

تأثیر حشره کش دیازینون و علف کش بوتاکلر بر بافت کبد و آبشش بچه ماهی سیاه کولی (*Vimba vimba persa*)

- حسین پاشایی چلکاسری (نویسنده مسئول)
دانش آموختگان کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان
- مسعود فرخ روز
گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان
- عباسعلی زمینی
گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان
- حبیب وهاب زاده
گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان
- یاور ابراهیمیان
دانش آموختگان کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان
تاریخ دریافت: اردیبهشت ماه ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۹۲

Email: hossein_pashaei@yahoo.com

چکیده

ابتدا به منظور تعیین سمیت حاد حشره کش دیازینون و علف کش ماچتی، آزمایشات تعیین سمیت حاد ($LC_{50.96h}$) براساس روش استاندارد (O.E.C.D (1989) به صورت ساکن و به مدت ۹۶ ساعت انجام شد و میزان سمیت حاد ($LC_{50.96h}$) دیازینون و بوتاکلر بر روی بچه ماهیان ۱ تا ۲ گرمی سیاه کولی به ترتیب ۰/۰۹ و ۰/۶۱ میلی گرم در لیتر تعیین گردید. برای انجام مطالعات بافت‌شناسی حشره کش دیازینون و علف کش بوتاکلر بر روی بافت کبد و آبشش بچه ماهیان سیاه کولی ماهیان با میانگین وزن ۲ گرم در معرض غلظت کمتر از $LC_{50.96h}$ (۰/۰۶ و ۰/۴۵ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای تیمار دیازینون و تیمار بوتاکلر) به مدت یک هفته قرار گرفتند. نمونه برداری از بافت‌های کبد و آبشش تیمارهای در معرض سم و تیمار شاهد انجام گرفت. از نظر آسیب‌شناسی بافتی نکروز و پرخونی در بافت کبد و نکروز و هیپرپلازی در بافت آبشش تیمارهای دیازینون مشاهده شد. همچنین در تیمارهایی که در معرض سم بوتاکلر قرار گرفته بودند نیز پرخونی و آتروفی در بافت کبد و هیپرپلازی، چسبندگی و عریض شدن لاملاهای ثانویه در بافت آبشش تیمارهای بوتاکلر مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: حشره کش، علف کش، دیازینون، بوتاکلر، بافت‌شناسی، سیاه کولی، $LC_{50.96h}$

● Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 104 pp: 38-42

The Affection of Diazinon Insecticide and Butachlor Herbicide on the *Vimba vimba persa* free larva liver tissue and gill

Pashaei Chalkasari H., (Corresponding Author), Graduated from Islamin Azad University, Lahijan Branch

Farrokh Rooz M., Dept. of Fisheries, Islamin Azad University, Lahijan Branch

Zamini A., Dept. of Fisheries, Islamin Azad University, Lahijan Branch

Vahhabzadeh H., Dept. of Fisheries, Islamin Azad University, Lahijan Branch

Ebrahimian Y., Graduated from Islamin Azad University, Lahijan Branch

Received: July 2013 Accepted: December 2013

At first, in order to define acute toxicity of Diazinon insecticide and Butachlor herbicide, acute toxicity tests (*Lc5096h*) were done, based on standard method (1989) O.E.C.D. in static way and for 96 hours. And the amount of acute toxicity (*Lc5096h*) of Diazinon and Butachlor in 1 to 2 gram *Vimba vimba persa* fry larva was determined to be 0.09 and 0.61 respectively. In order to do histology studies of Diazinon insecticide and Butachlor herbicide on the *Vimba vimba persa* fry larva liver tissue and gill, those fish weight less than 2 grams were exposed to density less than *Lc5096h* (0.06 and 0.45 mgr./l for treating Diazinon and Butachlor respectively) for one week. Samples were taken from liver tissue and gill of those treats which were exposed to toxicant and those which were testifier. According to tissue pathology, Necrosis and hyperemia in liver tissue and treat which were exposed to Butachlor toxicity, hyperemia and atrophy in liver tissue and hyperplasia, adhesion and widening of secondary lamellas in the gill tissue of Butachlor treats were seen.

