



دانشگاه گیلان

بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دوم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۲
<http://japu.gau.ac.ir>

تغییرات هیستوپاتولوژیک ناشی از غلظت تحت کشنده سم دیازینون بر بافت کلیه، روده و آبشش کاراس طلائی نر (*Carasius auratus*)

*سجاد فتاحی^۱، فاطمه خانی^۱ و باقر مجازی‌امیری^۲

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

^۲استاد گروه شیلات، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۲۷

چکیده

سموم ارگانوفسفره از جمله دیازینون، جهت کنترل آفات نباتی در بسیاری از مزارع کشاورزی که در مجاورت منابع آبی شیرین واقع شده‌اند، بسیار رایج می‌باشد. از این رو در این پژوهش به بررسی سمیت این آفت‌کش ارگانوفسفره بر روی تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت‌های آبشش، کلیه و روده کاراس طلائی نر (*Carasius auratus*) پرداخته شده است. در این آزمایش ماهیان به مدت ۱۰ روز در معرض غلظت ۳ و ۶ میلی‌گرم در لیتر گرانول ۱۰ درصد دیازینون قرار داده شدند. تأثیرات هیستوپاتولوژیک سم دیازینون بر روی بافت‌های ماهی طلائی مورد بررسی قرار گرفت. دژنراسی و نکروز بافت کلیه، هیپرپلازی لاملاهای ثانویه و چسبندگی لاملاها در ماهیان تحت تیمار سم دیده شد. عارضه هیستوپاتولوژیکی در روده دیده نشد. تغییرات هیستوپاتولوژیکی با افزایش غلظت سم، افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: دیازینون، کاراس طلائی، هیستوپاتولوژیک

*مسئول مکاتبه: s.fatahi1367@gmail.com

مقدمه

کاراس طلائی از ماهیان زیتنی خانواده کپور ماهیان با نام علمی *Carassius auratus* می‌باشد که از اولین ماهی‌های آکواریومی حقیقی است. این ماهی بومی آسیای شرقی، چین و ژاپن است ولی امروزه در بسیاری از مناطق دنیا به‌عنوان یکی از ماهیان زیتنی مورد پرورش قرار می‌گیرد. با توجه به این‌که این ماهیان در آب‌های نزدیک به مزارع کشاورزی وجود دارند، به‌طور قابل توجهی در معرض سموم کشاورزی قرار می‌گیرند که دیازینون از این جمله سموم به‌حساب می‌آید.

دیازینون نوعی حشره کش و کنه کش سیستمیک از گروه ارگانوفسفره است که با نحوه اثر تنفسی، تماسی و گوارشی طیف وسیعی از آفات جونده و مکنده را کنترل می‌کند و معمولاً به‌صورت امولسیون ۰/۱ تا ۰/۲ درصد در مزارع کشاورزی و باغ مرکبات، جهت نابودی آفات و کرم ساقه‌خوار شالی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (دوتا و آرنلدس، ۲۰۰۳).

دیازینون با دارا بودن اثر ضربه‌ای دارای ماندگاری و دوام بالایی می‌باشد و عمده‌ترین اثر آن مهار آنزیم کولین استراز است. اگرچه دیازینون به سرعت تجزیه می‌شود ولی تحت شرایط خاص از جمله پایین بودن دما و رطوبت، قلیائیت بالا و فقدان فعالیت تجزیه‌ای میکروبی می‌تواند تا ۶ ماه و حتی بیشتر از نظر زیستی در خاک به‌صورت فعال باقی بماند (ایسلر، ۱۹۸۶). ورود دیازینون به آب‌های سطحی و قرارگرفتن ماهیان در معرض آن حتی در دوزهای پایین نه تنها موجب بروز اختلالات عصبی در ماهیان می‌گردد بلکه سبب بروز ناهنجاری‌هایی در آبشش (دوتا و همکاران، ۱۹۹۶)، سیستم ایمنی (دوتا، ۱۹۹۷)، سیستم بویایی و اختلال در بروز رفتارهای تولیدمثلی (مور و وارینگ، ۱۹۹۶) و همچنین تخریب ساختار تخمدان (دوتا و مکسول، ۲۰۰۳) و بیضه ماهیان (دوتا و مجیر، ۲۰۰۳) نیز می‌شود. متأسفانه مصرف بیش از حد این سم در ایران و ورود آن از طریق زهکش مزارع کشاورزی به‌ویژه پس از بارش باران به آب‌های سطحی (سهرابی و همکاران، ۲۰۰۱؛ شایقی و همکاران، ۲۰۰۱) خطر جدی و بالقوه‌ای برای آبزیان رودخانه‌ها، تالاب‌ها، آب‌بندها و استخرها محسوب می‌شود.

