بررسی اثر سم دیازینون بر فاکتورهای خونی مولدین نر ماهی سفید (*Rutilus kutum*)

مجید محمد نژاد شموشکی[1*]، مهدی سلطانی[2]، عیسی شریف پور[3]، محمد رضا ایمانپور[4]

تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۲

چکیده

در این تحقیق ابتدا اثرات سمیت حاد سم کشاورزی دیازینون (امولوسیون ۶۰٪) بر روی مولد نر ماهی سفید تعیین گردید که به همین منظور آزمایشات تشخیص سمیت در ۴ تیمار و ۳ تکرار با ۳ عدد ماهی در هر تکرار و در داخل ۱۲ ونیرو که با ظرفیت ۱۸۰ لیتر آب قرار داشتند انجام گرفت. بعد از کسب نتایج نهایی اطلاعات حاصله مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقادیر LC10، LC50 و LC90 طی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت و میزان حداکثر غلظت مجاز و درجه سمیت مشخص شدند. سپس ۴ تیمار تشکیل گردید و ماهیان مولد سفید نر مدت ۴۵ روز تحت تاثیر غلظتهای فوق قرار گرفتند. برای تجزیه و تحلیل کلیه داده ها از نرم افزار SPSS 13 استفاده گردید. در نهایت LC50، ۹۶ ساعت این سم بر روی مولدین نر ماهی سفید ۰/۴ میلی گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز این سم نیز ۰/۰۴ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید. نتایج هماتولوژی نشان داد که دیازینون باعث کاهش میزان گلبولهای سفید، میزان گلبولهای قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط گلبول قرمز، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولهای قرمز، لنفوسیت و افزایش پرولنفوسیت میگردد و از این لحاظ تفاوت معنی دار آماری بین تیمارهای مورد نظر مشاهده گردید ($P<0.05$) اما هیچ تفاوت معنی دار آماری در میزان مونوسیت و ائوزینوفیل در بین تیمارهای مورد بررسی مشاهده نگردید ($P>0.05$).

واژگان کلیدی: دیازینون، فاکتورهای خونی، مولد نر ماهی سفید، LC50

مقدمه

انسان تولید کننده آلاینده های متعدد و متنوعی است که بخش اعظم این مواد بطور مستقیم یا غیر مستقیم به محیط آبی راه می یابد. بخشی از آلاینده‌ها مانند اغلب مواد آلی طی فرایندهای زیستی تجزیه می‌گردند ولی سایر مواد از قبیل سموم دفع آفات (هیدرو کربنهای کلردار) و فلزات سنگین در مقابل تجزیه مقاوم بوده و مدت زیادی در محیط آبی باقی می‌مانند (۱). ماهیها یکی از مهمترین موجودات آبزی

۱-استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرگز، گروه شیلات، بندرگز، بندرگز- ایران
۲- استاد، گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران- ایران
۳-دانشیار، موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران
۴- دانشیار، گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان- ایران
*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: majid_m_sh@bandargaziau.ac.ir

می‌باشند که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند و به همین دلیل جهت انجام آزمایشهای زیست سنجی در بعد وسیعی از آنها استفاده می گردد (۲). حساسیت گونه های مختلف ماهیان به مواد سمی متغییر است از این رو ضروری است آزمایشهای سم شناسی برای ماهیان مختلف صورت گیرد (۲٦). تغییرات پروفیل شیمیایی خون، در واقع بازتاب تغییر در پروسه متابولیسم و بیوشیمیایی ماهی است که به طور عمده ناشی از تاثیر آلاینده ها می باشد. این سم می تواند در غلظتهایی که کشندگی ندارد باعث سایر اختلالات بیولوژیکی و اکولوژیکی مثل: عقیم کردن ، کاهش هماوری و تولید مثل ، عدم رشد کافی در موجودات یا بوجود آمدن نسلهای مریض و ناسالم شود که از این طریق باعث نابودی نسلهای جانداران می گردند (۳). ماهی سفید با نام علمی *Rutilus kutum* از خانواده کپور ماهیان یکی از ماهیان استخوانی با ارزش دریای خزر می باشد که در استانهای شمالی کشور مورد توجه بسیاری از ساحل نشینان است خصوصاً در استان گلستان ماهی سفید به عنوان یک گونه با ارزش اقتصادی بالا حائز اهمیت فراوان می باشد. بررسی کمی فاکتورهای خونی در مراحل اولیه رشد و نمو ماهیان به عنوان یک شاخص مهم وضعیت فیزیولوژیک محسوب می گردد (۲۳)، که در تکثیر و پرورش ماهیان سفید نیز حائز اهمیت است. حدود دو سوم از اراضی زیر کشت استان گلستان در منطقه حوزه آبریز رودخانه گرگانرود قرار دارد که یکی از مناطق بسیار مهم مصرف انواع سموم دفع آفات نباتی و کودهای شیمیایی است و یکی از بزرگترین مسائل زیست محیطی در بخش کشاورزی در ارتباط با رودخانه گرگانرود مصرف زیاد سموم و کودهای کشاورزی می باشد (۱۷). از میان سموم حشره کشی که در استان گلستان مصرف می شود، دیازینون در این منطقه مصرف بالایی دارد. این سم جزو سموم تماسی و نفوذی بوده و در مواردی سیستمیک کم دوام است (۷). بر اساس اطلاعات بدست آمده از سازمان جهاد کشاورزی استان گلستان میزان مصرف سم دیازینون در سال۱۳۸۱ در استان گلستان ۲۳ تن بوده است. با توجه به کاهش صید ماهی سفید در سالهای اخیر و عدم وجود رودخانه های مناسب برای تخم ریزی، سازمان شیلات ایران اقدام به تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر این ماهی نموده است که درحال حاضر مرکزی برای تکثیر و بازسازی ذخایر این ماهی تحت عنوان مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی سیجوال بندرترکمن در استان گلستان وجود دارد که هر ساله در زمان مهاجرت مولدین این ماهی به سواحل جهت تخم ریزی در اواخر فصل زمستان و اوایل فصل بهار، صید مولدین نر و ماده در دریا صورت گرفته و در مرکز سیجوال عمل تکثیر به صورت مصنوعی توسط کارشناسان مرکز صورت می گیرد. با توجه به مطالب مطروحه فوق و با توجه به اینکه اغلب رودخانه های محل مهاجرت، تخم ریزی و پرورش اولیه لاروی، ماهیان مهاجر آب شیرین به طور خاص در مجاورت اراضی کشاورزی مصرف کننده سم دیازینون قرار دارند، آثار این سم روی فاکتورهای هماتولوژیک ماهی مولد نر سفید اهمیت پیدا می کند. همچنین با علم به اینکه تعیین میانه غلظت کشنده برای مطالعات سم شناسی ضروری است، ابتدا میزان مذکور در مورد سم دیازینون در این گونه ماهی طی ۹٦ ساعت تعیین گردید و به موازات این اقدام، آثار رفتاری و خون شناسی سم دیازینون در طولانی مدت بر روی مولدین نر ماهی سفید مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

