

اثرات سم آترازین بر برخی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی تاسماهی شپ (*Acipenser nudiventris*) پرورشی

- **مرضیه ناجی***: دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، صندوق پستی: ۱۸۱-۱۹۷۳۵
- **سورنا ابدالی**: دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، صندوق پستی: ۱۸۱-۱۹۷۳۵
- **محمدعلی یزدانی**: موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت، صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵
- **ایوب یوسفی جوردی**: موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت، صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۱

چکیده

در این پژوهش، اثرات سم آترازین بر برخی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ۱۳۵ قطعه بچه تاسماهی شپ (*Acipenser nudiventris*) طی ۹۶ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. میزان LC50 - 96h آترازین ۳۲/۰۱ میلی گرم در لیتر تعیین گردید. سطوح آلبومین در برخی غلظت‌ها دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0/05$). سطوح کلسترول در همه غلظت‌ها و میزان تری گلیسرید در برخی تیمارها اختلاف معنی‌داری ($P < 0/05$) داشت. هماتوکریت به‌طور معنی‌داری ($P < 0/05$) با افزایش غلظت آترازین و با گذشت زمان افزایش یافت. تعداد گلبول‌های قرمز در غلظت‌های مختلف و با گذشت زمان و تعداد گلبول‌های سفید در مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌طور معنی‌داری ($P < 0/05$) کاهش یافت. میزان هموگلوبین و میانگین تغییرات حجم متوسط سلولی با افزایش غلظت سم در برخی زمان‌ها و تیمارهای متفاوت، اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) نشان داد. میانگین تغییرات غلظت هموگلوبین ذره‌ای در تیمارها و در زمان‌های مختلف نوسانات معنی‌داری ($P < 0/05$) نشان داد. تعداد لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و نوتروفیل با افزایش غلظت آترازین و با گذشت در برخی تیمارها نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری ($P < 0/05$) افزایش یافت. تعداد مونوسیت با افزایش غلظت آترازین و با گذشت زمان به‌طور معنی‌داری ($P < 0/05$) افزایش یافت. براساس جدول سطوح سمیت آفت‌کش‌ها، سم آترازین برای گونه شپ جزء مواد «سمی» طبقه‌بندی شده و می‌توان از تغییرات پارامترهای فوق به‌عنوان ابزار مهمی برای ارزیابی شرایط آسیب شناسی این ماهیان استفاده کرد.

کلمات کلیدی: آترازین، تاسماهی شپ، شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی، LC 50- 96h

مقدمه

استان‌های گیلان، مازندران و خوزستان به‌عنوان قطب‌های بزرگ کشاورزی کشور به‌شمار می‌آیند که مصرف مواد دفع آفات نباتی در این استان‌ها از میزان بسیار بالایی برخوردار است. از مجموع حدود ۳۵۰۰۰ تن ماده دفع آفات نباتی توزیع شده در سطح کشور حدود ۲۵۰۰۰ تن آن در اراضی کشاورزی استان‌های شمالی کشور مورد مصرف کشاورزان قرار می‌گیرد (موسوی، ۱۳۷۶). در بعضی موارد آفت‌کش‌ها اثرات مخرب بیش‌تری روی موجودات غیرهدف (آبزیان) نسبت به موجودات هدف (آفات) داشته که این خود در حساسیت بالاتر و مرگ و میر سریع‌تر و بیش‌تر آبزیان نهفته است. سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه‌های مهاجرپذیر شامل سفیدرود، گرگان‌رود، پل‌رود، تجن و شفارود می‌باشند که این رودخانه‌ها به‌دلیل 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 بچه‌ماهیان و حتی ماهیان بزرگ‌تر می‌گردند (اصلان پرویز، ۱۳۷۰). آتزازین یکی از پرمصرف‌ترین و اصلی‌ترین علف‌کش‌های رایج در دنیا طی ۴۰ سال گذشته است که جهت کنترل بسیاری از کشیده برگ‌ها و پهن برگ‌ها استفاده می‌شود. در ایران، از این سم به‌عنوان علف‌کش در مزارع پنبه، نیشکر، ذرت و غیره در استان گلستان و استان‌های جنوبی کشور به‌ویژه خوزستان استفاده می‌شود و این استان‌ها قطب اصلی پرورش ماهیان گرمابی در ایران محسوب می‌شوند. آتزازین علف‌کشی است از گروه تری‌آزین که به سرعت توسط ریشه جذب و از طریق آپوپلاست انتقال و هم‌چنین از طریق برگ نیز جذب می‌شود ولی انتقال آن صفر می‌باشد. آتزازین در آب آشامیدنی بعضی از مردم وجود دارد که بیش‌تر از حد مجاز می‌باشد. این ماده در ایران با نام تجاری گزاپریم (Gesaprim) و با فرمولاسیون WP80% به بازار عرضه می‌گردد. استفاده از علف‌کش‌ها اثرات مضر روی ماهی علی‌رغم تغییر زنجیره غذایی پلانکتونی دارند (Mason, ۱۹۹۱). در سواحل باتلاقی، لارو ماهی ممکن است در معرض آتزازین قرار گیرد. با توجه به این‌که هر ساله میلیون‌ها بچه ماهی خاویاری جهت بازسازی این ذخایر با ارزش به رودخانه سفیدرود رهاسازی می‌شود و فقدان اطلاعات کافی در مورد اثرات سم آتزازین روی تاسماهیان در آب‌های ایران و از طرفی مصرف زیاد آن در مزارع کشاورزی به‌ویژه غلات و پنبه شمال

