علوم و فنون شیلات

فصلنامه علمی

دوره ۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲، صفحه ۶۳ – ۷۴

تعیین LC_{50} و بررسی ضایعات بافتی ناشی از سم دیازینون در بچه ماهیان سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)

ابوالفضل یاوری[۱]، احمد قرایی*[۲]، مصطفی غفاری[۲] و عیسی شریف‌پور[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، ایران

۲- استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳- دانشیار، بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران

دریافت: ۱۳۹۲/۰۱/۲۹ پذیرش : ۱۳۹۲/۰۶/۱۸

* نویسنده مسئول مقاله: تلفن: ۰۵۴۲۲۲۵۱۵۲۱، E-mail: agharaei551@gmail.com

چکیده:

سمیت حاد دیازینون و ضایعات ایجاد شده در بافت‌های کبد، کلیه و آبشش بچه ماهی سفیدک، *Schizothorax zarudnyi*، با میانگین وزنی ۲±۰/۲ گرم براساس دستورالعمل OECD، به‌صورت ساکن، در شرایط کیفی ثابت آب و دمای $۲۲±۲^0C$ مطالعه شد. در آزمایش‌های سمیت حاد، میزان LC_{50} ۹۶ ساعت این سم ۱۴/۷۰mg/L و حداکثر غلظت مجاز آن در محیط‌های طبیعی ۱/۴۷ mg/L محاسبه شد. براساس طبقه‌بندی جدول سطوح سمیت حشره‌کش‌ها، سم دیازینون برای گونه سفیدک جزو سموم «سمیت کم» طبقه‌بندی شد. در بررسی ضایعات ناشی از سم، ماهیان مسموم از نظر بالینی علائمی از قبیل شنای غیرعادی، چرخش، تند شدن حرکت‌های تنفسی و افتادن به کف آکواریوم را ازخود نشان دادند. همچنین ماهیان مسموم دچار انحنا ستون فقرات، تیرگی سطح بدن و بیرون‌زدگی چشم ازحدقه شدند. از نظر آسیب‌شناسی بافتی نیز پرخونی در عروق و سینوزوئیدها و دژنراسیون واکوئولی هپاتوسیت‌ها در بافت کبد و پرخونی، چروکیدگی و دژنراسیون بعضی سلول‌های ادراری، اتساع فضای بومن، پیکنوتیک شدن هسته بعضی سلول‌ها وافزایش سلول‌ها در بافت بینابینی در کلیه مشاهده شد. همچنین عوارضی نظیر پرخونی، تلانژکتازی، تورم، چروکیدگی، چماقی شدن و چسبیدگی به هم در رشته‌های ثانویه آبشش قابل مشاهده بود.

کلید واژگان: دیازینون، سمیت حاد، سفیدک سیستان، *Schizothorax zarudnyi*، مطالعات بافت‌شناسی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]

مقدمه

دیازینون یکی از مهم‌ترین آفت‌کش‌های ارگانوفسفره است که به‌طور وسیع در زمین‌های کشاورزی برای کنترل حشرات در خاک، گیاهان، میوه و محصولات زراعی استفاده می‌شود. سم دیازینون مورد استفاده در مزارع کشاورزی محتوای ٦٠ تا ٩٠ درصد دیازینون است. معمولاً پس از سم‌پاشی دیازینون بر روی محصولات و گیاهان زراعی، این سم به سهولت شسته شده و وارد آب‌های سطحی و زیرزمینی می‌شود و در نهایت، مقادیر زیادی از آن وارد محیط‌های آبی می‌شود (Coppage and Mathews, 1974).

با وجود این‌که محیط‌های آبی به‌عنوان محل و هدف مورد استفاده سم دیازینون نیست، اما نتایج حاصل از برخی مطالعات پایشی، حضور این سم و برخی متابولیت‌های آن در آب‌های سطحی را نشان می‌دهد (Baily et al., 2000; De-Valming et al., 2000; Vander Geest et al., 1997).

در مطالعاتی که در بسیاری از آب‌های سطحی، ساحلی و مصبی وحتی پساب تصفیه خانه‌های مناطق شهری مناطق مختلف جهان از جمله ایران صورت گرفته، مقادیر قابل توجهی از این سم گزارش شده است (Shayeghi et al., 2001; U.S. EPA ,2005) حضور دیازینون در آب می‌تواند بر دامنه گسترده‌ای از موجودات غیر هدف مانند بی‌مهره‌گان، پستانداران، پرندگان و ماهیانکه در اکوسیستم آبی زیست می‌کنند، تأثیربگذارد (Burkepile et al., 2000).

اگرچه دیازینون به‌سرعت تجزیه می‌شود، ولی تحت شرایط خاص، از جمله پایین بودن دما، رطوبت پایین، قلیائیت بالا و نبود فعالیت تجزیه‌ای میکروبی می‌تواند تا ٦ ماه و حتی بیش‌تر در خاک فعالیت زیستی داشته باشد (Eisler, 1986).

به‌طور کلی، سمیت یک آلاینده از طریق سنجش زیستی (Bioassay) ارزیابی می‌شودکه به‌وسیله آن غلظت لازم برای ایجاد تلفات نیمی از موجودات مورد آزمایش در یک دوره زمانی مشخص (کوتاه‌مدت و بلندمدت) معلوم می‌شود. این آزمایش‌ها شاخه‌ای از علم سم‌شناسی محیطی (Ecotoxicology) بوده و وظیفه آن قضاوت درباره توان بالقوه مواد آلاینده و بررسی تأثیرهای زیان‌بخش این مواد بر اکوسیستم و موجودات زنده آن است (Kardavani, 1994).

