تاثیر زیر حد کشندگی سم دیازینون بر پارامترهای خونی و بافت های آبشش و عضله بچه ماهی قره برون

الناز کشتکارلنگرودی [۱]، اکرم تهرانی فرد [۲*]

۱-گروه بیولوژی دریا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵/۷۷۴

۲-گروه بیولوژی دریا، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۱۸

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی سمیت آفت کش دیازینون به عنوان یک آلاینده اکو سیستم های آبی بر روی تغییرات آسیب شناسی بافت عضله و آبشش بچه ماهیان قره‌برون و آگاهی از تغییرات پارامترهای خونی آنها در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری در سال ۱۳۹۲ انجام گردید. در این آزمایش تعداد ۵۰ عدد بچه ماهی قره‌برون با میانگین وزنی ۳ تا ۵ گرم مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس روش O.E.C.D به مدت ۱۴ روز در معرض غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ و ۷۵ درصد از LC50 سم دیازینون (که برابر ۴/۳۸ میلی گرم بر لیتر است) به صورت ساکن قرار گرفتند. از هر تیمار به طور تصادفی نمونه گرفته و سپس به آزمایشگاه منتقل شدند .جهت خونگیری (در شرایط آرام بدون ایجاد هر گونه استرس)، با استفاده از سرنگ ۲ میلی لیتری از ساقه دمی خون گرفته و در ظرف حاوی ضد انعقاد هپارین ریخته شد.پارامترهای خون شناسی با استفاده از روشهای استاندارد اندازه گیری شدند. نتایج حاصله بیانگر آن است که میانگین تعداد گلبولهای قرمز خون در نمونه شاهد ۷۱×۱۰۴ و تیمار۱ $۶۵\times۱۰^{۴}۱$ و تیمار۲ ۶۳×۱۰^{۴} و تیمار۳ ۶۲×۱۰^{۴} ومیزان هماتوکریت در نمونه شاهد۲۳ درصد و تیمار۱ ، ۲۱درصد و تیمار۲ ، ۲۰ درصد و تیمار۳ ، ۱۹درصد بوده و قرابت بین فاکتورهای هماتولوژیک مورد نظر را آنالیز آماری معنی دار نشان داده است ($P\leq0/01$). بین تعداد گلبولهای قرمز و حجم متوسط گلبولی و هماتوکریت ارتباط است، یعنی ممکن است تعداد گلبولهای قرمز در دو شرایط مختلف یکسان باشد ولی این تشابه در حجم متوسط گلبولی وجود نداشته باشد بدلیل اینکه هماتوکریت آنها فرق می کند و یا با افزایش تعداد گلبول قرمز از مقدار هماتوکریت کاسته شود و از این جهت حجم متوسط گلبولی کاهش را نشان می‌دهد. میانگین حجم متوسط گلبولی بر حسب میکرون مکعب حداقل ۳۱۷ میکرون مکعب در تیمار۳ و حداکثر ۳۵۸ میکرون مکعب در گروه شاهد بود. مقدار هموگلوبین در ماهیان خاویاری مانند سایر موجودات دیگر ارتباط مستقیمی با تعداد گلبولهای قرمز دارد به طوری که افزایش تعداد گلبولهای قرمز میزان هموگلوبین نیز بالا می‌رود و بالعکس. نمونه بافت‌های عضله و آبشش در هر تیمار، در محلول بوئن تثبیت و مقاطع نمونه بافت‌ها با ضخامت ۷ میکرون برش یافته و با استفاده از روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. تاثیرات آسیب شناسی بافتی دیازینون بر روی بافت عضله دژنره شدن، ادم، واکوئله شدن، نکروز شدن و آتروفی شدن رشته های عضلانی را در تیمارها نشان داد. همچنین پرخونی، چسبیدن تیغه‌های آبششی، نکروز سلولهای کلراید و بهم ریختن ساختار تیغه‌های آبششی از مهم ترین تغییرات مشاهده شده در ماهیان تحت تاثیر سم دیازینون بود. این تغییرات آسیب شناسی بافتی با افزایش غلظت سم به طور معنی داری افزایش یافت و میزان مرگ و میر با افزایش میزان غلظت سم افزایش یافت.

کلمات کلیدی: LC50، ماهی قره برون، دیازینون، خون، آبشش، عضله

* عهده‌دار مکاتبات (✉)، akram.tehranifard95@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.5.3]

مقدمه

ماهیان خاویاری از ذخایر اقتصادی و اکوبیولوژیک دریای خزر بوده و درآمد حاصل از صید خاویار آنها پایه و بنیان اقتصادی شیلات ایران را تشکیل می‌دهد. علاوه بر توجه به سلامتی و بهداشت مولدین و بچه‌ماهیانی که جهت رها سازی پرورش داده می‌شوند، اگر این هدف را دنبال کنیم که ماهیان خاویاری را در آبهای داخلی سازگار نموده و به پرورش آن در راستای تولید اقتصادی بپردازیم با عنایت به دوره پرورش طولانی ، باید به بهداشت و بیماریهای آنها در جهت کنترل تولید توجه ویژه اعمال گردد و نیز جهت بررسی تغییرات بافتی و فیزیولوژیکی این دسته از ماهیان که احتمالا در اثر آلودگیهای ناشی از کشاورزی، نفتی و... در طبیعت بوجود می آید، آگاهی از تغییرات بافتی و پارامترهای خونی و بیو شیمیایی این ماهیان ضروری است (Saeidi *et al*., 2002). بیشتر اطلاعات در زمینه خون‌شناسی و بافت‌شناسی ماهیان استخوانی بوده و در خصوص ماهیان‌خاویاری علم جدیدی است و گزارشات محدودی در این زمینه وجود دارد. مطالعاتی توسط Karyakina در رابطه با سلولهای عصبی و گلبولهای سفید در نوروهیپوفیز ماهی چالباش با تخمریزی و نیز اندازه گیری و سنجش فاکتورهای خونی در تاسماهیان جوان انجام گردیده است (Alyakrinskyaya and Dolgova, 1984).

