

تأثیر سطوح مختلف دیازینون بر مقادیر LC_{50} ، هماتوکریت و علائم بالینی در بچه ماهی کلمه ترکمنی (استان گلستان) (*Rutilus rutilus caspius*)

مهین شیخ*؛ عبدالمجید حاجی مرادلو؛ رسول قربانی؛ مسعود ملایی و آی‌ناز خدانظری

m_sheikh66@yahoo.com

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۶۵-۲۸۶

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۰

چکیده

تأثیر سطوح مختلف غلظت‌های سم دیازینون به منظور تعیین غلظت کشنده (LC_{50}) از جمعیت ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspius*) طی ۹۶ ساعت روی بچه ماهیان کلمه ترکمنی تهیه شده از ایستگاه تحقیقات شیلاتی قره‌سو در سال ۱۳۸۸ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. در این تحقیق ۱۲۶ عدد بچه ماهی کلمه با میانگین وزنی ۳ گرم استفاده شد. آزمایشات بصورت ساکن و براساس دستورالعمل O.E.C.D در شرایط کیفی ثابت آب در دمای 24 ± 1 و $pH = 8-8/5$ در یک طرح کاملاً تصادفی با تیمار سطوح مختلف غلظت سم دیازینون (در ۵ سطح، ۵، ۵/۹۵، ۷/۱۰۷، ۸/۴۸ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) و ۳ تکرار انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌دار ۵ درصد صورت گرفت. نتایج نشان دادند که در پایان آزمایش ۹۶ ساعته، میزان LC_{50} ، ۷/۸۸ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. در این آزمایش از نظر بالینی علائمی مانند خمیدگی ستون فقرات، لرزش بدن، خون مردگی در باله دم و سر و شنای نامنظم در ماهیان مورد آزمایش مشاهده گردید. در بررسی هماتولوژی، بین غلظت‌های ۵ و ۵/۹۵ میلی‌گرم در لیتر سم دیازینون، درصد هماتوکریت بشدت کاهش و در ادامه با افزایش غلظت سم، این کاهش بطئی بود. همچنین تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و گروه LC_{50} از لحاظ درصد هماتوکریت مشاهده گردید که بترتیب مقادیر میانگین ۳۶ و ۲۷ درصد اندازه‌گیری شد. با توجه به نتایج بدست آمده، دیازینون برای ماهیان کلمه ترکمنی جزء سموم آفت‌کش سمی طبقه‌بندی شده است.

لغات کلیدی: *Rutilus rutilus caspius*، آلودگی، سموم آفت‌کش

مقدمه

اکوسیستم‌های آبی بعنوان بزرگترین محیط طبیعی همواره با تهدیدهایی مانند محدودیت ژنتیکی و تنوع زیستی مواجه می‌باشند، لذا چنین محیط‌هایی اگرچه بعنوان محیط هدف و اثر سموم آفت‌کش مد نظر نمی‌باشند، با این وجود نتایج تعدادی از مطالعات پایشی حضور دیازینون و متابولیت آن (دیازوکسون) را در آب‌های سطحی نمایان ساخته است (Mansingh & Wilson, 1995; Tsuda et al., 1996; Van-Der Geest et al., 1979). دیازینون نوعی آفت‌کش ارگانوفسفری با پایداری متوسط است که بطور گسترده در کشاورزی استفاده می‌گردد و مانند دیگر آفت‌کش‌ها می‌تواند منجر به اختلال جدی در موقعیت فیزیولوژی گردد (Banaee et al., 2010). از تأثیرات ویژه آن می‌توان از اثر سموم روی جوامع زیستی آب‌های داخلی و دریایی و اثرات بالقوه آن بر جمعیت ماهیان و متعاقباً روی ماهیگیری و فعالیت‌های شیلاتی نام برد. حشره‌کش‌های ارگانو فسفره و کرپامیدی اثرات بسیار مضر بر ماهیان دارند که این اثرات نخست مستقیماً بر سیستم عصبی ماهیان تأثیر می‌گذارد و دوم اثرات ثانویه‌ای است که در اثر ترشح هورمون‌ها بر بدن ماهی می‌گذارد (Bhattacharya & Jash, 1983). شدت سمیت دیازینون در بین گونه‌های مختلف از تغییرات زیادی برخوردار است و میزان آن بطور عمده تابع سن، جنسیت و اندازه بدن ماهی و شرایط اقلیمی، ترکیب شیمیایی سم، شیمی محیط‌زیست و سایر فاکتورها می‌باشد (Montz, 1983). حساسیت گونه‌های مختلف ماهی به مواد سمی مختلف نیز متفاوت است، از این رو آزمایشات سم‌شناسی روی ماهیان مختلف صورت می‌گیرد (Finny, 1971).