ماهیان یکی ازمهم‌ترین موجودات آبزی هستند که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردارند و به همین دلیل برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی در بعد وسیعی به‌کار می‌روند (Ola, 1990).

حساسیت گونه‌های مختلف ماهیان به مواد سمی متغییر است از این‌رو انجام آزمایش‌های تعیین غلظت کشندگی برای ماهیان مختلف امری ضروری است (Barak and Mason, 1990; Finney, 1971).

در حال حاضر سموم و آفت‌کش‌ها از عمده‌ترین عوامل مسمومیت ماهیان هستند که ممکن است در غلظت کم تأثیر مستقیمی روی ماهی نداشته باشند ولی در زمان طولانی می‌توانند روی مراحل اولیه تکامل ماهی مؤثر باشند. به هر حال آفت‌کش‌ها در بیش‌تر موارد منجر به آسیب ماهی می‌شوند (Sharif Rohani, 1995).

مصرف بیش از حد سم دیازینون در ایران و ورود آن از طریق زهکش مزارع کشاورزی به‌ویژه پس از بارش باران به آب‌های سطحی خطری جدی و بالقوه‌ای برای آبزیان رودخانه‌ها، تالاب‌ها و استخرها محسوب می‌شود (Shayeghi and Javadian, 1999; Shayeghi et al., 2004; Sohrabi et al., 2002).

جنس *Schizothorax* متعلق به خانواده کپور ماهیان است. در ایران سه گونه از جنس *Schizothorax* به نام‌های *S. intermedius*،*S. zarudnyi* و *S. pelzami* وجود دارد که

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]

دو گونه اول فقط در منطقه سیستان موجود است (Coad, 1995). گونه‌های متعلق به جنس *Schizothorax* از نظر رده‌بندی، تکامل و تنوع زیستی بسیار حائز اهمیت هستند و از نظر ظاهری به ماهیان قزل‌آلا شباهت دارند، از این‌رو به آن‌ها قزل‌آلای برفی (Snow trout) نیز گفته می‌شود (Mirza and Saeed,1988).

منطقه سیستان زیستگاه ماهی سفیدک سیستان بوده و سم دیازینون یکی از پرمصرف‌ترین سموم کشاورزی در منطقه سیستان به‌شمار می‌رود. با توجه به ورود سم دیازینون از آب‌های رودخانه‌ها و مزارع کشاورزی به داخل آب چاه نیمه‌ها از سمت افغانستان در زیستگاه ماهی سفیدک سیستان، این تحقیق با هدف تعیین غلظت نیمه‌کشنده سم، تعیین محدوده کشندگی و مقدار حداکثر غلظت مجاز سم، بررسی علائم رفتاری ماهیانی که در معرض سم قرار می‌گیرند و همچنین بررسی ضایعات بافتی ناشی از این سم روی برخی اندام‌های حیاتی بچه ماهیان سفیدک سیستان صورت می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: این تحقیق در آزمایشگاه پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون دانشگاه زابل انجام شد. بچه ماهیان انگشت قد سفیدک سیستان حاصل از تکثیر مصنوعی سال ۱۳۹۱، در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی زهک تهیه و پس از انتقال به پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون دانشگاه زابل در وان‌های فایبرگلاس نگهداری شدند. برای انجام این آزمایش از تعداد ۲۴۰ عدد قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی ۰/۲±۲ گرم استفاده شد. این آزمایش در ۱۸ عدد آکواریوم با حجم ۱۰۰ لیتر به‌صورت ساکن (نوعی از آزمایش‌های سمیت است که محلول آزمایش در طی آزمایش تغییر نکرده و جایگزین نمی‌شود)، براساس دستورالعمل O.E.C.D[1] انجام شد. ماهیان پس از انتقال به وان‌های فایبرگلاس برای رفع استرس و سازگاری، به‌مدت ۸ روز در محیط جدید نگهداری و تغذیه شدند. سپس تعداد مورد نیاز ماهی به‌صورت اتفاقی جمع‌آوری و ۲٤ ساعت پیشاز شروع آزمایش‌ها به آکواریوم که کاملاً ضدعفونی و شستشو داده شده بودند، منتقل و تغذیه آن‌ها قطع شد. آزمایش بقا برای اندازه‌گیری توان زیستی و تعیین وضعیت بقا در بچه ماهیان در شرایط طبیعی آزمایش و محیط عاری از سم در ۳ تکرار انجام شد.

تعیین سمیت حاد: آکواریوم‌ها در هر آزمایش با آب دکلرینه شده آبگیری و هوادهی شدند و به‌ازای هر لیتر آب یک گرم بچه ماهی به هر آکواریوم اضافه شد. پس از قرارگیری بچه ماهیان در آکواریوم‌ها، غذادهی قطع گردید. برای تعیین محدوده کشندگی سم دیازینون در بچه ماهیان سفیدک سیستان، ۱۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی ۲ گرم در آکواریوم‌هایی که به میزان ۲۰ لیتر آبگیری شده بود، قرار گرفتند. در این آزمایش غلظت بین ۹ تا ۲۵ میلی‌گرم در لیتر به روش لگاریتمی به ۵ تیمار (۹، ۱۳، ۱۷، ۲۱، ۲۵) میلی‌گرم در لیتر تقسیم شد. همچنین یک تیمار شاهد نیز در نظر گرفته شد. در ماهیان مورد آزمون تا غلظت ۱۳ میلی‌گرم در لیتر تلفات بسیار کم بود. اما در غلظت ۲۱ میلی‌گرم در لیتر تقریباً همه ماهیان در مدت ۹۶ ساعت تلف شدند، بنابراین برای انجام آزمایش‌های اصلی، غلظت بین ۱۳ تا ۲۱ میلی‌گرم در لیتر به ۵ تیمار تقسیم شد.غلظت‌های در نظر گرفته شده برای انجام آزمایش‌های اصلی عبارت بودند از (۲۱، ۱۹، ۱۷، ۱۵، ۱۳). سرانجام آزمایش نهایی طبق این تیمارها و با سه تکرار به انجام رسید. در طول آزمایش، عوامل مؤثر فیزیکوشیمیایی

