مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۱ شماره ۱، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۷۸ تا ۹۰

# تعیین شاخص‌های خونی نشانگر آلودگی سموم دیازینون و مالاتیون در ماهی کپور سرگنده (*Hypophthalmichthys nobilis*)

**سعید شهبازی ناصرآباد*[۱]، سیدعلی اکبر هدایتی[۲]، عطا مولودی صالح[۱]**

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۲- گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

## چکـــیده

سموم مالاتیون و دیازینون از سموم ارگانوفسفره بسیار پرکاربرد در مزارع زراعی و به خصوص در شمال کشور می‌باشد. در تحقیق حاضر ابتدا با تعیین دامنه غلظت کشنده سم دیازینون و مالاتیون و محاسبه میزان مرگ و میر ماهیان کپور سرگنده در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت، سمیت کشنده آن با روش پروبیت آنالیز محاسبه گردید و سپس با توجه به میزان $LC_{50}$ به دست آمده، به منظور بررسی اثرات این سموم بر پارامترهای خونی ماهی کپور سرگنده آزمایشی جداگانه طراحی شد که در آن ماهیان کپور سرگنده را در ده تیمار با ۳ تکرار (۴ غلظت متفاوت سم دیازینون، ۴ غلظت متفاوت سم مالاتیون و ۱ تیمار شاهد برای هر سم) به مدت ۷ روز در معرض غلظت‌های مختلف تحت کشنده سموم مورد نظر (۱۲/۵، ۲۵، ۳۷/۵ و ۷۵ درصد از غلظت کشنده ($LC_{50}$ 96h) قرارگرفتند، پس از ۷ روز خونگیری از ماهیان انجام شده، برخی پارامترهای هماتولوژی نظیر هماتوکریت، هموگلوبین، شاخص‌های گلبول قرمز، تعداد کل گلبولهای سفید و قرمز و شمارش افتراقی گلبولهای سفید (درصد لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از تعیین سمیت حاد نشان داد که سم دیازینون برای ماهی کپور سرگنده نسبت به سم مالاتیون اثر کشندگی بیشتری دارد، همچنین نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های هماتولوژی ماهیان کپور سرگنده در معرض سم دیازینون، کاهش معنی‌دار گلبول‌های قرمز و سفید را با افزایش میزان غلظت سم نشان داد ($P<۰/۰۵$)، همچنین با افزایش میزان سم دیازینون، نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها به طور معنی‌داری به ترتیب افزایش و کاهش یافتند ($P<۰/۰۵$). افزون بر این نتایج نشان داد ماهیان قرار گرفته در معرض سم مالاتیون با افزایش غلظت سم کاهش معنی‌داری را در شاخص‌های گلبول قرمز، درصد هماتوکریت، میزان لنفوسیت و نیز افزایش نوتروفیل نسبت به گروه شاهد نشان دادند ($P<۰/۰۵$). در نهایت می‌توان گفت که استفاده از خون و بررسی شاخص‌های هماتولوژیکی ماهی کپور سرگنده می‌تواند به عنوان بیومارکرهای سنجش و ردیابی اثرات آلاینده‌های مذکور در جوامع آبی مورد استفاده قرار گیرد.

**کـــلید واژه‌ها:** بیومارکر، سم‌شناسی، مالاتیون، دیازینون، کپور سرگنده، خون‌شناسی.

## نوع مقـاله

**مقاله پژوهشی اصیل**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۰

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۱۲/۲۵

***نویسنده مسول:**
saeid.shahbazi@ut.ac.ir

## مقدمه

عمده آلودگی آب به وسیله سموم و آفت‌کش‌های مورد استفاده در کشاورزی فشرده به همراه رواناب سطحی و زهکشی زیرسطحی می‌باشد که معمولاً ظرف چند هفته پس از کاربرد این آفت‌کش‌ها اتفاق می‌افتد [۱-۲]. مطالعات زیادی گزارش کرده‌اند که برخی از آب‌های سطحی و محیط‌های اطراف آن‌ها با آفت‌کش‌های مختلف آلوده شده‌اند [۳-۴]. اکوسیستم‌های آبی گرچه به‌عنوان محیط هدف و اثر سموم آفت‌کش مدنظر نمی‌باشند با این وجود نتایج برخی از مطالعات پایشی حضور دیازینون و متابولیت آن دیازوکسون و یا سایر سموم را در آب‌های سطحی نمایان ساخته است [۱، ۵].

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

دیازینون [ Chemical Abstract Service registry number 333-41-5; 0,0-diethyl 0-(6-methyl-2-{1- methylethyl}-4-pirimidinyl ] یکی از مهمترین آفت‌کش‌های ارگانوفسفره با نوع فعالیت آنتی‌کولین‌استراز بوده که دارای فرمول شیمیایی C12H21N2O3PS می‌باشد [۶]. این سم دارای مصارف زیادی در بخش‌های مختلف از جمله مبارزه با آفات کشاورزی و حتی مصارف خانگی نیز می‌باشد و به علت کاربرد ساده و قیمت پایین در بسیاری از مناطق ایران به‌ویژه در استان‌های شمالی به میزان زیادی علیه آفات مختلف به کار می‌رود. مطالعات بسیاری در ایران بر روی دیازینون صورت گرفته و بر اساس آن گزارش داده‌اند که برخی از آب‌های سطحی و محیط‌های اطراف آن‌ها به این سم و مشتقات آن آلوده هستند [۳، ۴، ۷].

مالاتیون سم غیرسیستمیک از خانواده ارگانوفسفره با فرمول (O,O-dimethyl-S-1,2-bis ethoxycarbonyl ethyl phosphorodithioate) می‌باشد که به طور گسترده‌ای در کشاورزی و برنامه‌های سلامت عمومی استفاده می‌شود [۸]، این سم برای حشرات و ماهیان نسبت به پستانداران سمیت بیشتری دارد که به دلیل عدم وجود آنزیم‌های هیدرولیزکننده می‌باشد [۹].

ماهیان استخوانی شاخص مناسبی از آلودگی به وسیله آلاینده‌ها می‌باشند چرا که پاسخ‌های بیوشمیایی آن‌ها مشابه پاسخ‌های موجود در پستانداران می‌باشد. دلیل اصلی انجام آزمایشات سمیت توسط ماهی و دیگر ارگانیسم‌های آبی تعیین غلظت موادی است که برای ارگانیسم‌ها مضر می‌باشد [۱۰] همچنین دلیل بعدی برای انجام آزمایشات سمیت، آگاهی از سمیت فاضلاب‌ها یا تخمین کیفیت آب‌های سطحی می‌باشد. از سوی دیگر داده‌های مربوط به سمیت ناشی از استعمال آفت‌کش‌ها و تأثیر آن بر روی موجودات غیرهدف مثل ماهی به عنوان مبناء و پایه‌ای برای سنجش و تعیین خطرات اکوتوکسیکولوژیکی آفت‌کش‌ها بر روی سیستم‌های آبی می‌باشد [۱۱].