با توجه به بررسی‌های انجام شده، آلودگی‌های زیست‌محیطی بویژه افزایش روز افزون ورود فاضلاب‌های صنعتی حاوی ترکیبات مختلف آلاینده‌های پایدار فلزات سمی و آفت‌کش‌های کشاورزی از جمله مهمترین عوامل دخیل در این امر است. دیازینون در آب دریاها یافت نشده، ولی در آلودگی‌های مصب رودخانه‌ها که از طریق پسابهای کشاورزی و شهری وارد می‌شود، مشاهده شده است (Goodman, 1989). میزان شاخص تجمع زیستی دیازینون نیز در ماهیان مختلف متفاوت است (Tsuda et al., 1996).

مهم‌ترین ناهنجاری ثبت شده در اثر سم دیازینون را تغییر شکل عمودی و افقی ستون فقرات دانستند (Alison & Hermantuz, 1987). در بررسی اثر سم دیازینون روی فاکتورهای خونی در ماهی کپور، تأثیر آن را بصورت کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت بیان کردند (Svoboda et al., 2001).

در این تحقیق با توجه به اینکه اغلب رودخانه‌های محل مهاجرت، تخم‌ریزی و پرورش اولیه لاروی ماهیان مهاجر آب

شیرین بخصوص ماهی کلمه بطور خاص در مجاورت اراضی کشاورزی مصرف کننده سم دیازینون بعنوان سم آفت‌کش قرار دارند، سعی شد تا تأثیر این سم روی فاکتورهای هماتولوژیک خون ماهی کلمه جوان مورد بررسی قرار گرفته و با نظر به اینکه تعیین میزان حد متوسط غلظت کشندگی یا LC_{50} لازمه هر گونه مطالعات اکوتوکسیکولوژی است، ابتدا این میزان در مورد سم دیازینون در این گونه طی ۹۶ ساعت تعیین و اثرات رفتاری ماهی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

در این آزمایش ۱۲۶ عدد بچه ماهی کلمه با میانگین وزنی ۳ گرم در سال ۱۳۸۸ مورد مطالعه قرار گرفتند. بچه ماهیان کلمه ترکمنی (*Rutilus rutilus caspius*) مورد نیاز از ایستگاه تحقیقات شیلاتی قره‌سو واقع در مجاورت شهر بندر ترکمن تهیه و به سالن آبی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان واقع منتقل شدند. غذاهای اولیه بعد از ۲ هفته بومی‌سازی ماهیان با محیط صورت گرفت و از غذای بیومار استفاده شد. میزان تغذیه ۲ تا ۳ درصد وزن بدن بود و تعویض آب روزانه بود.

سم مورد استفاده در این آزمایش، دیازینون امولسیون ۶۰ درصد بود این آزمایش با آب شیرین و با استفاده از طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت.