[1]- Organisation Economic Coopration Development

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]

آب نظیر pH، اکسیژن محلول، دما و سختی کل تحت کنترل بودند (جدول ۱). همچنین حرکات و رفتار بچه ماهیان ارزیابی شد. سپس با استفاده از روش آماری Probit Analysis در نرم‌افزار TOXSTAT میزان Lc_{10}، Lc_{50} و Lc_{90} برای حشره‌کش دیازینون تعیین گردید. در نهایت میزان حداکثر غلظت مجاز (میزان Lc_{50} 96h تقسیم بر۱۰) و درجه سمیت آن مشخص شد (O.E.C.D, 1989).

جدول ۱ مقادیر برخی از متغیرهای فیزیکوشیمیایی آب مورد استفاده طی انجام آزمایش‌ها

متغیر	مقدار
درجه حرارت	۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد
اکسیژن محلول	۰/۵±۷ میلی‌گرم در لیتر
سختی کل	۲۰۵ میلی‌گرم در لیتر
pH	۸-۸/۵

هیستوپاتولوژی: برای انجام مطالعات بافت‌شناسی تعداد ۲۵ قطعه ماهی سفیدک سیستان با میانگین وزنی ۲ گرم در معرض سم دیازینون با غلظت $96hLC_{50}$ قرار داده شد. طی یک دوره ۹۶ ساعته از گروه آزمونو گروه شاهد نمونه‌برداری ماهی صورت پذیرفت و بافت کبد، کلیه و آبشش ماهیان خارج گردید و در ظروف حاوی بافر فرمالین (فرمالین، Merck، آلمان) ۱۰ درصد تثبیت شد. سپس نمونه‌های بافتی در آزمایشگاه پس از طی مراحل پاساژ بافت، آماده برش‌گیری و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین شد و در نهایت از لام‌های تهیه شده با میکروسکوپ دوربین‌دار (مدل GE.3035 شرکت Euromex، هلند)، عکس‌برداری شد و برای بررسی تغییرات پاتولوژیک، مطالعات مقایسه‌ای با نمونه شاهد صورت گرفت.

نتایج

در زمان انجام آزمایش‌ها تمام عوامل فیزیکوشیمیایی آب آکواریوم‌ها کنترل و ثبت شد (جدول ۱).

نتایج تعیین سمیت حاد ماهی: براساس آزمایش‌های انجام گرفته و بر طبق روش آماری Probit program version 1.5 مقادیر Lc_{10}، Lc_{50} و Lc_{90} در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت دیازینون بر روی بچه ماهیان سفیدک سیستان اندازه‌گیری شدند (جدول ۲). بر طبق این نتایج Lc_{50} 96h سم دیازینون برای بچه ماهیان سفیدک سیستان ۱۴/۷۰ میلی‌گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز این سم نیز ۱/۴۷ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد.

جدول ۲ مقادیر LC سم دیازینون برای بچه ماهیان سفیدک سیستان (میلی‌گرم در لیتر)

نام سم	غلظت (mg/l) ۲۴ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
دیازینون	۱۴/۱۸ Lc_{10}	۱۳/۴۴	۱۳/۲۶	۱۳/۲۶
(۶۰ درصد)	۱۵/۵۷ Lc_{50}	۱۴/۹۲	۱۴/۷۰	۱۴/۷۰
	۱۷/۰۹ Lc_{90}	۱۶/۵۶	۱۶/۳۰	۱۶/۳۰

نتایج رفتارشناسی

شایع‌ترین علائم بالینی یا رفتاری ماهیان سفیدک سیستان جوان مسموم شده با سم دیازینون سندرم فلجی عصبی بود و ماهیان بلافاصله پس از قرار گرفتن در حمام سم دچار بی‌تابی شدید شدند. اضطراب ماهیان به‌صورت افزایش عکس‌العمل در مقابل محرک‌های بیرونی و گرفتگی عضلات دور دهانی و باله‌ای آشکار گردید. شنای دسته‌جمعی به مرور کاهش یافته و به همان نسبت توانایی جهت‌یابی خود را در آب از دست می‌دادند. ماهیان به پهلو خوابیده و شنای نیم دایره‌ای داشتند و

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]

در این مرحله از مسمومیت، تیرگی سطح بدن در ناحیه پشتی قابل توجه بود. با استمرار مسمومیت حرکات تنفسی مختل شد و در نهایت ماهیان در گوشه‌ای از آکواریوم سقوط کرده و بلافاصله تلف می‌شدند. از علائم ظاهری ایجاد شده در بچه ماهیان می‌توان به انحنای ستون فقرات و بیرون‌زدگی چشم از حدقه (اگزوفتالمی) اشاره کرد (شکل ۱).

