

## اثر سم دیازینون روی شاخص‌های خونی ماهی خاویاری ازون برون (*Acipenser stellatus*) و تعیین LC50

حسینعلی خوشباور رستمی<sup>۱</sup>، مهدی سلطانی<sup>۲</sup> و سعید یلقی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>پژوهشکده اکولوژی دریای خزر- بخش بیماریها، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، <sup>۲</sup>مرکز تحقیقات شیلاتی گلستان

تاریخ دریافت: ۸۲/۲/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۸۴/۶/۲۳

### چکیده

در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی ازون برون جوان (*Acipenser stellatus*) با میانگین وزنی  $7 \pm 1$  گرم در ۶ گروه (۵ گروه آزمایشی و یک گروه شاهد) پس از تعیین محدوده کشندگی (۳ و ۷ میلی‌گرم بر لیتر)، در معرض غلظت‌های ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ میلی‌گرم بر لیتر سم دیازینون قرار گرفتند. میزان متوسط غلظت کشنده (LC<sub>50</sub>) سم دیازینون روی بچه ماهیان مورد آزمایش طی ۹۶ ساعت ۴/۹۸ میلی‌گرم بر لیتر تعیین گردید. ماهیان مسموم رفتار غیرطبیعی که شامل بی‌تابی شدید، گرفتگی عضلات دور دهانی، شنای نیم دایره‌ای و اختلال در حرکات تنفسی می‌گردد نشان دادند. جهت مطالعات خون شناختی از ماهیانی که در معرض سم دیازینون در غلظت LC<sub>50</sub> قرار گرفته بودند، خونگیری شد. مقادیر شاخص‌های خونی RBC, PCV, Hb, MCV, MCH, MCHC در گروه آزمون و شاهد از تفاوت معنی‌داری برخوردار بودند ( $p < 0/05$ ). نتایج حاصله از شمارش تفریخی لکوسیت، لنفوسیت، نوتروفیل گروه آزمایشی و شاهد نشانگر اختلاف معنی‌دار در آنها می‌باشد ( $p < 0/05$ ). در بررسی‌های بیوشیمیایی نیز مقادیر پروتئین کل، گلوکز سرم خون در گروه‌های آزمایشی و شاهد از اختلاف معنی‌داری برخوردار بودند ( $p < 0/05$ ). در مدت اجرای آزمایش فاکتورهای اکسیژن محلول، اسیدیته، سختی کل، هدایت الکتریکی، نیتريت، نترات، فسفات و دمای آب روزانه اندازه‌گیری و ثبت گردید.

**واژه‌های کلیدی:** ماهی ازون برون، سم دیازینون، LC<sub>50</sub>، شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی

### مقدمه

توسعه و گسترش استعمال سموم همراه با ترکیبات فسفر آلی در کشاورزی و اثرات بعدی آن بر اکوسیستم‌های آبی یکی از نگرانی‌های امروزه جامعه بشری است. از تأثیرات ویژه آن می‌توان اثر سموم بر جوامع زیستی آبهای داخلی و دریایی و اثرات بالقوه آن بر جمعیت ماهیان و در نتیجه روی ماهیگیری و فعالیت‌های شیلاتی نام برد.

اکوسیستم‌های آبی به‌عنوان بزرگترین محیط طبیعی همواره با تهدیدهایی نظیر محدودیت ژنتیکی و تنوع زیستی مواجه می‌باشد، لذا چنین محیط‌هایی گرچه به‌عنوان محیط هدف و اثر سموم آفت‌کش مد نظر نمی‌باشند با این وجود نتایج برخی از مطالعات پایشی حضور دیازینون و متابولیت آن دیازوکسون را در آبهای سطحی نمایان ساخته است (مانسینگ و ویلسون، ۱۹۹۵؛ تسودا و همکاران، ۱۹۹۶؛ ون-در گیست و همکاران، ۱۹۹۷). شدت سمیت دیازینون در بین گونه‌های مختلف

اکوتوکسیکولوژی است، ابتدا میزان LC<sub>50</sub> سم دیازینون ماکسیدال ای سی-۶۰۰ در گونهٔ ازون برون در ۹۶ ساعت تعیین گردید و در جنب این بررسی اثرات رفتاری، خون شناختی و بیوشیمیایی ماهی نیز مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