□ **Keywords:** Insecticide; Herbicide; Diazinon; Butachlor; Histopathology; *Vimba vimba persa*; *Lc5096h*

مقدمه

اکوسیستمهای آبی که از مناطق کشاورزی عبور می کنند، به احتمال خیلی زیاد توسط ضایعات و آبهای زیرزمینی شسته شده بوسیله انواع مواد شیمیایی آلوده می شوند. آفت کشهای بسیار مفید بطور گسترده مورد استفاده قرار می گیرند که به هنگام ورود به محیط زیست آبی تغییرات متعددی از طریق تغییر میزان رشد، مقدار مواد غذایی مشخصه رفتاری و غیره در جاندار ایجاد می کنند. بخش مهمی از مواد غذایی جهان از منبع ماهی تامین می گردد، بنابراین حفظ سلامتی ماهیان ضروری است (Ramesh et al, 2008). ماهیان مهمترین موجودات آبی می باشند که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در برابر آلاینده ها از اهمیت خاصی برخوردار بوده و به همین دلیل جهت انجام آزمایشات زیست سنجی در بعد وسیعی از آنها استفاده می گردد (شریعتی، ۱۳۸۰).

باید اذعان نمود که در بعضی موارد آفت کشها اثرات مخرب تری روی موجودات غیر هدف (مانند آبزیان) نسبت به موجودات هدف (آفات) داشته که این به علت حساسیت بالاتر مرگ و میر سریعتر و بیشتر آبزیان می باشد. در سواحل جنوبی دریای خزر عمده رودخانه های مهاجر پذیر شامل سفیدرود، گرگانرود، پلرود، تجن و شفاورد می باشند که این رودخانه ها به دلیل مجاورت با مزارع بسیار وسیع کشاورزی اعم از شالیزار، گندمزار، مرکبات و باغهای چای، هر ساله مقادیر بیسار زیادی از باقیمانده سموم مختلف کشاورزی را به دریای خزر منتقل می کنند. این سموم از طریق تغییر در کیفیت آب باعث مرگ بچه ماهیان و حتی ماهیان بزرگتر می گردند (محمدنژاد شמושکی و شاهکار، ۱۳۸۸).

جنس سیاه کولی (*Vimba*) متعلق به خانواده کپ. ماهیان بوده که در

نیکره شمالی زیست می نماید و دادای دو گونه و چندین زیر گونه می باشد (Ublein & Winckler ۱۹۹۴). ماهی سیاه کولی (*Vimba vimba persa*) به عنوان یکی از گونه های مهاجر و با ارزش دریای خزر می باشد که طبق طبقه بندی IUCN از گونه های در معرض تهدید بوده و ذخایر آن در سالهای اخیر در دریای خزر کاهش محسوسی داشته است (۱۹۹۹) (Kiabi and Abdoli). تا کنون مطالعات کمی روی سیاه کولی دریای خزر صورت گرفته است (Berg, ۱۹۴۹). در حال حاضر سیاه کولی دریای خزر یک گونه نیازمند به حفاظت بوده (Abdoli and Naderi, ۲۰۰۹) و در سایر نقاط یک گونه آسیب پذیر در معرض خطر بر حسب حوزه آبی می باشد (Lusk et al, ۲۰۰۴).

مواد و روش کار

دiazinon ماده ای است که از نظر حشره کشی دادای طیف وسیعی است. از مصارف دیگر آن کنترل سوسکها و خصوصا انواعی که به حشره کشهای کلره مقاومند، می باشد. حشره کش غیر سیستمیک بوده و دارای خاصیت کنه کشی است. در کشاورزی در آفات برنج، میوه، نیشکر و گیاهان زینتی و غیره مصرف می شود. حد آستانه مجاز diazinon در سال ۱۹۹۱ به مقدار ۰/۱ میلی گرم در یک متر مکعب هوا تعیین شده است. حد قابل تحمل آن را در ۰/۷۵ قسمت در میلیون تعدادی از محصولات برای تعدادی از سبزیها تعیین کرده اند (ثنایی، ۱۳۷۵).

ماجتی (بوتاکلر) جهت مبارزه با علفهای هرز یکساله کشیده برگ و بعضی پهن برگها در زراعت برنج، قبل از رویش در مزرعه و خزانه استفاده می گردد. اثر این سم به میزان آبی که در دسترس گیاه می باشد بستگی دارد (نوروزیان، ۱۳۷۸).