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایشات تعداد ۱۳ عدد آکواریوم استفاده گردید. ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش آکواریوم‌ها آب‌گیری شدند و عملیات هوادهی انجام گرفت. مدت آزمایش ۹۶ ساعت در نظر گرفته شد. ماهیان مورد آزمایش به‌دقت توزین شده و پس از اطمینان از سلامتی و عدم ابتلا به بیماری به تعداد ۱۵ عدد در هر آکواریوم ریخته شد. بعد از معرفی ماهی‌ها به آکواریوم و سپری شدن زمان آدآپتاسیون، غلظت‌های مختلف سم بر اساس تیمارهای مورد نظر به آب آکواریوم‌های حاوی ماهی اضافه شد. برای اضافه نمودن سم ابتدا محلول استوک به حجم یک لیتر تهیه گردید. برای آزمایش اثرات آتزازین ۵ تیمار (شامل شاهد با غلظت ۴۰۰ تیمار بر اساس غلظت‌های ۲۵ppm، ۳۷/۵ppm، ۵ppm، ۱۰۰ppm) در نظر گرفته شد و سپس محلول سم به‌وسیله استوانه مدرج به اندازه غلظت‌های مورد نظر برداشته و به آکواریوم‌های حاوی ماهی ریخته شد (ابدالی و همکاران، ۱۳۹۱). طی دوره آزمایش تغذیه‌ای برای ماهیان صورت نگرفت. مرگ و میر ماهیان هر ۲۴ ساعت یک بار بررسی و برای هر آکواریوم به‌طور جداگانه ثبت گردید. ماهیان تلف شده به دقت بررسی شده و علائم ظاهری ایجاد شده ناشی از تاثیرات سم ثبت گردید. میزان LC50 - ۹۶ ساعت با استفاده از نرم‌افزار Probit و برنامه تحت SPSS ورژن ۱۶ محاسبه گردید. خون‌گیری با استفاده از سرنگ هپارینه شده از زیر ساقه دمی ماهیان انجام شد. پس از تهیه گسترش خونی، شمارش افتراقی سلول‌های خونی توسط دستگاه شمارنده دستی و میکروسکوپ نوری انجام شد. درصد هماتوکریت به روش میکروهماتوکریت اندازه‌گیری شد. پلاسما با استفاده از دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی گردید. شاخص‌های بیوشیمیایی از قبیل کلسترول، تری‌گلیسرید، آلبومین، پروتئین کل و گلوکز به‌روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. جهت انجام آنالیز آماری داده‌ها از آمار توصیفی به‌منظور تعیین میانگین، خطای استاندارد ($\pm$ SE) و غیره مربوط به شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن بر اساس شاخص‌های مورد بررسی به منظور معرفی اختلاف معنی‌دار در سطح خطاهای ۵ درصد بین



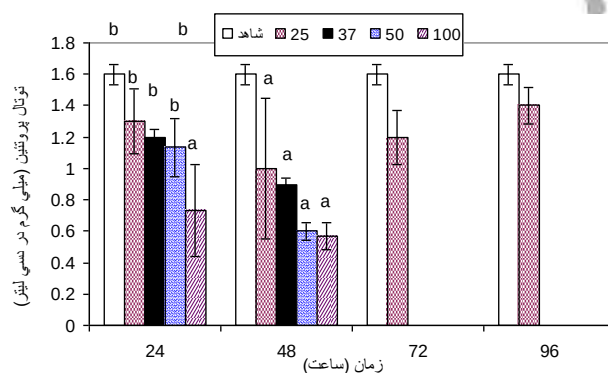
بعد از معرفی سم، ترشح موکوس افزایش یافت. حالت گلی رنگ زیر سطح بدن به دلیل تحرک و تجمع ملانوسیت‌ها دیده شد. انحنای ستون فقرات و فلج عصبی در ماهی مشاهده گردید. ششای نیم دایره‌ای و تیرگی سطح بدن نیز در مشاهدات وجود دارد. آنال ماهی‌ها متورم و سرعت تنفس آن‌ها تشدید گردید.

ب- نتایج حاصل از شاخص‌های بیوشیمیایی

میزان پروتئین کل در زمان‌های مشابه با افزایش غلظت سم به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش یافت (شکل ۱).

نتایج

الف - تغییرات ظاهری و رفتاری

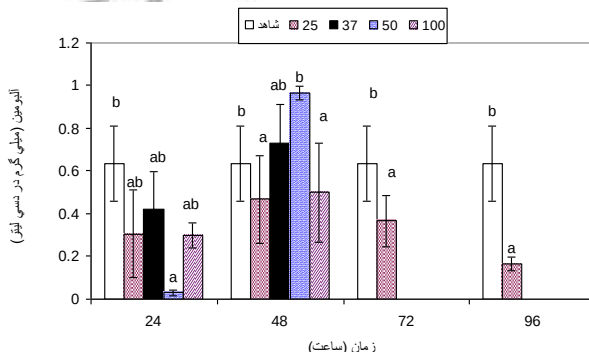


شکل ۱: نمودار تغییرات میزان پروتئین کل در دوزهای مختلف سم آترازین

*, فقط ماهیان تیمار شاهد و غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت زنده ماندند. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است.

زمان سطوح آلبومین در غلظت‌های مختلف نسب به تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) نشان داد (شکل ۲).

حداقل و حداکثر میزان آلبومین در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر در به‌ترتیب در ساعت ۲۴ و ۴۸ مشاهده گردید که دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در اغلب زمان‌ها و با گذشت



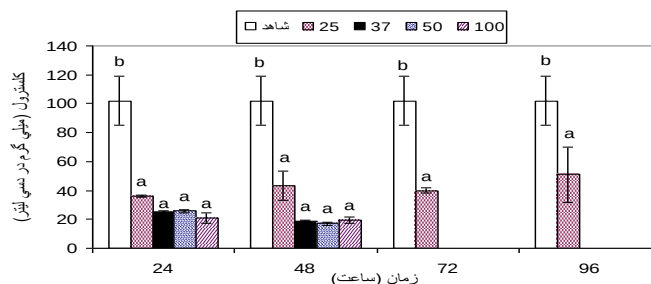
شکل ۲: نمودار تغییرات میزان آلبومین در دوزهای مختلف سم آترازین

*, فقط ماهیان تیمار شاهد و غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت زنده ماندند. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است.