امروزه آفت‌کش ها در کشاورزی و برای کنترل آفات در محیط‌های آبی و نیز برای حفظ سلامت بشر و حیوانات به کار می روند اما کاربرد روزافزون و بیش از حد آفت‌کش‌ها سلامت بشر را نیز به مخاطره انداخته و اثرات معکوسی بر موجودات غیر هدف داشته و موجب آلودگی منابع آب و خاک و هوا می‌گرد (Skry, 2012).

سموم و آفت‌کش‌ها در حال حاضر از عمده‌ترین موارد مسمومیت ماهیان هستند که ممکن است در غلظت کم، تاثیر مستقیمی روی ماهی نداشته باشند ولی در طولانی مدت روی مراحل اولیه تکامل ماهی موثر خواهند بود. به هر حال آفت‌کش‌ها در بیشتر موارد منجر به آسیب به ماهیان می‌شوند، از این رو تحقیقات اکولوژیک و بیولوژیک برای تعیین اثرات مواد غیر طبیعی بر حیات محیط زیست در سال های اخیر افزایش یافته است (Tehranifard *et al*., 2007a).

استان های گیلان، مازندران و خوزستان به عنوان قطب های بزرگ کشاورزی به شمار می‌آیند و سطحی بالغ بر ۱/۵ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی این مناطق به کشت انواع محصولات زراعی آبی و دیم اختصاص دارد. مصرف مواد دفع آفات نباتی در این استان ها از میزان بسیار بالایی برخوردار است. از مجموع حدود ۳۵۰۰۰ تن ماده دفع آفات نباتی توزیع شده در سطح کشور حدود ۲۵۰۰۰ تن آن در اراضی کشاورزی استان های شمالی کشور مورد مصرف کشاورزان قرار می گیرد. باید اذعان نمود که در بعضی موارد آفت کش ها اثرات مخرب بیشتری روی موجودات غیرهدف (آبزیان) نسبت به موجودات هدف (آفات) داشته که این خود در حساسیت بالاتر و مرگ و میر سریع تر و بیشتر آبزیان نهفته است. سواحل جنوبی دریایی خزر و رودخانه های مهاجر پذیر شامل سفیدرود، گرگان رود، پل رود، تجن و شفارود می‌باشند که این رودخانه ها به دلیل مجاورت با مزارع بسیار وسیع کشاورزی اعم از شالیزار، گندم زار، مرکبات و باغات چای، هر ساله مقادیر زیادی از باقیمانده سموم مختلف کشاورزی را

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.5.3]

به دریای خزر منتقل می‌کنند. این سموم از طریق تغییر در کیفیت آب باعث مرگ بچه ماهیان و حتی ماهیان بزرگتر می‌گردند (Soltani and Khoshbavar Rostami, 2007) .بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک نیز به طورگسترده ای به عنوان نشانگرهای زیستی در ارزیابی سلامت ماهی های در معرض آلاینده ها استفاده می‌شود. این مواد شیمیایی زیر حد کشنده برای ماهی، سبب آسیب های بافتی و سمیت بالای آنها منجر به مرگ و میر ماهی می‌شود (Mario *et al.*, 2010). آبشش ها یکی از اندام های حیاتی بوده که در تماس مستقیم با آب می‌باشند. آبشش ماهی می‌تواند به عنوان یک عضو حساس برای آزمایش اثر زیر حد کشنده استفاده شود. آبشش غالبا در ارزیابی آلاینده ها درمحیط های دریایی و همچنین زیستگاه های آب شیرین مورد بررسی قرار می‌گیرند (Magar and Shaik, 2013).

هدف از این تحقیق بررسی سمیت آفت کش دیازینون به عنوان یک آلاینده اکو سیستم های آبی بر روی تغییرات آسیب شناسی بافت عضله و آبشش بچه ماهیان قره برون و آگاهی از تغییرات پارامترهای خونی آنها بوده است.

مواد و روش‌ها

سم حشره کش دیازینون با فرمول شیمیایی $C_{12}H_{21}O_3N_2PS$ بوده و در کشاورزی در دفع آفات برنج، میوه، نیشکر و گیاهان زینتی و غیره مصرف می شود. حد آستانه مجاز دیازینون در سال ۱۹۹۱ به مقدار ۰/۱ میلی گرم در یک متر مکعب هوا تعیین شده است. حد قابل تحمل آن را در ۰/۷۵ قسمت در میلیون تعدادی از محصولات برای تعدادی از سبزیها تعیین کرده اند (Sanaee, 1997).

در این مطالعه از تعداد ۵۰ قطعه بچه ماهی قره برون استفاده شد. بچه ماهیان مورد بررسی عمدتا در سنین ۱-۲ سالگی بوده و میانگین وزن آنها ۲۳۵ گرم و میانگین طول ۴۴/۳ سانتی متر بودند. پس از نگهداری آنها در شرایط آب شیرین (از آب رودخانه استفاده شد که ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش مورد عملیات اکسیژن دهی قرار گرفت) به مدت ۱۰روز و سازگاری آنها با این شرایط برای انجام آزمایشات آماده شدند. آب استفاده شده برای آکواریوم ها ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش اکسیژن دهی گردیده و پارامترهای موثر فیزیکو شیمیایی آب نظیر pH برابر ۷تا۸ و میزان اکسیژن محلول حداقل ۸۵ درصد اشباعی هوا (۷ میلی گرم در لیتر) ، دما (۱± ۲۵ درجه سانتی گراد) و سختی کل (۳۲۴۰ میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم) تحت کنترل بودند (جدول۱).