استفاده از این سموم آفت‌کش تا زمانی که شیوه‌های مبارزه بیولوژیک با آفات گیاهی مرسوم نشود امری اجتناب‌ناپذیر است. بنابراین توصیه بر این است تا که حداقل از آفت‌کش‌هایی با درجه سمیت و نیمه‌عمر کمتر استفاده شود. این پژوهش بر آن است با بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک ناشی از سم دیازینون بر بافت کلیه، روده و آبشش کاراس طلائی به‌عنوان یک مدل آزمایشی سندی جهت اثبات اثرات زیان‌بار مصرف این‌گونه سموم رایج ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

ماهیان موردنظر در این پژوهش تعداد ۱۳۵ عدد ماهی کاراس طلایی نر با میانگین وزنی $26/5 \pm 1/52$ گرم، متوسط طول کل $90 \pm 0/01$ میلی‌متر و میانگین دور شکم $93/6 \pm 0/01$ میلی‌متر از شهر سنقر واقع در استان گیلان تهیه گردید. ماهیان جهت سازگارشدهن با شرایط آزمایشگاهی درون مخازن ۲۰۰ لیتری قرار گرفت و با غذای تجاری انرژي ۳۰۰۱ تغذیه شدند. ماهیان درون ۹ تانک (۲۰ لیتر) با میانگین وزنی $26/5 \pm 1/52$ (۱۵ ماهی در هر تکرار) در سه تیمار شاهد (صفر میلی‌گرم بر لیتر)، تیمار یک (۳ میلی‌گرم در لیتر دیازینون) و تیمار ۲ (۶ میلی‌گرم بر لیتر دیازینون) با احتساب خلوص دیازینون مصرفی (گرانول ۱۰ درصد) تقسیم شدند. فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب در طول دوره ثابت و در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب طی دوره

فاکتور	مقدار
دما	25 ± 2
pH	$7/2 \pm 0/2$
اکسیژن محلول	$> 6 \text{ mg}$

جهت بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی در پایان دوره از هر تکرار ۵ عدد ماهی به‌طور تصادفی انتخاب شد. پس از ثبت تغییرات بالینی و ظاهری ماهیان در پودر گل میخک بیهوش و سپس کالبدشکافی شدند. تغییرات داخلی نیز ابتدا با چشم غیر مسلح و سپس از زیر لوپ مشاهده و ثبت شد. نمونه‌های کلیه، روده و آبشش جمع‌آوری گردید. لام‌های تهیه شده به روش هماتوکسیلین-اؤزین رنگ‌آمیزی شد. نمونه بافت‌ها به‌وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی $10 \times$ ، $40 \times$ و $100 \times$ مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت داده‌ها به‌صورت توصیفی و آماری ارائه شدند.

نتایج

در طی آزمایش مرگ و میری مشاهده نشد. عارضه قابل توجهی در بافت‌های گروه شاهد مشاهده نشد (شکل A). نتایج بررسی‌های بافت‌شناسی براساس شدت اثر سم در جدول ۲ نشان داده شده است.

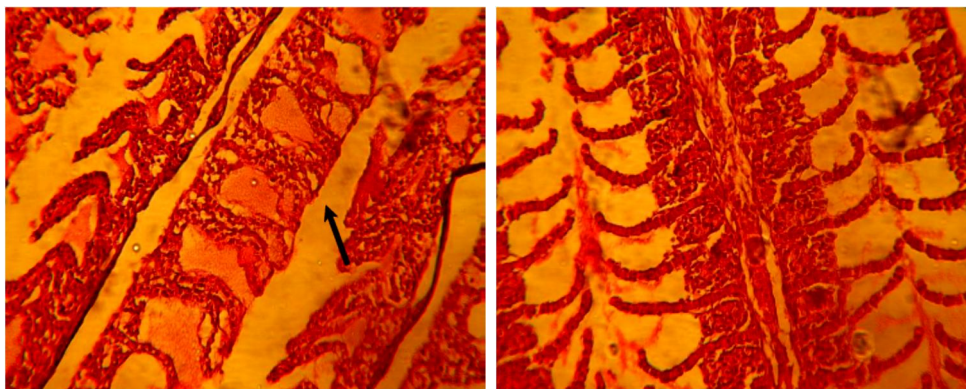
بهره‌برداری و پرورش آبزیان (۲)، شماره (۳) پاییز ۱۳۹۲

