شدن مواد غذایی انبار شده با موش‌ها، مگس‌ها و نیز حفظ سلامت انسان‌ها استفاده می‌شود آلودگی آب‌ها، که ناشی از ورود آفت‌کش‌ها می‌باشد اغلب اوقات، نتایج خطرناکی را برای مصرف‌کنندگان بوجود می‌آورد. مصرف بی‌رویه آفت‌کش‌ها و مجاورت اراضی با رودها، سبب آلودگی منابع آب می‌گردد. تعیین مقدار آفت‌کش‌های فسفره مصرفی که در حاشیه رودخانه‌ها در مزارع به کار می‌رود می‌تواند، در جلوگیری از مسمومیت‌های احتمالی و آلودگی اکوسیستم آبی نقش مهمی داشته باشند (غفاری، ۱۳۹۰). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که غلظت سمیت‌کشنده (LC50) سایپرمترین برای ماهی کپور نقره‌ای  $1/27 \pm 0/31$  ppm می‌باشد. این نتایج بدست آمده برای مقدار LC50 در ۹۶ ساعت نشان می‌دهد که میزان LC50 با افزایش ساعات آزمایش کاهش یافته است. به عبارت دیگر هر چقدر ساعات آزمایش افزایش می‌یابد غلظت کمتری از سم لازم است تا ۵۰ درصد از جمعیت ماهیان تلف شوند و مقدار LC50 در ساعات اولیه آزمایش همواره بیشتر از LC50 در ۹۶ ساعت می‌باشد. ماهیان بعد از ۹۶ ساعت که در معرض سم سایپرمترین قرار گرفتند، نتایج نشان داد که سایپرمترین موجب تغییرات در شاخص‌های خونی می‌گردد که این تغییرات کاهش شاخص لمفوسیت را نشان داد. اما هموگلوبین، هماتوکریست، M.C.H، M.C.H.C و M.C.V و نوتروفیل افزایش معنی‌داری داشتند (Louis و همکاران، ۱۹۹۶).

در خصوص مطالعات صورت گرفته ناشی از اثر سم سایپرمترین بر روی فاکتورهای خونی ماهی کپور نقره‌ای و سایر ماهیان تاکنون هیچ مطالعه‌ای در ایران و در دنیا گزارش نشده است. اما در سایر تحقیقات صورت گرفته توسط محققین اثرات سموم و آلاینده‌های مختلف بر تغییرات فاکتورهای خونی و ضعیف شدن سیستم ایمنی بدن ماهیان مختلف به اثبات رسیده است که به‌عنوان مثال می‌توان به اثر سم دیازینون که از سموم متداول کشاورزی مورد استفاده در استان‌های شمالی کشور می‌باشد بر روی کپور ماهیان به‌صورت کاهش میزان هموگلوبین، هماتوکریست و لنفوسیت در ماهی کپور علف‌خوار ۸۵۰ گرمی، ماهی کپور علف‌خوار ۵ گرم (شریعتی فیض‌آبادی و همکاران، ۱۳۸۰) و در ماهی کپور معمولی (Sastry و Sharma، ۱۹۸۰) اشاره کرد که فقط کاهش لمفوسیت با تحقیق حاضر همسو بود.

همچنین در سایر تحقیقات صورت گرفته بر روی سایر ماهیان نیز نتایج متفاوتی از تحقیق حاضر در اثر سم دیازینون در ماهی چالباش (Soltani و Khoshbavar-Rostami، ۲۰۰۲) ماهی شیپ (Khoshbavar-Rostami و Soltani، ۲۰۰۵) ماهی ازون برون جوان (Khoshbavar-Rostami و همکاران، ۲۰۰۴) فیل ماهی (Khoshbavar-Rostami و همکاران، ۲۰۰۵) ماهی انگشت قد گربه ماهی اروپایی (Sibel و همکاران، ۲۰۰۶) گربه ماهی آفریقایی (Adedeji و همکاران، ۲۰۰۹) به‌صورت کاهش میزان گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، هموگلوبین، هماتوکریست MCH، MCV، MCHC و لنفوسیت گزارش گردید که فقط در مورد کاهش لنفوسیت نتایج مشابهی گزارش گردید ولی سایر فاکتورها با تحقیق ما همخوانی ندارد.

در تحریک یا سرکوب سیستم ایمنی، لمفوسیت‌ها نشانگرهای کارآمدی محسوب می‌شوند. هرچند

متنوع است و علاوه بر ویژگی‌های فردی گونه، به شرایط محیطی و جغرافیایی نیز وابسته است. در بررسی سمیت بسیاری از آبزیان توسط FAO (۱۹۹۱) مقادیر متنوعی بدست آمد. به‌عنوان مثال آلاینده‌ها در گربه ماهی ۳۵۰، قزل‌آلای رنگین‌کمان ۲۰، بس خالدار ۹۰، قزل‌آلای جویباری ۷۵ خورشید، ۱۶۰ و ۹۰۳ برای ماهی آزاد محاسبه شد. سمیت کشنده ۹۶ ساعته بدست آمده در خامه ماهی ۲۱۱۳ میکروگرم بر لیتر بود در حالی که سمیت همان گونه ۳۱۴ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد (Rathore و Khangarot, ۲۰۰۲).