این تحقیق به مدت ۳ ماه، در سه مرحله و در زمستان و بهار ۱۳۸۸ انجام پذیرفت. مولدین نر ماهی سفید مورد نیاز پس از صید برای سازگار شدن با محیط آزمایش به مدت یک هفته در داخل تانکهای پرورشی(ونیرو) نگهداری شدند. هر یک از ونیروها به

صورت جداگانه به سیستم هوادهی مجهز شدند تا سطح اکسیژن آب در حد استاندارد قرار گیرد. پارامترهای مؤثر فیزیکوشیمیایی آب از جمله pH ، سختی کل ، اکسیژن محلول و درجه حرارت به ترتیب در دامنه متوسط PH=۷-۸/۲ ، ۳۰۰mg/l(Caco3) = سختی کل، اکسیژن اشباعی بیش از ۷ قسمت در میلیون و (oC) ۲±۱۵= درجه حرارت قرار داشتند. سپس در مرحله اول آزمایش ابتدا اثرات سمیت حاد LC50 ، ۹۶ ساعته سم کشاورزی دیازینون (اموLوسیون ۶۰٪) بر روی مولدین نر ماهی سفید با وزن متوسط ۱۵۷/۰۶± ۶۱۳/۳۳ گرم تعیین گردید که به همین منظور آزمایشات تشخیص سمیت در ٤ تیمار، ۳ تکرار و در تانکهایی با ظرفیت ۱۸۰ لیتر آب انجام پذیرفت. پس از انجام آزمایشهای ابتدایی (آزمایش غلظتهای مختلف) به منظور یافتن محدوده غلظت کشندگی سم دیازینون بر روی مولدین نر ماهی سفید سرانجام محدوده غلظتهای ۰/۲ تا ۱ میلی گرم در لیتر تعیین گردید. ثبت تلفات هر ۲٤ ساعت (۲٤،٤۸،۷۲،۹٦ ساعت) یکبار انجام پذیرفت. بعد از کسب نتایج نهایی اطلاعات حاصله بر طبق روش آماری Program Version 1.5 Probit (USEPA, 1985) که به وسیله EPA آمریکا برای تجزیه و تحلیل داده های مرگ و میر ناشی از مسمومیت مزمن و حاد ماهیان و سایر آبزیان در آبهای جاری و ساکن طراحی شده است با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (٤۲) و مقادیر LC10، LC50 و LC90 طی ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت و میزان حداکثر غلظت مجاز (میزانLC50 ، ۹٦ ساعت تقسیم بر۱۰) (٤۱) و درجه سمیت مشخص شدند. سپس در مرحله دوم آزمایش ٤ تیمار: ۰=(LC0) به عنوان تیمار شاهد، تیمار شماره ۱ با غلظت ۰/۱۰٦=(LC1)، تیمار شماره ۲ با غلظت ۰/۱۵۷=(LC5) و تیمار شماره ۳ با غلظت ۰/۰٤= (MAC value) تشکیل گردید و ماهیان مولد سفید نر برای مدت ٤۵ روز تحت تاثیر غلظتهای فوق قرار گرفتند. در مرحله سوم آزمایش بعد از طی دوره تحت تاثیر قرار دادن مولدین در معرض سم دیازینون مولدین با عصاره گل میخک بیهوش شده و پس از قطع ورید ساقه دمی خونگیری انجام گرفته و در ادامه، فاکتورهای خونی توسط دستگاههای مختلف در آزمایشگاه مورد اندازه گیری قرار گرفتند. برای شمارش گلبول های قرمز، گلبولهای سفید یا لکوسیتها از روش توصیه شده توسط (Simmons ,1997) (۳۹) و برای اندازه گیری هموگلوبین از روش سیان مت هموگلوبین استفاده گردید (۱۵). همچنین فاکتورهای هماتوکریت و شاخص‌های گلبول قرمز نیز از طریق فرمولهای زیر بدست آمد:

حجم متوسط گلبول قرمز برحسب فمتولیتر (fl)

$$M.C.V = \frac{Hct(\%)\times 10}{RBC/million}$$

غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی برحسب پیکوگرم (pg)

$$M.C.H = \frac{Hb(gr\%)\times 10}{RBC/million}$$

غلظت متوسط هموگلوبین گلبولهای قرمز بر حسب درصد

$$M.C.H.C = \frac{Hb\times 100}{Hct}$$

برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید پس از تهیه گسترش مناسب از خون، گسترش‌ها با روش گیمسا رنگ‌آمیزی شد. در نهایت برای تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها از نرم افزار SPSS 13 استفاده گردید. داده‌ها ابتدا جهت اطمینان از نرمال بودن با آزمون کلموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) بررسی شد سپس در صورت نرمال بودن داده‌های مورد بررسی با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ ابتدا اختلاف کلی بین میانگینها مشخص و سپس با آزمون دانکن (Duncan) گروه‌ها از یکدیگر تفکیک گردیدند و در مواقعی که داده‌ها نرمال نبودند، از آزمون ناپارامتری کروسکال- والیس (Kruskal-Wallis) جهت مقایسه

تیمارها و از آزمون من– ویتنی (Mann-Whitney) برای مقایسه جفتی بین تیمارها استفاده شد.

نتایج

بر اساس نتایج بدست آمده LC50، ۹٦ ساعت سم دیازینون بر روی مولدین نر ماهی سفید ۰/٤ میلی گرم در لیتر(جدول-۱) و حداکثر غلظت مجاز (MAC value) این سم نیز ۰/۰٤ میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید.

جدول ۱- غلظتهای کشنده سم دیازینون در طی ۹٦ ساعت بر روی مولدین نر ماهی سفید

نام سم	غلظت (mg/l)	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹٦ ساعت
دیازینون	LC10	۰/۵۵۹	۰/۵۳۳	۰/۴۴۶	۰/۱۹۳
	LC50	۱/۲۳۲	۰/۸۴۷	۰/۷۸۳	۰/۴
	LC90	۲/۷۱۳	۱/۳۴۶	۱/۳۷۵	۰/۸۳۱

نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای خونی ماهیان مورد آزمایش نشان داد که در میزان تعداد گلبولهای قرمز (RBC)، هموگلوبین(Hb)، هماتوکریت (HCT)، MCV، MCH، MCHC، تعداد گلبولهای سفید (WBC)، پرولنفوسیت (P) خون ماهیان در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی دار آماری مشاهده می‌گردد($P<0.05$). اما نتایج حاصل از شمارش مونوسیت (Mo) و ائوزینوفیل (Eo) خون ماهیان مورد آزمایش نشان داد که در بین تیمارهای مختلف هیچگونه اختلاف معنی دار آماری مشاهده نمی‌گردد ($p>0.05$) (جدول-۲).

جدول ۲- مقدار متوسط فاکتورهای خونی مولدین نر ماهی سفید در تیمارهای مختلف

فاکتورهای خونی	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳	شاهد
RBC($۱۰^{۶}/mm^3$)	۱/۶±۰/۱۹ ^{b}	۱/۴۷±۰/۰۷ ^{b}	۱/۳۲±۰/۱ ^{a}	۱/۶±۰/۰۵ ^{b}
Hb (گرم در دسی لیتر)	۱۶/۵±۰/۹۳ ^{bc}	۱۵/۳۴±۱/۸۱ ^{ab}	۱۴/۵۵±۱/۶۷ ^{a}	۱۷/۵۶±۱/۵ ^{c}
HCT (درصد)	۵۶/۶۷ ±۷/۲۸ ^{bc}	۴۹/۸۹±۲/۹۳ ^{a}	۵۱/۳۳±۳/۳۳ ^{ab}	۵۹/۸۹±۵/۴۹ ^{c}
MCV (فمتولیتر)	۳۸۵/۷ ±۳۹/۵ ^{b}	۳۴۰/۸ ±۲۲/۵ ^{a}	۳۱۵/۷±۴۶/۴ ^{a}	۴۱۰/۶±۳۵/۴ ^{b}
MCH (پیکوگرم)	۱۲۹/۷±۱۲/۹ ^{b}	۱۱۳/۸±۷/۵ ^{a}	۱۰۴/۳±۱۶/۳ ^{a}	۱۳۶/۲±۱۳/۴ ^{b}
MCHC (درصد)	۳۳/۱۳±۰/۶ ^{a}	۳۲/۸۹±۰/۷۶ ^{a}	۳۲/۸۲ ±۰/۴۱ ^{a}	۳۳/۵۵±۰/۱۷ ^{b}
WBC(mm^3)	۳۳۸۱۱/۱۱±۹۹۰۱/۶ ^{b}	۱۸۷۲۲/۲۲±۶۳۱۷/۸ ^{a}	۱۲۷۳۳/۳۳±۱۹۵۴/۱ ^{a}	۳۲۶۱۱/۱±۴۸۲۵/۸ ^{b}
پرولنفوسیت(درصد)	۸/۱۱±۴/۰۵ ^{a}	۱۱±۵/۵۹ ^{ab}	۱۴/۸۳±۱/۶ ^{b}	۸/۲۲±۲/۴۴ ^{a}
لنفوسیت (درصد)	۹۱/۸۹±۳/۶۹ ^{b}	۸۸/۸۹±۵/۲۶ ^{a}	۸۳/۳۳±۱/۹۷ ^{a}	۹۰±۳/۵۴ ^{b}
مونوسیت (درصد)	۱/۰±۰/۸۷ ^{a}	۱/۲۲±۱/۲ ^{a}	۱/۶۷±۱/۲ ^{a}	۰/۷۸±۰/۸۳ ^{a}
ائوزینوفیل (درصد)	۰/۱۱±۰/۳۳ ^{a}	۰/۲۲±۰/۴۴ ^{a}	۰/۵±۰/۵۵ ^{a}	۰/۱۱±۰/۳۳ ^{a}