۱۸۰ قطعه ماهی ازون برون با میانگین وزنی  $7 \pm 1$  گرم جهت این مطالعه در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمایش تعداد ۱۸ عدد آکواریوم شیشه‌ای به ابعاد  $40 \times 40 \times 100$  سانتی متر با حجم ۱۶۰ لیتر با استفاده از آب شیرین مورد بهره‌برداری قرار گرفت. در این آزمایش سم دیازینون با نام تجاری دیازینون ماکسیدال ای سی-۶۰۰ مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش سمیت حاد دیازینون براساس پروتکل ای سی دی<sup>۲</sup> انجام گرفت. جهت تعیین غلظت محدوده‌ی کشندگی سم دیازینون در ماهی ازون برون، تعداد ۶۰ قطعه از ماهیان در معرض غلظت‌های متفاوت از این سم (۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ میلی‌گرم بر لیتر) قرار داده شدند. ماهیان مورد آزمایش وقتی که در معرض سم دیازینون با غلظت ۳ میلی‌گرم بر لیتر قرار گرفتند هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشد اما هنگامی که این ماهیان در معرض غلظت ۷ میلی‌گرم بر لیتر قرار داده شدند تمام ماهیان تلف شدند. براساس مقادیر حاصله (۳ و ۷ میلی‌گرم بر لیتر دیازینون)، ماهیان در مجاورت ۵ غلظت متفاوت از سم دیازینون قرار گرفتند. غلظت‌های متفاوت سم دیازینون به ترتیب ۳، ۴، ۵ و ۶ میلی‌گرم بر لیتر و یک گروه شاهد، هر کدام در سه تکرار در نظر گرفته شد.

تعداد ۱۰ قطعه ماهی ازون برون جوان در هر آکواریوم معرفی گردید. این آزمایش در دمای  $22 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد انجام گرفت، رفتار و سایر تغییرات ظاهری ماهیان مورد بررسی و مشاهده قرار گرفت. ماهیان تلف شده از محیط آکواریوم جمع‌آوری و در پایان یک دوره

از تغییرات زیادی برخوردار می‌باشد و میزان این تغییرات بطور عمده تابع سن، جنسیت، اندازه بدن ماهی، شرایط اقلیمی، ترکیب شیمیایی سم، شیمی محیط‌زیست و سایر فاکتورها می‌باشد (مونتز، ۱۹۸۳). علائم ظاهری مسمومیت ماهیان به سم دیازینون شامل تیرگی ناحیه قدامی بدن، اضطراب بیش از حد، گرفتگی شدید عضلانی و شنای سریع و ناگهانی دورانی و علائم فیزیولوژیک داخلی از جمله مهار شدن کولین، انباشتگی استیل کولین استراز، اختلال در کارکرد عصبی و اختلال در حرکات تنفسی می‌باشد (ساستری و شارما، ۱۹۸۰). اثرات غلظت تحت کشندگی سم دیازینون روی ماهی شامل انحنای ستون فقرات، تغییر ترکیبات خونی (آنیز، ۱۹۷۸)، اختلالات تولیدمثلی و مهار فعالیت استیل کولین استراز (گودمن و همکاران، ۱۹۷۹)، کاهش رشد مرحله لاروی و بالغ ماهیان، شنای نامتعادل و تغییر میزان رنگدانه‌ها (آلام و ماقان، ۱۹۹۲) و ساختمان آبشش (دوتا و همکاران، ۱۹۹۳) می‌باشد.

ویژگی‌های بیوشیمیایی خون به‌عنوان مهمترین شاخص وضعیت محیط درونی ماهی قلمداد می‌گردد (ادسال، ۱۹۹۹). تغییرات پروفیل بیوشیمیایی خون در واقع ماحصل تغییر در روند سوخت و ساز و بیوشیمی ماهی بوده که عمدتاً ناشی از تأثیر آلاینده‌ها می‌باشد، بطوریکه در چنین وضعیتی میزان گلیکوژن کبد و بافت عضلانی بطور معنی‌داری کاهش و غلظت گلوکز و لاکتات خون بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد.