با بررسی نتایج سایر محققین و مقایسه آن با نتایج تحقیق حاضر مشخص گردید که اگر چه غلظت سمیت حاد در گونه‌های مختلف آبزیان بسیار متغیر می‌باشد و بستگی به نوع گونه، خصوصیات فیزیولوژیکی گونه، سن، جنسیت و غیره دارد، سمیت حاد یک گونه مشابه در دو محیط مختلف اکولوژیک نیز بسیار تفاوت دارد لذا استفاده از نتایج سمیت گونه‌های مشابه در محیط‌های مختلف جغرافیایی جایز نمی‌باشد و اجرا نمودن تست سمیت حاد قبل از هر گونه مطالعه توکسیکولوژی پیشنهاد می‌گردد. در مطالعات توکسیکولوژیک آبزیان، اگر غلظت سمیت کشنده کمتر از ۱ میلی‌گرم بر لیتر باشد ماده شیمیایی بسیار سمی است، اگر بین ۱۰-۱ میلی‌گرم بر لیتر باشد درجه سمیت ماده شیمیایی متوسط و اگر بالاتر از ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر باشد ماده شیمیایی مورد نظر برای آبزی سمی نمی‌باشد (Louis و همکاران، ۱۹۹۶). لذا در تحقیق حاضر سم سایپرترین با درجه سمیت بالا محسوب می‌شود و جایگزینی سمومی با سمیت کمتر به جای سایپرترین در مصارف کشاورزی پیشنهاد می‌گردد.

کاهش تعداد لمفوسیت‌ها ممکن است با تغییر عملکرد آنها نیز همراه باشد (Louis و همکاران، ۱۹۹۶). دقیقاً مشابه آنچه که در تحقیق حاضر در مورد آلودگی آلاینده‌ها مشاهده شد. افزایش نوتروفیل در مقابل کاهش لمفوسیت در ماهی تیلاپپای تحت استرس مشاهده شد (اوانس، ۲۰۰۹).

پیری‌زیرکوهی و همکاران (۱۳۷۶) اثرات تعدادی از سموم کشاورزی را روی ماهی کپور نقره‌ای در ایران مورد بررسی قرار داد و سمیت این سموم را به‌صورت دیازینون-کمالاتیون-ساترن-ماچتی طبقه بندی نمود. نوتروفیل و وظایف زیادی از جمله فاگوسیتوز ذرات کوچک، پاسخ به التهاب، تجزیه آلاینده و پروسه‌های متابولیکی نظیر نابود کردن سلول‌ها را بر عهده دارد. بنابراین افزایش نوتروفیل در مواجهه با آلاینده‌ها دور از انتظار نیست (اوانس، ۲۰۰۹). افزایش مشابهی در نوتروفیل گربه ماهی روگاهی به‌دست آمد (Gupta و همکاران، ۱۹۸۱)، Heise و همکاران (۲۰۰۳) در سگ ماهی تحت استرس تحت حاد کلرید جیوه کاهش در مقادیر لکوسیت و لمفوسیت و افزایش در نوتروفیل و منوسیت معرفی کردند. Lohner و همکاران (۲۰۰۱) در بررسی استرس مزمن خورشید ماهی در خوریات مختلف، کاهش لکوسیت و افزایش نوتروفیل مشاهده کردند. به‌طور کلی عوامل گوناگونی بر نتایج آزمایش‌های سمیت تأثیرگذار هستند که از این عوامل می‌توان به، خصوصیات آب و ویژگی‌های زیستی گونه‌های آزمایشی اشاره کرد؛ بنابراین در انجام تست‌های سمیت حاد لازم است که با استفاده از روش‌های آزمایش استاندارد، متغیرهای خارجی و تصادفی را به حداقل برسانیم؛ همچنین باید از سالم بودن گونه‌های مورد آزمایش اطمینان کسب کنیم و آن‌ها را به‌طور تصادفی توزیع نماییم (شریعتی فیض‌آبادی، ۱۳۸۰). محدوده آلاینده‌ها در آبزیان بسیار



## تشکر و قدردانی

کلیه عزیزانی که در انجام این تحقیق شرکت داشتند  
تشکر و قدردانی می‌گردد.