ماهی کپور سرگنده (*Hypophthalmichthys nobilis*) از ماهیان آب شیرین متعلق به خانواده کپور ماهیان، گونه غیربومی [۱۲] که به صورت چندگونه‌ای در سیستم‌های گرمابی پرورش داده می‌شود [۱۳]. از آنجا که ماهی کپور سرگنده یکی از فراوان‌ترین و مهمترین ماهیان پرورشی در مزارع گرمابی بوده و برای کشت متراکم مورد استفاده قرار می‌گیرد و نیز درصد نسبت بالایی از این سیستم پرورشی را به خود اختصاص می‌دهد، همچنین به دلیل این‌که تامین آب این مزارع پرورشی از رودخانه‌های مجاور بوده که به طور حتم از کنار باغات و مزارع زراعی می‌گذرند لذا بررسی حاضر می‌تواند کمک شایانی به فهم میزان اثرات این سموم بر آبزیان مورد نظر نماید، از سوی دیگر همواره از این گونه به عنوان مدل جهت بررسی کپورماهیان استفاده می‌شود [۱۴]. با توجه به اینکه پارامترهای خونی شرایط نامطلوب محیطی را برای ماهیان سریعتر از پارامترهای دیگر نشان می‌دهند، تا حد زیادی برای تعیین وضعیت سلامت و نظارت بر پاسخ‌های استرسی ماهیان برای پیش‌بینی سازگاری‌های فیزیولوژیکی آن‌ها استفاده می‌شود [۱۰]. در سواحل جنوبی دریای خزر عمده رودخانه‌های مهاجر پذیر شامل سفیدرود، گرگانرود، پلرود، تجن و شفارود می‌باشند که این رودخانه‌ها به دلیل مجاورت با مزارع بسیار وسیع کشاورزی اعم از شالیزار، گندمزار، مرکبات و باغ‌های چای هر ساله مقادیر بسیار زیادی از باقیمانده سموم مختلف کشاورزی را به دریای خزر منتقل می‌کنند. این سموم از طریق تغییر در کیفیت آب باعث مرگ بچه ماهیان و حتی ماهیان بزرگتر می‌شوند.

با توجه به وجود مقادیر قابل توجه سموم دیازینون و مالاتیون در اکوسیستم‌های آبی کشور به ویژه رودخانه‌های مجاور با مزارع بسیار وسیع کشاورزی اعم از شالیزار، گندمزار، مرکبات و باغ‌های چای و نظر به اثرات بالقوه این سموم بر پارامترهای فیزیولوژیک ماهیان، در تحقیق حاضر به بررسی پاسخ‌های هماتولوژیکی ماهی کپور سرگنده و تعیین برخی از شاخصهای خونی به عنوان نشانگرهای آلودگی در مواجهه با سموم دیازینون و مالاتیون در کپور ماهیان خواهیم پرداخت.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام پژوهش حاضر، با احتساب تلفات احتمالی و همچنین انجام پیش آزمایشات به منظور دستیابی به غلظت‌های کشنده، تعداد ۳۵۰ عدد ماهی کپور سرگنده با میانگین وزن ۲±۱۰۰ گرم جهت انجام آزمایش از مرکز تکثیر و پرورش ماهی بخش خصوصی در شهرستان قائمشهر

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

تهیه و به مرکز تحقیقات آبزی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه شیلات منتقل گردید. ماهیان به منظور گذراندن دوره آداپتاسیون به مدت ۷ روز در مخزن‌های مناسب و جداگانه تقسیم و سپس به میزان ۲ درصد وزن بدن در روز با غذای تجاری ماهی کپور معمولی شرکت فرادانه تغذیه شدند. آب تانک به طور مداوم هوادهی شد و روزانه ۷۰ درصد، تعویض آب صورت گرفت. طی این مدت شرایط دمایی، نوری و اکسیژن برای تمام ماهیان یکسان بود.

برای انجام این پژوهش از دو سم ارگانوفسفره مالاتیون با درصد خلوص تکنیکال ۹۵ درصد (EC= ٪۵۷) و نیز دیازینون با درصد خلوص تکنیکال حداقل ۹۵ درصد (EC= ٪۶۰) که از شرکت کاوش خریداری شده بود استفاده گردید. از آنجایی‌که تاکنون هیچ‌گونه مطالعه مشابهی برای دو سم مالاتیون و دیازینون بر روی ماهیان کپور سرگنده صورت نگرفته بود و محدوده اثر کشندگی دیازینون و مالاتیون بر این ماهیان مشخص نبوده، جهت تعیین غلظت حاد این سموم بر این ماهیان، در این تحقیق برای نخستین بار آزمایش تعیین محدوده کشندگی بر ماهی مورد مطالعه انجام و سپس آزمایش غلظت کشندگی سموم مذکور صورت گرفت.

جهت تعیین $LC_{50}$ سم مالاتیون و دیازینون، ماهیان در معرض غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰ پی‌پی‌ام و نیز یک گروه شاهد (بدون تزریق سم) قرار گرفتند و سپس تلفات آن‌ها تا ۹۶ ساعت ثبت گردید. برای هر غلظت سه آکواریوم ۱۲۰ لیتری در نظر گرفته شد و در هر آکواریوم ۷ ماهی قرار داده شد. تمامی آزمایشات در آکواریوم‌های ۱۲۰ لیتری انجام شد. دوزهای مورد آزمایش برای هر سم مورد بررسی قرار گرفت و ماهیان در گروه‌های ۷ تایی و هر کدام با سه تکرار به مدت ۹۶ ساعت در آکواریوم‌های شیشه‌ای که حاوی ۱۲۰ لیتر آب بود، قرار گرفتند. آزمایش دوز کشندگی برطبق Hotos و Vlahos انجام شد [۱۵]، علاوه بر $LC_{50}$، مقادیر کشنده دیگر شامل $LC_1$ $LC_{10}$، $LC_{30}$، $LC_{70}$، $LC_{90}$ با استفاده از جدول پروبیت، محاسبه می‌شود.

به منظور بررسی تغییرات شاخص‌های خونی ماهی کپور سرگنده در معرض سم دیازینون و مالاتیون، ابتدا می‌بایست غلظت کشنده این سموم در عرض ۹۶ ساعت به دست می‌آمد، بنابراین پس از انجام این مرحله و با استناد به نتایج حاصل از تعیین $LC_{50}$ ماهیان تحت غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۳۷/۵ و ۷۵ درصد از $LC_{50}$ به مدت ۷ روز قرار گرفتند. برای این منظور ماهیان در ده تیمار شامل ۴ غلظت دیازینون و ۴ غلظت مالاتیون و یک گروه شاهد برای هر سم، با ۳ تکرار طبقه‌بندی شدند.

در پایان دوره آزمایش (هفت روز)، پس از بیهوشی ماهیان با پودر گل میخک، اندازه‌گیری وزن با دقت ۰/۱ گرم و طول با دقت ۱۰ میلی‌متر و تخصیص کد به هر ماهی، جهت اندازه‌گیری فاکتورهای خونی، خون‌گیری از ساقه‌دمی توسط سرنگ‌های ۱ سی‌سی آغشته به EDTA (Ethylene diaminetetra acetic Acid) به عمل آمد و خون جهت شمارش پارامترهای هماتولوژیک، تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC)، گلبول‌های سفید خون (WBC)، هماتوکریت (Hct)، هموگلوبین (Hb)، میانگین حجم سلول‌های قرمز خون (MCV)، میانگین وزنی هموگلوبین در سلول های‌قرمز خون (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول‌های قرمز (MCHC) و همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید (نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل) به میکروتیوب مخصوص منتقل و در یخ نگهداری شدند [۱۰، ۱۶].

اندازه‌گیری میزان هماتوکریت با استفاده از میکرو هماتوکریت‌خوان صورت گرفت. در این مطالعه از روش میکروهماتوکریت برای سنجش هماتوکریت توسط لوله‌های مویینه استفاده گردید [۱۷]. برای محاسبه میزان هموگلوبین نیز از روش سیان مت هموگلوبین که بر مبنای همولیز گلبول‌های قرمز در محلول درآبکین (محلول درابکین ترکیبی از ۲۰۰ میلی گرم فری سیانايد پتاسیم، ۵۰ میلی گرم سیانايد پتاسیم و ۱۰۰۰ میلی گرم بی کربنات سدیم در یک لیتر آب مقطر است) استفاده شد [۱۸].

برای شمارش اریتروسیت‌ها (RBC) و لوکوسیت‌ها (WBC) نمونه‌های خون با محلول هایم رقیق‌سازی شده و پس از رنگ‌آمیزی با محلول گیسما، سلول‌ها با استفاده از لام هموسیتومتر شمارش شدند [۱۹]. همچنین به منظور محاسبه MCH، MCV و MCHC از فرمول های ارائه شده توسط [۲۰، ۲۱] استفاده گردید.