معنی‌داری بود ($P < 0.05$) (شکل ۳).

سطوح کلسترول در همه غلظت‌ها و با گذشت زمان به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد روند نزولی داشت و دارای اختلاف





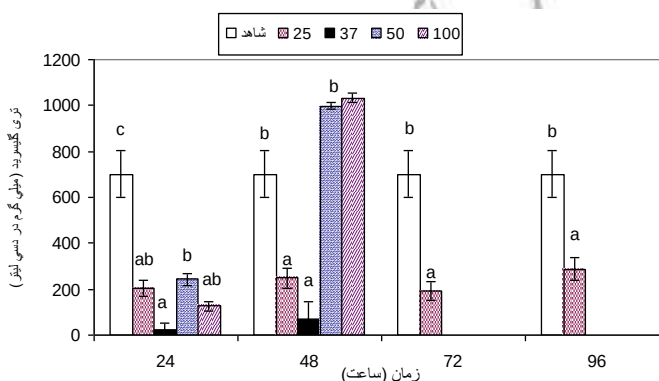
شکل ۳: نمودار تغییرات میزان کلسترول در دوزهای مختلف سم آترازین

*, فقط ماهیان تیمار شاهد و غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت زنده ماندند. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف معنی دار است.

معنی داری ($P < 0.05$) داشت (شکل ۴).

کمترین میزان تری گلیسیرید در غلظت ۳۷ میلی گرم در

لیتر مشاهده گردید که نسبت به شاهد و برخی تیمارها اختلاف



شکل ۴: نمودار تغییرات میزان تری گلیسیرید در دوزهای مختلف سم آترازین

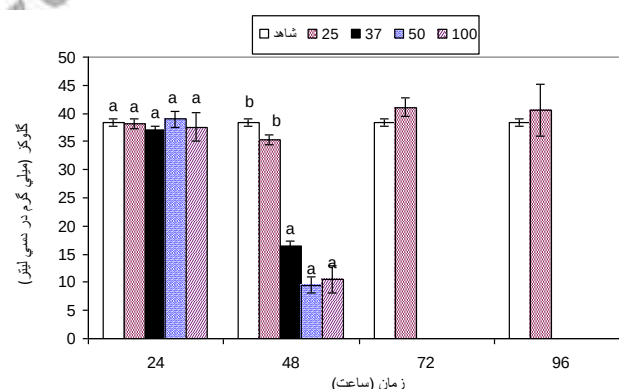
*, فقط ماهیان تیمار شاهد و غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت زنده ماندند. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف معنی دار است.

ساعت در غلظت‌های بالاتر به‌طور معنی داری کاهش یافت

(شکل ۵) ($P < 0.05$).

سطوح گلوکز در همه غلظت‌ها در زمان ۲۴ ساعت فاقد

اختلاف معنی دار با تیمار شاهد بود، درحالی که در زمان ۴۸

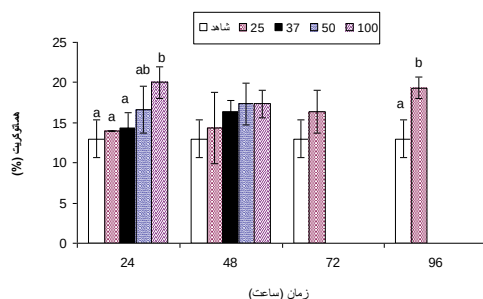


شکل ۵: نمودار تغییرات میزان گلوکز در دوزهای مختلف سم آترازین

*, فقط ماهیان تیمار شاهد و غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت زنده ماندند. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف معنی دار است.

ج- نتایج شاخص‌های سیتولوژیک

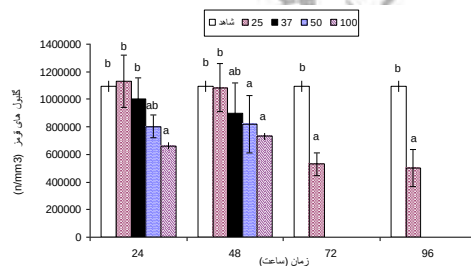
هماتوکریت به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) با افزایش غلظت آترازین و با گذشت زمان افزایش یافت (شکل ۶).



شکل ۶: نمودار تغییرات میزان هماتوکریت در غلظت‌های مختلف آترازین

※، فقط ماهیان تیمار شاهد و غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت زنده ماندند. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است.

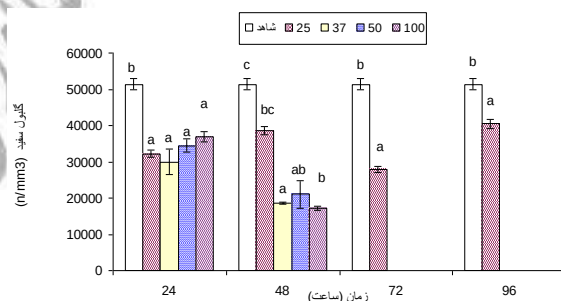
تعداد گلبول‌های قرمز به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) در غلظت‌های مختلف و با گذشت زمان کاهش یافت (شکل ۷).



شکل ۷: نمودار تغییرات سطوح گلبول‌های قرمز در غلظت‌های مختلف آترازین

※، فقط ماهیان تیمار شاهد و غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت زنده ماندند. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است.

تعداد گلبول‌های سفید به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (شکل ۸).