شکل ۱ انحنای ستون فقرات و اگزوفتالمی در بچه ماهیان سفیدک سیستان

نتایج بافت‌شناسی

در زیر شکل‌های ۲، ٤ و ٦ به‌ترتیب بافت آبشش، کلیه و کبد سالم گروه شاهد را نشان می‌دهند. بافت کبد، کلیه و آبشش ماهیانی که در معرض غلظت LC_{50} 96h (١٤/٧٠ میلی‌گرم در لیتر) از سم دیازینون قرار گرفته بودند، مورد مطالعات آسیب‌شناسی قرار گرفتند و با گروه شاهد مقایسه شدند که نتایج این بررسی‌ها به شرح زیر است:

بافت آبشش

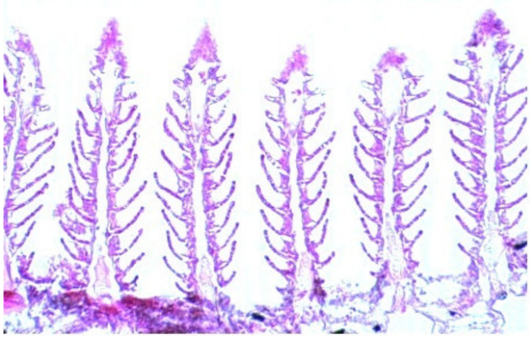
در آبشش‌ها پرخونی، تلانژیکتازی، تورم، چروکیدگی، چماقی شدن و به‌هم‌چسبیدگی در رشته‌های ثانویه آبشش قابل مشاهده بود (شکل ۳).

بافت کلیه

در بافت کلیه بیش‌تر نمونه‌ها پرخونی، چروکیدگی و دژنراسیون بعضی لوله‌های ادراری، اتساع فضای بومن، پیکنوتیک شدن هسته بعضی سلول‌ها و افزایش سلول‌ها در بافت بینابینی مشاهده شد (شکل ٥).

بافت کبد

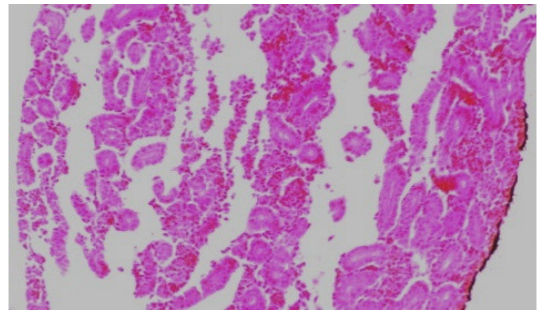
در بافت کبد نیز پرخونی در عروق و سینوزوئیدها و دژنراسیون واکوئولی هپاتوسیت‌ها قابل رؤیت بود (شکل ۷).



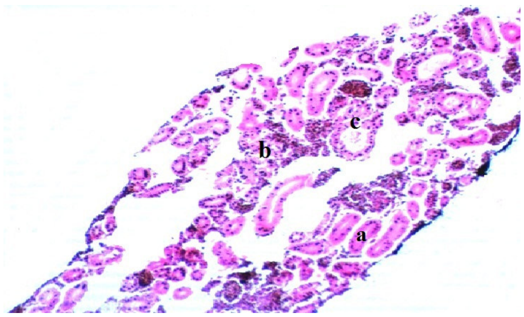
شکل ۲ بافت آبشش سالم بچه ماهی *Schizothorax zarudnyi* گروه شاهد (هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگ‌نمایی ×١٠)

شکل ۳ بافت آبشش آسیب دیده بچه ماهی *Schizothorax zarudny* ۹٦ساعت پس از در معرض قرارگرفتن با سم دیازینون، (a) چروکیدگی و به‌هم چسبیدگی لاملاهای ثانویه آبششی (هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگ‌نمایی ×٤٠)

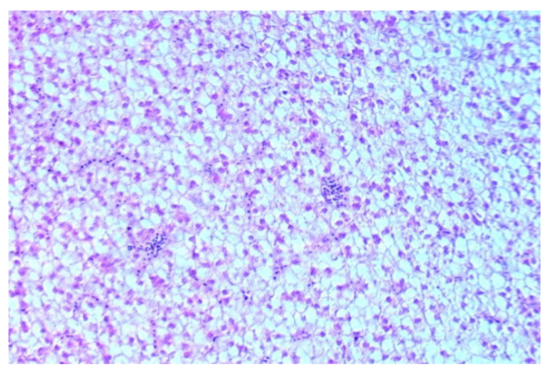
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]



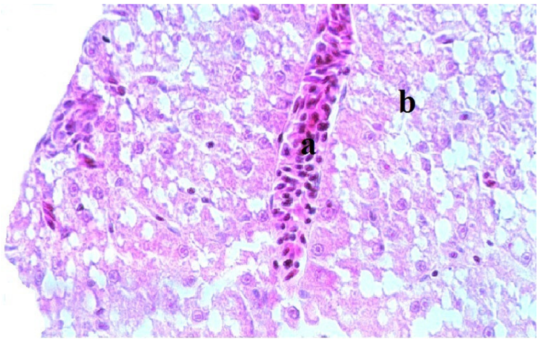
شکل ٤ بافت کلیه در بچه ماهیان *Schizothorax zarudnyi* گروه شاهد (هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگ‌نمایی ×۱۰)



شکل ۵ بافت کلیه دربچه ماهیان *Schizothorax zarudnyi* ۹۶ ساعت پس از در معرض قرارگرفتن با سم دیازینون، دژنراسیون لوله‌های ادراری (a) پیکنوتیک شدن هسته سلول‌ها، (b) افزایش سلوها در بافت بینابینی (c) (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگ‌نمایی ×۱۰)



شکل ٦ بافت کبد در بچه ماهیان *Schizothorax zarudnyi* گروه شاهد (هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگ‌نمایی ×۱۰)



شکل ۷ بافت کبد در بچه ماهیان *Schizothorax zarudnyi* ۹٦ ساعت پس از در معرض قرارگرفتن با سم دیازینون، پرخونی عروق (a) دژنراسیون واکوئولی هپاتوسیت‌ها (b) (هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگ‌نمایی ×٤۰)

بحث

پس از نگهداری ماهیان در شرایط کیفی یکسان برای آزمایش بقا به مدت ۸ روز تقریباً هیچ گونه مرگ و میری مشاهده نشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در طول ٤ روز آزمایش هیچ عاملی باعث مرگ و میر ماهیان نشده و فقط افزودن سم به آب می‌تواند دلیل مرگ و میر ماهیان باشد.