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

به‌منظور شمارش تفریقی گلبول‌های سفید خون، یک قطره خون را بر روی لام قرار داده و یک گسترش تهیه شد، سپس لام تهیه شده به مدت ۱ دقیقه در معرض هوا، خشک و به مدت ۳۰ دقیقه در اتانول ۹۰ درصد ثابت شد و پس از آن رنگ آمیزی صورت گرفت. به منظور رنگ‌آمیزی از گیمسا استفاده شد که این فرآیند ۳۰ دقیقه به طول انجامید؛ سپس، شمارش گلبول‌های سفید در زیر میکروسکوپ انجام شد [۲۲].

جهت مقایسه اثر سموم مورد آزمایش بر میانگین شاخص‌های خونی ماهی کپور سرگنده، ابتدا داده‌ها از نظر توزیع نرمال بررسی شدند. سپس داده‌ها توسط تحلیل یک‌طرفه واریانس و آزمون توکی در نرم‌افزار SPSS v.21 تجزیه و تحلیل شدند. $P = ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین تیمار ± انحراف معیار ارائه شدند.

## نتایج

در پژوهش حاضر در فواصل زمانی مشخص (هر ۸ ساعت یکبار) اکسیژن محلول، اسیدیته، دما (سانتی‌گراد) و سختی کل به‌ترتیب برابر ۷/۵–۷ میلی‌گرم بر لیتر، ۷/۶–۷، ۲۲±۱، ۲۵۰–۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر $CaCO_3$ اندازه‌گیری و تقریبا ثابت نگه داشته شد. بر اساس (جدول ۱)، مرگ و میر در ماهی کپور سرگنده تحت تاثیر سم دیازینون از غلظت ۵ پی‌پی‌ام بعد از ۷۲ ساعت آغاز شده و در غلظت ۱۵ پی‌پی‌ام بعد از ۷۲ ساعت و همچنین غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام بعد از ۴۸ ساعت تمامی ماهیان با تلفات ۱۰۰ درصد مواجه شدند. بررسی نتایج مرگ و میر ماهیان کپور سرگنده در معرض غلظت‌های مختلف سم دیازینون در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت نشان داد که با گذشت زمان و همچنین افزایش غلظت سم، تعداد مرگ و میر افزایش می‌یابد (جدول۱). همچنین نتایج نشان داد که غیر از تیمار ۱ پی‌پی‌ام که باعث تلف شدن هیچ‌یک از ماهیان نشد، ماهیان تیمارهای ۱۵، ۲۰ و ۳۰ پی پی ام همگی تلف شدند. بررسی غلظت کشنده ۱۰٪، ۳۰٪، ۵۰٪، ۷۰٪، ۹۰٪ و ۹۹٪ با استفاده از نرم‌افزار SPSS v.16 و آنالیز پروبیت نشان داد که با افزایش سم دیازینون، درصد مرگ و میر جمعیت افزایش نشان می‌دهد. در پژوهش حاضر $LC_{50}$ ۹۶ ساعت که بیش‌ترین کاربرد را در مطالعات سم‌شناختی دارد برابر ۸/۲۲ پی‌پی‌ام بود (جدول ۲).

**جدول ۱- میزان تلفات ماهی بیگ هد تحت تاثیر سم دیازینون**

| غلظت (پی پی ام) | تعداد مرگ و میر | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ۲۴ ساعت | ۴۸ ساعت | ۷۲ ساعت | ۹۶ ساعت |
| **شاهد** | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| **۱** | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| **۵** | ۰ | ۰ | ۳ | ۳ |
| **۱۰** | ۰ | ۶ | ۶ | ۱۵ |
| **۱۵** | ۶ | ۱۵ | ۲۱ | ۲۱ |
| **۲۰** | ۱۸ | ۲۱ | ۲۱ | ۲۱ |
| **۳۰** | ۲۱ | ۲۱ | ۲۱ | ۲۱ |

**جدول ۲- غلظت ایجاد کننده ۱، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۹۹ درصد تلفات بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از مجاورت با دیازینون در کپور**

| مقدار | غلظت (قسمت در میلیون) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ۲۴ ساعت | ۴۸ ساعت | ۷۲ ساعت | ۹۶ ساعت |
| **$LC_1$** | ۱۰/۲۴±۰/۱۳ | ۴/۷۳±۰/۰۹ | ۲/۴۷±۰/۰۹ | ۱/۸۹±۰/۱۱ |
| **$LC_{10}$** | ۱۳/۱۹±۰/۱۳ | ۸/۲۲±۰/۰۹ | ۵/۹۱±۰/۰۹ | ۴/۷۳±۰/۱۱ |
| **$LC_{30}$** | ۱۵/۳۳±۰/۱۳ | ۱۰/۷۵±۰/۰۹ | ۸/۴۱±۰/۰۹ | ۶/۷۹±۰/۱۱ |
| **$LC_{50}$** | ۱۶/۸۱±۰/۱۳ | ۱۲/۵۰±۰/۰۹ | ۱۰/۱۴±۰/۰۹ | ۸/۲۲±۰/۱۱ |
| **$LC_{70}$** | ۱۸/۳۰±۰/۱۳ | ۱۴/۲۵±۰/۰۹ | ۱۱/۸۷±۰/۰۹ | ۹/۶۴±۰/۱۱ |
| **$LC_{90}$** | ۲۰/۴۴±۰/۱۳ | ۱۶/۷۸±۰/۰۹ | ۱۴/۳۶±۰/۰۹ | ۱۱/۷۰±۰/۱۱ |
| **$LC_{99}$** | ۲۳/۳۹±۰/۱۳ | ۲۰/۲۷±۰/۰۹ | ۱۷/۸۱±۰/۰۹ | ۱۴/۵۴±۰/۱۱ |

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

در مطالعه حاضر صد در صد مرگ و میر کپورماهیان سرگنده در معرض سم مالاتیون در غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام بعد از ۷۲ ساعت پس از مواجهه با سم اتفاق افتاد (جدول ۳). مقادیر $LC_1$، $LC_{10}$، $LC_{30}$، $LC_{50}$، $LC_{70}$، $LC_{90}$ و $LC_{99}$ در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای سم مالاتیون بر روی ماهی کپور سرگنده در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج به دست آمده برای $LC_{50}$درمدت ۹۶ ساعت برای سم مالاتیون نشان داد که میزان $LC_{50}$با افزایش غلظت و مدت زمان قرارگیری در برابر سم کاهش یافته است (جدول ۴)، به عبارت دیگر با افزایش ساعات آزمایش میزان غلظت کمتری از سم لازم است تا ۵۰ درصد از جمعیت ماهیان تلف شوند و مقدار $LC_{50}$ در ۲۴ ساعت اولیه آزمایش همواره بیشتر از $LC_{50}$ در پایان ۹۶ ساعت می‌باشد (جدول ۴). در پژوهش حاضر $LC_{50}$ ۹۶ ساعت که بیش‌ترین کاربرد را در مطالعات سم‌شناختی دارد برابر ۱۱/۸۰ پی پی ام بود (جدول ۴). نتایج حاصل از فاکتورهای خون‌شناسی ماهیان کپور سرگنده، در معرض سم دیازینون در جدول شماره جدول ۵ قابل مشاهده است.