برای انجام این آزمایشات تعداد ۴ عدد آکواریوم ۲۰ لیتری بکار برده شد. در هر آکواریوم تعداد ۵ بچه ماهی قره برون قرار داده شد. گروه اول بعنوان شاهد و گروه دوم از سم دیازینون با غلظت ۲۵ درصد Lc50 ۹۶ ساعته ، گروه سوم با غلظت ۵۰ درصد Lc50 96 ساعته ،گروه چهارم با غلظت ۷۵ درصد Lc50 96 ساعته، با سه تکرار انجام شد. سپس با استفاده از روش آماری، میانگین و انحراف معیار کلیه اطلاعات محاسبه گردید و برای مقایسه نتایج بدست آمده از برنامه Excel استفاده شد.

با توجه به غلظت کشنده Lc50 سم دیازینون که برابر ۴/۳۸ میلی گرم بر لیتر می باشد. غلظت سم در این آزمایش ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد از Lc50 سم دیازینون

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.5.3]

برای ماهی قره‌برون به ترتیب ۱/۰۹۵ ، ۲/۱۹ ، ۳/۲۸۵ میلی‌گرم در لیتر در نظر گرفته شد. بعد از ۱۴ روز که ماهیان در معرض سم دیازینون با غلظت متفاوت قرار گرفتند، از هر تیمار به طور تصادفی نمونه گرفته و سپس به آزمایشگاه منتقل شدند. جهت خونگیری (در شرایط آرام بدون ایجاد هر گونه استرس)، با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری از ساقه دمی (یک سانتی متر پایین تر از باله مخرجی ناحیه ساقه دمی با زاویه ۴۵ درجه) خون گرفته و در ظرف حاوی ضد انعقاد هپارین (۲۵۰-۲۰۰ واحد بین المللی هپارین به ازای هر میلی‌لیتر خون) ریخته می‌شد. نمونه های خون در شرایط سرما به آزمایشگاه منتقل و به طور سریع آزمایشات مورد نظر انجام پذیرفت.

سپس نمونه بافتی از آبشش و عضلات تیمارها و شاهد جداشده و پس از تثبیت مقاطع بافتی تهیه و با هماتوکسیلین – ائوزین رنگ آمیزی و پس از مونته کردن روی لام توسط میکروسکوپ Motic که مجهز به دوربین عکس گرفته و مورد بررسی قرارگرفتند. مراحل تهیه بافت براساس پروتکل استاندارد از کتاب Fish pathology انجام شده است (Genten, Terwinghe and Danguy 2009).

مرحله اول : فیکس کردن توسط محلول بوئن انجام شد. مرحله دوم : آبگیری در چند ظرف الکل با درجات صعودی قرار گرفت. مدت توقف بافتها در الکل های فوق برای ظرف اول یکساعت و برای ظرف الکل مطلق ۲ ساعت در نظر گرفته شود، می توان به جای دو ظرف الکل مطلق یک ظرف بکار برد. مرحله شفاف سازی: برای شفاف کردن از محلول‌هایی استفاده شد که بتواند الکل موجود در بافت را خارج نموده و شفافیت به آن بدهد. از گزیلل استفاده کردیم ۲ تا ۳ ظرف گزیلل گذاشته و حداقل زمان شفاف کردن ۴ ساعت در نظر گرفته شد، سه مرحله فوق توسط دستگاه زیر صورت گرفت. پارافینه کردن بافت: برای نرم شدن نمونه‌ها، آنها در مخلوط کلروفرم و پارافین خالص نرم و به قرار زیر قرارگرفتند. بافت به آرامی از گزیلل خارج شده و در پارافین مذاب قرار گرفت. حداقل زمان لازم ۴ ساعت مبود. قالب‌گیری توسط دستگاه Embeddingصورت گرفت. برش زدن بافت یا مقطع گیری: دراین مرحله با استفاده از میکروتوم دوار، برشهای بافتی به ضخامت ۵ میکرون تهیه گردیدند. صورت لایه نازکی از پارافین حاوی بافت بودند را با استفاده از قلم موهای نازک از رو یه سطح شیبدار میکروتوم برداشته شد. شناوری در آب گرم (۳۷درجه سانتیگراد) حمام بافت، که درمجاورت میکروتوم قرارداده شد تا چین وچروک بافتهای تهیه شده از بین بروند. سپس سبد را در فور ۱۲۰ گذاشته و در درجه ۲۰-۱۰ دقیقه گذاشتیم. این نکته قابل ذکر است که رو لام ها را با قلم الماس نامگذاری کردیم تا شماره گذاری های روی لام پاک نشود .رنگ آمیزی: برشهای بافتی تهیه شده با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند (Hung *et al*., 1990).