براساس نتایج به‌دست آمده میزان غلظت کشنده سم دیازینون در طی چهار روز متوالی (۹٦ ساعت) برای ۵۰ درصد از بچه ماهیان ۲ گرمی سفیدک سیستان، ١٤/٧۰ میلی‌گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز (MAC value) این سم که به‌عبارتی غلظت غیر مؤثر (NOEC) نیز خوانده می‌شود، ۱/٤۷ میلی‌گرم در لیتر است. همچنین حداقل غلظت مؤثر (LOEC) این سم که به Lc_{10} 96h اطلاق می‌گردد، ۱۳/۲٦ میلی‌گرم در لیتر است. نتایج به‌دست آمده برای LC_{50} در مدت ۹٦ ساعت آزمایش‌ها نشان می‌دهد که میزان LC_{50} با افزایش ساعت‌های 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

[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

پایان ۹۶ ساعت است. بنا به نظر شریف‌پور و همکاران (۱۳۸۲) یکی از عوامل تأثیرگذار در مسمومیت آبزیان عامل زمان است. هنگامی‌که 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. علاوه بر این در مواردی تجمع سم در بافت‌های ماهی نیز باعث افزایش تأثیر سوء آن بر بدن ماهی و در مدت ۹۶ ساعت انجام آزمایش‌ها موجب پایین آمدن LC_{50} می‌شود.

در دیگر تحقیقات انجام شده، Lc_{50} 96h سم دیازینون برای تاس‌ماهی ایرانی (قره‌برون)، ۴/۳۸ میلی‌گرم در لیتر و برای ازون‌برون ۲/۵۴ میلی‌گرم در لیتر تعیین شده است (Padjand, 1999). همچنین میزان Lc_{50} 96h سم دیازینون برای ماهی شیپ برابر با ۰/۳۶ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد (Mohammad Nejad Shamoushaki, 2005). مرکز تحقیقات شیلات ایران در سال ۱۳۵۷ میزان Lc_{50}96h سم دیازینون بر روی ماهی سفید و ماهی فیتوفاگ را به‌ترتیب ۰/۳۴ و ۱/۹ میلی‌گرم در لیتر تعیین کرد. سمیت حاد (Lc_{50}96h) سم دیازینون بر روی ماهی سیم معادل ۸/۱ میلی‌گرم در لیتر (NasriTajan, 1996) و برای گوره‌خر ماهی (Zebra fish) برابر با ۲/۱۲ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد (Ansari et al., 1987). در تحقیقی میزان Lc_{50} 96h سم دیازینون بر روی بچه ماهیان سیاه کولی برابر با ۰/۰۹ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد (Pashaie Chelkasaryet et al., 2012). و در تحقیقی دیگر میزان Lc_{50} 96h سم دیازینون برای ماهی کلمه (*Rutilus rutiluscaspicus*) ۱۲/۸۱ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمده است (Mohammad NejadShamoushaki and Shahkar, 2010). بنابراین از نظر حساسیت گونه‌های مختلف ماهیان در برابر سم دیازینون ترتیب مقابل را می‌توان ارائه داد: «سیاه کولی >سفید> شیپ >فیتوفاگ >Zebra fish>ازون‌برون >قره‌برون >سیم > کلمه >هامون ماهی».

سمیت دیازینون در بین گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت است و به سن ماهی، جنسیت، اندازه بدن، شرایط آب و هوایی و فرمول آفت‌کش، خصوصیات شیمیایی محیط وعوامل دیگر بستگی دارد (Montez, 1983).

همچنین با توجه به جدول ۳ تعیین سمیت حشره‌کش‌های مختلف، سم دیازینون برای بچه ماهیان سفیدک سیستان دارای سمیت کم محسوب می‌شود.

جدول ۳ تعیین سمیت حشره‌کش‌های مختلف Pesticide Dictionary (1993)

Lc 50	درجه سمیت
۱۰۰< میلی‌گرم در لیتر	تقریبا غیرسمی
۱۰۰–۱۰ میلی‌گرم در لیتر	سمیت کم
۱۰–۱ میلی‌گرم در لیتر	سمیت متوسط
۱–۰/۱ میلی‌گرم در لیتر	سمیت زیاد
۰/۱> میلی‌گرم در لیتر	سمیت خیلی زیاد

رفتارهای غیرطبیعی مشاهده شده در ماهیان در معرض سمیت حاد (غلظت LC_{50} و به مدت ۹۶ ساعت) دیازینون، نظیر بی‌تابی شدید، افزایش شدت عکس‌العمل در مقابل محرک‌های بیرونی، کاهش یا از دست دادن توانایی جهت‌یابی، شنای دایره‌ای و تیرگی سطح بدن با علائم اشاره شده در دیگر گزارش‌های منتشر شده (Mohammad Nejad Shamoushaki et al., 2009; Mohammad Nejad Shamoushaki and Shahkar, 2010; Soltani and Khoshbavar Rostami,2003; Khoshbavar Rostami et al., 2005; Shamloofar et al., 2007; Hoque et al., 1993; Rahman et al., 2002; Sovboda et al., 2001)، مشابه است.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]