بچه ماهیان سیاه کولی محاسبه شد. بافت‌های کبد و آبشش ماهیانی که در معرض سم دیازینون (Diazinon) و بوتاکلر (Butachlor) قرار گرفته بودند مورد مطالعات آسیب‌شناسی قرار گرفتند که نتایج این بررسی‌ها به شرح زیر می‌باشد:

در کبد ماهیانی که در معرض غلظت سم حشره‌کش معرض سم دیازینون (Diazinon) قرار گرفته بودند نکروز و پرخونی مشاهده گردید (عکس شماره ۲) و همچنین کبد ماهیانی که در معرض سم بوتاکلر (Butachlor) قرار گرفته بودند نیز علائم پرخونی و آتروفی دیده شد (عکس شماره ۳).

در آبشش ماهیان قرار گرفته در معرض دیازینون (Diazinon) نیز نکروز و هیپرپلازی مشاهده شد (عکس شماره ۵) و آبشش ماهیان سیاه کولی که در معرض غلظت سم بوتاکلر (Butachlor) قرار گرفته بودند علائمی نظیر هیپرپلازی، چسبندگی و عریض شدن لاملاهای ثانویه رویت گردید (عکس شماره ۶).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیقات نشان داد که میزان سمیت حاد (LC_{50}) حشره‌کش دیازینون و بوتاکلر به ترتیب $0/09$ و $0/61$ میلی‌گرم در لیتر برای بچه‌ماهیان ۱ تا ۲ گرمی سیاه کولی می‌باشد.

در سایر تحقیقات انجام شده بر روی ماهیان در ایران تا کنون هیچ مطالعه‌ای بر روی این سم روی این ماهی انجام نگرفته است اما LC_{50} این سم بر روی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) برابر $12/81$ میلی‌گرم در لیتر تعیین شده است (محمدنژاد، ۱۳۸۸).

در سال ۱۹۸۸، LC_{50} Chakrabarty and Banerjee، سم Phorate (Thimet) گرانول ۱۰ درصد بر روی ماهی *Channapunctata* را $0/2$ میلی‌گرم در لیتر و LC_{50} سم دیازینون گرانول ۵ درصد بر روی ماهی فوق را ۵ میلی‌گرم در لیتر محاسبه کردند.

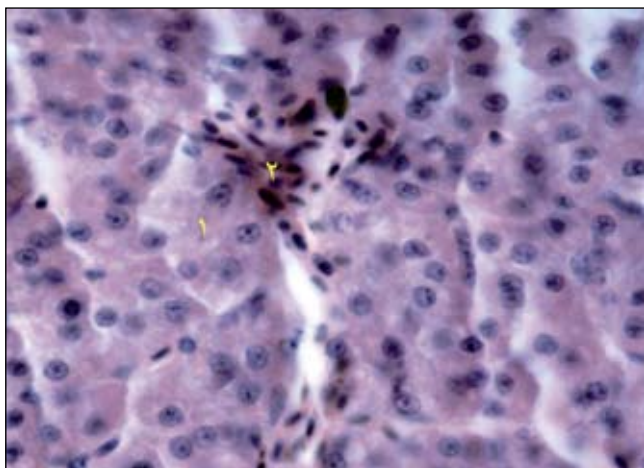
در سال ۱۹۹۰، Keizeretal، LC_{50} سم دیازینون بر روی ماهی گوپی (Guppy) را $0/8$ ppm محاسبه نمودند. سم دیازینون و بوتاکلر بر

بچه ماهیان سیاه کولی جهت آداپته شدن با شرایط محیط به مدت یک هفته نگهداری و مورد تغذیه قرار گرفتند. پارامترهای مؤثر فیزیکی و شیمیایی آب نظیر pH ($7-8/2$)، اکسیژن محلول (بیش از ۷ ppm)، دما (25 ± 1 c) و سختی کل (3240 mg/lit caco) تحت کنترل بودند، سپس جهت انجام آزمایشات تعیین سمیت حاد، بچه‌ماهیان سیاه کولی به درون آکواریومی به حجم ۲۰ لیتر آب رهاسازی شدند (در هر آکواریوم ۱۰ قطعه بچه‌ماهی ۱ تا ۲ گرمی). آزمایشات به صورت ساکن (Static) و براساس روش استاندارد O.E.C.D TRC (۱۹۸۴) به منظور تعیین این سموم بر روی بچه‌ماهیان با تیمار و تکرارهای مختلف در نظر گرفته شدند که براساس محاسبات لگاریتمی و تکرار مجدد آزمایشات تیمارهای نهایی برای هر سم ۵ تیمار و یک شاهد به دست آمدند. در نهایت آزمایش نهایی بر طبق این تیمارها و با سه تکرار به انجام رسید. در طول آزمایش حرکات و رفتار ماهیان مورد ارزیابی قرار گرفت، سپس با استفاده از روش آماری Prohibit Analysis میزان LC_{10} ، LC_{50} و LC_{90} نیز برای حشره‌کش دیازینون و علف‌کش بوتاکلر تعیین گردید. در نهایت میزان حداکثر غلظت مجاز (میزان LC_{50}) تقسیم بر ۱۰ و درجه سمیت مشخص شدند (1989 , O.E.C.D).