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشاندهنده معنی دار بودن می باشد($P<0.05$).

بحث

براساس نتایج بدست آمده میزان LC50، ۹۶ ساعت سم دیازینون بر روی مولدین نر ماهی سفید ۰/٤ میلی گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز (MAC value) این سم نیز ۰/۰٤ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید. نتایج بدست آمده برای مقدار LC50 در ۹٦ ساعت نشان می دهد که میزان LC50 با افزایش ساعات آزمایش کاهش یافته است بعبارت دیگر هر چقدر ساعات آزمایش افزایش می یابد 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 پایان ۹٦ ساعت می باشد. همچنین در بررسی نتایج آزمایشات صورت گرفته توسط محققین دیگر در سال ۱۳۷۵ در مرکز تحقیقات شیلات استان گیلانLC50 ، ۹٦ ساعت سم دیازینون بر روی ماهی سفید و ماهی فیتوفاگ به ترتیب ۰/۳٤ و ۱/۹ میلی گرم در لیتر بدست آمد(۲۰) که در این آزمایش نیز نتیجه تقریباً مشابه و LC50، ۹٦ ساعت سم دیازینون بر روی ماهی سفید برابر ۰/٤ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید. LC50، ۹٦ ساعت سم دیازینون بر روی ماهی سیم۸/۱ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید (۲۰). LC50، ۹٦ ساعت سم دیازینون در مدت ۹٦ ساعت در بچه ماهیان کپور علفخوار پنج گرمی ۱۵/۱۳ میلی گرم در لیتر تعیین گردید (۵). میزانLC50 ، ۹٦ ساعت این سم برای لارو ماهی کپور ۱/۵۳ میلی گرم در لیتر و برای جنینLC50 ، ٤۸ ساعت ،۰/۹۹ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید (۳٦). در سایر تحقیقات انجام شده بر روی ماهیان خاویاری LC50، ۹٦ ساعت سم دیازینون برای تاس ماهی ایرانی یا قره برون *(Acipenser persicus)* ٤/۳۸ میلی گرم در لیتر و برای ازون برون*(Acipenser stellatus)* ۲/۵٤ میلی گرم در لیتر (۳)، ماهی چالباش *(Acipenser guldenstadti)* ٦/۰۹ میلی گرم در لیتر (۱۲) و برای ماهی شیپ *(Acipenser nudiventris)* ۰/۳٦ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید (۱۸). LC50 سم دیازینون بر روی مارماهی مهاجر یا *(Anguilla anguilla)* در زمانهای۲٤،٤۸،۷۲،۹٦ ساعت به ترتیب ۰/۱٦ ،۰/۱۱ ، ۰/۰۹ ، ۰/۰۸ میلی گرم در لیتر، LC50 در مدت ٤۸ ساعت سم دیازینون گرانول ۵٪ بر روی ماهی *Channa punctatus* به میزان ۱٤ میلی گرم در لیتر، LC50، ۹٦ ساعت بر روی ماهی Blue gill به میزان ۱۷ برابر سمی تر از اثر حاد سم بر روی ماهی fathead minnow و این میزان در ماهی Blue gill به میزان قسمت در میلیون ۰/٤٦ و در ماهی fathead minnow به میزان قسمت در میلیون ۷/۸ می باشد. LC50، ۹٦ ساعت سم دیازینون برای ماهی گور خری (*Brachydnio ririo*) به میزان ۲/۱۲ میلی گرم در لیتر بوده است. LC50، ۹٦ ساعت سم دیازینون بر بچه ماهی انگشت قد گربه ماهی اروپایی به میزان ٤/۱٤۲ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید (۳۸). در تیلاپیای نیل *(Orechromis niloticus)* نیز سمیت دیازینون برابر قسمت در میلیون LC_{50}=۷/۸۳۰ تعیین گردید (۲۷). LC50، ۹٦ ساعت سم دیازینون را برای گربه ماهی آفریقایی ٦/٦ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید (۲۱). سمیت دیازینون در بین گونه های مختلف ماهیان متفاوت است و به سن ماهی، جنسیت، اندازه بدن، شرایط آب و هوایی و فرمول آفت کش، خصوصیات شیمیایی محیط و فاکتورهای دیگر بستگی دارد (۳۳). بدترین شکل ناهنجاری ثبت شده در اثر سم دیازینون تغییر شکل ستون فقرات به شکل لوردوزیس (Lordosis) (انحناء عمودی ستون فقرات) و اسکولیوزیس (Scoliosis) (انحناء افقی ستون فقرات) بود که این تغییرات در ماهی قنات *pimephales promelas* بعد از ۱۹ هفته که در معرض ۳/۲ میکروگرم در لیتر دیازینون قرار گرفته بود مشاهده شد (۲۲) که در این تحقیق نیز این تغییرات در ماهیان مولد سفید مشاهده کردید. دیازینون در آب دریاها یافت نشده است اما در آلودگی های مصب رودخانه ها که از