در این تحقیق با توجه به اینکه بیشتر رودخانه‌های محل مهاجرت، تخم‌ریزی و پرورش اولیه لاروی ماهیان مهاجر آب شیرین بطور عام و رهاسازی بچه ماهیان خاویاری (ازون برون) بطور خاص در مجاورت اراضی کشاورزی مصرف‌کننده سم دیازینون به‌عنوان سم آفت کش قرار دارند، تأثیر این سم بر فاکتورهای خون شناختی و بیوشیمیایی خون ماهی ازون برون جوان مورد بررسی قرار گرفت و با نظر به اینکه تعیین میزان حد متوسط غلظت کشندگی یا LC<sub>50</sub> لازمهٔ مطالعات

1- Macidal EC 600

2- Organization of Economic Cooperation and Development

لکوکریت<sup>۱۳</sup> تعیین گردید (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۱) به منظور مطالعات بیوشیمیایی سرم خون جداسازی و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر<sup>۱۴</sup>، اپندرف<sup>۱۵</sup> مارک ای پی او اس<sup>۱۶</sup>. مقادیر گلوکز و پروتئین کل محاسبه گردید (پروانه، ۱۳۷۱).

## نتایج

اثر غلظت‌های مختلف دیازینون ماکسیدال ای سی-۶۰۰ در مدت زمان‌های مختلف در معرض قرار گرفتن بر روی ماهیان ازون برون جوان در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان LC<sub>50</sub> براساس روش پروبایت آنالایزر در طی ۹۶ ساعت ۴/۹۸ میلی‌گرم بر لیتر تعیین گردیده است (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۱).

شایع‌ترین علائم بالینی یا رفتاری ماهیان ازون برون جوان مسموم شده با دیازینون سندروم فلجی عصبی بود و ماهیان بلافاصله پس از قرار گرفتن در حمام سم دچار بی‌تابی شدید گردیدند. اضطراب ماهیان به صورت افزایش عکس‌العمل در مقابل محرک‌های بیرونی و گرفتگی عضلات دور دهانی و باله‌ای آشکار گردید. شنای دسته جمعی 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 در این مرحله از مسمومیت تیرگی سطح بدن در ناحیه پشتی قابل توجه بود. با استمرار مسمومیت حرکات تنفسی مختل شده و در نهایت ماهیان در گوشه‌ای از آکواریوم سقوط کرده و بلافاصله تلف می‌گردیدند.

سطوح متغیرهای خون شناختی: نتایج سطوح اریتروسیت دو گروه شاهد و آزمایشی ازون برون مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است.

۹۶ ساعته تعداد آنها ثبت گردید. دما، اکسیژن محلول و pH آب بطور روزانه اندازه‌گیری و ثبت گردید (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۱). میزان LC<sub>50</sub> ازون برون در طی ۹۶ ساعت در معرض قرار گرفتن با استفاده از روش تجزیه پروبایت (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۱)<sup>۱</sup> و نرم افزار SPSS (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۱) محاسبه گردید. در طی مدت ۹۶ ساعت تعیین LC<sub>50</sub> میانگین مقادیر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب محیط آزمایش معادل ذیل بوده است:

درجه حرارت آب  $22 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد؛  
 $1/03$  = (قابلیت هدایت الکتریکی آب) قابلیت الکتریکی آب؛ نیتريت  $0/01$  میلی‌گرم بر لیتر؛ نترات  $0/08$  میلی‌گرم بر لیتر؛ سختی کل  $330$  میلی‌گرم بر لیتر؛ اکسیژن محلول  $8$  میلی‌گرم بر لیتر؛ فسفات  $285$  میلی‌گرم بر لیتر؛  $7/95$  = (اسیدیته) اسیدیته ثبت شد. جهت مطالعات خون شناختی و بیوشیمیایی خون، ماهیان در معرض سم دیازینون با غلظت معادل LC<sub>50</sub> قرار گرفتند. پس از یک دوره ۹۶ ساعته از گروه شاهد و آزمایشی به ترتیب ۱۰ قطعه ماهی انتخاب و از ناحیه دمی آنها خونگیری به عمل آمد. نمونه‌های خون در لوله‌های اپندورف محتوی هپارین نگهداری شد و همزمان نسبت به تهیه گسترش‌های خونی اقدام گردید. میزان اریتروسیت<sup>۲</sup>، هماتوکریت<sup>۳</sup>، هموگلوبین<sup>۴</sup>، میانگین حجم گویچه‌ها<sup>۵</sup>، میانگین هموگلوبین گویچه‌ها<sup>۶</sup>، میانگین غلظت هموگلوبین گویچه‌ها<sup>۷</sup>، میزان لکوسیت<sup>۸</sup> و تعداد لکوسیت تفریخی (لنفوسیت<sup>۹</sup>، نوتروفیل<sup>۱۰</sup>، ائوزینوفیل<sup>۱۱</sup>، مونوسیت<sup>۱۲</sup>،