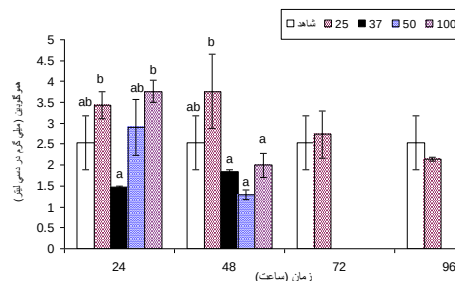


شکل ۸: نمودار تغییرات سطوح گلبول‌های سفید در غلظت‌های مختلف آترازین

※، فقط ماهیان تیمار شاهد و غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت زنده ماندند. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است.



میزان هموگلوبین، نوسانات معنی‌دار ($P < 0.05$) متفاوتی در را در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف نشان داد (شکل ۹).



شکل ۹: نمودار تغییرات میزان هموگلوبین در غلظت‌های مختلف آتزازین

*, فقط ماهیان تیمار شاهد و غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت زنده ماندند. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است.

میزان متوسط هموگلوبین ذره‌ای (MCH) در زمان ۲۴ ساعت بین اغلب تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). در حالی که در تیمار با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر در زمان ۹۶ ساعت کاهش یافت (جدول ۱).

میانگین تغییرات حجم متوسط سلولی (MCV) با افزایش غلظت سم در برخی زمان‌ها و تیمارهای متفاوت، اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) نشان داد. میانگین تغییرات غلظت هموگلوبین ذره‌ای (MCHC) در تیمارهای مورد مطالعه و در زمان‌های مختلف نوسانات معنی‌داری ($P < 0.05$) نشان داد.

جدول ۱: میانگین تغییرات میزان شاخص‌های گلبول‌های قرمز خون در غلظت‌های مختلف آتزازین طی ۹۶ ساعت

میانگین حجم متوسط سلولی (MCV)				غلظت (درصد)
زمان (ساعت)				
۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	
^a ۱۱۸/۷۲ ± ۱/۸	^a ۱۱۸/۷۲ ± ۱/۸	^a ۱۱۸/۷۲ ± ۱/۸	^a ۱۱۸/۷۲ ± ۱/۸	۰ (شاهد)
^b ۱۴۹/۲۱ ± ۱۵/۹	^a ۱۱۴/۸۳ ± ۱۱/۸	^a ۱۲۲/۲۳ ± ۳۸/۱	^b ۱۹۲ ± ۲/۱	۲۵
-	-	^b ۱۴۳ ± ۶۱/۵	^c ۲۹۴/۹ ± ۹۳/۳	۳۷/۵
-	-	^c ۲۸۳ ± ۱۵/۱	^b ۲۰۴/۴۱ ± ۱۴/۵	۵۰
-	-	^{ab} ۱۶۲/۵۲ ± ۳/۱۱	^b ۲۱۹/۹۲ ± ۱/۲	۱۰۰
میانگین هموگلوبین ذره ای (MCH)				
^a ۱۷/۴۶ ± ۱/۲	^a ۱۷/۴۶ ± ۱/۲	^a ۱۷/۴۶ ± ۱/۲	^a ۱۷/۴۶ ± ۱/۲	۰ (شاهد)
^a ۱۶/۵ ± ۱/۹	^b ۳۹/۲۶ ± ۹/۳	^b ۳۱/۴ ± ۶/۲	^b ۳۱/۴۶ ± ۵	۲۵
-	-	^{ab} ۲۶/۵ ± ۰/۸	^b ۳۸/۸۰ ± ۸/۲	۳۷/۵
-	-	^{ab} ۲۰/۶۶ ± ۴/۲	^b ۳۵/۱۶ ± ۴/۳	۵۰
-	-	^{ab} ۲۳/۳۳ ± ۵/۳	^b ۴۱/۴۶ ± ۱/۱	۱۰۰
میانگین غلظت هموگلوبین ذره ای (MCHC)				
^b ۱۹/۲۶ ± ۱/۳	^a ۱۹/۲۶ ± ۱/۳	^{ab} ۱۹/۲۶ ± ۱/۳	^{ab} ۱۹/۲۶ ± ۱/۳	۰ (شاهد)
^a ۱۱/۱۶ ± ۰/۱	^a ۲۳/۱ ± ۸/۹	^c ۲۷/۵۰ ± ۳/۴	^b ۱۶/۴۳ ± ۲/۱	۲۵
-	-	^a ۱۴/۶۲ ± ۰/۴	^a ۱۴ ± ۱/۹	۳۷/۵
-	-	^a ۱۳ ± ۱	^b ۱۷/۱۱ ± ۱/۱	۵۰
-	-	^b ۱۷/۴ ± ۰/۲	^{ab} ۱۹/۱۰ ± ۰/۵	۱۰۰

*, فقط ماهیان تیمار شاهد و تیمار با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت زنده ماندند. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در غلظت‌های مختلف است.



د- نتایج شمارش افتراقی لکوسیت‌ها

تعداد نوتروفیل‌ها با افزایش غلظت و گذشت زمان در برخی تیمارها افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) نسبت به تیمار شاهد نشان داد. حداقل میزان آن در زمان ۹۶ ساعت در غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر مشاهده گردید. تعداد لنفوسیت‌ها با افزایش غلظت آترازین و با گذشت زمان در برخی تیمارها نسبت به

شاهد به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش یافت. تعداد آئوزینوفیل در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت با افزایش غلظت آترازین و با گذشت زمان در برخی تیمارها نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش یافت (جدول ۲).