طریق پسابهای کشاورزی و شهری وارد می شود، مشاهده شده است (۲۸). ماهیانی که از لحاظ طبقه بندی در یک خانواده و حتی یک جنس قرار دارند نیز در میزان حساسیتشان نسبت به دیازینون متفاوتند. گوپی ها نسبت به دیازینون ۵ مرتبه حساس تر از ماهی گور خری هستند و سمیت دیازینون در گوپی مربوط به فعل و انفعالاتی است که روی آن صورت می گیرد و در نهایت متابولیت بسیار سمی به نام دیازوکسن پدید می‌آید (۳۱).

در نهایت نتایج حاصل از این تحقیق و مقایسه آن با آزمایشات دیگر محققین نشان داد که میزان حساسیت به سم دیازینون به ترتیب " مارماهی> شیپ> سفید> Blue gill >لارو کپور> فیتوفاگ > Zebra fish > ازون برون > گربه ماهی اروپایی> قره برون > چالباش>گربه ماهی آفریقایی> Fathead minnow > تیلاپیای نیل>سیم> *Channa punctatus*> آمور" می‌باشد از حساسیت بالاتری در مقابل سم دیازینون برخوردارند. همچنین با توجه به جدول ۳ تعیین سمیت حشره کشهای مختلف (٦، ۳۵) سم دیازینون از نظر سمیت برای ماهی سفید درای سمیت زیاد محسوب می‌گردد. همچنین حالات و رفتار ماهیان در برابر غلظت های مختلف سم نیز در طول مدت آزمایش بررسی گردید، به گونه ای که در آزمایش با غلظتهای بالای این سم مولدین نر ماهی سفید سریعاً عکس العمل نشان داده و با حرکات تند و سریع دائماً در جنبش بوده تا جایی که خسته شده و بی حال در کف تانکهای پرورشی می‌افتادند. درحالیکه در غلظت های پائین ماهیان در ساعات اولیه عکس العمل محسوسی نداشتند اما به تدریج دچار سستی می گردیدند، اختلال در سیستم مغز و اعصاب که اساسی ترین اثر سموم است با عدم تعادل و شنای مارپیچی ماهیان مشهود بود و از علائم ظاهری ایجاد شده در ماهیان می توان به انحنای ستون فقرات، بیرون زدگی چشم از حدقه (اگزوفتالمی)، خونریزی در ناحیه آبشش و ناحیه سینه‌ای و شکمی اشاره نمود که نتایج مشابه توسط محققین دیگر (۱۱، ۱۳، ١٤، ١٦، ١٨، ١٩، ٢٤، ٣٢، ٣٤) روی سایر ماهیان نیز گزارش گردیده است.

جدول ۳- تعیین سمیت حشره کشهای مختلف (٦، ۳۵)

LC50	درجه سمیت
۱۰۰< میلی گرم در لیتر	تقریباً غیر سمی
۱۰۰- ۱۰ میلی گرم در لیتر	سمیت کم
۱۰- ۱ میلی گرم در لیتر	سمیت متوسط
۱- ۰/۱ میلی گرم در لیتر	سمیت زیاد
۰/۱ > میلی گرم در لیتر	سمیت خیلی زیاد

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که دیازینون در دراز مدت تغییراتی بر روی فاکتورهای ایمونوفیزیولوژیک ماهی سفید نر می گذارد بطوریکه بر اساس نتایج هماتولوژی بدست آمده مشخص گردید که افزایش غلظت سم دیازینون در دراز مدت باعث کاهش میزان گلبولهای قرمز، گلبولهای سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH، MCHC، لنفوسیت و افزایش پرولنفوسیت میگردد اما هیچ تاثیر معنی‌داری در میزان مونوسیت و ائوزینوفیل مولدین نر ماهی سفید نمی گذارد.