بر اساس نتایج این تحقیق سم دیازینون روی اندام‌های حیاتی کبد، کلیه و آبشش ماهی *Schizothorax zarudnyi* عوارضی نظیر، پرخونی در عروق و سینوزوئیدها و دژنراسیون واکوئولی هپاتوسیت‌ها را در بافت کبد و پرخونی، چروکیدگی و دژنراسیون بعضی لوله‌های ادراری، اتساع فضای بومن، پیکنوتیک شدن هسته بعضی سلول‌ها و افزایش سلول‌ها در بافت بینابینی را در کلیه و عوارضی نظیر پرخونی، تلانژکتازی، تورم، چروکیدگی، چماقی شدن و به‌هم چسبیدگی در رشته‌های ثانویه آبشش را ایجاد کرده است. در سایر مطالعات انجام شده، قرار گرفتن کبد ماهی سیاه کولی در مجاورت سم دیازینون منجر به بروز پدیده‌هایی مانند پرخونی، رکود صفراوی، آتروفی و نکروز سلولی در این بافت شده است (Pashaie Chelkasary et al., 2012).

در آزمایش تماس کوتاه مدت *Anguila anguila* با سم دیازینون، پس از ٦، ٢٤، ٤٨، ٧٢ و ٩٦ ساعت مشاهده شد که لاکتات کبد با افزایش زمان تماس با دیازینون افزایش می‌یابد (Ceron et al., 1997). همچنین در بررسی تأثیر سم دیازینون بر بافت کبد ماهی قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) نیز دژنرسانس چربی، نکروز، پرخونی، آتروفی و رکود صفراوی مشاهده شد (Saeedifar, 2011).

تأثیرهای آسیب‌شناسی بافتی دیازینون روی بافت‌های کلیه، طحال و آبشش ماهی کپور معمولی بررسی شد. سم دیازینون باعث از بین رفتن و تحلیل سلول‌های پوششی مجاری کلیوی، نکروز مجاری کلیوی، تحلیل رفتن گلومرول‌ها و افزایش فضای کپسول بومن در بافت کلیه ماهیان گردید. افزایش اندازه و فراوانی قابل توجه مراکز ملانوماکروفاژی و تغییرات ریختی سلول‌های الیپسوئیدی در بافت طحال از مهم‌ترین تغییرات مشاهده شده در این بافت است. هیپرپلازی لاملاها، به‌هم چسبیدگی لاملاها و افزایش ترشحات موکوسی از جمله تغییراتی است که در ساختار آبشش ماهیان تحت تیمار سم دیازینون دیده شده است (Banaee et al., 2011).

مطالعه اندام‌های ماهی کپور علف‌خوار پساز مجاورت با غلظت‌های مختلف تحت کشنده سم دیازینون نشان داد که این سم موجب وارد آمدن صدمات شدید به ساختمان سلول‌ها و بافت‌های کلیه، طحال و کبد شده است که به‌صورت پرخونی عروق خونی، خونریزی، نفوذ سلول‌های آماسی، پیکنوزه شدن هسته‌های سلولی، دژنراسیون واکوئولی و نکروز عمومی مشاهده شد. همچنین در آبشش‌ها هیپرپلازی و چسبندگی تیغه‌های ثانویه به هم، جدا شدن و افتادن بافت پوششی از لایه پایه دیده شده (Sharifpour et al., 2006).

دیازینون از طریق آبشش‌ها، پوست و سیستم گوارشی به‌راحتی وارد بدن ماهیان می‌شود. قابلیت انحلال این سم در چربی سبب شده تا این سم به‌راحتی از ساختار فسفولیپیدی غشاهای زیستی عبور کند و در طی کم‌تر از ٢٤ ساعت از قرار گرفتن ماهیان در معرض سم دیازینون غلظت این سم در بافت‌های مختلف بدن به‌ویژه خون به سطح مشابه غلظت این سم در محیط می‌رسد و در بافت‌های مختلف بدن تجمع می‌یابد (Vale, 1998). اثر ممانعت از فعالیت استیل کولین استراز در ماهیان می‌تواند موجب ایجاد تغییراتی در الگوی رفتاری، اختلالات شدید در رشد و تغذیه، کاهش نرخ بقا و بروز اختلالات رفتاری در تولیدمثل آن‌ها شود (Dutta and Arends, 2003).

کبد مهم‌ترین عضو در فرایند سم‌زدایی محسوب می‌شود. تعداد زیادی از حشره‌کش‌ها و سایر مواد ساخت بشری به مقدار زیادی در کبد تجمع یافته (Meteleeve et al., 1971) و موجب ضایعات زیادی در آن می‌شوند. تغییرات بافتی کبد با

[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

آسیب‌های بافتی کلیه و آبشش مرتبط است، هر ماده سمی که وارد بدن ماهیان می‌شود، برای ذخیره‌سازی یا انتقال به‌وسیله سیستم گردش خون وارد کبد می‌شود. در صورتی‌که در کبد تجمع نیابد وارد صفرا شده و برای دفع به آبشش و کلیه منتقل می‌شود (Lindstoma-Seppa et al., 1981). آبشش در ماهیان یکی از مهم‌ترین اندام‌هایی است که به‌طور مستقیم در تماس با آلاینده‌ها قرار دارد. تغییر ساختاری درآبشش ماهیان تحت تیمار دیازینون به‌خوبی گویای این امر است. تغییرات وسیع آسیب‌شناسی بافت‌های کلیه، طحال و آبشش موجب برهم خوردن هموستازی جانور و بروز تغییراتی در عوامل خونی و به تبعیت آن کاهش توان سیستم ایمنی و بقای آبزیان می‌شود (Banaee et al., 2011).