برای تعیین درصد بازماندگی بچه ماهیان در شرایط طبیعی آزمایش و محیط عاری از سم، آزمایشات در سه تکرار (تشت‌های ۲۰ لیتری با تراکم ۷ عدد ماهی در لیتر) در طول مدت ۹۶ ساعت انجام گرفت. در شروع آزمایش، برای تعیین دامنه کلی با استفاده از مقیاس فاصله‌ای (تقسیم‌بندی بین تیمارها براساس روش لگاریتمی)، محدوده‌ای بین ۵ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر (با ۵ تیمار و ۳ تکرار) در نظر گرفته شد.

$$X = \frac{\text{Log}C_n - \text{Log}C_1}{(n-1)}$$

که در آن:

$$C_1 = \text{غلظت در تیمار اول}$$

$$C_n = \text{غلظت در تیمار آخر}$$

$$X = \text{قدر نسبت لگاریتمی}$$

$$C_2 = \text{غلظت در تیمار دوم } (C_2 = \text{Anti Log} (\text{Log} C_1 + X))$$

$$C_3 = \text{غلظت در تیمار سوم } (C_3 = \text{Anti Log} (\text{Log} C_2 + X))$$

بالای ۵۰ درصد و در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر تلفات ۱۰۰ درصد مشاهده شد. بنابراین در آزمایش اصلی، تیمارها بین غلظت‌های ۵ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر برای بدست آوردن درصد مرگ و میر ۵۰ درصدی ماهیان مورد آزمایش قرار گرفتند. مطابق با جدول ۱ پس از گذشت ۹۶ ساعت مشاهده گردید که مقدار غلظت مجاز LC_{50} برای این گروه از ماهیان بین غلظت‌های ۷/۰۷ تا ۸/۴۸ میلی‌گرم در لیتر است.

مدل‌های رگرسیونی غلظت ماده سمی دیازینون در مقابل اعداد استخراجی از جدول پروبیت بدست آمده برای هر یک از زمانهای مورد مطالعه بشرح جدول ۲ می‌باشد.

براساس مدل رگرسیونی، مقدار غلظت مجاز LC_{50} برای این گروه ماهیان مقدار ۷/۸۸ میلی‌گرم در لیتر بدست می‌آید. همچنین در جدول ۳ آمده است، ضریب تعیین در مدت زمان ۲۴ ساعت نسبت به ساعات دیگر بسیار پایین‌تر بود که نشان می‌دهد برای مطالعه میزان مرگ و میر در ماهیان، حداقل زمان پس از در معرض قرارگیری با سم برای ماهیان کلمه، مدت زمان ۴۸ ساعت لازم است. همچنین مرگ و میر در ۷۲ ساعت نسبت به ۹۶ ساعت تغییر نیافت. به عبارت دیگر، در بچه ماهیان کلمه، مرگ و میر پس از گذشت ۷۲ ساعت، تغییر پیدا نکرد.

براساس میزان محاسباتی LC_{50} در مدت ۹۶ ساعت که مقدار ۷/۸۸ میلی‌گرم در لیتر بود، می‌توان با در نظر گرفتن این غلظت، دیازینون را در گروه با درجه سمیت، ماده سمی طبقه‌بندی نمود (جدول ۳). دیازینون برای ماهیان جزء سموم سمی طبقه‌بندی شده است.

تاثیر سم دیازینون روی فاکتورهای خونی در ماهی کپور بصورت کاهش هماتوکریت می‌باشد. همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت سم تا ۷/۰۷ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری در درصد هماتوکریت مشاهده نگردید، حال آنکه در غلظت ۸/۴۸ میلی‌گرم در لیتر، کاهش میزان هماتوکریت معنی‌دار شد ($P < 0.05$). با افزایش غلظت تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان هماتوکریت کاهش داشت، ولی نسبت به غلظت ۸/۴۸ میلی‌گرم در لیتر معنی‌دار نبود.

همچنین تاثیر سم دیازینون روی فاکتورهای خونی در ماهیان بصورت کاهش تعداد گلبول قرمز می‌باشد. مطابق با نمودار ۲ این کاهش بین غلظت‌های ۵ و ۵/۹۵ میلی‌گرم در لیتر بسیار زیاد و در ادامه با افزایش غلظت سم، سرعت کاهش تعداد گلبول قرمز کمتر بود.