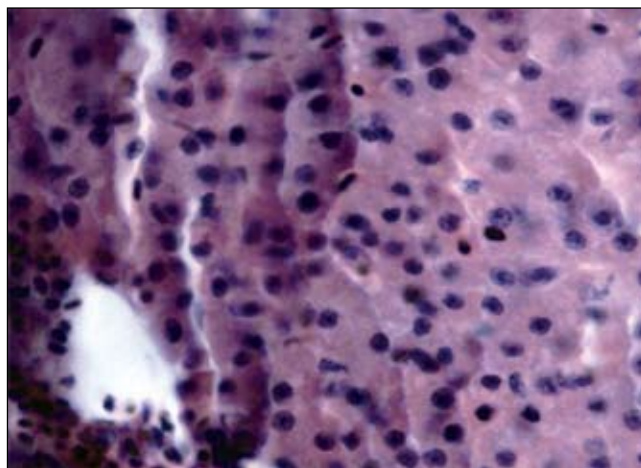
برای انجام مطالعات بافت‌شناسی حشره‌کش دیازینون و علف‌کش بوتاکلر بر روی بافت کبد و آبشش بچه ماهیان سیاه کولی ماعیان با میانگین وزن ۲ گرم در معرض غلظت کمتر از LC_{50} ($0/06$ و $0/45$ میلی‌گرم در لیتر) به ترتیب برای تیمار دیازینون و تیمار بوتاکلر) به مدت یک هفته قرار گرفتند. نمونه‌برداری از بافت‌های کبد و آبشش تیمارهای در معرض سم و تیمار شاهد انجام گرفت و پس از تثبیت شدن مقاطع بافتی تهیه گردید و به وسیله میکروسکوپ مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج

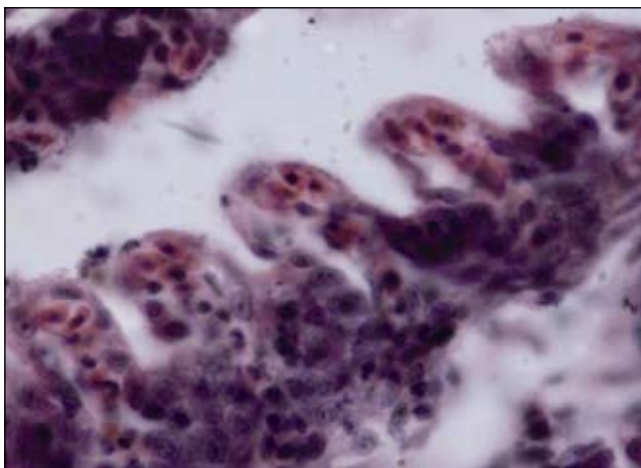
بر اساس آزمایش‌های انجام گرفته و بر طبق روش آماری Probit LC_{50} سم دیازینون (Diazinon) $0/09$ میلی‌گرم در لیتر و برای علف‌کش بوتاکلر (Butachlor) $0/61$ میلی‌گرم در لیتر برای



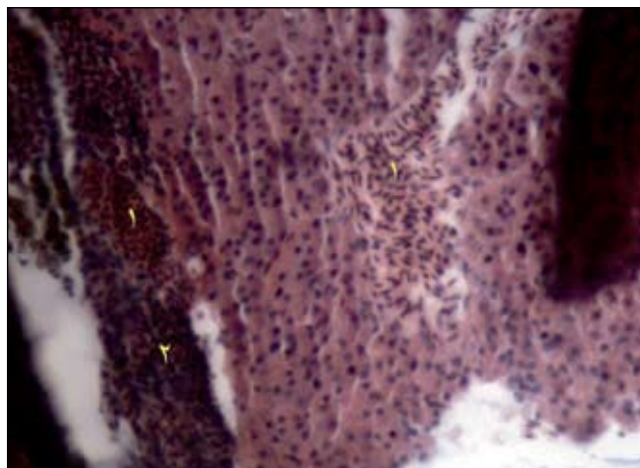
عکس شماره ۲- بافت کبد ماهیانی که در معرض سم دیازینون قرار گرفتند (نکروز سلولی (۱) و پرخونی (۲) در کبد سیاه کولی (H & E, X100))