جدول۱: برخی از متغیرهای فیزیکی و شیمیایی آب مورد استفاده طی انجام آزمایشها

متغیر	مقدار
درجه حرارت	۲۵±۱
اکسیژن محلول	۷<میلی گرم درلیتر
سختی کل	۳۲۴۰ میلی گرم درلیتر
pH	۸/۲-۷

خونگیری بر اساس پروتکل (Heil, 2004) از ساقه دمی انجام گرفت.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.5.3]

آزمایشات خون شناسی عبارت بودند از:

- زمان انعقاد خون: پس از خونگیری زمان انعقاد با استفاده از کرونومتر اندازه گیری شد.
- هماتوکریت: برای اندازه گیری هماتو کریت از روش میکرو هماتوکریت استفاده شد.
- هموگلوبین: برای اندازه گیری هموگلوبین از روش سیان مت هموگلوبین و با استفاده از دستگاه اسپکترو فتومتر اندازه گیری شد.
- سدیمان: برای اندازه گیری سدیمان از روش وسترگرین استفاده شد.
- اندیس‌های خونی (شاخص های گلبولهای قرمز خون):
- حجم متوسط گلبولی (M.C.V) با واحد فمتولیتر MCV=HCT×10/RBC
- غلظت متوسط هموگلوبین در یک گلبول قرمز (M.C.H) با واحد پیکو گرم MCH=HB×100 /RBC
- غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول‌های قرمز (M.C.H.C) با واحد درصد MCHC=HB×100/HCT
- شمارش گلبول‌های قرمز با استفاده از پیپت ملانژور قرمز و لام هموسیتومتر انجام شد.
- شمارش گلبول‌های سفید با استفاده از پیپت ملانژور سفید و لام هموسیتومتر انجام شد.

آنالیز آماری: میانگین و انحراف معیار کلیه اطلاعات محاسبه گردید و برای مقایسه نتایج بدست‌آمده از برنامه SPSS استفاده شد.

نتایج

گلبول‌های قرمز ماهی ، بیضی شکل و دارای سیتوپلاسم صورتی رنگ بوده و هسته آنها نیز بیضی شکل و تقریبا در مرکز گلبول قرار دارد. هسته ها اغلب دارای کروماتین پر تراکم بوده و بازوفیلیک می باشند.

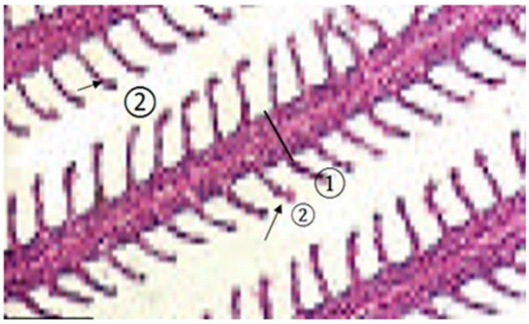
نتایج پارامترهای خونی در گروه شاهد و تیمار ها در جداول زیر آمده است (در همه جداول اعداد بالایی در هر کادر میانگین و انحراف معیار و دو عدد پایین مینیمم و ماکزیمم هستند).

جدول ۲: میانگین و دامنه تعداد گلبولهای قرمز، سفید، مقادیر هموگلوبین ، هماتوکریت و پارامترهای خونی در گروه شاهد و تیمارهای مختلف

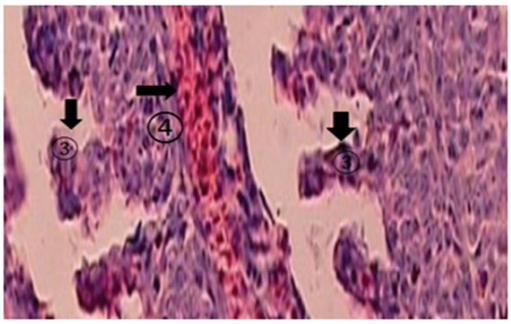
فاکتورهای هماتولوژیک / تیمارها	R.B.C mm^3 عدد X 10^4	HTC درصد	Hb Gr/dl	M.C.V m^3	M.C.H pg	M.C.H.C درصد	ESR mm/h	W.B.C mm3
گروه شاهد	۷۱±۱۲	۲۳±۳/۱	۶/۲۷±۰/۲	۳۵۸±۳۹	۸۰±۳/۱	۲۴±۲	۹/۵±۴/۵	۲۱±۳/۲
	۵۵-۸۶	۱۸-۲۷	۵-۷/۵۴	۲۹۰-۴۲۶	۶۶-۱۰۰	۲۰-۳۲	۲/۵-۱۱/۵	۱۵-۲۷/۲
تیمار۱ (۱/۰۹۵میلی گرم درلیترسم دیازینون)	۶۵±۷/۲	۲۱±۲/۱	۵/۴±۰/۸۸	۳۳۳±۵۹	۷۹±۱۵/۱	۲۳±۳	۸/۶±۵/۶	۲۰±۳/۴
	۷۰-۶۰	۱۹-۲۵	۴-۷	۲۸۸-۴۴۳	۶۵-۱۱۰	۲۰-۲۹	۴-۵	۱۴-۲۴
تیمار۲ (۲/۱۹ میلی گرم درلیترسم دیازینون)	۶۳±۸	۲۰±۱/۵	۵±۰/۷۹	۳۲۳±۲۸/۸	۷۶±۸/۶	۲۳±۳/۰۲	۶/۲±۴/۵	۱۴±۵/۲
	۶۱-۶۵	۱۸-۲۳	۴-۶/۵	۲۸۰-۳۶۱	۶۴-۹۰	۲۰-۲۹	۱-۱۵	۹-۱۹
تیمار۳ (۳/۲۸۵ میلی گرم درلیترسم دیازینون)	۶۲±۷/۹	۱۹±۳/۱	۴/۵±۰/۴۴	۳۱۷±۳۰	۷۱±۸/۵	۲۴±۱/۴	۲/۶±۲/۳	۱۲±۴/۸
	۶۱-۶۳	۱۷-۲۱	۳/۹-۵/۱	۲۸۱-۳۴۳	۵۸-۷۸	۲۰-۲۴	۱-۶	۱۰-۱۷/۵