پس از انجام آزمایشات سمیت حاد، میزان مرگ و میر بچه ماهیان در فاصله زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت و براساس آن، درصد تغییرات مرگ و میر بچه ماهیان نسبت به شاهد محاسبه و از جدول پروبیت، عدد مربوط به هر یک از تغییرات استخراج و در ستون پروبیت ولیو (value) جدول مرگ و میر قرار می‌گیرد. در معادلات بدست آمده از آنالیز رگرسیون ستون لگاریتم غلظت سم با هر یک از ستون‌های پروبیت ولیو به جای متغیر Y مقادیر مربوط به LC_{50} و LC_{90} از جدول پروبیت آنالیز قرار گرفت و با آنتی لگاریتم گرفتن از متغیر X مقادیر LC بدست آمد.

جهت تعیین مقدار هماتوکریت خون ۸ عدد بچه ماهی از گروه شاهد (بدون در معرض قرار گرفتن با سم دیازینون) و تیمارها بصورت تصادفی انتخاب گردید. سپس ماهیان در معرض سم دیازینون با غلظت معادل LC_{50} قرار گرفتند. پس از یک دوره ۹۶ ساعته از گروه آزمون و شاهد از ناحیه دمی آنها خونگیری بعمل آمد. نمونه‌های خون پس از سانتریفوژ کردن با روش میکرو و درصد هماتوکریت تعیین گردید، در این روش لوله‌های میکرو پیت هماتوکریت در شیارهای مخصوص در سانتریفوژ قرار می‌گیرد بطوریکه انتهای مسدود لوله به سمت خارج از مرکز و کاملاً در تماس با محیط محوطه سانتریفوژ باشد سپس درپوش را قرار داده، لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند در پایان میزان گلبولهای قرمز برحسب درصد با خط‌کش میکروههماتوکریت تعیین گردید. (شاملوفر و همکاران، ۱۳۸۶). در طول دوره آزمایش، رفتار و سایر تغییرات ظاهری ماهیان مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات بصورت ساکن و براساس دستورالعمل O.E.C.D در شرایط کیفی ثابت آب در دمای 24 ± 1 و $pH = 8 - 8.5$ در مرکز تحقیقات آبی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد.

نتایج

در این تحقیق علائم ظاهری سمیت بچه ماهیان کلمه با دیازینون از نظر بالینی، خمیدگی ستون فقرات، لرزش بدن، خون مردگی در باله دمی و سر، شنای نامنظم، سریع و ناگهانی بصورت دایره‌وار، بی‌حالی و نیز تغییر رنگ بدن در ماهیان مورد آزمایش مشاهده گردید. در پیش آزمایش، با توجه به آزمایشات محدوده کشندگی در گروه شاهد و نیز غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر تلفاتی مشاهده نشد؛ در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تلفات

همچنین در مقایسه میزان هماتوکریت بین گروه شاهد و بترتیب میانگین مقادیر ۳۶ و ۲۷ درصد اندازه‌گیری شد. گروه LC₅₀ تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($P < 0.05$) که

جدول ۱: اعداد استخراجی از جدول پروبیت در بچه ماهیان کلمه در معرض سم دیازینون طی ۹۶ ساعت