در خصوص مطالعات صورت گرفته ناشی از اثر سم دیازینون بر روی فاکتورهای خونی ماهی سفید تاکنون هیچ مطالعه ای در ایران و در دنیا گزارش نشده است، اما در سایر تحقیقات صورت گرفته توسط محققین دیگر ناشی از اثر سم دیازینون بر روی کپور ماهیان کاهش میزان گلبولهای قرمز، گلبولهای سفید، هموگلوبین، هماتوکریت و لنفوسیت در ماهی کپور علفخوار ۸۵۰ گرمی (٤)، ماهی کپور علفخوار ٥گرمی (٥) و در ماهی کپور معمولی (۲۸، ۲۹و ۳۷) گزارش گردید که نتایج تحقیق حاضر با آنها همسو بود. همچنین کاهش MCV، MCH، MCHC در ماهی کپور علفخوار ۸۵۰ گرمی (٤)، ماهی کپور علفخوار ٥ گرمی (٥) گزارش گردید که نتایج مطالعه حاضر با آنها

همسویی داشت اما در ماهی کپور معمولی(۲۵ و ٤٠) هیچگونه تغییری نداشت که نتایج تحقیق حاضر با آنها همسو نبود. در مورد افزایش پرولنفوسیت در هیچ مطالعه‌ای نتایجی از بررسی میزان تغییرات آن ارائه نشده اما در مورد میزان تغییرات مونوسیت و ائوزینوفیل ناشی از سم دیازینون محققین دیگر از کاهش مونوسیت در ماهی کپور علفخوار ۸۵۰ گرمی *(Ctenopharyngodon idella)* (٤) و ماهی کپور معمولی *(Cyprinus carpio)* (۲۵) خبر داده‌اند که نتایج این تحقیق با آنها همسویی نداشت. در سایر تحقیقات صورت گرفته بر روی سایر ماهیان نیز نتایج مشابهی از اثر سم دیازینون در ماهی چالباش*(Acipenser guldenstadti)* (۱۲)، ماهی شیپ *(Acipenser nudiventris)* (۹)، ماهی ازون برون جوان *(Acipenser stellatus)* (۸)، فیل ماهی *(Huso huso)* (۱۰)، گربه ماهی اروپایی انگشت قد (*Silurus glanis*) (۳۸)، گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) (۲۱) به صورت کاهش میزان گلبولهای قرمز، گلبولهای سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH، MCHC، لنفوسیت گزارش گردیده اما در مورد پرولنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل نتایج مشابهی گزارش نگردیده است، فقط در ماهی چالباش(۱۲) و گربه ماهی آفریقایی (۲۱) افزایش مونوسیت گزارش گردید که نتایج تحقیق حاضر با آنها همسویی نداشت.

کاهش گلبولهای قرمز و هموگلوبین نشان دهنده کم خونی یا خونریزی شدید است. هموگلوبین پایین در حیوانات عموماً به معنی کم خونی است(۳۰). افزایش تعداد گلبولهای سفید در ابتدا به معنی قرار گرفتن بدن در معرض عفونت است. تعداد گلبولهای سفید ممکن است در بیماریهای مشخص کاهش یا افزایش یابد. کاهش گلبولهای سفید می تواند به دلیل کاهش عملکرد بافتهای خون ساز از قبیل کلیه، طحال و یا بیماریهای عفونی خاص باشد. ۵ نوع سلول سفید (لنفوسیت، مونوسیت،نوتروفیل، ائوزینوفیل و بازوفیل) در بدن وجود دارد که هر کدام نقش متفاوتی را در مقابله با ارگانیزمهای خارجی بازی می کنند. کاهش تعداد لنفوسیت به دلیل نقص در سیستم ایمنی بدن می باشد (۲۵). تغییرات در سطوح گلبولهای سفید و قرمز می تواند نشانه کم خونی و نقص در سیستم ایمنی بدن باشد. مواد سمی از قبیل دیازینون می توانند باعث کاهش لنفوسیت ها در بدن شوند. کم خونی می‌تواند بوسیله آسیبهای کبد، کلیه و طحال باشد (۲۵). تغییرات در تعداد گلبولهای قرمز و سفید بعد از اثر سم دیازینون می‌تواند به دلیل از بین رفتن بافتهای خون ساز کلیه باشد که باعث کاهش ایمنی غیر اختصاصی در ماهی می‌شود (٤٠). در نتیجه با توجه به نتایج این تحقیق و تحقیقات صورت گرفته توسط محققین دیگر بر روی کپور ماهیان و نیز سایر ماهیان می‌توان گفت که سم دیازینون باعث کم خونی، کاهش میزان فاکتورهای خونی و ضعیف شدن سیستم ایمنی بدن ماهیان می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس پاسندی مدیرکل محترم شیلات استان گلستان، جناب آقای مهندس یحیایی معاونت محترم صید اداره کل شیلات استان گلستان که در تهیه و انتقال ماهی کمک نمودند، از جناب آقای میربازل که در کار آزمایشگاهی کار کمک نمودند نهایت سپاسگزاری و تشکر را داریم.

منابع

۱- اسماعیلی ساری، ع (۱۳۸۱): آلاینده ها ، بهداشت و استاندارد در محیط زیست. انتشارات نقش مهر. ص ۸٦-۸۲، ۱۲۸،۸۸-۱۲۷، ۱٤٦.

۲- اولا، ی (۱۳٦۹): آلودگی ناشی از فضولات خانگی، شهری، کشاورزی، صنعتی و طبیعی،

ساختار و نقش تالاب انزلی در مقابل آنها. اسناد مرکز تحقیقاتی شیلات استان گیلان، شماره۲، ص ۳۸.