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.5.3]

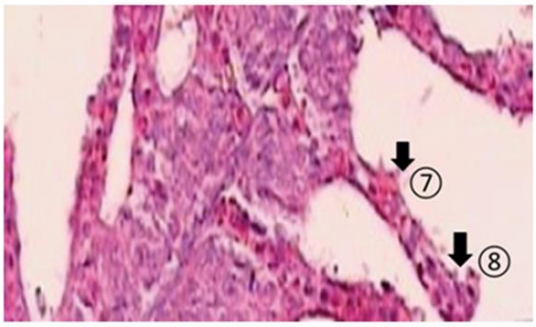
بطور کلی می توان نتیجه گرفت که در خصوص آبشش در ۲۵ درصد LC50 سم دیازینون چسبیدن تیغه های آبششی بهم، ادم، جمع شدن سلولهای خونی، جدا شدن اپی تلیوم آبششی، پارگی غشاء پایه، بهم خوردن سلولهای پیلار می گردد که با افزایش غلظت سم به ۵۰ درصد افزایش اندازه و نکروز سلولهای کلراید، چسبیدن تیغه های آبششی به یکدیگر، جدا شدن غشاء پایه و پاره شدن اپی تلیوم آبششی، بدون ریختن سلولهای خونی مشاهده می گردد در نهایت با افزایش غلظت سم به ۷۵ درصد نکروز شدید، بهم ریختن ساختار تیغه های آبششی مشاهده شد.



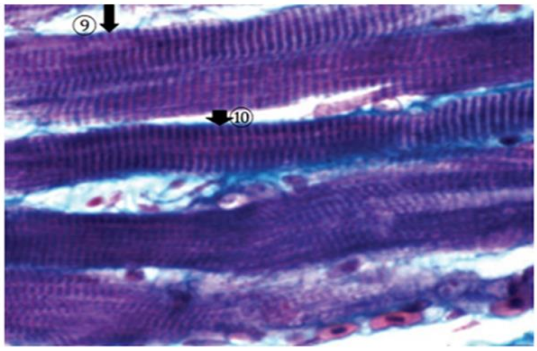
شکل ۱: آبشش شاهد، کاملاً طبیعی بوده است با بزرگنمایی 400x
(1) فیلامنت آبششی (2) تیغه آبششی ثانویه



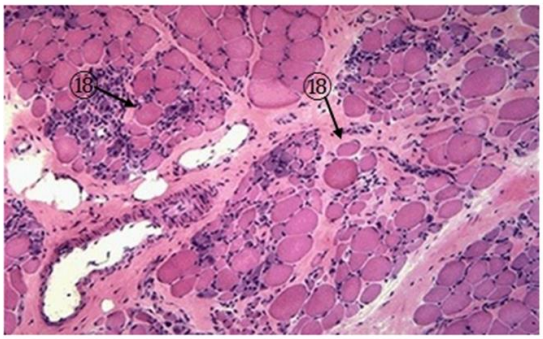
شکل ۲: ازدیاد سلولهای اپیتلیوم فیلامنت های ابششی ماهی قره برون تیمار شده با غلظت ۰/۲۵ سم دیازینون (3) افزایش تعداد سلولهای اپیتلیوم پوشاننده تیغه های آبششی (4) افزایش تعداد سلولها درتیغه آبششی اولیه بزرگنمایی 400x



شکل۳: (7) دژنره شدن و (8) نکروز در تیغه های آبشش ثانویه ماهی قره برون تیمار شده با غلظت ۰/۵ سم دیازینون بزرگنمایی 400x



شکل ۴: برش طولی عضله ماهی قره برون (نمونه شاهد)بزرگنمایی 1000x
(9) خطوط عرضی تیره وروشن (10) برش طولی میوفیبریل



شکل ۵: (18) آتروفی رشته های عضلانی تحت تاثیر غلظت ۰/۷۵ سم دیازینون بزرگنمایی 1000x

از نظر تغییرات رفتاری در ماهیان قره‌برون مشاهداتی که انجام شد شامل تیره شدن پوست، باد کردن چشم ها، فرسودگی کناره های باله، باد کردن شکم به همراه پیدایش مایع آبکی و زرد روشن در محوطه شکمی بود و از نظر رفتاری دارای حالت گیجی

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.5.3]

در شنا کردن، شنا کردن ماهی در سطح با شکم باد کرده و سر به طرف پایین و باز و بسته شدن سریع تر آبشش‌ها را داشتند.

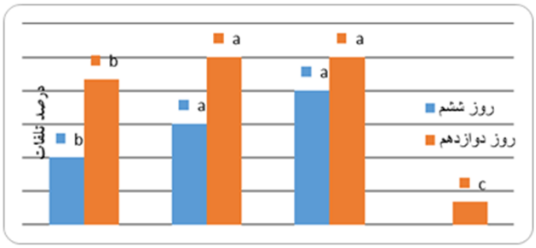
در عضله نیز نمونه شاهد طبیعی بود و عضله تیمار ۲۵ درصددچار ادم رشته‌های عضلانی گردید. با افزایش غلظت سم عوارض بیشتری مشاهده گردید که بافت دچار دژنره شدن و واکوئله شدن رشته‌های عضلانی شد. در نهایت در عضله تیمار ۷۵ درصد LC50 تحت تاثیر سم دچار نکروز رشته‌های عضلانی و آتروفی رشته‌های عضلانی شده بود

مشاهده حالات و رفتار های ماهیان در آزمایش:

در غلظت ۲۵٪ از Lc50 سم دیازینون بچه ماهیان در ساعات اولیه عکس العمل محسوس نداشتند اما به تدریج دچار سستی می گردیدند.

در غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ درصد در همان ساعات اولیه تغییرات حالات رفتاری ماهی شروع شد از جمله این تغییرات می توان به اختلال در سیستم مغز و اعصاب که اساسی ترین اثر سموم است و عدم تعادل و شنای مارپیچی بچه ماهیان اشاره کرد.

علائم ظاهری ایجاد شده در بچه ماهیان عبارتند از: باد کردن چشم ها،تیره شدن پوست، فرسودگی کناره-های باله، باد کردن شکم به همراه پیدایش مایع آبکی و زرد روشن در محوطه شکمی و از نظر رفتاری به حالت گیجی در شنا کردن، شنا کردن ماهی در سطح با شکم باد کرده و سر به طرف پایین، باز و بسته شدن سریع تر آبشش‌ها اشاره کرد که در غلظت ۷۵ درصد علاوه بر این تغییرات مخاط فراوان روی سطح بدن، باز و بسته شدن سریعتر سرپوش های آبشش‌ها و واکنش شدید به محرک های بیرونی هم دیده شد.



شکل۶: مقایسه اثر تیمارهای مختلف دیازینون روی مرگ و میر بچه ماهی قره برون

بحث

تولید بچه ماهی ماهیان با کیفیت بالا به عوامل محیطی زیادی بستگی دارد که یکی از این عوامل تاثیرگذار منفی بر مراحل رشد ابتدائی ماهیان سموم هستند. با نیازی که امروزه برای کاهش هزینه‌های تولید به تولید بچه ماهیان با کیفیت بالا در طول سال وجود دارد باید بررسی بیشتری نسبت به پرورش بچه ماهیان انجام داد. سموم وآفت‌کش‌ها امروزه از عمده‌ترین عوامل ایجاد مسمومیت در ماهیان هستند که از بین هزاران ماده شیمیایی رها سازی شده آفت‌کش‌ها حتی در غلظت‌های بسیار کم موجب مرگ و میر زیادی می-شوند (Sanches-Fortun and Barahona, 2005).

بر اساس نتایج بدست آمده میزان غلظت کشنده سم دیازینون در طی ۴ روز متوالی (۹۶ ساعت) برای ۵۰ درصد از بچه ماهیان ۱ تا ۲ گرمی سیاه‌کولی ۰/۹۱ میلی گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز (MAC value) این سم که به عبارتی غیر موثر (NOEC) نیز خوانده می شود ۰/۰۰۹۱میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. همچنین حداقل غلظت موثرLOEC که به LC10 96h اطلاق می‌گردد، ۰/۰۶۹۸ میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید. در سایر تحقیقات انجام شده بر روی ماهیان در ایران تا کنون

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.5.3]

هیچ مطالعه ای بر روی اثرات این سم روی بافت این ماهی انجام نگرفته است و فقط Lc50 آن تعیین شده است، اما LC50 96h این سم بر روی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) برابر ۱۲/۸۱ میلی گرم در لیتر تعیین شده است (Mohammadnejad Shamoshaki and Shahkar, 2009) و برای ماهی شیپ ۰/۳۶ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید. همچنین در آزمایشاتی که در سال ۱۳۷۵ در مرکز تحقیقات شیلات ایران انجام گرفت LC50 96h سم دیازینون بر روی ماهی سفید و ماهی فیتوفاگ به ترتیب ۰/۳۴ و ۱/۹ میلی گرم در لیتر بدست آمد. LC50 سم دیازینون بر روی ماهی سیم ۸/۱ میلی گرم در لیتر (Tehranifard *et al*., 2007a and b)، LC50 سم دیازینون بر روی ماهی مهاجر (*Anguilla anguilla*) در زمانهای ۲۴ ، ۴۸ ، ۷۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب ۰/۱۶ ، ۰/۱۱ ، ۰/۰۹و ۰/۰۸ میلی گرم در لیتر، LC50 در مدت ۴۸ ساعت، دیازینون گرانول ۵ درصد بر روی ماهی *Channa punctatus* به میزان ۱۴ میلی گرم در لیتر می‌باشد. LC50 96h بر روی ماهی blue gillبه میزان ۱۷ برابر سمی‌تر از اثر این حاد سم بر روی ماهی Fathead minnow و این میزان در ماهی gill blue به میزان ۰/۴۶ppmو در ماهی گورخری به میزان ۲/۱۲ میلی گرم در لیتر بوده است (Banaee et al., 2013). بنابراین در مقایسه از نظر حساسیت گونه های مختلف ماهیان در برابر سم دیازینون به صورت " مارماهی > سفید > شیپ>Blue gill> فیتوفاگ >Zebra fish> ازون برون > قره برون Fathead> >minnow سیم > کلمه>*Channapunctatus*> سیاه کولی می باشد. هم‌چنین تعیین سمیت حشره‌کش‌های مختلف سم دیازینون برای بچه ماهیان سیاه‌کولی دارای سمی خیلی زیاد محسوب می گردد.