- 1- Probit Analysis
- 2- Red Blood Cell
- 3- Hematocrit
- 4- Hemoglobin
- 5- Mean Corpuscular Volume
- 6- Mean Corpuscular Hemoglobin
- 7- Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
- 8- Leukocyte
- 9- Lymphocyte
- 10- Neutrophil
- 11- Eosinophil
- 12- Monocyte

- 13- Leukocyte
- 14- Auto Analyser
- 15- Ependorf
- 16- EPOS

جدول ۱- درصد تلفات تجمعی ماهیان ازون‌برون جوان در معرض سم دیازینون در طی زمان‌ها و تیمارهای آزمایش LC<sub>50</sub>.

تیمار	ساعت			
	۹۶	۷۲	۴۸	۲۴
( بدون سم) شاهد	۰	۰	۰	۰
۳ میلی گرم در لیتر	۱۷	۷	۳	۰
۴ میلی گرم در لیتر	۲۷	۱۳	۳	۰
۵ میلی گرم در لیتر	۳۳	۲۰	۷	۰
۶ میلی گرم در لیتر	۶۰	۲۷	۲۰	۳
۷ میلی گرم در لیتر	۹۰	۷۳	۵۳	۳۰

جدول ۲- متغیرهای خون شناختی ماهی ازون‌برون در معرض سم دیازینون با LC<sub>50</sub> در مدت ۹۶ ساعت در دو گروه آزمایشی و شاهد.

شاخص	واحد	گروه	تعداد	میانگین	انحراف معیار	احتمالات
M.C.V	Fl	شاهد	۱۰	۱۴۹/۲	۹/۵	۰,۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۲۴۱/۳	۸/۵	
M.C.H	Pg	شاهد	۱۰	۳۶/۹	۳/۰۳	۰,۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۴۷/۷	۱/۳۲	
M.C.H.C	%	شاهد	۱۰	۲۳	۰/۸۲	۰,۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۱۹/۷	۰/۹۵	
R.B.C	mm <sup>3</sup> x10 <sup>4</sup>	شاهد	۱۰	۲۴۴/۸	۴/۴۲	۰,۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۱۱۹/۹	۷/۹۲	
P.C.V	%	شاهد	۱۰	۲۱/۳	۱/۱۶	۰,۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۲۴/۳	۱/۱۶	
Hb	gr/dl	شاهد	۱۰	۵	۰/۲۵	۰,۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۴/۴۱	۰/۱۷	

با توجه به مقادیر مندرج در جدول ۲ شاخص‌های خونی میانگین غلظت هموگلوبین گویچه‌ها، هموگلوبین اریتروسیت در گروه آزمایشی کاهش معنی‌داری (p<۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد مشاهده می‌شود.

نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون در گروه‌های شاهد و آزمایشی ماهیان ازون‌برون مورد مطالعه طی جدول ۴ نشان داده شده است. براساس مقادیر مندرج در جدول ۴ پروتئین کل و گلوکز خون در گروه آزمایشی از کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد برخوردار می‌باشند (p<۰/۰۵).

با توجه به مقادیر مندرج در جدول ۲ شاخص‌های خونی میانگین غلظت هموگلوبین گویچه‌ها، هموگلوبین اریتروسیت در گروه آزمایشی کاهش معنی‌داری (p<۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد داشته است و همچنین میزان هماتوکریت، میانگین هموگلوبین گویچه، میانگین حجم گویچه‌ها در گروه آزمایشی از افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد (p<۰/۰۵) برخوردار می‌باشد.