جدول ۲: تغییرات شاخص‌های افتراقی لکوسیت‌ها در مجاورت غلظت‌های مختلف سم آترازین طی ۹۶ ساعت

غلظت (درصد)				
لنفوسیت (درصد)				
زمان (ساعت)				
۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	
۰ (شاهد)	57.33 ± 0.6^a	57.33 ± 0.6^a	57.33 ± 0.6^a	
۲۵	66.33 ± 2.7^a	67 ± 1.5^b	73.66 ± 1.8^b	
۳۷/۵	77.66 ± 1.9^b	-	-	
۵۰	81.33 ± 5.8^a	-	-	
۱۰۰	82.33 ± 1.4^a	-	-	
آئوزینوفیل (درصد)				
۰ (شاهد)	4 ± 0.6^a	4 ± 0.6^a	4 ± 0.6^a	
۲۵	6.66 ± 0.3^{ab}	5 ± 1.5^a	5.21 ± 1.5^a	
۳۷/۵	9.33 ± 2.3^b	-	-	
۵۰	8 ± 1.8^{ab}	-	-	
۱۰۰	10.66 ± 2.3^b	-	-	
نوتروفیل (درصد)				
۰ (شاهد)	12 ± 0.33^b	12 ± 0.3^a	12 ± 0.3^a	
۲۵	12.66 ± 2.9^b	13.6 ± 2.6^a	14 ± 2^a	
۳۷/۵	8 ± 1^a	-	-	
۵۰	12.66 ± 3.6^b	-	-	
۱۰۰	20.33 ± 1.3^c	-	-	
مونوسیت (درصد)				
۰ (شاهد)	10.66 ± 0.6^b	10.66 ± 1.7^b	10.66 ± 0.3^b	
۲۵	10.66 ± 2.9^b	7.33 ± 2.6^a	7.33 ± 2.6^a	
۳۷/۵	10.10 ± 0.6^b	-	-	
۵۰	8.33 ± 0.6^b	-	-	
۱۰۰	6.66 ± 0.6^a	-	-	

※، فقط ماهیان تیمار شاهد و تیمار با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت زنده ماندند. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف معنی دار در غلظت‌های مختلف است.

بحث

بیولوژیکی آلودگی‌های محیط‌های آبی واکنش نشان دهند. نظارت بر پارامترهای خونی سلولی و غیرسلولی امکان تشخیص نشانه‌های سمیت علفکش‌ها را فراهم می‌کند. حساسیت گونه‌های مختلف ماهی به مواد سمی متفاوت است به

ماهی‌ها یکی از گسترده‌ترین ارگانیزم‌ها در محیط آبی و حساس به آلودگی محیطی هستند که ممکن است به تأثیرات



بنابراین، پروتئین سرم کاهش می‌یابد. به هم خوردن تعادل خونی شاخص مهمی از آسیب کلیه است. آسیب کلیه سبب افزایش ترشح کلیوی پروتئین خون می‌شود و نیز ممکن است منجر به کاهش پروتئین سرم در ماهیان انگشت‌قد شود. Hossein و همکاران (۱۹۹۶)، گزارش دادند که کاهش پروتئین کل در گونه تیل‌پای رودنیل (*Oreochromis niloticus*) و *Chrysichthys auratus* در اصل به دلیل کاهش گلوبولین است که بیانگر اثرات سمیت آترازین بر سیستم ایمنی این ماهیان بود. در مطالعه حاضر کاهش پروتئین پلاسما ماهی می‌تواند ناشی از سمیت مزمن آترازین به دلیل اثرات سمی این سم بر طحال، کبد و کلیه می‌باشد.

Ramesh و همکاران (۲۰۰۹)، اثرات سمیت حاد آترازین بر فاکتورهای خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) را مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که سطوح پارامترهای خونی مورد مطالعه به طور معنی‌داری از سمیت آترازین اثر پذیرفت. Gluth و Hanke (۱۹۸۵)، دریافتند که گونه کپور قرار گرفته در مجاورت ۱۰۰ گرم در لیتر آترازین به مدت ۷۲ ساعت کاهش معنی‌داری در غلظت‌های پروتئین پلاسما، خون را نشان داد که به دلیل اثر رقیق‌سازی خون در ماهیان تحت تیمار بود. کلسترول ماده پیش‌ساز همه هورمون‌های استروئیدی است. کاهش میزان کلسترول ممکن است مربوط به مصرف آن جهت تولید کورتیزول ناشی از استرس ایجاد شده توسط سم آترازین باشد. تری‌گلیسیرید شکل ذخیره‌ای چربی و منبع اصلی چربی‌ها است که در جریان خون وجود دارد. کاهش میزان تری‌گلیسیرید پلاسما، خون در غلظت‌های بالای سم آترازین می‌تواند ناشی از اختلال ایجاد شده توسط غلظت‌های بالاتر سم بر دستگاه گوارش، کبد و آنزیم‌های مربوطه و برهم خوردن تعادل هورمونی و اختلال در متابولیسم طبیعی در ماهیان مورد مطالعه باشد (Robinson، ۱۹۹۰). مقادیر بالای گلبول قرمز و غلظت هموگلوبین خون پاسخی به افزایش تقاضای سوخت و ساز در بدن است. افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون بیانگر تقاضای بالای نیاز اکسیژنی برای دستیابی به اکسیژن بیشتر جهت سوخت و ساز بالاتر می‌باشد (Zhou و همکاران، ۲۰۱۱؛ Stathiskumar و همکاران، ۲۰۱۱). سطوح هماتوکریت به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) با افزایش غلظت آترازین و با گذشت زمان افزایش یافت که به دلیل افزایش حجم کاذب ناشی از تورم گلبول‌های قرمز ناشی از استرس القاء شده و رهاسازی کاتکول آمین‌ها در اثر سمیت آترازین بود (Beyea و همکاران، ۲۰۰۵). تعداد گلبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین با افزایش