تشکر و قدردانی

مؤلفان از زحمات جناب آقای مهندس خمر ریاست محترم اداره کل شیلات شهرستان زابل، کارشناسان محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی زهک (زابل)، مهندس پاکزاد، مهندس راهداری، خانم مهندس کرمی و خانم مهندس ریگی مسئولان آزمایشگاه‌های پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون دانشگاه زابل، جناب مهندس حیدری مسئول آزمایشگاه شیلات دانشگاه زابل و اعضای هیأت علمی گروه شیلات دانشگاه زابل و تمام عزیزانی که در انجام این کار ما را یاری فرمودند، تشکر و قدردانی می نمایند.

منابع

Ansari, B. A., Aslam, M. and Kumar, K. 1987. Diazinon toxicity: Activities of acetycholinesterase and Phosphatase in the nervous tissue of zebra fish, *Brachydoniorerio* (Cyprinidae). *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 15: 301-306.

Bailey, H. C., Deanovic, L., Reyes, E., Kimball, T., Larson, K., Cortright, K., Connor, V. and Hinton, D. E. 2000. Diazinon and chlopyrifos in urban waterways in northern California, USA. *Environmental and Toxicology Chemistry*, 19 (1): 82-87.

Banaee, M., Mirvaghefi, A. R., Mojazi Amiri, B., Rafiee, G. R. and Nematdost, B. 2011. Hematological and Histopathological effects of Diazinon Poisoning in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fisheries, Iranian Journal of Natural Research*, 64 (1): 1-13.

Barak, N. A. E. and Mason, C. E. 1990. Mercury, Cadmium and lead concentration in five species of freshwater fish from eastern England. *Science of the Total Environment*. 92: 257-263.

Burkepile, D. E., Moore, M. T. and Holland, M. M. 2000. Susceptibility of five nontarget organisms to aqueous diazinon exposure. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicolog*, 64: 114-121.

Coad, B. W. 1995. Fresh water fishes of Iran. *Acta scientiarum naturalium Brno*, 29(1):1-64

Coppage, D. C. and Mathews, E. 1974. Short term effects of organophosphate pesticide on cholinesterases of estuarine fishes and pink shrimp. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 11 (5): 483-488.

De-Valming, V., Connor, V., Digiorgio, C., Balley, H. C., Deanovic, L. A. and Hinton, D. E. 2000. Application of whole effluent toxicity test procedures to ambient water quality assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19:42-62.

Dutta, H. M. and Arends, D. 2003. Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity injuvenile bluegill sunfish. *Environmental Research* 91, 157-162.

Eisler, R. 1986. Diazinon hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U. S. Fish and Wildlife Service, *Biological report*, 85 (1.9): 1-38.

Finney, D. J. 1971. Probite analysis. Cambridge University: 465-489.

Hoque, M. M., Mirja, M. J. A. and Miah, M. 1993. Toxicity of Diazinon and Sumithion on *Puntius gonionotus*. *Bangladesh Journal of Transaction Development*, 6: 19-26.

Kardavani, P. 1994. Natural ecosystems (Volume II) aquatic ecosystems. Publications Paliz, Tehran. (In Farsi).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]

Pashaiechelkasary, H., Farokhrooz, M., Zamini, A. and Ebrahimian, Y. 2012. Determination the lethal concentration (LC_{50} 96h) and survey in influences of Diazinon on *vimba vimba persa* fry liver tissue. National Conference on Sea water utilization, Jan. 3-4, 2012 Kerman, Iran.

Pazhand, Z. 1999. Determination the lethal concentration (Lc50 96 H) of Butachlor and diazinon for *Acipenser stellatus* and *Acipenserpersicus* fingerlings. M.Sc. Thesis, Islamic Azad University Lahijan Branch.

Pesticide dictionary, Fertilizer Dictionary, 1993. Farm chemical handbook, regulatory file Buyers; guides.The sine index, pp: 208. E19.

Rahman, M. Z., Hossain, Z., Mollah, M. F. A. and Ahmed, U. G. 2002. Effect of Diazinon 60 EC 0n *Anabas testudineus*, *Channa punctatus* and *Barbodes gonionotus*. *Naga, The iclarm quarterly*, 25 (2): 8-12.

Saeedifar, M. 2011. Effect of pesticide diazinonon some hematological parameters And liver and gill tissues of *Oncorhynchus mykiss*. M.Sc Thesis, Islamic Azad University Lahijan Branch.

Shamloofar, M., Kamali, A., Piri, M., Yaghmaie, F. and Makhtoomi, N. 2007. The determination of LC50 of diazinon and it's sub- lettal effect on haematological indices of beluga (*Huso huso*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 15 (4):69-78.

Sharifpour, I., Pourgholam, R., Soltani, M., Hassan, M. D., Akbari, S. and Nouri, A. 2006. Light and electron microscope studies of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) organs following exposure to various sublethal concentrations of Diazinon. *Iranian Journal of Fisheries sciences*, 5 (2): 111- 136.

Sharifpour, I., Soltani, M. and Javadi, M. 2004. Determination of LC50 and Some Histopatological Changes Due to Endosulfanin *Huso huso* Juveniles. *Iranian Journal of Fisheries sciences*, 12 (4): 69-84.

Sharif Rohani, M. H. 1995. Prevention, diagnosis and treatment of diseases and poisoning fish (Translated). Department of Iran Fisheries reproduction and breeding. (In Farsi).

Shayeghi, M., Javadian S. A. 1999. Linden and diazinon residues of insecticides in rice paddies city Tonekabon. *Journal of Environmental Sciences and Technology*, (9): 51-58.

Shayeghi, M. Darabi, H. Abtahi Hossaini, M. Sadeghi, M. Pakbaz, F. and Golestane, S. 2004. Assessment of persistence and residue of diazinon and malathion in three rivers (Mond, Shahpour and Dalaky) of Bushehr Province. *South Medical Journal*, 10 (1): 54-60.