**جدول ۳- میزان تلفات ماهی بیگ هد تحت تاثیر سم مالاتیون**

| غلظت (پی‌پی‌ام) | تعداد مرگ و میر | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ۲۴ ساعت | ۴۸ ساعت | ۷۲ ساعت | ۹۶ ساعت |
| **شاهد** | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| **۱** | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| **۵** | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| **۱۰** | ۰ | ۰ | ۳ | ۶ |
| **۱۵** | ۳ | ۶ | ۱۵ | ۱۸ |
| **۲۰** | ۹ | ۱۸ | ۲۱ | ۲۱ |
| **۳۰** | ۱۲ | ۱۲ | ۲۱ | ۲۱ |

**جدول۴- غلظت ایجاد کننده ۱، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۹۹ درصد تلفات بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از مجاورت با مالاتیون**

| مقدار | غلظت (قسمت در میلیون) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ۲۴ ساعت | ۴۸ ساعت | ۷۲ ساعت | ۹۶ ساعت |
| **$LC_1$** | ۴/۲۰±۰/۰۳ | – | ۶/۷۰±۰/۱۲ | ۵/۳۲±۰/۱۲ |
| **$LC_{10}$** | ۱۳/۹۲±۰/۰۳ | ۹/۶۵±۰/۰۲ | ۹/۶۱±۰/۱۲ | ۸/۲۳±۰/۱۲ |
| **$LC_{30}$** | ۲۰/۹۷±۰/۰۳ | ۱۶/۸۰±۰/۰۲ | ۱۱/۷۲±۰/۱۲ | ۱۰/۳۴±۰/۱۲ |
| **$LC_{50}$** | ۲۵/۸۴±۰/۰۳ | ۲۱/۷۵±۰/۰۲ | ۱۳/۱۹±۰/۱۲ | ۱۱/۸۰±۰/۱۲ |
| **$LC_{70}$** | ۳۰/۷۲±۰/۰۳ | ۲۶/۷۰±۰/۰۲ | ۱۴/۶۵±۰/۱۲ | ۱۳/۲۷±۰/۱۲ |
| **$LC_{90}$** | ۳۷/۷۷±۰/۰۳ | ۳۳/۸۵±۰/۰۲ | ۱۶/۷۶±۰/۱۲ | ۱۵/۳۸±۰/۱۲ |
| **$LC_{99}$** | ۴۷/۴۹±۰/۰۳ | ۴۳/۷۱±۰/۰۲ | ۱۹/۶۷±۰/۱۲ | ۱۸/۲۹±۰/۱۲ |

میزان گلبول‌های قرمز خون (RBC) ماهی کپور سرگنده در معرض سم دیازینون کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند. بیشترین میزان RBC در خون ماهی کپور سرگنده در گروه شاهد و کمترین مقدار RBC در تیمار با بیشترین مقدار سم مشاهده شد (جدول ۵). همچنین با افزایش غلظت سم میزان گلبول‌های سفید خون (WBC) به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. این نتایج نشان داد که در تیمار ۷۵٪ غلظت LC50 (بیشترین غلظت سم)، میزان گلبول‌های سفید خون به کمترین مقدار خود یعنی ۱۸۵۵۰ واحد در خون رسیده است، این در حالی است که بیشترین مقدار این شاخص خونی در تیمار شاهد قابل مشاهده بود. تغییرات در هموگلوبین خون ماهیان نامنظم بود، به طوریکه ابتدا با افزایش غلظت سم شاهد افزایش در میزان هموگلوبین بودیم و سپس در بیشترین مقدار سم دیازینون، کاهش هموگلوبین را شاهد بودیم. همینطور نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان تغییرات هماتوکریت معنی‌دار نیست ولی با این وجود با افزایش غلظت سم میزان آن افزایش یافت. در میان شاخص‌های

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

اریتروسیتی تغییرات MCHC و نیز MCV معنی‌دار بود، بطوریکه با افزایش غلظت سم دیازینون، میزان این شاخص‌ها به ترتیب کاهش و افزایش یافت.

**جدول ۵- شاخص‌های خونی در بچه ماهیان کپور سرگنده در حالت معمولی (شاهد) و در معرض غلظت¬های مختلف تحت کشنده (۱۲/۵٪، ۲۵٪، ۳۷/۵٪، ۷۵٪ غلظت LC50) سم دیازینون.**

| — | گلبول قرمز ($10^6$ mm$^3$) | هموگلوبین (g/dl) | هماتوکریت ٪ | گلبول سفید ($\times10^4$/µl) | MCH (pg) | MCHC (g/dl) | MCV (fl) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۰/۲±۰/۰۱ b | ۴/۹±۰/۴ b | ۳۱/۵±۱/۵ a | ۲۶۸۰۰/۵±۷۴۵/۵ a | ۳۳/۳۲±۰/۸۴ a | ۲۸/۱±۱/۵ ab | ۱۵۰/۵±۴/۵ b |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۱۲/۵ | ۰/۲±۰/۰۲ b | ۹/۳±۰/۸ a | ۳۰/۵±۲/۵ a | ۲۳۲۸۰ ±۱۲۸۰ ab | ۴۶/۵۵±۰/۲۴ a | ۳۰/۴۵±۰/۱۵ a | ۱۵۲/۷±۲/۷ b |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۲۵ | ۰/۱۹±۰/۰۰۷ b | ۷/۶۵±۰/۸ ab | ۲۹/۵±۱/۵ a | ۲۴۲۷۵ ±۷۷۵ ab | ۳۹/۶۲±۱/۴۹ a | ۲۵/۸±۱/۶ ab | ۱۵۳/۱±۱/۸۵ b |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۳۷/۵ | ۰/۱۴±۰/۰۰۵ a | ۶/۳±۰/۸ ab | ۲۶/۵±۱/۵ a | ۲۱۸۰۰ ±۱۷۰۰ ab | ۴۳/۲۵±۰/۲۴ a | ۲۳/۶۵±۱/۶ ab | ۱۸۲/۵±۴/۰۵ a |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۷۵ | ۰/۱۳±۰/۰۲ a | ۴/۹±۰/۴ b | ۲۲/۵±۲/۵ a | ۱۸۵۵۰/۱±۷۵۰ b | ۳۷/۷۵±۰/۲۴ a | ۲۱/۸۵±۰/۶۵ b | ۱۷۲/۵±۱۳/۰۸ ab |

* مقایسه درون گروهی بوده و حروف لاتین متفاوت در هر سطر بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

بررسی نتایج حاصل از شاخص‌های ایمنی‌شناسی ماهی کپور سرگنده در معرض غلظت‌های مختلف سم دیازینون نشان داد که میزان تغییرات لنفوسیت و نوتروفیل معنی‌دار می‌باشد، برای لنفوسیت با افزایش میزان سم، کاهش و نیز برای نوتروفیل با افزایش میزان غلظت‌های سم دیازینون، افزایش آن اتفاق افتاد. این در حالی است که تغییرات ائوزینوفیل‌ها و مونوسیت‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۶).

**جدول ۶- شاخص‌های ایمنی شناسی در بچه ماهیان کپور سرگنده در حالت معمولی (شاهد) و در معرض غلظت‌های مختلف تحت کشنده (۱۲/۵٪، ۲۵٪، ۳۷/۵٪، ۷۵٪ غلظت LC50) سم دیازینون**

| | لنفوسیت ٪ | ائوزینوفیل ٪ | مونوسیت ٪ | نوتروفیل ٪ |
|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۸۴±۱ a | ۲/۵±۰/۵a | ۰/۵±۰/۵ a | ۱۳ ±۱ b |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۱۲/۵ | ۶۷/۵±۲/۵ ab | ۱/۵±۰/۵ a | ۰/۵±۰/۵ a | ۳۰/۵±۲/۵ ab |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۲۵ | ۶۱/۵±۱/۵ ab | ۲±۰/۰۰ a | ۱/۵±۰/۵ a | ۳۵±۲ ab |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۳۷/۵ | ۴۷/۵±۵/۵ b | ۲±۰/۰۰ a | ۱±۰/۰۰ a | ۴۹/۵±۵/۵ a |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۷۵ | ۴۶/۵±۶/۵ b | ۱/۵±۰/۵ a | ۱/۵±۰/۵ a | ۵۰/۵±۶/۵ a |