همین دلیل آزمایش سم‌شناسی روی ماهیان مختلف صورت می‌گیرد. سمیت آترازین در ماهی وابسته به دوز سم و گونه‌های ماهی، با غلظت مرگ‌آوری حدود بین ۳ و ۴۵ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد (Elia و همکاران، ۲۰۰۲). تاثیر غلظت تحت کشنده ۱۰۰ گرم بر لیتر آترازین در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) باعث افزایش گلوکز و کاهش در غلظت پروتئین و کلسترول و کاهش گلیکوژن در کبد و ماهیچه‌ها می‌گردد (Gluth و Hanke، ۱۹۸۵). در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) دوز حد مسمومیت آترازین (بین ۱۰ و ۱۶۰ گرم بر لیتر) سبب تاثیرات مختلفی بر لوله‌های کلیه، تکثیر، شبکه آندوپلاسمیک، میتوکندری و لیزوزوم، و به هم ریختگی شبکه گلژی شد (Oulmi و همکاران، ۱۹۹۵). تجمع زیستی آترازین در کبد تیل‌پایا (*Tilapia sparrmanii*) ۵۰ گرم بر گرم، بعد از ۷۲ ساعت در معرض ۱۶ میلی‌گرم بر لیتر و در کبد (۴۰ گرم بر گرم، بعد از ۷۲ ساعت در همان دوز) بود (Du، van Vuren و preez، ۱۹۹۲). ماهی سالمون در معرض ۱۰۰ گرم بر لیتر آترازین دچار کاهش مصرف غذا بعد از ۱۰ تا ۱۵ روز شد که این تغییر رفتار نتیجه کاهش فعالیت Acetyl Cholinesterase می‌باشد (Hossein و همکاران، ۱۹۹۶). تعداد گلبول قرمز ۶۳/۱۷ درصد، هموگلوبین ۲۷/۳۵ درصد، گلوکز ۶/۷۸ درصد و پروتئین ۱۸/۷۳ درصد در مقایسه با گروه شاهد کاهش داشت. در حالی که گلبول‌های سفید ۳/۷۳ درصد افزایش داشت. برای ارزیابی تاثیر سمیت آترازین در تفریخ *Mummichog* (*Fundulus heteroclitus*) آن‌ها را در معرض آترازین (۵، ۰، ۵، ۵۰، ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر) استفاده گردید. پروتئین کل بدن و چربی بعد از ۹۶ ساعت کاهش یافت. تغییرات در متابولیسم کربوهیدرات به عنوان گلوکز پلاسما اندازه‌گیری می‌شود و می‌تواند به عنوان یک شاخص استرسی معمول در ماهی به کار رود. کاهش در سطوح گلوکز سرم پس از مجاورت با سموم به نظر می‌رسد که ناشی از شرایط هیپوکسی باشد که منجر به مصرف زیاد کربوهیدرات ذخیره شده می‌شود. به علاوه Hossein و همکاران (۱۹۹۶)، خاطر نشان کردند که کاهش در جذب غذا در ماهی قرار گرفته در مجاورت سمیت آترازین می‌تواند دلیل دیگری بر کاهش سطوح گلوکز پلاسما باشد. غلظت پروتئین سرم خون ماهی عنوان یک شاخص وضعیت سلامت عمومی آن‌ها به کار می‌رود. Das و همکاران (۲۰۰۴)، گزارش کرد که تقاضای انرژی بیشتر ممکن است مصرف پروتئین را تشدید کند، فرایندی که پروتئین را به انرژی تبدیل می‌شوند.



که آترازین سبب مختل شدن سیستم ایمنی نرمال بدن و افزایش خطر عفونت در غلظت‌های بالا می‌شود (Maria و همکاران، ۱۹۸۶). براساس نتایج این تحقیق مشخص شد که قرار گرفتن بچه تاسماهیان شپ در معرض سم آترازین حتی در غلظت ۲۵ppm پس از ۹۶ ساعت، بر روی تعداد زیادی از فاکتورهای هماتولوژیکی و بیوشیمیایی و خونی آن‌ها تاثیر بیانگر سمی بودن آترازین حتی در غلظت‌های پایین برای بچه ماهیان شپ می‌باشد. بنابراین، باید از استفاده بی‌رویه این سم در مصارف کشاورزی برای از بین بردن علف‌های هرز خودداری کرد و از سموم کم خطرتر و با پایداری کم‌تر استفاده شود تا بتوان در راه حفظ ذخایر این ماهیان با ارزش بیش‌تر کوشید.

منابع

۱. ابدالی، س.؛ یوسفی جوردی، ا. و کاظمی، ر.، ۱۳۹۱. بررسی اثرات سم آترازین بر شاخص‌های ایمنی و برخی شاخص‌های خونی ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) پرورشی. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ۷۵ صفحه.
۲. اصلان پرویز، ح.، ۱۳۷۰. تاریخچه سفرهای تحقیقاتی ماهی شناسی در دریای خزر، مجله آبیان، شماره ۱۱. ۲۵ صفحه.
۳. موسوی، م. و رستگار، م.، ۱۳۷۶. آفت‌کش هادر کشاورزی. انتشارات دانشگاه تهران. ۷۰۴ صفحه.
4. Aaronson, M.J., 1980. Identification and confirmation of atrazine in pond water. Bull Environ Contam Toxicol. 25:492-498.
5. Ajani, F., 2008. Hormonal and hematological responses of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) to ammonia toxicity. African Journal of Biotechnology. 7:3466-3471.
6. Antychowicz, J.; Szymbor, E. and Roszkowski, J., 1979. Investigations upon the effects of some pesticides on carp (*Cyprinus carpio*). Bull. Vet. Inst. In Pulawy. 23:124-130.
7. Beyea, M.M.; Benfey, T.J. and Kieffer, J.D., 2005. Hematology and stress physiology of diploid and triploid juvenile shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*).