| ۹۶ | ۷۲ | ۴۸ | ۲۴ | لگاریتم غلظت | زمان (ساعت) | غلظت |
|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|--------------------|
| | | | | | | (میلی‌گرم در لیتر) |
| (۵/۵) ۳/۴۰ | (۵/۵) ۳/۴۰ | (۵/۵) ۳/۴۰ | (۰) ۰ | ۰/۷ | | ۵ |
| (۱۸/۷) ۴/۱۱ | (۱۸/۷) ۴/۱۱ | (۱۸/۷) ۴/۱۱ | (۱۲/۵) ۳/۸۵ | ۰/۷۷ | | ۵/۹۵ |
| (۳۳/۳) ۴/۵۷ | (۳۳/۳) ۴/۵۷ | (۳۳/۳) ۴/۵۶ | (۲۰) ۴/۱۶ | ۰/۸۵ | | ۷/۰۷ |
| (۶۸/۷) ۵/۴۹ | (۶۸/۷) ۵/۴۹ | (۵۶/۲) ۵/۱۵ | (۲۵) ۴/۳۰ | ۰/۹۳ | | ۸/۴۸ |
| (۷۳/۷) ۵/۶۳ | (۷۳/۷) ۵/۶۳ | (۶۸/۴) ۵/۴۸ | (۲۶/۳) ۴/۳۶ | ۱ | | ۱۰ |

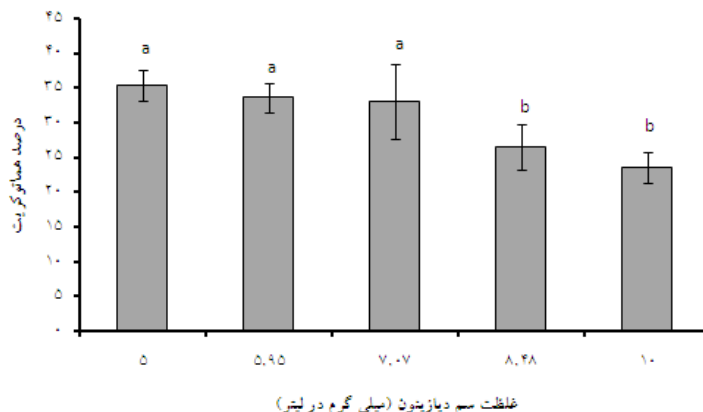
*اعداد داخل پرانتز درصد تلفات تجمعی می باشند.

جدول ۲: مدل رگرسیونی بین غلظت ماده سم دیازینون و اعداد استخراجی از جدول پروبیت در طول دوره ۹۶ ساعت

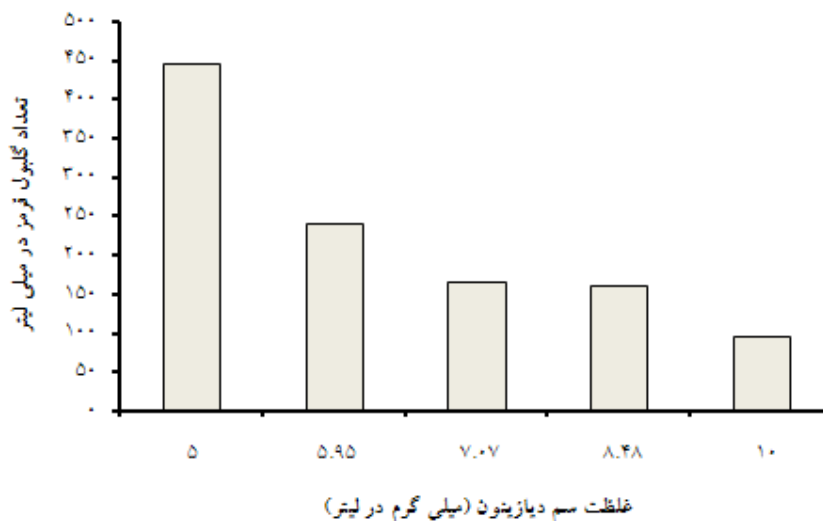
| ۹۶ | ۷۲ | ۴۸ | ۲۴ | زمان |
|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------|------|
| $Y=7.742 X - 1.942$ | $Y=7.742 X - 1.942$ | $Y=6.883 X - 1.309$ | $Y=12.16 X - 7$ | |
| $R^2=0.97$ | $R^2=0.97$ | $R^2=0.99$ | $R^2=0.6$ | |