* مقایسه درون گروهی بوده و حروف لاتین متفاوت در هر سطر بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

در خصوص بررسی میزان تغییرات شاخص‌های خونی ماهی کپور سرگنده در معرض غلظت‌های مختلف سم مالاتیون می‌توان بیان داشت که با افزایش غلظت سم میزان گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت در خون کاهش معنی‌داری می‌یابد ($P<0.05$) (جدول ۷). میانگین حجم گویچه‌های خون (MCV) ماهی کپور سرگنده در برابر سم مالاتیون تغییرات معنی‌داری را نشان نداد، به‌طوریکه در تیمار ۳۷/۵٪ غلظت LC50 بیشرین و در تیمار ۷۵٪ غلظت LC50 کمترین بود. نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری میانگین وزنی هموگلوبین در گویچه‌های خون (MCH) خون ماهی کپور سرگنده در تیمارهای مختلف نشان داد که کمترین میزان MCH در خون این ماهی مربوط تیمار شاهد می‌باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد، ماهیانی که در معرض سم مالاتیون قرار داشتند افزایشی در تعداد نوتروفیل‌های خون نشان دادند. به‌طوری که بیشترین میزان این گروه از گلبول‌های سفید در تیمار با بیشترین غلظت سم مشاهده شد (جدول ۸). همچنین در پژوهش حاضر تغییرات لنفوسیت‌ها معنی‌دار بود به‌طوریکه با افزایش میزان سم، کاهش در مقدار لنفوسیت‌های خونی مشاهده شد، این در حالی است که میزان تغییرات ائوزینوفیل‌ها و مونوسیت‌ها معنی‌دار نبود.

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

**جدول ۷- شاخص‌های خونی در بچه ماهیان کپور سرگنده در حالت معمولی (شاهد) و در معرض غلظت‌های مختلف تحت کشنده (۱۲/۵٪، ۲۵٪، ۳۷/۵٪، ۷۵٪ غلظت LC50) مالاتیون**

| | گلبول قرمز ($10^6$ mm$^3$) | هموگلوبین (g/dl) | هماتوکریت ٪ | گلبول سفید ($\times10^4$/µl) | MCH (pg) | MCHC (g/dl) | MCV (fl) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۰/۲±۰/۰۱ a | ۴/۹±۰/۴ b | ۳۱/۵±۱/۵ a | ۲۶۸۰۰/۵±۷۴۵/۵ ab | ۳۳/۳۲±۰/۸۴ b | ۲۸/۱±۱/۵ a | ۱۵۰/۵±۴/۵ a |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۱۲/۵ | ۰/۱۹±۰/۰۰۱ ab | ۱۰±۰/۲ a | ۳۲/۵±۱/۵ a | ۲۸۰۰۰ ±۸۰۰ a | ۵۰/۸۵±۰/۶۵ a | ۳۰/۵±۰/۵ a | ۱۶۴/۹±۶/۰۵ a |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۲۵ | ۰/۱۷±۰/۱ abc | ۷/۳±۱/۳ ab | ۲۷/۵±۰/۵ ab | ۲۵۷۷۵ ±۹۷۵ ab | ۴۲/۲۰±۵/۰ ab | ۲۶/۳±۴/۳ a | ۱۶۰/۷۵±۶/۹۵ a |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۳۷/۵ | ۰/۱۴±۰/۱ bc | ۶/۷۵±۰/۵ ab | ۲۴/۵±۰/۵ bc | ۲۰۸۲۵ ±۶۷۵ b | ۴۸/۳۰±۰/۹ a | ۲۷/۱±۲/۱ a | ۱۷۶/۱±۱۳/۸۵ a |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۷۵ | ۰/۱۳±۰/۰۲ c | ۴/۴±۰/۲ b | ۱۹/۵±۱/۵ c | ۱۷۵۸۵±۱۰۶۵ b | ۳۳/۳۲±۰/۸۴ b | ۲۲/۱±۱/۱۵ a | ۱۴۷/۶±۸/۴ a |

* مقایسه درون گروهی بوده و حروف لاتین متفاوت در هر سطر بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

**جدول ۸- شاخص‌های ایمنی‌شناسی در بچه ماهیان کپور سرگنده در حالت معمولی (شاهد) و در معرض غلظت‌های مختلف تحت کشنده (۱۲/۵٪، ۲۵٪، ۳۷/۵٪، ۷۵٪ غلظت LC50) سم مالاتیون.**

| – | لنفوسیت ٪ | ائوزینوفیل ٪ | مونوسیت ٪ | نوتروفیل ٪ |
|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۸۴±۱ a | ۲/۵±۰/۵ a | ۰/۵±۰/۵ a | ۱۳ ±۱ b |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۱۲/۵ | ۸۲±۲ a | ۰/۵±۰/۵ a | ۱±۰/۵ a | ۱۶/۵±۰/۵ b |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۲۵ | ۶۹/۵±۳/۵ a | ۱/۵±۰/۵ a | ۱±۰/۵ a | ۲۸±۴ b |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۳۷/۵ | ۴۷/۵±۴/۵ b | ۲±۰/۰۰ a | ۱±۰/۰۰ a | ۴۹/۵±۳/۵ a |
| $LC_{50}$ غلظت ٪۷۵ | ۴۱±۲ b | ۲±۰/۰۰ a | ۱/۵±۰/۵ a | ۵۵/۵±۲/۵ a |

* مقایسه درون گروهی بوده و حروف لاتین متفاوت در هر سطر بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

## بحث

آلودگی آب بر مسیرهای فیزیولوژیکی کل بدن موجودات آبزی تاثیر می‌گذارد و به همین دلیل، بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی آبزیان به مواد آلاینده می‌تواند اطلاعات مفیدی در مورد مکانیسم‌های مسمومیت ارائه نماید [10]. با مقایسه میزان $LC_{50}$ 96h سم دیازینون و مالاتیون مشخص گردید که سم دیازینون نسبت به مالاتیون دارای کشندگی بیشتری می‌باشد به طوری که میزان سم دیازینون لازم برای مرگ نیمی از ماهیان در مدت زمان ۹۶ ساعت برابر ۸/۲۲ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد و این در حالی است که این میزان برای سم مالاتیون ۱۱/۸۰ پی‌پی‌ام مشخص گردید. بنابراین نسبت به سم دیازینون میزان بیشتری از سم مالاتیون لازم است تا پنجاه درصد از ماهیان در ۹۶ ساعت تلف شوند.

تست‌های سمیت حاد ماهیان در معرض دیازینون نشان داده است که غلظت‌های تحت کشنده ۹۶ ساعته در میان گونه‌ها بسیار متفاوت هستند. مقادیر $LC_{50}$ ۹۶ ساعته دیازینون برای گوپی (*Poecilia reticulate*) ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد اما این مقدار برای ماهی زبرا (*Brachydanio rerio*)، ۸ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شده است [۲۳]. میزان غلظت کشنده سم دیازینون در ۹۶ ساعت برای ماهی شیب (*Acipenser nudventris*) ۴/۶ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد [۲۴]. $LC_{50}$ 96h سم دیازینون برای مار ماهی مهاجر (*Anguilla anguilla*) ۰/۰۸ میلی‌گرم در لیتر، برای گربه ماهی آفریقایی ۶/۶ میلی‌گرم در لیتر[۲۵] و برای گربه ماهی اروپایی ۴/۱۴ میلی‌گرم در لیتر اندازه گیری شده است [۲۶].