غلظت آترازین کاهش یافت که ناشی از اثرات مخرب سم بر آن‌ها و متابولیسم بدن بود (Zhou و همکاران، ۲۰۱۱). مطالعه روی خون قزل‌آلای رنگین‌کمان که در شرایط استرس‌زای سازگاری قرار گرفته بود، نشان داد که میزان هماتوکریت و هموگلوبین در شرایط استرس‌زا (سازگاری با یک محیط جدید) بالاتر بود و این عامل سبب افزایش حجم گلبول قرمز و در نتیجه افزایش درصد هماتوکریت شود (Gabriel و همکاران، ۲۰۰۷). از آنجایی که افزایش درصد هماتوکریت ماهیان در شرایط استرس‌زا، نخست ناشی از افزایش حجم گلبول قرمز خون (نه افزایش تعداد) است، بنابراین همواره ارتباط مستقیمی بین درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون برقرار نخواهد بود. استرس ناشی از هر عامل (مانند سم آترازین) باعث آزادسازی کاتکولامین‌ها و تحریک و بسیج گلبول‌های قرمز خون از طحال (که معمولاً با تأخیر صورت می‌گیرد) و در نتیجه متورم شدن گلبول‌های قرمز می‌گردد (Bia و همکاران، ۲۰۰۵) و طحال، گلبول‌های قرمز جدید را به سمت خون رهاسازی می‌کند، این پدیده سبب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین و همه این تغییرات سبب افزایش ظرفیت حمل اکسیژن محلول خون در تنظیم ذخیره تقاضای منابع اکسیژن در شرایط استرس‌زا می‌گردد (Ajani، ۲۰۰۸). تعداد گلبول‌های سفید به‌طور معنی‌داری با افزایش غلظت آترازین و به‌دلیل استرس ناشی از سمیت آن افزایش یافت (Ajani، ۲۰۰۸). در این تحقیق فراوان‌ترین لکوسیت، یاخته لنفوسیت بود. فراوانی این یاخته به‌شدت تحت تاثیر مواد آلاینده محیطی می‌باشد. به‌طوری که با وجود مواد سمی و دارویی (Katarious و همکاران، ۲۰۰۲) به‌شدت کاهش می‌یابد. لکوسیت‌ها در تنظیم عملکرد ایمنولوژیک نقش دارند و تعداد آن‌ها در پاسخ به استرس افزایش می‌یابد. افزایش تعداد آن‌ها می‌تواند ناشی از افزایش تولید لنفوسیت‌ها از بافت‌های لنفوئیدی باشد (Larsson و Johansson-Sjoberck، ۱۹۷۸). تعداد لنفوسیت‌ها با افزایش غلظت آترازین و با گذشت زمان در برخی تیمارها نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش یافت. آترازین سبب کاهش تعداد لنفوسیت‌های نوع B که سلول‌های سیستم ایمنی می‌باشند، گردید. Luiz و همکاران (۲۰۱۰)، بیان داشتند که آترازین پاسخ ایمنی طبیعی در گربه‌ماهی نقره‌ای را کاهش داد و سبب تحریک ایمنی غیراختصاصی بدن و در نتیجه بی‌نظمی در سیستم ایمنی و سبب بروز بیماری‌های خود ایمنی شد. مطالعات مختلف دیگری نشان داده است



- atrazine in three gramineae subfamilies. Weed Sci. Vol. 25, No. 3, pp.212–220.
17. **Johansson-Sjoberg, M.L. and Larsson, A., 1978.** The effect of cadmium on the hematology and on the activity of delta-amino leverlinic acid dehydratase (ALA-D) in blood and hematopoietic tissues of the flounder, *Platichthys flesus* (L.). Environ. Res.17:191-204.
 18. **Luiz, C.K.; Leonardo, G.B.; Ezequiel, S.; Ariane, G.C.; Mateus, P. and Rafael, Z., 2010.** Altered immunological parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to sublethal concentration of an atrazine based on herbicide. Ecotoxicol. Environm. Saf.72:1-3.
 19. **Mallatt, J., 1985.** Cengiz and Unlu 2003. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A statistical review. Can. J. Fish.Aquat.Sci.42:630-648.
 20. **Maria, S.C., 1986.** Subacute Atrazine treatment effects on rat renal functions, Bull.Environ.Contam.Toxicol.36:325-331.
 21. **Mason, C.F., 1991.** Biology of freshwater pollution second edition. Longman Scientific Technical. pp.21-41.
 22. **Neskovic, N.K.; Poleksic, V.; Elezovic, I.; Karan, V. and Budimir, M., 1993.** Biochemical and Histopathological Effects of Glyphosate on Carp, *Cyprinus carpio* L. Bull.Environ.Contam.Toxicol.56:295-302.
 23. **Oropesa, L., 2005.** Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A statistical review. Can. J. Fish. Aquat. Sci.42:630-648.
 24. **Oulmi, Y.; Negele, R.D. and Braunbeck, T., 1995.** Segment specificity of the cytological response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) renal tubules following prolonged exposure to sublethal concentrations of atrazine. Ecotoxicol. Environ. Saf.32:39–50.
 25. **Peseridi, N.E., 1986.** *Acipenser guldenstadti* Brandt– russkii osetr, in Holcik, J., Ed. The fresh water fishes of Europe, Vol. 1, part .2, AULA–Verlag, Weishaden publication.
 26. **Pierson, F.B.; Moffet, C.A.; Williams, C.J.; Hardegree, S.P. and Clark, P., 2004.** Prescribed-fire effects on rill and Fish Physiology and Biochemistry.31: 303-313.
 8. **Das, P.C.; Ayyappan, S.; Jena, J.K. and Das, M., 2004.** Acute toxicity of ammonia and its sublethal effects on hematological and enzymatic parameters of mrigala, *Cirrhinus mrigala*. (Hamilton). Aquatic. Research.35:134-143.
 9. **Diana, S.G.; Restrains, W.J.; Tavera, D.J.; Bechmen, K.B. and Mendoza, V.R., 2002.** Effects of atrazine on amphibian growth and survival in artificial aquatic communities. Environ. Toxicol. Chem.19:2961–2967.
 10. **Donna, A.; Crosignani, P. and Robutti, F., 1989.** Triazine herbicides and ovarian epithelial neoplasms. Scand J Work Environ Health.15:47-53.
 11. **Du Preez, H.H. and van Vuren, J.H.J., 1992.** Bioconcentration of atrazine in the banded tilapia, *Tilapia sparrmanii*. Comp. Biochem. Physiol. 101:651–655.
 12. **Elia, A.C.; Waller, W.T. and Norton, S.J., 2002.** Biochemical responses of bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*, Rafinesque) to atrazine induced oxidative stress. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 68: 809–816.
 13. **Gabriel, U.U.; Ezeri, G.N.O. and Opabunmi, O.O., 2007.** Influence of sex, source, health status and acclimation on the hematology of *Clarias gariepinus* (Burch, 1822). African Journal of Biotechnology.3:463-467.
 14. **Gluth, G. and Hanke, W., 1985.** A comparison of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, induced by several pollutants at sublethal concentrations. I. The dependency on exposure time. Ecotoxicology. Environmental.9:179-188.
 15. **Hossein, S.; El-Nasser, M.A. and Ahmed, S.M., 1996.** Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on freshwater fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthys auratus* at Assiut, Egypt. Bull. Environmental. Contamination. Toxicology. 57: 503-510.
 16. **Jensen, K.I.N.; Stephenson, G.R. and Hunt, L.A., 1987.** Detoxification of