جدول ۳: درجه‌بندی سمیت سموم آفت‌کش برای موجودات زنده (Wasserweschadstoff-Katalog, 1975)

| میزان LC ₅₀ (میلی‌گرم در لیتر) | درجه سمیت |
|---|----------------|
| > ۵۰۰ | نسبتاً غیر سمی |
| ۱۰۰ - ۵۰۰ | کمی سمی |
| ۱۰ - ۱۰۰ | سمیت متوسط |
| ۱ - ۱۰ | سمی |
| ۰/۱ - ۱ | خیلی سمی |
| < ۰/۱ | شدیداً سمی |



نمودار ۱: روند تغییر درصد هماتوزوکریت طی ۹۶ ساعت آزمایش در بچه ماهیان کلمه در معرض غلظت‌های مختلف دیازینون (حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند)



نمودار ۲: تغییر تعداد گلپول قرمز طی ۹۶ ساعت آزمایش در بچه ماهیان کلمه در معرض غلظت‌های مختلف دیازینون

بحث

ماهیانی که از لحاظ طبقه‌بندی در یک خانواده و حتی یک جنس قرار دارند، در میزان حساسیت آنها نسبت به دیازینون متفاوتند (Keizer et al., 1993). پیری زیرکوهی (۱۳۷۶) اثرات تعدادی از سموم کشاورزی را روی ماهی کپور نقره‌ای در ایران مورد بررسی قرار داد و سمیت این سموم را بصورت دیازینون < مالاتیون > ساترن < ماچتی طبقه‌بندی نمود.

LC₅₀ طی ۹۶ ساعت، برای ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) ۴/۹۸ میلی‌گرم در لیتر دیازینون و برای ماهیان شیپ (*A. nudiventris*) ۴/۶ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۱). با توجه به مقادیر محاسباتی LC₅₀ ماهی شیپ و ازون‌برون می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که ازون‌برون در مقایسه با ماهی شیپ نسبت به سم دیازینون

ماهیانی که از لحاظ طبقه‌بندی در یک خانواده و حتی یک جنس قرار دارند، در میزان حساسیت آنها نسبت به دیازینون متفاوتند (Keizer et al., 1993). پیری زیرکوهی (۱۳۷۶) اثرات تعدادی از سموم کشاورزی را روی ماهی کپور نقره‌ای در ایران مورد بررسی قرار داد و سمیت این سموم را بصورت دیازینون < مالاتیون > ساترن < ماچتی طبقه‌بندی نمود.

مقاوم‌ترند. همچنین بنظر می‌رسد که ماهی کلمه نسبت به دو گونه ماهی دیگر مقاوم‌تر است.

علائم ظاهری سمیت حاد این سم در ماهیان شامل بی‌حالی، کشیدگی باله سینه‌ای به سمت جلو، تیره شدن بخش پیشین بدن، افزایش قابلیت تحریک در زمان بیهوشی، شنای سریع و ناگهانی بصورت دایره‌وار و انقباضات زیاد عضلانی می‌باشد، کپور ماهی و گونه‌های دیگر از ماهیان استخوانی آب شور که در غلظت‌های بالای غیرکشنده سم دیازینون زنده می‌مانند ولی ناهنجاری در شنا و تغییر رنگ بدن را از خود نشان می‌دهند (Alam & Maughan, 1992). مهمترین ناهنجاری‌های ثبت شده در اثر سم دیازینون را تغییر شکل ستون فقرات بصورت لردوسیس (Lordosis; انحنای عمودی ستون فقرات) و اسکولیوسیز (Scoliosis; انحنای افقی ستون فقرات) دانستند (Alison & Hhermartuz, 1987). شایع‌ترین علائم بالینی یا رفتاری ماهیان ازون‌برون 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 بصورت 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 دادند. 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 (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۱). در این تحقیق نیز علائم ظاهری سمیت با دیازینون از نظر بالینی، خمیدگی ستون فقرات، لرزش بدن، خون مردگی در باله دمی و سر و شنای نامنظم، سریع و ناگهانی بصورت دایره‌وار، بی‌حالی و نیز تغییر رنگ بدن در ماهیان مورد آزمایش مشاهده گردید که با نتایج بدست آمده توسط دیگران مطابقت دارد.