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

مطالعات پیشین بر روی مسمومیت مالاتیون در ماهیان مختلف نشان داده است که اختلاف زیادی در غلظت کشنده حاد مالاتیون در گونه‌های متفاوت وجود دارد، به طور کلی مالاتیون برای ماهیان دارای سمیت متوسط و با محدوده $LC_{50}$ 96h ۰/۲۵ تا ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر ذکر شده است [۲۷] همچنین میزان غلظت کشنده سم مالاتیون برای ماهیان انگشت قد گربه ماهی کانالی (*channel catfish*) ۹/۶۵ میلی‌گرم بر لیتر [۹] و نیز مطالعه شهبازی ناصرآباد و همکاران[۲۸] میزان غلظت کشنده سم مالاتیون در ۹۶ ساعت برای سیاه‌ماهی را ۶/۰۸ پی‌پی‌ام برآورد نمود. همچنین مطالعه دیگری میزان $LC_{50}$ 96h سم مالاتیون را برای ماهی کپور معمولی ۲/۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نشان داد [۲۹].

نتایج حاصل از بررسی هماتولوژی ماهیان کپور سرگنده در معرض سم دیازینون، کاهش معنی‌دار گلبول قرمز و گلبول‌های سفید را با افزایش میزان غلظت سم نشان داد، همچنین با افزایش میزان سم دیازینون، نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها به طور معنی‌داری به ترتیب افزایش و کاهش یافت. همچنین نتایج نشان داد ماهیان قرار گرفته در معرض سم مالاتیون با افزایش غلظت سم به طور معنی‌داری گلبول قرمز، درصد هماتوکریت، گلبول‌های سفید و لنفوسیت کمتری نسبت به گروه شاهد داشتند.

در پژوهش حاضر برای هر دو سم مالاتیون و دیازینون با افزایش غلظت سم، میزان گلبول‌های قرمز ماهی کپور سرگنده به طور معنی‌داری کاهش یافت. کاهش تعداد سلول‌های قرمز خون و هموگلوبین در ماهی آب شیرین کپور معمولی پس از قرارگیری در معرض دیازینون نیز توسط Svesbodora و همکاران [۳۰] گزاش شده است. در سایر آفت‌کش‌های موثر نیز شواهدی از کاهش خون‌سازی و وجود کم خونی مشاهده شده است. به عنوان مثال تغییر در پروفایل گلبول قرمز در نتیجه‌ی اثرات حاد دیکلروووس در ماهی *Clarias batrachus* [۳۱]، تری‌کلروفان در *Piaractus mesopotamicus* [۳۲]. در مطالعه حاضر استرس آفت‌کش منجر به شرایط کم‌خونی ماکروکیستسک در کپور سرگنده شده که احتمالا در اثر از بین رفتن گلبول‌های بالغ و در نتیجه کاهش تعداد سلول‌های قرمز خون بوده و در نتیجه باعث اختلال در مکانیسم ترکیب آهن می‌گردد.

کاهش تعداد گلبول‌های قرمز همچنین در پژوهش بنایی و همکاران [۳۳] که اثرات مسمومیت با سم دیازینون بر خون‌شناسی و بافت‌شناسی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)؛ نظیفی و همکاران [۳۴] که پارامترهای خون‌شناسی ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophetalmichthys molitrix*) در مسمومیت با سم تری‌کلروفون؛ و محمدنژاد شموشکی و همکاران [۳۵] که تاثیرات ارگانوفسفات و دیازینون را بر تغییرات خون‌شناسی و بیوشیمیایی ماهی سفید مورد پژوهش قرار داده بودند دیده شد. کاهش تعداد گلبول‌های قرمز احتمالاً به علت اختلال در روند خون‌سازی ماهی است [۳۷].

در مطالعه حاضر، درصد هماتوکریت خون ماهیان کپور سرگنده در معرض سم دیازینون، نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد، این در حالی بود که برای سم مالاتیون، میزان این شاخص به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه شاهد بود، به طوریکه با افزایش غلظت سم میزان این پارامتر خونی کاهش یافت، بنابراین کمترین مقدار هماتوکریت برای هر دو سم، در تیمار با ۷۵٪ غلظت $LC_{50}$ سم مشاهده گردید. کاهش میزان هماتوکریت را نیز می‌توان به اختلال در روند خون‌سازی ماهی نسبت داد [۳۷].

در پژوهش حاضر تغییرات هموگلوبین خون ماهیانی که در معرض سم قرار گرفته بودند نامنظم بود، به‌طوریکه با افزایش سم ابتدا شاهد افزایش در میزان هموگلوبین خون بودیم ولی در نهایت و در غلظت ۷۵ درصد غلظت $LC_{50}$ میزان این پارامتر خونی کاهش یافت. با کاهش تعداد گلبول‌های قرمز خون و هموگلوبین در ماهیان قرار گرفته در معرض آفت‌کش ظرفیت حمل اکسیژن خون نیز کاهش می‌یابد. کاهش غلظت هموگلوبین ممکن است یا به علت افزایش از بین رفتن هموگلوبین و یا کاهش سنتز آن باشد [۳۸]. کاهش گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت با ظرفیت حمل اکسیژن خون در ارتباط است که ممکن است به علت مهار خون‌سازی و افزایش سرعت تخریب اریتروسیت در اندام‌های خون‌ساز باشد [۳۹].

بنایی و همکاران[۳۳] در بررسی خون‌شناسی ماهی کپور معمولی مسموم شده با دیازینون؛ خوشباور رستمی و سلطانی[۲۴] در بررسی اثر سم دیازینون بر شاخص‌های خونی ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*)، نظیفی و همکاران [۳۴] در بررسی مولفه‌های خون‌شناسی ماهی کپور نقره‌ای

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

مسموم شده با تری‌کلروفون؛ محمدنژاد و همکاران [۳۵] در بررسی تاثیرات ارگانوفسفات و دیازینون بر تغییرات خون‌شناسی و بیوشیمیایی ماهی سفید کاهش میزان هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول‌های قرمز خون ماهیان را در اثر قرارگرفتن در معرض سموم یادشده گزارش کرده‌اند.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که وقتی ماهیان کپور سرگنده در معرض سم مالاتیون و دیازینون قرار می‌گیرند، میزان گلبول‌های سفید خون کاهش می‌یابد، به طوریکه هرچه میزان غلظت سم افزایش یافت، کاهش بیشتری در میزان این پارامتر خونی مشاهده شد. بنابراین شمارش گلبول‌های سفید نشان داد که شمار این سلول‌ها در گروه شاهد نسبت به تیمارهای دارای غلظت‌های متفاوت سم، بیشتر بود، این یافته موافق با یافته‌های دیگر محققان نظیر Mişe Yonar، [۳۹] بود که کاهش گلبول‌های سفید ماهی کپور معمولی در برابر سم مالاتیون را گزارش داد. علت این مسئله را می‌توان این‌طور بیان نمود که با تضعیف بدن در غلظت‌های بالا با کاهش تولید گلبول‌های سفید مواجه هستیم [۴۰].