35. **Wilson, R.W. and Taylor, E.W., 1993.** The physiological responses of freshwater rainbow trout, *Onchorynchus mykiss*, during acute exposure. J. Comp. Physiol. 163b:38- 47.
36. **Zhou, T. and Zhang, J., 2011.** The Vertical Structures of Atmospheric Temperature Anomalies associated with Two Flavors of El Niño Simulated by AMIP II Models, Journal of Climate., Vol. 24, No. 4, pp.1053-1070
- interrill runoff and erosion in a mountainous sagebrush landscape. Earth Surface Processes and Landforms.34: 193-203.
27. **Prasad, R.; Zainol, M.S.B.; Ahmad, I. and Krishnaiah, D., 2011.** Kinetics study of microwave assisted extraction of hypoglycemic active compounds from *Ceriops Decandra* sp. leaves using ethanol: Comparison with the soxhlet extraction. J. Applied Sci., 11:2364-2369.
28. **Puigdoller, K.N.; Bjornsson, B.T.; McCormick, S.D., 2007.** Effects of hexazinone and atrazine on the physiology and endocrinology of smolt development in Atlantic salmon. Aquat. Toxicol. 84: 27-37.
29. **Ramesh, M.; Srinivasan, R. and Saravanan, M., 2009.** Effect of atrazine (herbicide) on blood parameters of common carp, *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes). African Journal of Environmental Science and Technology. 3:453-458.
30. **Roberts, R.J., 2001.** Fish pathology. Second ed. Balliere Tindal. 467p.
31. **Robinson, D.S., 1990.** Plasma triglyceride metabolism. Journal of clinical Pathology. 5:5-10.
32. **Satheeshkumar, P.; Ananthan, G.; Senthil kumar, D. and Jagadeesan, L., 2011.** Haematology and biochemical parameters of different feeding behaviour of teleost fishes from Vellar estuary, India. Comparative Clinical Pathology.
33. **Tyler, C.R.; Sumpter, J.P.; Kawauchi, H. and Swanson, P., 1993.** Involvement of gonadotropin in the uptake of vitellogenin into vitellogenic oocytes. Gen. Comp. Endocrinol. 84:291-299.
34. **Wang, L. and Winans, S.C., 1994.** The sixty nucleotide OccR operator contains a subsite essential and sufficient for OccR binding and a second subsite required for ligand-responsive DNA bending. J Mol Biol.253:691-702.



Impacts of Atrazine on some blood and biochemical indices in farmed *Acipenser nudiventris*

- **Marzieh Naji***: Faculty of of Marine Science and Technology, Islamic Azad University North Tehran Branch, P.O.Box: 19585-936, Tehran, Iran
- **Soorena Abdali**: Faculty of of Marine Science and Technology, Islamic Azad University North Tehran Branch, P.O.Box: 19585-936, Tehran, Iran
- **Mohammad Ali Yazdani**: Dadman international sturgeon research institute, P.O.Box: 3464-41635, Rasht, Iran
- **Ayoub Yousefi Jourdehi**: Dadman international sturgeon research institute, P.O.Box: 3464-41635, Rasht, Iran

Received: February 2013

Accepted: April 2013

Keywords: Atrazine, *Acipenser nudiventris*, Blood and biochemical parameters, LC50- 96h.

Abstract

In this study, the effects of the Atrazine were studied on some blood biochemistry parameters in 135 *Acipenser nudiventris* during a 96 hours period. These examinations were made by 4 treatments and each treatment repeated these exams three times with a blank. The amount of LC50-96h of Atrazine was estimated 32.01 mg per liter. Albumin showed significant difference at some concentrations ($P < 0.05$). The Cholesterol level in all concentrations showed significant decrease in comparison with the blank in time. The Triglyceride had its minimum amount in the concentration of 37 mg per liter, which had a significant difference with respect to the blank and some other treatments ($P < 0.05$). Hematocrit percent increased meaningfully with the increase of the Atrazine concentration, and the red blood cells (RBC) decreased meaningfully in different treatments. Hemoglobin showed meaningful tolerance in different times and concentrations. Changes in the average cellular volume had a meaningful difference with the increase of the Atrazine dose and in different treatments and times. The average changes in the hemoglobin corpuscular showed a meaningful difference in different treatments and different times. The average of corpuscular hemoglobin in 24 hours had a meaningful increase in the most of the treatment in comparison with the blank. Neutrophils have increased meaningfully with the increase of concentration and with passing time. Lymphocytes have increased meaningfully with the increase of the Atrazine concentration in comparison to the blank. The monocytes have increased meaningfully in time and with the increase of the Atrazine concentration. According to the table of the toxicity levels, Atrazine is considered as 'toxic' for *Acipenser nudiventris* and we can use the changes in the desired parameters as tools in analyzing the status in the pathobiology of fishes.