Khoshbavar Rostami, H. A., Soltani, M. and Yelghi, S. 2005. Effects of Diazinon on the hematological profiles of *Acipenserstellatus* and determination of LC50. *Journal Agriculture Science Natural Resources*, 12 (5): 100-108.

Lindstoma-Seppa, P., Koivussri, U. and Hanninen O. 1981. Exterahepatic Xenobiont metabolism in north European freshwater fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 69: 259-263.

Meteleve, V. V., Kanaev, A. L. and Diasokhva, N. G. 1971. Water toxicity. Amerind Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi.

Mirza, M. R and Saeed, T. 1988. A note on the systematic of the genus Schizothorax Heckel, 1838 (pisces: Cyprinidae). *Pakistan journal of zoology*, 20: 312-314.

Mohammad Nejad Shamoushaki, M. 2005. Determination the lethal concentration (Lc50 96 H) of Heavy metals Plumbum, Zinc and Cadmium and Pesticides Diazinon, Hinosan and tilt (propiconazole) on *Acipenser nudiventris* fingerlings. M.Sc Thesis, Islamic Azad University Lahijan Branch.

Mohammad Nejad Shamoushaki, M., Nezami, sh., EsmailiSari, A., khara, H. and Pazhand, z., Yousefi, M. 2009. Determination the lethal concentration (Lc50 96 H) of Diazinon, Hinosan and tilt (propiconazole) on *Acipenser nudiventris* fingerlings. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 17 (2): 113-121.

Mohammad Nejad Shamoushaki, M. and Shahkar, E. 2010. Determination the lethal concentration (Lc50 96 H) of chloropyrifos and diazinon on (*Rutilus Rutilus Caspicus*). *Journal of Fisheries*, 3 (4): 73-78.

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.

Nasri Tajan, M. 1996. Determination the lethal concentration (Lc50 96 H) of Diazinon Granule 5% and Emulsion 60% on *Abramis brama*. M.Sc. Thesis, Islamic Azad University Lahijan Branch.

O. E. C. D. 1989. Guideline for testing on chemicals.O. E. C. D, Paris, 1987.

Ola, Y. 1991. Pollution fromdomesticwaste (municipal), agricultural, industrialand natural, Anzali Wetlandin front of their structure androle. Document No. 2 Fisheries Research Center of Guilan Province. (In Farsi).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]

hematological indices of common carp (*Cyprinuscarpio*). *Acta veterinary Brno*, 10:457-465.

U. S. EPA. 2005. Office of Since and Thechnology Whashington, DC. Aquatic life ambient water quality criteria Diazinon Final. (CAS Registry Number 333-41-5).

Vale, J. A. 1998. Toxico kinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus opinsecticide poisoning. Toxicol. Lett. 102-103, 649.

Van Der Geest, H. G., Stuijfzand, S. C., Krak, M. H. S. and Admiral, W. 1997. Impact of diazinon calamity in 1996 on the aquatic macro invertebrates in the river Mesue, The Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, 30 (4): 327-330.

Shayeghi, M., Shahtaheri, S. J. and Selseleh, M. 2001. Phosphorous insecticides residues in Mazandaran River Waters, IranIranian Journal of Public Health, 30 (3-4): 115-118.

Sohrabi, T. Hosseini, A. A. and Talebi, Kh. 2002. Qualitative changes in runoff paddies Guilan and Foumanat. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 5 (1):1-14.

Soltani, M. and Khoshbavar Rostami, H. A. 2002. Effects ofdiazinon on some biochemical and hematological parameters of *Acipenese rguldenstadti*. *Journal of Marine Science and Technology Iran*, 1 (4): 65-75.

Svoboda, M., Luscova, V., Drastichova, J., Habek, V. 2001. The effect of diazinon on

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]

Determination of LC50 and Some Histopatological Changes Due to Diazinonin *Schizothorax zarudnyi* Juveniles

Abolfazl Yavari[1], Ahmad Gharaei*[2], Mostafa Ghaffari[2] and Issa Sharifpour[3]

1- M.Sc. Student, Department of Fisheries, Natural Resources Faculty, University of Zabol, Zabol, Iran
2- Assistant Professors, Department of Fisheries, Natural Resources Faculty, University of Zabol, Zabol, Iran
3- Department of Health and Aquatic Diseases, Iranian Fisheries Research Institute, Tehran, Iran

Received: 18.04.2013 Accepted: 09.09.2013

*Corresponding author, E-mail: agharaei551@gmail.com

Abstract: The acute toxicity and histopathology of *Schizothorax zarudnyi* (2±0.2 g body weight) exposed to diazinon was assessed statically in 22±2°C, following the OECD Guideline. The 96h LC50 value of diazinon for the fish was 14.70 mg/l, therefore making its MAC value 1.47 mg/l in natural waters. According to the table of insecticides sorting, the toxicity of diazinon was low for *S. zarudnyi*. Some clinical symptoms and abnormal reactions such as lordosis and neural paralytic syndrome, losing the balance and swimming in a half circle, expressive pigmentation mainly on the dorsal part and block of respiration movements in the fish exposed to this pesticide were observed. Histopathological evidence from the tissues of liver, kidney, gill, and gut revealed vascular tissue of the liver, sinusoids, hepatocytes vacuole degeneration, shrinkage and degeneration of some urinary cells, dilatation of Bowman's space, pycnotic nucleus of some kidney cells and increase in the number of interstitial kidney cells. Complications, such as hyperemia, telangiectasia, edema, shrinkage, clubbing and adhesion to the secondary gill filaments were also observed.

Keywords: Diazinon, Acute toxicity, *Schizothorax zarudnyi,* Histopathological changes.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1392.2.2.2.8]