نتایج شمارش تفریقی هر دو گروه شاهد و آزمایشی ماهی ازون‌برون مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است. بطوری که مقادیر گلبول سفید خون، لنفوسیت در گروه آزمایشی از کاهش معنی‌داری برخوردار می‌باشند

## بحث

در طی ۹۶ ساعت آزمایش مسمومیت با سم دیازینون هیچگونه تلفاتی در ماهیان گروه شاهد مشاهده نگردید (جدول ۱). براساس میزان محاسباتی LC<sub>50</sub> در مدت ۹۶ ساعت، دیازنون تجارتي ماکسیدال ای سی-۶۰۰ با غلظت ۷/۷ میلی گرم بر لیتر را می توان یک ماده سمی، در گروه مواد مضر و کشنده برای ازون برون طبقه بندی نمود. LC<sub>50</sub> در طی ۹۶ ساعت ماکسیدال ای سی-۶۰۰، ۷/۷ میلی گرم در لیتر در ازون برون محتوی ۴/۹۸ میلی گرم در لیتر دیازینون می باشد. این مقدار (LC<sub>50</sub> دیازینون در ۹۶ ساعت) برای ماهیان شپ (Acipenser mudventris)، ۴/۶ میلی گرم در لیتر گزارش شده است. (رستمی و

سلطانی، ۱۳۸۱). با توجه به مقادیر محاسباتی LC<sub>50</sub>، ماهی شپ و ازون برون می توان چنین نتیجه گیری نمود که ازون برون (*A. stellatus*) در مقایسه با ماهی شپ نسبت به سم دیازینون مقاوم تر است.

رفتارهای غیرطبیعی مشاهده شده در ماهیان در معرض سمیت حاد دیازینون قرار گرفته، نظیر بی تابی شدید، اضطراب به صورت افزایش عکس العمل در مقابل محرک های بیرونی، از دست دادن توانایی جهت یابی در آب، شنای نیم دایره ای، تیرگی سطح بدن و ... با علائم اشاره شده در گزارش های (هوکو و همکاران، ۱۹۹۳؛ لاولی، ۱۹۹۸؛ اسوبودا و همکاران، ۲۰۰۱؛ رحمان و همکاران، ۲۰۰۲) مشابه می باشد.

جدول ۳- شمارش تفریخی لکوسیت در ازون برون در معرض سم دیازینون با LC<sub>50</sub> در ۹۶ ساعت در گروه های شاهد و آزمایشی.

شاخص	واحد	تیمار	تعداد	میانگین	انحراف معیار	واریانس	احتمالات
گلبول سفید	بر میلی متر مکعب	شاهد	۱۰	۹۱۵۰	۵۷۵٫۹	۳۳۱۶۶۶٫۷	۰٫۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۵۷۷۰	۱۰۲۴	۱۰۴۹۰۰۰	
لنفوسیت	٪	شاهد	۱۰	۶۷٫۱	۱٫۲	۱٫۴۳	۰٫۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۵۶٫۱	۱٫۲	۱٫۴۳	
نوتروفیل	٪	شاهد	۱۰	۲۷٫۳۵	۱٫۴۵	۲٫۱۱	۰٫۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۳۴٫۳	۱٫۱۶	۱٫۳۴	
اٹوزینوفیل	٪	شاهد	۱۰	۱٫۷۵	۰٫۴۲	۰٫۱۸	۰٫۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۵٫۷۵	۰٫۵۴	۰٫۲۹	
مونوسیت	٪	شاهد	۱۰	۰	۰	۰	۰٫۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۲٫۵۵	۰٫۵۵	۱٫۸۵	
لوکوسیت	٪	شاهد	۱۰	۰٫۸۳	$۸٫۲۳E^{-2}$	$۶٫۷۷۸E^{-2}$	۰٫۰۰۰**
		آزمایشی	۱۰	۱٫۸۵	۱٫۸۵	$۴٫۵E^{-2}$	

جدول ۴- شاخص های بیوشیمیایی خون ماهیان ازون برون جوان در معرض سم دیازینون با LC<sub>50</sub> در ۹۶ ساعت در دو گروه شاهد و آزمایشی.

شاخص ها	واحد	گروه	تعداد	میانگین	انحراف معیار	احتمالات
پروتئین کل	gr/dl	شاهد	۱۰	۰/۳۲	۰/۰۷۴	**۰٫۰۰۰
		آزمایشی	۱۰	۱/۷۳	۰/۱۵	
گلوکز	gr/dl	شاهد	۱۰	۲۳	۱/۳۳	**۰٫۰۰۰
		آزمایشی	۱۰	۲۷/۹	۵/۲۲	