جدول ۲- عوارض مشاهده شده در تیمارهای تحت تیمار دیازینون

تیمار ۲	تیمار ۱	شاهد	عارضه / تیمار
			بافت آبشش
+++	+	-	نکروز
++	+	-	ادم
++	+	-	پر خونی
			بافت کلیه
++	+	-	نکروز بافت کلیه
++	+	-	نکروز در توبول‌های کلیوی
+	-	-	تجمع ملانوماکروفاژها

عدم مشاهده عارضه (-)، خفیف (+)، متوسط (++)، شدید (+++)

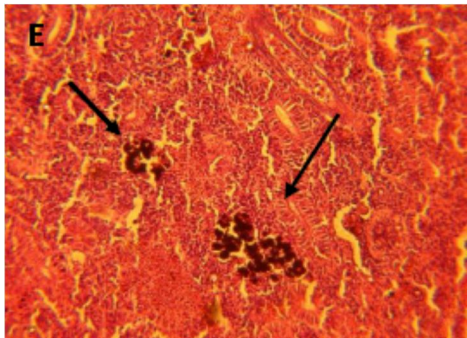
آبشش: شایع‌ترین پدیده مشاهده شده در بافت آبشش ماهیان تحت تیمار هیپرپلازی لاملایی، چسبندگی لاملای ثانویه، نکروز بافت آبشش و ادم بود که با افزایش دوز سم افزایش یافت (شکل‌های ۱ و ۲).



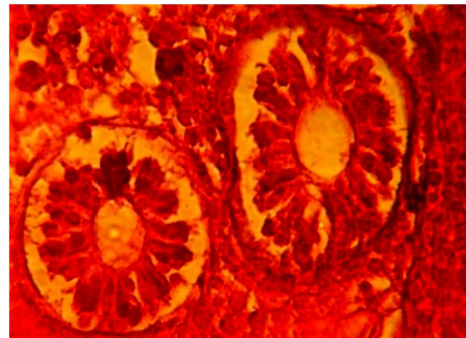
شکل ۲- ادم و آغاز روند هیپرپلازی در تیمار ۲
دیازینون (بزرگنمایی ۴۰)

شکل ۱- بافت آبشش سالم گروه شاهد
(بزرگنمایی ۴۰)

بافت کلیه: در مشاهده بافت کلیه اولین تغییر قابل توجه آغاز روند نکروز در توبول‌های کلیوی بود که در بافت تیمار ۲ دیازینون وسعت و شدت بیشتری داشت (شکل‌های ۳ و ۴).

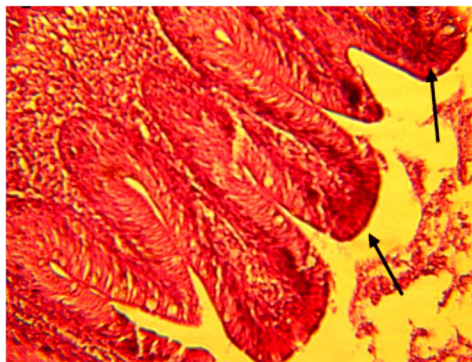


شکل ۴- تجمع ملانوماکروفازها در توبول‌های کلیه در بیمار ۳ (بزرگنمایی ۴۰)

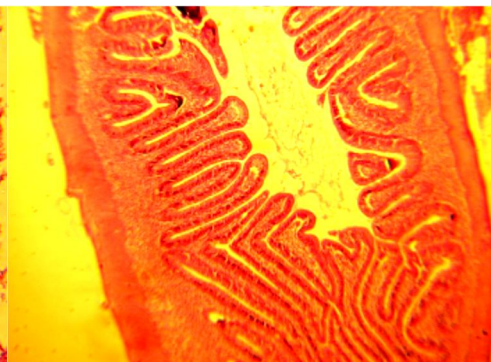


شکل ۳- آغاز روند نکروز در توبول‌های کلیوی (بزرگنمایی ۱۰۰)

بافت روده: در بررسی بافت روده، علائم هیستوپاتولوژیکی دیده نشد (شکل‌های ۵ و ۶).