مطالعات گوناگونی نشان داده است که افزایش درگیری سلول‌ها در فرآیندهای ایمنی موجب کاهش تعداد سلول‌های خونی می‌گردد [۴۱-۴۳]. گلبول های سفید سلول‌های مهمی در سیستم ایمنی هستند چرا که عملکرد دفاعی اصلی را انجام می‌دهند. گلبول‌های سفید بلافاصله به تغییرات محیطی به دلیل تغییرات خارجی پاسخ می‌دهند [۴۴]. با این حال برخی از مطالعات افزایش قابل توجه گلبول‌های سفید خون را در برابر ورود آلاینده نشان می‌دهد. این پاسخ در کپور معمولی نیز پس از قرارگیری در غلظت حاد فنیتروتیون، ایمیدان و دیکلروس دیده شد [۳۰]. این حالت ممکن است به علت آزاد شدن گلبول‌های سفید خون از طحال به جریان خون برای مبارزه با سم به وجود آید. در پژوهش حاضر در تیمارهای مربوط به سم دیازینون با افزایش غلظت سم، میانگین حجم سلول‌های قرمز خون (MCV) به طور معنی‌داری افزایش یافت، این در حالی است که در تیمارهای مربوط به سم مالاتیون، علی‌رغم افزایش در میانگین میزان آن، تفاوت معنی‌داری در شاخص MCV مشاهده نشد. افزایش میانگین تعداد گویچه‌های خون به خاطر سرعت بیشتر کاهش گلبول‌های قرمز نسبت به هموگلوبین است [36]. همچنین در مطالعه حاضر با افزایش غلظت سم دیازینون، کاهش در میزان MCHC مشاهده شد، با این حال اختلاف معنی‌دار نبود، بررسی محمدنژاد شموشکی و همکاران[۳۵] نیز از کاهش میزان MCHC در ماهیان سفید تحت‌تیمار سم دیازینون حکایت می‌کند. به طور کلی می‌توان عنوان کرد افزایش در MCV و MCH همراه با مقداری کاهش در MCHC نشان دهنده کم‌خونی از نوع ماکروکیستیک می‌باشد. شاخص‌های لوکوسیتی خون از جمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها از عوامل سیستم ایمنی سلولی هستند که نوسان در تعداد آن‌ها می‌تواند به عنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ ماهیان به عوامل استرس مطرح باشد [۴۵]. با این حال نوتروفیل و لنفوسیت اصلی‌ترین سلول‌های خونی در مطالعات توکسیکولوژی هستند و تأثیر آلاینده‌ها بیشتر در این سلول نمایان می‌شود [۴۶].

در پژوهش حاضر بررسی شاخص‌های هماتولوژیک و ایمنولوژیک نشان داد که آلودگی سموم کشاورزی تأثیرات زیادی بر عملکرد و مقدار سلول‌های خونی داشته و اکثر این شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری در مقادیر خود نسبت به گروه کنترل نشان دادند. جمع‌بندی کلی نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت‌های مختلف سموم کشاورزی تأثیرات فیزیولوژیک زیادی بر ماهی کپور سرگنده می‌گذارد، بنابراین تغییرات شاخص‌های هماتولوژی و ایمنی می‌تواند به عنوان بیومارکرهای سنجش و ردیابی اثرات آلاینده‌ها استفاده شود. در نهایت می‌توان بیان داشت که آلودگی آب به مواد سمی باعث بروز مشکلات مختلف در آبزیان می‌شود. این آلاینده‌ها قادر خواهند بود ابتدا با ایجاد مشکلات فردی در آبزیان و در نهایت در صورت تداوم، جامعه آبزیان در اکوسیستم مربوطه را تحت تاثیر قرار داده و از طریق کاهش شانس بقاء، اکولوژی آن گونه را تغییر دهند.

**تأییدیه اخلاقی**: کلیه مراحل انجام این مطالعه با رعایت مسایل اخلاقی انجام شد.

**تعارض منافع**: نویسندگان اعلام می‌دارند هیچگونه تعارض منافعی وجود ندارد.

**سهم نویسندگان**: سعید شهبازی (نویسنده اول) ( روش‌شناس/نگارنده بحث) ۴۰٪؛ علی اکبر هدایتی (نویسنده دوم) (پژوهشگر اصلی/ نتایج/تحلیلگر آماری) ۴۰٪؛ عطا مولودی صالح (نویسنده سوم) (پژوهشگر کمکی) ۲۰٪؛

**منابع مالی**: هزینه‌های مالی اجرای این پژوهش توسط گرنت تحقیقاتی نویسندگان تأمین شده است.

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

## منابع


1- Banaee M, Mirvaghefei AR, Majazi Amiri B, Rafei GR, Nematdost B.. Hematological and Histopathological Study of Experimental Diazinon Poisoning in common carp fish (*Cyprinus carpio*). J Fish. (Iran J Natur Resou.) 2011; 64(1), 1-14.
2- Bouldin JL, Farris JL, Moore MT, Smith JrS, Cooper CM.. Assessment of Diazinon Toxicity in Sediment and Water of Constructed Wetlands Using Deployed Corbicula fluminea and Laboratory Testing. Arch Environ Contam Toxicol. 2007; 53, 174-182.
3- Bagheri H, Saraji M, Chitsazan M, Mousavi SR, Naderi M.. Mixed-level orthogonal array design for the optimization of solid-phase extraction of some pesticides from surface water. J Chromatogr A. 2000; 888(1-2), 197-208.
4- Arjmandi R, Tavakol M, Shayeghi M.. Determination of organophosphorus insecticide residues in the rice paddies. Int J Environ Sci Technol. 2010; 7(1), 175–182.
5- Shegefti S, Sereshti H, Samadi S.. Determination ofendosulfan in water samples using dispersive liquidliquid micro-extraction and experimental design for optimization. Int J Env Res. 2010; 4(2), 237-46.
6- Larkin DJ, Tjeerdema RS. Fate and effects of diazinon. Rev Env Contam Toxico. 2000; 166; 49–82.
7- Rahiminezhhad MSJ, Shahtaheri R, Ganjalim A, Rahimi Foroushani F, Golbabaei F.. Molecularly imprinted solid phase extraction for trace analysis ofdiazinon in drinking water, Iran. J Env Health Sci Eng. 2009; 6, 97-106.
8- Abhilash PC, Singh N. Pesticide Use and Application: An Indian Scenario. J Hazard Mat 2009; 165(1-3), 1-12.
9- Areechon N, Plumb JA Sublethal effects of Malathion on channel catfish, Ictalurus punctatus. Bull Environ Contam Toxicol. 1990; 44(3), 435-442.
10- Banaee M, Mirvagefei AR, Rafei GR, Majazi Amiri B. Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. Int J Environ Res. 2008; 2, 189-198.
11- Gangolli SD. The dictionary of toxic substances and their effects. Edition, Royal Society of Chemistry, Second Edition, Revised edition, 1999; 1(A-B), 916.
12- Vosoghi, Vossughi Ch (= Wossughi, Gh.), Mostajeer B. Freshwater Fishes. Second Edition. Tehran University Publication. 1994. No. 2132, 317 pp. [In Persian].
13- Heydari I, Khara H, Vahabzadeh H. Effect of sex and hormone therapy on some blood cellular and biochemical factors in Bighead Carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). Ren Natur Resou Res. 2014; 4(4), 15-23 (In Persian).
14- Lee LE, Caldwell SJ, Gibbons J. Development of a cell line from skin of goldfish (*Carassius auratus*), and effects of ascorbic acid on collagen deposition. Histochem. Cell Biol. 1997; 29, 31–43.
15- Hotos GN, Vlahos N. Salinity tolerance of, Mugil cephalus and Chelon labrosus, Pisces: Mugilidae/fry in experimental conditions. Aquaculture. 1998; 167, 329–338.
16- Desai, B. and Parikh, P. 2012. Impact of Curzate (fungicide) on Hematological Parameters of *Oreochromis mossambicus*. Int. J. Sci. & Eng. Res. 3(7): 1-6.
17- Cyriac PJ, Antony A, Nambisan, PNK.. Hemoglobin and hematocrit values in the fish *Oreochromis mossambicus* (peters) after short term exposure to copper and mercury. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1989; 43, 315-320.
18- Drabkin DL. Spectrophotometric studies XIV. The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species. J Biol Chem. 1946; 164, 703-723.
19- Stevens ML. Fundamentals of Clinical Hematology. WB Saunders, Philadelphia, PA. 1997: 393 p.