پاسخ‌های عمده هماتولوژیکی ماهیان ازون برون جوان به سمیت دیازینون در غلظت ۴/۹۸ میلی‌گرم در لیتر را می‌توان بصورت کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) تعداد گلبول قرمز، میزان هماتوکریت، هموگلوبین، میانگین حجم گویچه‌ها و میانگین هموگلوبین گویچه‌ها در مقایسه با گروه شاهد ذکر نمود. کاهش مقادیر گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهی‌کپور (*Cyprinus carpio*) و چانا پانکتاتوس (*Channa punctatus*) بعد از مسمومیت حاد دیازینون گزارش شده است (آنیز، ۱۹۷۸؛ اسوبودوا و همکاران، ۲۰۰۱). آزمایش‌های مشابهی که قبلاً با استفاده از آفت‌کش‌های ارگانوفسفره بر روی دیگر ماهیان انجام گرفته این تغییرات را تأیید می‌نماید (اسوبودوا، ۱۹۷۱ و ۱۹۷۵). در شمارش تفریقی لکوسیت ماهیان ازون‌برون در معرض سمیت حاد دیازینون کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) لنفوسیت و افزایش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) نوتروفیلها مشاهده گردید. همچنین این تغییرات در ماهیان شیپیی که در معرض سمیت حاد دیازینون قرار گرفته‌اند گزارش شده است (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۱). در سمیت حاد دیازینون کاهش میزان لکوسیت، لنفوسیت و افزایش نوتروفیل در کپور معمولی توسط (اسوبودوا و همکاران، ۲۰۰۱) گزارش شده است. کاهش ایمنی غیراختصاصی می‌تواند ناشی از کاهش تعداد لکوسیت، لنفوسیت و افزایش نوتروفیل ماهیانی که در معرض سمیت حاد آفت‌کش‌ها قرار می‌گیرند باشد. محققین زیادی نیز کاهش لنفوسیت و افزایش گرانولوسیت خون ماهیانی را که در معرض سمیت حاد آلاینده‌ها قرار می‌گیرند گزارش نموده‌اند (ولاسو، ۱۹۸۵؛ مورا و هاتسون، ۱۹۸۸؛ سیویکی و همکاران، ۱۹۹۰؛ شوالگر و همکاران، ۱۹۹۳؛ تاکور و ساهایی، ۱۹۹۳؛ قوش و بانرجی، ۱۹۹۳؛ آکاهم، ۱۹۹۴؛ ناس و بانرجی، ۱۹۹۶؛ اسوبودوا و همکاران، ۱۹۹۶).

کاهش در میزان لکوسیت دال بر کاهش ایمنی غیراختصاصی در ماهیانی است که در معرض سمیت حاد قرار می‌گیرند. تغییرات عمده فاکتورهای بیوشیمیایی

خون ماهیان ازون‌برون به دنبال مسمومیت حاد با دیازینون شامل کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ). پروتئین کل و افزایش معنی‌دار گلوکز در پلاسما خون می‌باشد. همچنین افزایش معنی‌دار مقدار گلوکز خون در مارماهی اروپایی که در معرض غلظت حد کشندگی دیازینون قرار گرفته بود گزارش گردیده است (سرون و همکاران، ۱۹۹۷). کاهش معنی‌دار غلظت پروتئین پلاسما خون کپور ماهیان در معرض سمیت حاد دیازینون گزارش شده است (لوسکووا و همکاران، ۲۰۰۲). اکثر پروتئین‌ها در کبد سنتز می‌شوند و کاهش پروتئین در پلاسما خون را می‌توان به نقص کبد ماهیانی که در مجاورت آفت‌کش‌ها قرار می‌گیرند ارتباط داد. کاهش یونهای فسفر و لاکتات پلاسما و کاهش فعالیت آنزیم لاکتات دی هیدروژناز (LDH)<sup>۱</sup>، به‌عنوان محصول و فعال‌کننده متابولیسم گلوکز، نشان‌دهنده کاهش شدت این پروسه در گروه آزمون تحت تأثیر اثرات دیازینون می‌باشد و این فرضیه با افزایش غلظت گلوکز در پلاسما خون تأیید می‌گردد (لوسکووا و همکاران، ۲۰۰۲).

با توجه به مقادیر فاکتورهای خون شناختی و بیوشیمیایی ماهی ازون‌برون، متعاقب مسمومیت حاد با سم دیازینون که امروزه به‌عنوان آفت‌کش در مقیاس وسیع در شالیزارهای زمین‌های ساحلی دریای خزر مورد استفاده قرار می‌گیرد، موجب اثرات مخرب روی سیستم ایمنی ماهیان خاویاری بویژه ماهی ازون‌برون می‌گردد. لذا مطالعات پایشی مقادیر این سم با ترکیبات فسفر آلی در رودخانه‌های منتهی به دریای خزر با توجه به اهمیت حفظ ذخایر ماهیان خاویاری بیش از پیش ضرورت می‌یابد.