پاسخ‌های عمده هماتولوژیکی ماهیان ازون‌برون جوان (*A. stellatus*) 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 (MCV) و میانگین هموگلوبین گویچه‌ها (MCH) در مقایسه با گروه شاهد ذکر نمود. کاهش مقادیر گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) و ماهی

چنانچه پانکتاتوس (*Channa punctatus*) بعد از مسمومیت حاد دیازینون گزارش شده است (Anees, 1978; Svoboda et al., 2001). آزمایشات مشابهی که قبلاً با استفاده از آفت‌کش‌های ارگانوفسفره روی دیگر ماهیان انجام گرفته این تغییرات را تأیید می‌نماید (Svobodova, 1971, 1975). تأثیر مهم دیازینون روی فاکتورهای خونی در ماهی کپور بصورت کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت می‌باشد. این تغییرات بعد از اثر سم دیازینون می‌تواند دلیل از بین رفتن بافت‌های خون ساز کلیه باشد (Svoboda, 2001). با اندازه‌گیری میزان هماتوکریت تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و گروه LC₅₀ دیده شد که برتیب مقادیر میانگین ۳۶ و ۲۷ اندازه‌گیری شد که بیانگر کاهش معنی‌دار در درصد هماتوکریت خون می‌باشد که با نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

منابع

- پیری زیرکوهی، م.؛ نظامی، ش.؛ امینی رنجبر، غ. و اردگ، و.، ۱۳۷۶. مطالعات اکوتوکسیکولوژی با *Daphnia magna* و تعیین اثر سموم دیازینون، مالاتیون، ماچتی و ساترن بر این ارگانسیم. مجله علمی شیلات ایران، سال ششم، شماره ۳، پاییز ۱۳۷۶، صفحات ۲۴ تا ۳۰.
- رستمی، ح. و سلطانی، م.، ۱۳۸۱. تأثیر سم دیازینون بر روی شاخصهای هماتولوژیکی ماهی شیپ (*A. nudiventris*) و تعیین LC₅₀ آن، خلاصه مقالات دومین همایش ملی ماهیان خاویاری، صفحات ۴۵ تا ۷۴.
- شاملوفر، م.؛ کمالی، ا.؛ پیری، م. و مختومی، ن.، ۱۳۸۶. تأثیر سم متاسیستوکس بر مرگ و میر فاکتورهای خونی گونه فیل ماهی (*Huso huso*). مجله علمی- تخصصی شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر، پیش شماره اول، سال اول، بهار ۱۳۸۶، صفحات ۱۷ تا ۲۶.
- Alam M.K. and Maughan O.E., 1992. The effect of malathion diazinon and various concentrations of Zinc, Copper, Nickel, Lead, and Mercury on fish. Biological Trace Element Research. 34:225-236.
- Allison D.T and Hhermartuz R.O., 1987. Toxicity of diazinon to brook trout and Fathead