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی

دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندر گز به انجام رسید. از

## منابع

- پیری زیرکوهی، م.، نظامی، ش.، امینی رنجبر، غ.، و اردگ، و.، ۱۳۷۶. مطالعات اکوتوکسیکولوژی با *Daphnia magna* و تعیین اثر سموم دیازینون، مالاتیون، ماچتی و ساترن بر این ارگانسیم. مجله علمی شیلات ایران، سال ششم، شماره ۳. صفحات ۲۴ الی ۳۰.
- شریعتی فیض‌آبادی، ف.، ۱۳۸۰. تعیین فنل، نفتول و قارچ‌کش هینوزان بر روی ماهیان سیم، سفید و کپور نقره‌ای، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران، شمال، دانشکده علوم و فنون دریایی، ۱۶۰ صفحه.
- غفاری، پ.، ۱۳۹۰. بلای جدیدی به نام آفت‌کش، مجله انسان و محیط، انتشارات جام‌جم، شماره ۱۴، ۲۰۰ صفحه.
- هدایتی، ع.، جهانبخشی، ع. قادری، ف.، ۱۳۹۲. سم‌شناسی آبزیان. انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۲۱۲ صفحه.
- Adedeji, O.B., Adeyemo, O.K., and Agbede, S.A. 2009. Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarian gariepinus*), African Journal of Biotechnology. 8 (16), 3940-3946.
- Boudou, A., and Ribeyre, F. 1997. Aquatic ecotoxicology: from the ecosystem to the cellular and molecular levels. Environ. Health Perspex. 105 (Suppl. 1), 21-35.
- Di Giulio, R.T., and Hinton, D.E., 2008. The Toxicology of Fisheries. Taylor & Francis Group. Pp, 1101.
- Dutta, H., Richmond, C.R., and Zento, T., 1993. Effects of diazinon on the gills of bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). J. Environ. Ecol. 11, 979-981.
- Evans, G.O., 2009. Animal Hematotoxicology. CRC Press. Pp, 204.
- FAO. UNEP, 1991. Operation of the prior informed consent procedure for banned or severely restricted chemicals in international trade. Joint FAO.UNEP program, Rome, Geneva, Arnended 1996.
- Gad, S.C., 2007. Animal Models in Toxicology. CRC Press. Pp, 950.
- Gupta, P.K., Khangarot, B.S., and Durve, V.S., 1981. The temperature dependence of the acute toxicity of copper to a freshwater pond snail, *Viviparus bengalensis* L. Hydrobiologia 83, 461-464.
- Heise, K., Puntarulo, S., Pörtner, H.O., and Abele, D., 2003. Production of reactive oxygen species by isolated mitochondria of the Antarctic bivalve *Laternula elliptica* (King and Broderip) under heat stress. Comp. Biochem. Physiol., C134, 79-90.
- Hotos, G.N., and Vlahos, N., 1998. Salinity tolerance of Mugil cephalus and Chelon labrosus, Pisces: Mugilidae fry in experimental conditions. Aquaculture 167, 329-338
- Karan, V., Vitorovic, S., Tutundzic, V., and Poleksic, V., 1998. Functional enzymes activity and gill histology of carp after copper sulphate exposure and recovery. Ecotox. Environ. Saf. 40, 40-55.
- Khoshbavar-Rostami H.A., and Soltani M., 2005. Effect of acute toxicity of diazinon on hematological parameters in ship (*Acipenser nudiventris*) and determine LC50. Iranian Journal of Fisheries 14(3), 49-60.
- Lebedeva, N.E., Vosyliene, S., and Golovkina, V., 1998. Functional enzymes activity and gill histology of carp after copper sulfate exposure and recovery. Ecotoxicology and Environmental Safety 40, 49-55.
- Lohner, T.W., Reash, R.J., Willet, V.E., and Rose, L.A., 2001. Assessment of tolerant sun fish populations (*Lepomis* sp.) inhabiting selenium-laden coal ash ef. uents. Ecotoxicol. Environ. Saf. 50, 203-216.
- Louis, A.H., Diana, L.W., Patricia, H., and Elizabeth, R.S., 1996. Pesticides and Aquatic Animals, Virginia Cooperative Extension, Virginia State University, Virginia Pp, 24.
- Porgholam, R., Esmaily, F., Farhomand, H., Soltani, M., Yosefi, P., and Mehdad, H. 2001. Study of blood parameters of grass carp (*Ctenopharygondon idella*) after exposure to organophosphate diazinon. Journal of Fisheries 3(2), 1-18.

- Porgholam, R., Soltani, M., Haji Mahi Aldit, D.H., Porgholam, H., Ghoroghi, A., and Nahavandi, R., 2006. Determine the median lethal concentration (LC50) of diazinon and its effects sublethal concentrations on some hematological and biochemical parameters grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Iranian Journal of Fisheries 5(2), 67-82.
- Rathore, R.S., and Khangarot, B.S., 2002. Effect of temperature on the sensitivity of sludge worm *Tubifex tubifex* (Muller) to selected heavy metals. Ecotoxicol. Environ. Saf. 53, 27-36.
- Rostami, H., Soltani, M., and Hassan, H.M.D., 2004. Changes in some hematological and serum biochemical parameters of beluga (*Huso huso*) following longterm exposure to diazinon. Iranian Journal of Fisheries 5(2), 53-66.
- Sastry K.V., and Sharma K., 1980. Diazinon effect of the activities of brain enzymes from *Opiocephalus punctatus* (Channa). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 24, 326-332.
- Sibel, O.K., Kenan, K., Mevlüt, S., Ener, U.I. and Murat, P., 2006. Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis*), Pesticide Biochemistry and Physiology 86, 99-105.
- Soltani, M., and Khoshbavar-Rostami, H., 2002. The study effects of diazinon on the some hematological and biochemical changes of *Acipeneser guldenstadti*. Journal of Marine Sciences and Technology 4(1), 65-75.