شکل ۶- بافت سالم در بیمار ۱ (بزرگنمایی ۴۰)



شکل ۵- بافت سالم روده در گروه شاهد (بزرگنمایی ۱۰)

بحث

بنابراین آبشش بافت مناسبی جهت بررسی اثر کوتاه مدت آلاینده‌ها به‌شمار می‌آید. از طرفی این عناصر سمی در اندام‌ها ذخیره و تجمع زیستی رخ می‌دهد که موجب تغییرات مورفولوژیکی می‌شوند. بافت ظریف آبشش به روش‌های مختلفی در برابر جراحات واکنش می‌دهد که بسته به نوع وحدت عامل بیماری‌زا و مدت زمان اثر آن می‌باشد. قابلیت انحلال بالای این سم در چربی و این‌که دیازینون

از طریق آبشش‌ها، پوست و سیستم گوارشی به راحتی وارد بدن ماهی‌ها می‌شود، سبب شده تا این سم به راحتی از ساختار فسفولیپیدی غشاهای زیستی عبور کرده و در طی کمتر از ۲۴ ساعت از قرار گرفتن ماهی‌ها در معرض سم دیازینون غلظت این سم در بافت‌های مختلف بدن به‌ویژه خون به سطح مشابه غلظت این سم در محیط برسد و در بافت‌های مختلف بدن تجمع یابد (ویل^۱، ۱۹۹۸). شایع‌ترین علائم آلودگی‌ها با مواد شیمیایی در آبشش، پرخونی، افزایش تولید موکوس، ادم با مشخصات جدائی بافت پوششی از غشاء پایه زیرین و افزایش مایعات بین سلولی می‌باشد (رابرت و هوستون، ۱۹۸۹). در این بررسی، افزایش مایعات بین سلولی، افزایش تولید موکوس و پر خونی در گروه‌های دیازینون مشاهده شد. رادیکال‌های آزاد تولید شده در متابولیسم دیازینون با ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی موجب تخریب غشای سلول‌ها و اختلال در تنظیم یونی و در نهایت عدم توان تنظیم اسمزی غشاهای زیستی و سلولی و در نهایت مرگ سلولی می‌شود (بنابی و همکاران، ۲۰۱۰). در این پژوهش نیز به‌صورت تغییرات بافتی از جمله نکروزهای وسیع مشاهده شد. از آن‌جا که در تیمار شاهد اثر معکوسی در آبشش‌ها مشاهده نشد، این عدم تغییر در مقایسه با گروه‌های تحت تیمار دیازینون، تأثیر این سم بر این اندام ماهی را تأیید می‌کند. بنابراین نتایج این مطالعه به‌طور روشن بیانگر تأثیر نامطلوب و مخرب این سم بر آبشش ماهی می‌باشد.

هر ماده سمی که وارد بدن ماهیان می‌شود جهت ذخیره‌سازی یا انتقال توسط گردش خون وارد کبد می‌شود. از این رو می‌توان نکروز بافت کلیه و تخریب بافتی و دژنراسانس را حاصل تلاش بدن جهت مقابله با سم دیازینون دانست که پس از مقابله کبد با سم، آن را به کلیه‌ها و آبشش جهت دفع از بدن انتقال داده است. از بین رفتن سلول‌های پوششی مجاری کلیوی، افزایش فضای ادراری در ماهیان تحت تیمار و تحلیل رفتن گلومرول‌ها باعث افزایش فضای بومن می‌گردد و در نهایت اختلال در عمل فیلتراسیون و افزایش ادرار را منجر می‌شود. به احتمال زیاد تولید رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای سلولی، کاهش سرعت فیلتراسیون گلومرولی و ضایعات پارانشیمال و لوله‌های کلیوی را داراست (تراچمن^۲ و همکاران، ۱۹۹۲).