- minnows. United States Environmental Protection Agency. Report, 600:25-31.
- Anees M., 1978.** Haematological abnormalities in a freshwater teleost, *Channa punctatus*, (Bloch), exposed to sublethal and chronic levels of three organophosphorus insecticides. International Journal of Ecology & Environmental Sciences, 4:53-60.
- Banaee M., Sureda A., Mirvaghefi A.R. and Ahmadi K., 2010.** Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Pesticide Biochemistry and Physiology, (In press).
- Bhattacharya S. and Jash N.B., 1981.** *In vivo* inhibition and recovery of acetylcholinesterase in the brain of the freshwater teleost *Channa punctatus* (Bloch) during and after exposure to carbofuran. Comparative Physiology & Ecology, pp.330-332.
- Finny D., 1971 .** Probit analysis. Cambridge University Chemical Laboratory. pp.465-489.
- 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*. Transactions of The American Fisheries Society, 108:479-488.
- Keizer J., Agostion G.D., Nagel R., Gramenzi F. and Vittozi L., 1993.** Comparative diazinon toxicity in guppy and zebra fish. Environmental Toxicology & Chemistry, 12:1243-1250.
- Mansingh A. and Wilson A., 1995.** Insecticide contamination of Jamaican environment. 3. Baseline studies on the status of insecticidal pollution of Kingston Harbour. Marine Pollution Bulletin, 30:640-643.
- Montz E.J.R., 1983.** Effects of organophosphate insecticides on aspects of reproduction and survival in small mammal. Ph.D. thesis. Virginia Polytechnic State University, Blacksburg, USA. 179P.
- Svoboda M., Luskova V., Drastichova, J. and Zlabek V., 2001.** The effect of diazinon on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta Veterinaria Brunensis-VFU Brno. 70:457-465.
- Svobodova Z., 1971.** Some haematological and metabolic changes in fish occurring after pesticide intoxication. Bulletin VURH (Vyzkumny Ustav Rybarsky a ydrobiologicky) Vodnany. 7:29-36.
- Svobodova Z., 1975.** Changes in the blood picture of the carp intoxicated with organophosphate pesticides. Journal of the University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences in Brno. Acta Veterinaria Brunensis-VFU Brno. 44:49-52.
- Tsuda T., Inoue T., Kojima M. and Aoki S., 1996.** Pesticides in water and fish from rivers flowing into Lake Biwa. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 57:442-449.
- Van-Der Geest H.G., Stuijzand S.C., Kraak M.H.S. and Admiraal W., 1997.** Impact of diazinon calamity in 1996 on the aquatic macroinvertebrates in the river Mesue, The Netherlands. Netherlands Journal of Aquatic Ecology, 30:327-330.
- Wasserschadstoff-Katalog H., 1975.** Von Institute für Wasserwirtschaft, Berlin, Germany.

Effects of Diazinon concentrations on LC₅₀, hematocrit and clinical signs of Roach Torkemani (*Rutilus rutilus caspius*) fries of Caspian Sea

Sheikh M.*; Hajimoradloo AM.; Ghorbani R.; Mollaei M. and Khodanazary A.

m_sheikh66@yahoo.com

Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, P.O.Box: 49168-386 Gorgan, Iran

Received: March 2010

Accepted: November 2011

Keywords: *Rutilus rutilus caspius*, Polluon, Toxic pesticide

Abstract

Effects of different concentrations of Diazinon on Roach Torkemani (*Rutilus rutilus caspius*) fries supplied from Ghareh-Soo Fishery Research Station was studied in Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources in 2009 to determine 50% lethal concentration (LC₅₀) for the fish within 96 hours. In this study, 126 Roach fries with mean weight of 3 grams were used. Tests were performed statically based on instructions of O.E.C.D under fixed water quality conditions at the temperature 24±1 and pH 8-8.5 in a completely random trial with five concentrations treatments of Diazinon (5, 5.95, 7.07, 8.48 and 10mg/l) in three replications and the means were compared using Duncan test at 5% significance level. The results indicated that at the end of 96-hour test, LC₅₀ was 7.88mg/l. In this test, clinical signs such as hunched spinal column, thrilling, clot in caudal fin and head, and irregular swimming were observed in the studied fish specimens. In hematological examination, there was a remarkable decrease in percent of hematocrit between concentrations of 5 and 5.95mg/l of Diazinon. By increasing the concentration of this poison, the decrease became slower. Furthermore, there was a significant difference in percent of hematocrit between control group and LC₅₀ group, with mean amounts of 36 and 27%, respectively. Based on the results, Diazinon was classified as toxic pesticide for Roach Torkemani.

*Corresponding author