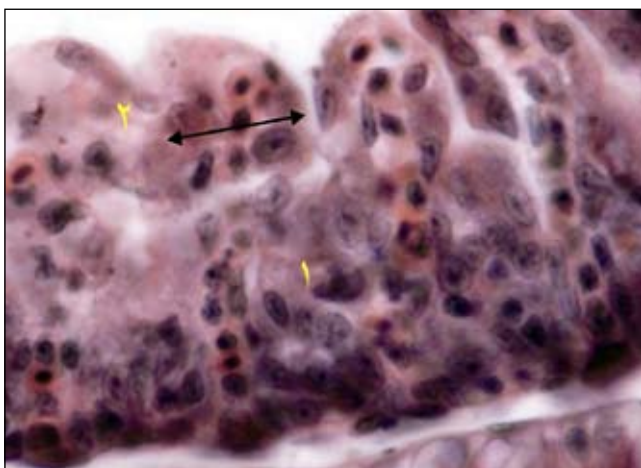
عکس شماره ۱- بافت کبد ماهیان کنترل (H & E, X100)



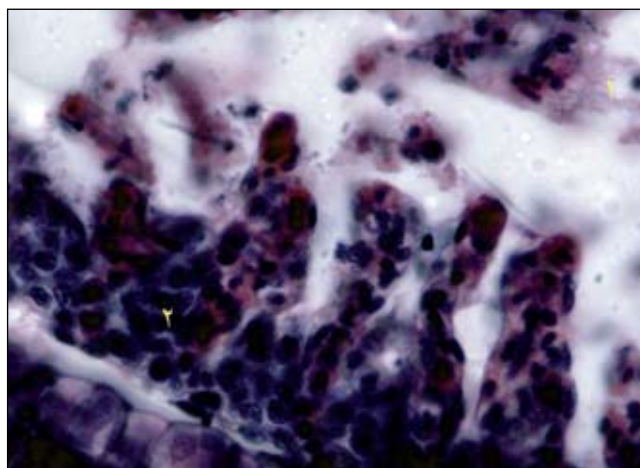
عکس شماره ۴- بافت آبشش ماهیان کنترل (H & E, 100X)



عکس شماره ۲- بافت کبد ماهیانی که در معرض سم بوتاکلر قرار گرفتند (پرخونی) و آتروفی (۲) در کبد سیاه کولی (H & E, 40X)



عکس شماره ۶- بافت آبشش ماهیانی که در معرض سم بوتاکلر قرار گرفتند (هیپرپلازی (۱)، چسبندگی (۲) و عریض شدن لاملای ثانویه (پیکان) در آبشش سیاه کولی (H & E, 100X)



عکس شماره ۵- بافت آبشش ماهیانی که در معرض سم دیازینون قرار گرفتند (نکروز) (۱) و هیپرپلازی (۲) در آبشش سیاه کولی (H & E, 100X)

(Wasserweschadstoff-katalog ۱۹۷۵).

منابع مورد استفاده

- ۱= ثنائی، غ.ح.، ۱۳۷۵، سم شناسی صنعتی. (جدول اول)، انتشارات دانشگاه تهران. ص ۲۴۷-۱۷۳.
- ۲- شریعتی، ف.، ۱۳۷۰. تعیین LC₅₀ فنل و ۱-نفтол و قارچ کش هینوزان بر روی بچه ماهیان سیم، سفید و کپور نقره‌ای. دانشگاه آزاد اسلامی تهران شمال. صفحات ۱۲-۱۰ و ۴۸-۴۴.
- ۳- محمدنژاد شמושکی، م.، شاهکار، ع.، ۱۳۸۸، تعیین غلظت کشنده (LC₅₀ ۹۶h) حشره کش کلرپیریفوس و دیازینون بر روی بچه ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*)، مجله علمی شیلات، سال سوم، شماره چهارم، ص ۷.
- ۴- محمدنژاد شמושکی، م.، ۱۳۸۴. تعیین غلظت کشنده (LC₅₀ ۹۶h) فلزات سنگین سرب روی، کادمیم و سموم کشاورزی دیازینون، هینوزان و تیلت بر روی