[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

20- Seiverd, C.E. 1964. Haematology for Medical Technologists. Lea and Febiger, Philadelphia, p. 946.
21- Ramesh M, Sankaran M, Veera-Gowtham V, Poopal RK.. Hematological, biochemical and enzymological responses in an Indian major carp Labeo rohita induced by sublethal concentration of waterborne selenite exposure. Chemico-biol Interac. 2014; 207, 67-73.
22- Khoshbavar-Rostami HA, Soltani M, Hassan HMD. Immune response of great sturgeon (Huso huso) subjected to long-term exposure to sublethal concentration of the organophosphate, diazinon. Aquaculture, 2006; 256, 88-94.
23- Keizer,J, Agostion GD, Nagel R, Gramenzi F, Vittozi L.. Comparative diazinon toxicity in guppy and zebra fish. Env Toxico Chem. 1993; 12, 1243-1250.
24- Khoshbavar Rostami HA, Soltani M, Yrlghi S Effect of Diazinon on the Hematological profiles of *Asipenser stellatus* and determination of LC50. J Agri Sci Nature Rsou 2005; 12(5): 100-108 (in Persian).
25- Adedeji OB, Adeyemo OK, Agbede SA. Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarias gariepinus*). Afr J Biotech. 2009; 8(16), 3940-3946.
26- Sibel OK, Kenan K, Mevlüt S, Ener UI, Murat P.: Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis*). Pestic Biochem Physiol. 2006; 86, 99–105.
27- Mani, V.G.T. and Konar, S.K. 1984. Acute toxicity of Malathion to fish, plankton and worm. Env. Eco. 2(4): 248-250.
28- Shahbazi Naserabad S, Pourbagher H, Moëzzi F, Rostamian N. Malathion acute toxicity and the effects of exposure to its sub-lethal concentrations on behavioral and haematological parameters in fish, *Capoeta damascina*. J Chem Health Risks. 2015; 5(3), 209-220.
29- Kaur K, Dhawan A. Variable sensitivity of Cyprinus carpio eggs, larvae, and fry to pesticides. Bull Environ Contam Toxicol. 1993; 50(4), 593-599.
30- Svesbodora Z, Fravda D, Palakova J. Unified methods of haematological examination of fish. Research Institute of Fish Culture & Hydrolobiology, Vodnany, Czechoslovekia. 1991; 331pp.
31- Benarji G, Rajendranath T. Hematological changes induced by an organophosphorus insecticide in a freshwater fish *Clarias batrachus* (Linnaeus). Trop Freshwater Biol. 1990; 2, 197–202.
32- Tavares-Dias M., Martins M.L., Kronka, S.D.N. 1999. Evaluation of the haematological parameters in Piaractus mesopotamicus Holmberg (*Osteichthyes, Characidae*) with Argulus sp. (*Crustacea, Branchiura*) infestation and treatment with organophosphate. Rev. Bras. Zool. 16(2): 553-555.
33- Banaee M, Mirvaghefi AR, Amiri, BM, Rafiee GR, Nematdost B. Hematological and histopathological effects of diazinon poisoning in common carp (Cyprinus carpio). J Fish. 2011; 64(1): 1-13 (In Persian).
34- Nazifi S, Firouzbakhsh F, Ghazizadeh M. Evaluation of Hematological parameters in experimental intoxication with trichlorofen in the Silver Carp. J Vet Res. 2001; 56(2), 23-27 (In Persian).
35- Mohammad Nejad SM, Soltani M, Sharifpour I, Imanpoor M. The Study of diazinon effects on Haematological factors of *Rutilus kutum* male brood stocks. -J. Large Anim. Clinic. Sci. Res. (Journal of Veterinary Medicine). 2011; 5(3), 23-32 (In Persian).
36- Farokhruz LM, Ghaseminejad A, Falakro K, Fahim M, Rahimibashar M. The Effect of Butachlor on some Hematological factors In Caspian Roach (*Rutilus frisii kutum* Kamenskii 1901). J Biol Sci. 2010; 4(1)- 57-65 (In Persian).
37- Moss JA, Hathway DE. Transport of organic compounds in the mammalianpartition of dieldrin and telodrin between the cellular components and soluble proteinsof blood. Biochem J. 1964; 91, 383–393.

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

38- Akinrotimi OA, Gabriel UU, Ariweriokuma SV. Hematotoxicity of Cypermethrin to African Catfish *Clarias Gariepinus* under Laboratory Conditions. J Environ Eng Technol. 2012; 2, 20-25.
39- Mişe Yonar S, Ural MŞ, Silici S, Yonar ME. Malathion-induced changes in the haematological profile, the immune response, and the oxidative/antioxidant status of *Cyprinus carpio* carpio: Protective role of propolis. Ecotoxic Env Saf. 2014; 102, 202-209.
40- Rezaei ZR.. Effect of titanium dioxide nanoparticles on the amount of blood cells and liver enzymes in wistar.- J Shahid Sadoughi University of Med Sci. 2012; 19(5), 618-26 (In Persian).
41- Chen Z, Meng H, Xing G, Chen C, Zhao Y, Jia G. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. Toxicol Lett. 2006; 163(2), 109-20.
42- Aillon KL, Xiea Y, El-Gendy N, Berkland CJ, Forresta ML.. Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity. Adv Drug Deli Res. 2009; 61(6), 457-66.
43- Zhang XD, Wu HY, Wu D, Wang YY, Chang JH, Zhai ZB.. Toxicologic effects of gold nanoparticles in vivo by different administration routes. Int J Nanomed. 2010; 5, 771-81.
44- Masud S, Singh IJ.. Effect of Cypermethrin on some hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater Teleost, Cyprinus carpio. Afr J Environ Sci Technol. 2013; 7, 852-856.
45- Stoskopf, M.K. 1993. Clinial pathology. Saunders Company. Fish. Med. 113-131.
46- Lermen CL, Lappe R, Crestani M, Vieira VP, Gioda CR, Schetinger MRC, Baldisseretto B, Moraes G, Morsch VM.. Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver cat fish (*Rhamdia quelen*). J Aqua. 2004; 239, 497–507.

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume11, Issue 1, Winter 2022
Pages: 78-90

# Application of blood biomarker for determination of Diazinon and Malathion toxicity to Big-head Carp (*Hypophthalmichthys nobilis*)

**Saeid Shahbazi[1*], Seyyed Aliakbar Hedayati[2], Atta Mouludi-Saleh[1]**

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

2- Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Gorgan, Iran.

## A B S T R A C T

Malathion and diazinon are widely used organophosphate pesticides in the agriculture fields, especially in the north provinces of Iran. In the current study, lethal concentrations of diazinon and malathion were determined based on big head carp calculated death rates at 24, 48, 72 and 96 hours using probit analysis. Then, in a separate experiment and according to the obtained LC50, the effects of these toxins on fish hematological parameters was evaluated in which fish were disturbed in 10 treatments with 3 replicates (4 different doses of diazinon, 4 different doses of malathion and 1 control for each toxin) for 7 days. Fish were exposed to different sub-lethal concentrations of each toxin (12.5, 25, 37.5 and 75% of lethal concentration (LC50 96h). After 7 days, blood samples were collected and hematological parameters including hematocrit, hemoglobin, red blood cells count, the total number of white blood cells and white blood cell differential count (the percentage of lymphocytes, monocytes, neutrophils and eosinophils) were examined. The results of acute toxicity test showed that diazinon is more toxic to big head carp compared to malathion. Also, hematological studies of big head carp exposed to diazinon showed a significant reduction in red blood cells and white blood cells with increasing toxin concentration. Meanwhile, the percentage of neutrophils remarkably increased while lymphocytes significantly decreased along with increasing the concentration of diazinon. Fish exposed to malathion showed a significantly lower red blood cells count, hematocrit, white blood cells count, lymphocytes and neutrophils compared to control group in a concentration-dependent manner. In conclusion, the hematological parameters of big head carp can be successfully used as helpful biomarkers in the evaluation of malathion and diazinon toxicity to aquatic communities.

**KEYWORDS:** Biomarker, Toxicology, Malathion, Diazinon, *Hypophthalmichthys nobilis*, Hematology

## ARTICLE TYPE

**Original Research**

## ARTICLE HISTORY

Received: 28 August 2021

Accepted: 22 November 2021

ePublished: 20 February 2022

* Corresponding Author:
Email address: saeid.shahbazi@ut.ac.ir
Tel: +(98)
© Published by Tarbiat Modares University
eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.2.5 ]