## منابع

۱. پروانه، و. ۱۳۷۱. کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی، انتشارات دانشگاه تهران، ۳۲۵ ص.
۲. رستمی و سلطانی، ۱۳۸۱. تأثیر سم دیازینون بر روی شاخص‌های هماتولوژیکی ماهی شیپ (*A. nudiventris*) و تعیین LC ۵۰ آن. دومین همایش ملی ماهیان خاویاری.
3. Alam, M.K., and Maughan, O.E. 1992. The effect of malathion diazinon and various concentrations of Zinc, Copper, Nikel, Lead, and Mercury on fish Biol.Trace Elem. Res . 34: 225-236.
4. Alkahan, H.F. 1994. The toxicity of nickel and the effects of sublethal levels on haematological parameters and behaviour of the fish ,*oreochromis niloticus*. J. univ . kuwait Sea. 211 243-252.
5. Anees, M. 1978. Haematological abnormalities in a freshwater teleost, *Channa punctatus* , (Bloch), exposed to sublethal and chronic levels of three organophosphorus insecticides. Int. J. Ecol. Environ. Sci, 4: 53-60.
6. Ceron, J., Sancho, J., and Fernando, E. 1997. Changes in carbohydrate metabolism in the Ell (*Anguilla anguilla*) during short-term exposure to diazinon ,.Toxicological and Environmental chemistry. Vol.60,no,1-4,pp.201-210.
7. Dutta, H., Richmond, C.R., and Zento, T. 1993. Effects of Diazinon on the gills of bluegill sun fish , *Lepomise macrochirus* , J. Environ.Ecol. 11: 979-981.
8. Edsall, C.C. 1999. A blood chemistry profile for lake trout.J.Aq.Animal Health 11:81-86.
9. Ghosh, K., and Banerjee, V. 1993. Alteration in blood parameters in the fish *Heteropneustes fossilis* exposed to dimethoate. Environ. Ecol.11:979-981.
10. Goodman, L.R., Hansen, J., Coppage, D.L., Moore, J.C., and Matthews, E. 1979. Diazinon: chronic toxicity and brain acetylcholinesterase inhibition in the sheepshead minnow, *Cyprinodon variegatus*. Trans. Am. Fish. Soc. 108 : 479-488.
11. Hoque, M.M., Mirja, M.J.A., and Miah, M.S. 1993. Toxicity of Diazinon and Sumithion to *puntius gonionotus*. Bangladesh J. Tran. Dev. 6(1) :19-26.
12. Lovely, F. 1998. Toxicity of three commonly used organophosphorus insecticides to Thai sharputi (*Barbodes gonionotus*) and african catfish (*Clarias gariepinus*) fry. Department of Fisheries Biology and Genetics. Bangladesh Agricultural University, Mymensingh, Bangladesh. 83p. M.S. thesis.
13. Luskova, V., Svoboda, M., and Kolarova, J. 2002. The effect of Diazinon on blood plasma biochemistry in Carp(*Cyprinus carpio*.L) .Acta Vet.Brno, 71:117-123.
14. Mansingh, A., and Wilson, A. 1995. Insecticide contamination of Jamaican environment. 3. Baseline studies on the status of insecticidal pollution of Kingston Harbour. Mar. pollut. Bull. 30: 640-643.
15. Montz, E., Jr. 1983. Effects of organophosphate insecticides on aspects of reproduction and survival in small mammal . Ph.D. thesis . Virginia Polytech. State Univ. , Blacsuburg.179 pp.
16. Murad, A., and Houston, A.H. 1988. Leucocytes and leucopoictic capacity in goldfish, *Carassius auratus*, exposed to sublethal levels of cadmium. Aquat. Toxicol. 13:141-154.
17. Nath, R., and Banerjee, V. 1996. Effect of pesticides methylparathion and cypermerthin on the air-breathing fish (*Heteropneustes fissilis*). Environ. Ecol. 14: 163-165.
18. Rahman, M.Z., Hossain, Z., Mollah, M.F.A., Ahmed, U.G. 2002. Effect of Diazinon 60 EC On *Anabas testudineus*, *Channa punctatus* and *Barbodes gonionotus*, Naga,The iclarm quarterly, Vol.25, No. 2:8-12.
19. Sastry, K.V., and Sharma, K. 1980. Diazinon effect on the activities of brain enzymes from *Opiocephalus punctatus* (Channa). Bull. Environ. Contaim.Toxicol. 50: 578-585.
20. Schwalger, J., Hoffmann, R., and Negele, R.D. 1993. Haematology in evaluation of experimental Hydrobiology Vodnany, Cech Republic, litomysl, pp. 155-160.
21. Siwicki, A.K., Cossarini-Dunier, M., and Demael, A. 1990. In vivo effect of the organophosphorus insecticide trichlorphon on immune response of Carp(*Cyprinus carpio*).II. Effect of high doses of tricholorphon on nonspecific immune response. Ecotox.Environ.Saf. 19:99-105.
22. Svobodova, Z. 1971. Some haematological and metabolic changes in fish occurring after pesticide intoxication. Bull. VUR Vodnany. 7: 29-36.