۳- پژند، ذ (۱۳۷۸): تعیین غلظت کشنده (LC5096h) سموم حشره کش دیازینون و علف کش بوتاکلر بر روی دو گونه از ماهیان خاویاری قره برون و ازون برون . پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان ،ص ۱۲ تا ۱٦ .

٤- پورغلام، ر. اسماعیلی، ف. فرهومند، ه. سلطانی، م. یوسفی، پ. مهداد، ح (۱۳۸۰): بررسی مشخصه های خونی ماهی کپور علفخوار *(Ctenopharygondon idella)*بعد از تماس با سم ارگانوفسفره دیازینون. مجله علمی شیلات ایران (انگلیسی). سال سوم . شماره ۲. ص ۱-۱۸.

۵- پورغلام، ر. سلطانی، م. حاج محی الدیت، د. ح. پورغلام، ح. غرقی، ا. نهاوندی، ر (۱۳۸۵): تعیین میانه غلظت کشنده (LC_{50}) سم دیازینون و اثرات غلظت تحت کشنده آن بر روی برخی از شاخصصهای خونی و بیوشیمیایی ماهی کپور علفخوار*(Ctenopharyngodon idella)* . مجله علمی شیلات ایران (انگلیسی). سال پنجم. شماره ۲. ص۶۷-۸۲.

٦- پیری، م. نظامی، ش. ع. امینی رنجبر، غ. ر. اردگ، و (۱۳۷٦): مطالعات اکوتوکسیکولوژی بر روی *Daphnia magna* و تعیین اثر سموم Machete, Saturn, Diazinon, Malathion بر این ارگانیزم. مجله علمی شیلات ایران، شماره۳، سال ششم، صفحات۲۳ تا ۳٤.

۷- خانجانی، ع. پورمیرزا، م (۱۳۸۰): سم شناسی، چاپ اول، دانشگاه بوعلی سینا، ص ۱۵۲– ۱۵۳- ۱٦۲-۱٦٤ .

۸- خوش باوررستمی، ح. سلطانی، م. یلقی، س (۱۳۸٤): اثر سم دیازینون روی شاخص های خونی ماهی خاویاری ازون برون *Acipenser stellatus)*و تعیین LC50 . مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی ، سال دوازدهم ، شماره پنجم ، آذر و دی ۱۳۸٤ .ص۱۰۰-۱۰۸.

۹- خوش باوررستمی، ح. سلطانی، م (۱۳۸٤): بررسی تاثیر سمیت حاد دیازینون بر روی شاخصهای خونی ماهی شیپ *Acipenser nudiventris)* و تعیین میزان LC50. مجله علمی شیلات ایران ، سال چهاردهم ، شماره ۳ ، پاییز ۱۳۸٤ .ص٤۹-٦۰.

۱۰-خوش باوررستمی، ح. سلطانی، م. حاج محی الدیت، د. ح (۱۳۸۵): بررسی تغییرات برخی عوامل هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان *(Huso huso)* پس از مجاورت طولانی مدت با سم دیازینون. مجله علمی شیلات ایران (انگلیسی). سال پنجم . شماره ۲. ص ۵۳-٦٦.

۱۱-زمینی، ع (۱۳۷۵): تعیین غلظت کشنده LC50 96h فلزات سنگین سرب و کادمیوم روی دو گونه کپور ماهیان چینی آمور و فیتوفاک. پایان نامه کارشناسی ارشد ـ دانشگاه آزاد واحد لاهیجان. ۵۲ ص.

۱۲-سلطانی، م خوش باور رستمی، ح (۱۳۸۱): مطالعه اثر دیازینون بر برخی شاخصهای خونی و بیوشیمیایی تاس ماهی روسی (چالباش) .

(*Acipeneser guldenstadti*) مجلـه علـوم و فنون دریایی ایران، پاییز، ص٦٥-٧٥.

۱۳-شریف پور، ع.، سلطانی، م. و جوادی، م. (۱۳۸۲): تعیین LC50 و ضایعات بافتی ناشی از سم آندوسولفان در بچه فیل ماهی *(Huso huso)*، مجله علمی شیلات ایران، سال دوازدهم، شماره٤، زمستان ۱۳۸۲، صفحات ٦٩ تا ٨٤.

١٤-شریف‌پور، ع. سلطانی، م. فتح الهی، ب (١٣٨٤): مطالعه آثار کشندگی و هیستوپاتولوژیک ناشی از سم آندوسولفان در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، مجله منابع طبیعی ایران، تابستان ١٣٨٤، (٢) ٥٨، صفحات ٣٧٣ تا ٣٨٢.

١٥-عامری مهابادی، م. (١٣٧٨): روشهای آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ١٢٦ صفحه.

١٦-علی نژاد، ر. (١٣٨٣): تعیین LC_{50} 96h سموم حشره کش ریجنت، قارچ کش هینوزان و علف کش رانداپ روی دو گونه ماهی خاویاری ازون برون و قره برون. ص ٥٥ ـ ٤٠ .

١٧-کیابی، ب (١٣٧٨): اکوسیستمهای تالابی و رودخانه‌های استان گلستان، چاپ اول، ص ٦٩-٦٨.