همچنین حالات و رفتار بچه ماهیان در برابر غلظت های مختلف سم نیز در طول مدت آزمایش بررسی گردید، به گونه‌ای که در آزمایش با غلظت‌های بالای این سموم، بچه ماهیان سیاه‌کولی سریعا عکس‌العمل نشان داده و مدام در جنبش بوده تا جایی که خسته شده و بی‌حال در کف آکواریوم می‌افتادند و حالاتی مشابه به این در ماهیان قره‌برون دیده شد. در حالی که در غلظت‌های پایین بچه ماهیان در ساعات اولیه عکس-العمل محسوس 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 بچه ماهیان مشهود بود و از علائم ظاهری ایجاد شده در بچه ماهیان می‌توان به بیرون زدگی چشم از حدقه (اگزوفتالمی)، خونریزی در ناحیه آبشش اشاره نمود که نتایج مشابه توسط (Mohammadnejad Shamoshaki & Shahkar, 2009). Barak و Mason در سال ۱۹۹۰ روی سایر ماهیان نیز گزارش گردیده است و در ماهیان قره‌برون مشاهداتی که انجام شد شامل تیره شدن پوست، باد کردن چشم ها، فرسودگی کناره های باله، باد کردن شکم به همراه پیدایش مایع آبکی و زرد روشن در محوطه شکمی بود و از نظر رفتاری دارای حالت گیجی در شناکردن، شناکردن ماهی در سطح با شکم باد کرده و سر به طرف پایین و باز و بسته شدن سریع‌تر آبشش‌ها را داشتند.

اهمیت آگاهی از تعداد گلبول‌های قرمز درصد هماتوکریت میزان هموگلوبین ماهیان شاید بیش از مرفولوژی آنها باشد (Lindalva *et al*., 2013). براساس نتایج بدست آمده در این بررسی میانگین تعداد گلبول‌های قرمز خون در نمونه شاهد ۷۱×۱۰^{۴} و تیمار۱ (۱/۰۹۵میلی گرم در لیترسم دیازینون) ۶۵×۱۰^{۴} و

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.5.3]

تیمار۲ (۲/۱۹ میلی‌گرم در لیتر سم دیازینون) ۶۳×۱۰^{۴} و تیمار۳ (۳/۲۸۵ میلی‌گرم در لیترسم دیازینون) ۶۲×۱۰^{۴} و میزان هماتوکریت در نمونه شاهد۲۳ درصد و تیمار۱ (۱/۰۹۵میلی گرم در لیترسم دیازینون)۲۱ درصد و تیمار۲ (۲/۱۹ میلی گرم در لیتر سم دیازینون) ۲۰ درصد و تیمار۳ (۳/۲۸۵ میلی گرم در لیترسم دیازینون)۱۹درصد بوده و قرابت بین فاکتورهای هماتولوژیک مورد نظر را آنالیز آماری معنی دار نشان داده است. بین بین تعداد گلبول‌های قرمز و حجم متوسط گلبولی و هماتوکریت ارتباط است یعنی ممکن است تعداد گلبول‌های قرمز در دو شرایط مختلف یکسان باشد، ولی این تشابه در حجم متوسط گلبولی وجود نداشته باشد. بدلیل اینکه هماتوکریت آنها فرق می‌کند ویا با افزایش تعداد گلبول قرمز از مقدار هماتوکریت کاسته شودو از این جهت حجم متوسط گلبولی کاهش را نشان می‌دهد. میانگین حجم متوسط گلبولی بر حسب میکرون مکعب حداقل ۳۱۷ میکرون مکعب در تیمار۳ (۳/۲۸۵ میلی‌گرم در لیترسم دیازینون) و حداکثر ۳۵۸ میکرون مکعب در گروه شاهد بود. مقدار هموگلوبین در ماهیان خاویاری مانند سایر موجودات دیگر ارتباط مستقیمی با تعداد گلبول‌های قرمز دارد به طوری که افزایش تعداد گلبول‌های قرمز میزان هموگلوبین نیز بالا می‌رود و بالعکس.

مطالعه بافت‌های قزل آلای رنگین کمان بعد از مجاورت با غلظتهای مختلف تحت کشنده سم دیازینون با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی توسط Banaee و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان داد که این سم موجب صدمات شدید به ساختمان سلولها و بافتهای کلیه، طحال و کبد شده که به صورت پرخونی عروق خونی ، خونریزی ، نفوذ سلولهای آماسی، پیکنوزه شدن هسته های سلولی، دژنراسیون واکویلی و نکرزو عمومی مشاهده گردید. همچنین در آبششها هیپرپلازی و چسبندگی تیغه های ثانویه به هم، جدا شدن و افتادن بافت پوششی از لایه پایه دیده شد که مشابه همین کار بود و اثرات مشابهی را مشاهده نمودند.

مطالعه اثر دیازینون بر برخی شاخصهای خونی و بیوشیمیایی تاس ماهی روس (چالباش) (*Acipeneser guldenstadti*) توسط Soltani و Khoshbavar Rostami در سال ۲۰۰۷ مورد بررسی قرارگرفت که از نظر بالینی ماهیان مسموم ابتدا دچار فلجی، بی حالی، حرکات انقباضی و از دست دادن تعادل شده سپس به پهلو قرار گرفته و دچار شنای نیم چرخشی و حرکات ناگهانی می‌گردیدند. اینگونه ماهیان سپس دچار تیرگی پوست و اشکال تنفسی شده و بعضاً طی فاصله کوتاهی پس از بروز این علایم تلف می‌شدند، که در روند انجام کار با دیازینون روی ماهی سیاه کولی هم بیشتر این علائم مشاهده گردید.