23. Svobodova, Z. 1975. Changes in the blood picture of the carp intoxicated with organophosphate pesticides. *Acta Vet. Brno* 44: 49-52.
24. Svobodova, Z., Machova, J., Kolarova, J., Vykusova, B., and Piacka, V. 1996. The effect of selected negative factors on haematological parameters of common carp, *Cyprinus carpio*, and tench, *Tinca tinca* L. proc. sci. paper to the 75th Anniversary of Foundation of the Rifeh vodnany, pp: 95-105.
25. Svoboda, M., Luskova, V., Drastichova, J., and Zlabek, V. 2001. The effect of Diazinon on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*). *Acta Vet Brno*. 70:457-465.
26. Thakur, N., and Sahai, S. 1993. Differential leucocyte Counts of some fishes during malathion intoxication, *Environ. Ecol.* 11: 875- 878.
27. Tsuda, T., Inoue, T., Kojima, M., Aoki, S. 1996. Pesticides in water and fish from rivers flowing into lake Biva. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57:442-449.
28. Van-Der Geest, H.G., Stuijzand, S.C., Kraak, M.H.S., Admiraal, W. 1997. Impact of diazinon calamity in 1996 on the aquatic macroinvertebrates in the river Mesue, The Netherlands. *Neth. J. Aquat. Ecol.* 30: 327-330.
29. Wlasow, T. 1985. The leukocyte system in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich., affected by prolonged subacute phenol intoxication. *Acta Ichthyol.* 15: 83-94.



---

## **Effects of Diazinon on the hematological profiles of *Acipenser stellatus* and determination of LC50**

**<sup>1</sup>H. A. Khoshbavar Rostami, <sup>2</sup>M. Soltani and <sup>3</sup>S. Yelghi**

<sup>1</sup>Ecological Academy of the Caspian sea, Fish disease Dept, Sari, <sup>2</sup>Faculty of veterinary medicine, University of Tehran, <sup>3</sup>Golestan Fisheries Research Center, Gorgan, Iran

---

---

### **Abstract**

180 specimens of juveniles of stellate sturgeon *Acipenser stellatus* with average body weight of 7±1gr in six groups (5 experimental & 1 control groups) were examined at Ecological Institute of Caspian sea. After determination of lethal concentration (3.7 mg/L) fish exposed to 3, 4, 5, 6 and 7 mg/L of diazinon. The LC50, 96 hr of diazinon for *Acipenser stellatus* calculated as 4.98 mg/L. Specimens showed abnormal behavior such as severe stress, spasm of muscles around the mouth, semicircular swimming and disruption of breath activities. To study the hematological parameters, blood were taken from the fish and values of RBC, PCV, Hb, MCV, MCH and MCHC in experimental and control groups showed significant differences ( $P < 0.05$ ). Results from differential counts of leucocytes and lymphocytes of the groups showed significant differences ( $P < 0.05$ ). In the biochemical values of total protein and glucose of blood serum of examined groups showed significant differences ( $P < 0.05$ ). During the study, DO, PH, water hardness, NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, EC, PO<sub>4</sub> and water temperature were also recorded daily.

**Keywords:** Biochemical and Hematological Profiles; Diazinon; LC50; Stellate Sturgeon