١٨-محمد نژاد شموشکی، م (١٣٨٤): تعیین غلظت کشنده LC_{50}96h فلزات سنگین سرب، روی، کادمیوم و سموم کشاورزی دیازینون، هینوزان ، تیلت بر روی بچه ماهی خاویاری شیپ، پایان-نامه کارشناسی ارشد شیلات- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ١-٤ ص.

١٩-میرزائـی، ج (١٣٨٣): تعیـین LC5096h عناصـر سنگین مس و روی، سرب و کادمیوم بر روی بچه ماهیان قره برون و ازون برون، پایان‌نامه کارشناسی ارشـد- دانـشگاه آزاد اسـلامی واحـد لاهیجـان ، ١و١٠-٣٠ ص.

٢٠-نصری تجن، م (١٣٧٥): تعیین غلظت کشنده سم (حشره‌کش ارگانوفسفره) دیازینون گرانول ٥ درصد و امولسیون ٦٠ درصد بر روی جمعیت ماهی سیم تالاب انزلی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان ص٣١ و٢٠-٧.

21- Adedeji, O. B., Adeyemo, O. K., Agbede, S. A., (2009): Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarias gariepinus*), African Journal of Biotechnology, 8 (16): 3940-3946.

22- Allison, D.T., Hermantuz. R. O., (1987): Toxicity of diazinon to Brook trout and Fathead minnows. U. S. Environ Protection Agency. 600: 25-31.

23- Alyakrinskyay, I. O., Dogora, U., (1984): Hematological features of sturgeons. Ichthyolog. 24(3): 135-139.

24- Barak, N. A. E., (1990): Mercury, Cadmium and lead concentration in five species of freshwater fish from eastern England. Science of Total, Environmetal. 92: 257 –264.

25- Banaee, M., Mirvagefei, A. R., Rafei, G. R., Majazi Amiri, B., (2008): Effecr of sub-lethal diazinon concentration on blood plasma biochemistry. Institute Journal Environmetal. Research 2 (2): 189- 198.

26- Finney, D. (1971): Probite analysis. Cambridge University: 1-33. Chemistry: 465-489.

27- Giro´n-Pe´rez, M. I., Santerre, A., Gonzalez-Jaime, F., Casas-Solis, J., Herna´ndez-Coronado, M., Peregrina-Sandoval, J., Takemura, A., Zaitseva, G., (2007): Immunotoxicity and hepatic function evaluation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to diazinon. Fish & Shellfish Immunolog. 23: 760-769.

28- Goodman, L. R., Hanson, D. J., Coppage, D. L., Moore, J. C., Mattchewes, E., (1979): Diazinon: chronic toxity and brain acetylcholinesterase inhibition in the Sheepshead minnow, *Cyprinodon variegates*. American. Fish. Society, 108: 479-488.

29- Hamm, J. T., Wilson, B. W., Hinton, D. E., (1998): Organophsphate-induced acetylcholine-sterase inhibition and embryonic vetinal cell necrosis in vivo in the teleost (*Oryzias latipes*). Neurotoxicology, 19: 853-870.

30- Hisa, M., Connie, C. W., (1998): Respiratory function of hemogolobin. New England Journal of Medical 338: 239-247.

31- Keizer. J. G., Agostino. D., Nagel. R., Geramenzi. F., Vittozi, L. (1993): Comparative Diazinon toxicity in guppy and zebra fish. Environmental. Toxicology. 12: 1243-1250.

32- Mance, G., (1990): Pollution threat of heavy metals in aquatic environmental , Elsvier

33- Montez, W. E. J., (1983): Effect of Organophosphate Insecticides on Aspects of Reproduction and Survival in small mammals. Ph.D. Thesis. Virginia Polytech. Institute. State university: 176-177.

34- Oh, H. S., Lee, S. K., Kim, Y. H., Roh, J. K., (1991): Mechanism selectire toxicity of diazinom to killifish (*Oryzias latipes*) and Loach (*Misgurnus anguilli caudatus*). Aquatic toxicology and risk assessmen. 14: 343-353.

35- Piri Zirkoohi, M., Orfog, V., (1997): Effect of some pesticides Commonly in Iranian agriculture on aquatic food chain. Tesis for pH-D degree submitted fo the academy of agricultural Sciences Godollo- Hungary: 1-31.

36- Rahmi, A., Kenan, K., (2005): Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio*) embryos and larvae. Pesticide Biochemistry and Physiology, 82: 220–225.

37- Sastry, K. V., Sharma, K., (1980): Diazinon effect of the activities of brain enzymes from *Opiocephalus punctatus* (Channa). Bulletin. Environmental. Contamination. Toxicology. 24: 326-332.

38- Sibel, O. K., Kenan, K., Mevlüt, S., Ener, U. I., 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.

39- Simmons, A. (1997): Hematology, Simmons And Butterworth- Heinemann: 507.

40- Svoboda, M., Luscova, V., Drastichova J., Zlabek, V., (2001): The effect of diazinon on hematological indices of Common carp *(Cyprinus carpio).* Acta vet. 10: 457-465.

41- T. R. C., (1984): O. E. C. D. Guidelines for testing of chemicals. Section 2. Effects on biotic systems: 1–39.

42- USEPA, (1985): Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. 3rd Ed. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, OH. EPA-600/4-85/013.