بررسی اثرات سمیت دیازینون بر برخی پارامترهای هماتولوژیکی بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) توسط Padash Badamchi و همکاران در سال ۲۰۰۹ در رودخانه سفید رود از نظر بالینی در ماهیان مواجه با سم پس از ۱۲ ساعت علائم زیر ظاهر گردید: وجود مخاط فراوان روی سطح بدن ، شنای نیم چرخشی، باز و بسته شدن سریعتر سرپوش های آبشش ها، واکنش شدید به محرک های بیرونی، که دو علامت باز و بسته شدن سریعتر آبششی و شنای چرخشی در همین ساعات در دیازینون بر روی سیاه کولی در این تحقیق نیز مشاهده گردید.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.5.3]

Koprucu و همکـاران در سـال ۲۰۰۶ مطالعـه ای روی اثـرات سـم دیـازینون روی رفتـار و بعضـی پارامترهـای خـونی گربـه مـاهی اروپـایی (*Silurus glanis*) انجـام دادنـد. تعـداد ماهیـان مـرده بـه طـور چشمگیری در واکنش به غلظتهـای ۲ تـا ۶۴ میلـی گـرم بـر لیتـر دیـازینون افـزایش یافتـه بودنـد ,و بـا افـزایش غلظتهای دیازینون در طی در معـرض قرارگیـری در ۹۶ ساعت تعداد ماهیان مرده بـه طـرز چشـمگیری افـزایش یافتند کـه در ایـن پـروژه نیـز بـه توجـه بـه نمودارهـا و جداول با افزایش غلظت سم دیازینون ایـن تلفـات نـرخ صعودی را مشاهده می‌نماییم و نتیجه مشابهی را داشتیم.

سپاسگزاری

در اینجا بـر خـود لازم مـی‌دانـیم از زحمـات کلیـه کسـانی کـه مـارا در انجـام ایـن تحقیـق یـاری نمودنـد سپاسگزاری نماییم.

منابع

1. Alyakrinskyaya, I. & Dolgova, S. N., 1984. Hematological feature of young sturgeon. Volume 4, pp. 135-139.
2. Banaee, M., Sureda, . A., Mirvagefei, A. R. & Ahmadi,, K., 2013. Histopathological Alterations Induced by Diazinon in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Int. J. Environ. Res., 7(3), pp. 735-745.
3. Barak, N. & Mason, C. E., 1990. Mercury, Cadmium and lead concentration in five species of freshwater fish from eastern England. Science and Environmental, Volume 92, pp. 257-264.
4. Genten, Frank, Eddy Terwinghe.,Andre Danguy.., 2009 .Atlas of Fish Pathology, Paris: Taylor & Francis,224p.
5. Koprucu, S., Kprucu, M. S., Ural, U. & Pala, M., 2006. Acute toxicity of organophosphorus pesticide diazinon and its effect on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis* L.,). Pesticide Biochemistry and Physiology, Volume 86, pp. 99-105.
6. Lindalva, P., Fernandes, M. N. & Martinez, C. B., 2013. Hematological and biochemical alterations in the fish Prochilodus lineatus caused by the herbicide clomazone. Environmental and Toxicology and pharmacology, pp. 1-8.
7. Magar, R S. ,A Shaik, 2013. .Effect of Malathion toxicity on detoxifying organ of fresh water fish Channa punctatu . International Journal of Pharmaceutical,Chemical and Biological Science.,volume3,pp273-278..
8. Mario, S., 2010. Evaluation of the sublethal toxicity of Bleached Kraft Pulp Mill effluent to Carassius auratus and Dicentrachus labrax .Springer ,volume3,pp 345-353..
9. Mohammadnejad Shamoshaki, M. & Shahkar, A., 2009. Determine the lethal concentration of Diazinon (LC50 96h) on the fingering common roach Rutilus rutilus. Journal of Iran Fisheries, Volume 4, pp. 36-38.
10. Heil, P. N., 2004. Sample Collection and Submission ".NWFHS Laboratory Procedures Manual, second Edition, chapter2, CRC press.12 p.
11. Padash Badamchi, Z., Safaeieh, A. R. & Bahmani, M., 2009. Effects of acute toxicity of diazinon on some blood parameters Iranian sturgeon (*Acipenser persicus*). Tehran, Environmental Conference.
12. Saeidi, A., Kamkar, M. & Lotfinejad, H., 2002. Effect of Environment conditions on Hematological and Biochemical parameters of Sturgeon fishes. Sari: Caspian Fisheries Research Center.
13. Sanaee, G., 1997. Industrial Toxicology. Tehran: Tehran University.
14. Sanches-Fortun, S. & Barahona, M. V., 2005. Comparative study on the environmental risk induced by several pyrethroids in estuarine and freshwater invertebrate organisms. Chemosphere, Volume 59, pp. 553-559.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.5.3]

15. Skry, M., 2012. Determine LC50 96h Znstar herbicides and Rylvf-H on fingerling sturgeon. Ms thesis.
16. Soltani, M. & Khoshbavar Rostami, H. A., 2007. Study the effects of diazinon on on hematological and biochemical parameters of Acipenser guldenstafi. Marine Science and Technology Iran, Volume 1, pp. 65-75.
17. Tehranifard, A., Fazeli, M. S. & Piri, M., 2007a. Determine of LC50 96h diazinon on Abramis brama. Marsh Bulletin, 2(2), pp. 147-153.
18. Tehranifard, A., Fazeli, M. S. & Piri, M., 2007b. Determine the LC 96 hours of mixed Linear anionic detergent and diazinon on Rutilus frisii kutum. Marine Science and Technology, pp. 55-59.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.5.3]