روی اندام‌های حیاتی آبشش و کبد عوارضی نظیر پرخونی، هیپرپلازی، چسبندگی، نکروز، آتروفی و عریض شدن لاملاهای ایجاد نمودند که بعضی از این عوارض نظیر نکروز و آتروفی، تخریب بافتی است که در پی تاثیر سم بر روی سلولهای اندامهای فوق‌الذکر بوجود می‌آید. Fanta و همکاران در سال ۲۰۰۳ بیان کردند که در بررسی تغییرات بافتی ماهی (*Corydoras paleatus*) در معرض سم متیل پاراتیون لاملاهای آبششی در بخش اپیتلیال دچار هیپرپلازی (پریاختگی)، ادم و جدا شدن لایه پایه آبششی شده‌اند، همچنین در ماهیانی که از غذاهای مسموم با این سم تغذیه کرده بودند، تورم کبد، نکروز در نقاط مختلف کبد مشاهده شد. در یک نتیجه‌گیری کلی براساس نتایج این تحقیق و سایر مطالعات انجام گرفته در خصوص تاثیر سم دیازینون و بوتاکلر بر بچه‌ماهیان سیاه کولی می‌توان اظهار داشت که این سم برای این دسته از آبزیان سمی بوده و در طبقه‌بندی سموم جزء سموم با درجه سمیت زیاد طبقه‌بندی می‌شوند

بچه ماهی خاویاری شیپ. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. صفحات ۱ تا ۴.

۵- نوروزیان، م. ۱۳۷۸. فهرست سموم مجاز کشور. انتشارات سازمان حفظ نباتات، صفحه ۲۳۳

6. Abdoli, A., Naderi, M., 2009. Biodiversity of the fishes of the southern basin of Caspian Sea. Abzian Publication, Tehran. 237 pp.

7. Ansari, B.A.M. and Aslam Kumar, K., 1987. Diazinon toxicity: Activities of acetylcholinesterase and Phosphatase in the nervous tissue of zebra fish, *B. rerio* (Cyprinidae).

8. Berg, L.S. 1949. Freshwater fishes of the U.S.S.R. and adjacent countries. Trady institute Acad, U.S.S.R. (Translated to English in 1962). 2: 469p.

9. Chakabarty p., Banergee V., 1988. Effect of sublethal toxicity of three organophosphorus pesticides on the peripheral hemogram of the fish *channapunctatus*. Environment and Ecology. pp 151-158.

10. Fanta, E., Rios, F.S., Romão, S., Vienna, A.C., and Freiberger, S., 2003. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sub lethal levels of organ phosphorus in water and food. Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety, 54: 119-130.

11. Kiabi, B.H., Abdoli, A., and Naderi, M. 1999. Status of the fish fauna in the south Caspian basin of Iran. Journal of Zoology in the

Middle East 18: 57-65.

12. Keizer J.D., Agostino G., Vitozzoli L., 1990. Metabolism based differences of diazinon toxicity to guppy (*P. reticulata* and zebra fish *Brachydaniorario*).

13. Lusk, S., Hanel, L. and Luskova, S., 2004. Red List of the ichthyofauna of the Czech Republic: Development and present status. Folia Zool. 53, 215-226.

14. Meteleeve, V.V., Kanaev, A.L., and Diasokhva, N.G., 1971. Water toxicity. Amerind Publishing co. Pvt. Ltd. New Delhi.

15. O.E.C.D (1989): Guideline for testing on chemicals. OECD, Paris, 1987.

16. Ramesh, M., Saravanan, M., 2008. Haematological and biochemical responses in a freshwater fish *Cyprinus carpio* exposed to chlorpyrifos. International Journal of Integrative Biology. Vol. 3, no. 1, 80-83.

17. Ublein, F., and Winckler, H. 1994. Morphological variability among *Vimba* in Austrian waters. Quantitative examination of a taxonomic and a functional hypothesis (Pisces: Cyprinidae). In Senkend. Biol. 2: 57-65.

18. Wasserweschadstoff-katalog, 1975. Institut wasser wirtschaft, Berlin. 9