لوله گوارش در ماهیان، همانند سایر مهره‌داران منشاء آندودرمی دارد و از لوله گوارش اولیه یا آرکترون منشاء می‌گیرد. این دستگاه در جنین به‌طور ناقص باقی می‌ماند و در زمان شکفتن تخم

1- Vale
2- Trachman

به صورت لوله مستقیم تمایز نیافته‌ای در سطح پشتی کیسه زرده قرار می‌گیرد. غلظت‌های تحت کشنده در دراز مدت می‌تواند منجر به تغییرات وسیع بافتی شود که برهم خوردن هموستازی جانور و در نهایت کاهش توان سیستم ایمنی و بقای موجود زنده را منجر شود (بنایی و همکاران، ۲۰۱۰).

سم دیازینون که یکی از سموم متداول در بخش کشاورزی می‌باشد بر اندام‌های مختلف کاراس طولانی و عملکرد آن‌ها تأثیرات نامطلوبی داشت. آبشش‌ها، کلیه و روده تحت تأثیر این سم بودند که میزان تأثیر این سم در تیمار ۲ بیش از تیمار ۱ بود. از آن‌جا که این سم در شالیزارها استفاده می‌شود و آب این شالیزارها دوباره به رودخانه‌ها بر می‌گردد، لازم است که سمی کم خطر جایگزین این سم شود. در صورت ناگزیر بودن از استفاده این سم، باید مقدار استفاده آن به حداقل رسد و تا حد ممکن از وارد شدن آب شالیزارهای سم‌پاشی شده به رودخانه و سایر محیط‌های آبی جلوگیری شود.

منابع

1. Banaee, M., Mirvaghefi, A.R., Mojazi Amiri, B., Rafei, Gh.R., and Nematdust, D. 2010. Hematological and Histopathological effects of diazinon poisoning in common carp (*Cyprinus carpio*). J. Fisheries, 64: 1. 1-13. [In persian]
2. Dutta, H.M., and Meijer, H.J. 2003. Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill (*Lepomis macrochirus*): a microscopic analysis. Environmental pollution. 125: 355-360.
3. Dutta, H.M. 1997. A composite approach for evaluation of the effect of pesticides on fish. In fish morphology: horizon of new research (Munshi, J.S. D., H.M. Dutta, Eds.) Science Publisher Inc. USA. 249-277.
4. Dutta, H.M., and Arends, D. 2003. Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile bluegill sunfish. Environmental Research. 91: 157-162.
5. Dutta, H.M., Munshi, J.S.D., Roy, P.K., Singh, N.K., Adhikari, S., and Killius, J. 1996. Ultra structural changes in the respiratory lamellae of the catfish, (*Heteropneustes fossilis*) after sublethal exposure to melathion. Environmental Pollution. 92: 329-341.
6. Dutta, H.M., and Maxwell, L.B. 2003. Histological examination of sublethal effects of diazinon on ovary of bluegill (*Lepomis macrochirus*). Environmental Pollution. 121: 95-102.
7. Eisler, R. 1986. Diazinon hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review, U.S. Fish and Wildlife Service. U.S. Dep. Int. Was. DC 85 (1.9). 1-38.
8. Moore, A., and Waring, C.P. 1996. Sublethal effects of the pesticide diazinon on olfactory function in mature male Atlantic salmon parr. J. Fish Biology. 48: 4. 758-775.

9. Roberts, T.R., and Huston, D.H. 1998. Metabolic Pathways of Agrochemicals. Part 2: Insecticides and Fungicides. The Royal Soc. Chem. Cambridge. 1475p.
10. Shayeghi, M., Shahtaheri, S.J., and Selseleh, M. 2001. Phosphorous insecticides residues in Mazandaran river waters, Iran. Iran J. Public Health. 30: 115-118.
11. Sohrabi, T., Hosseini, A. and Talebi, Kh. 2001. Tailwater quality changes in the rice-paddies of guilan and Foumanat. L. Science and Tech. Agric. and Nat. Resour. 5, 1, Isfahan Univ. Tech., Isfahan, Iran, 87p.
12. Trachman, H., Wilson, D., and Raop, P.S. 1992. The role of oxygen free radicals in the development of chronic renal failure. Life Sciences. 50: 1877-1883.
13. Vale, J.A. 1998. Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus OP insecticide poisoning. Toxicology Letters P. 102-103, 649.