University of Tehran Press

Journal of Veterinary Research

Homepage: jvr.ut.ac.ir

Online ISSN: 2251-6190

Original Article

J Vet Res, Volume 78, Number 4, 2023, 259-271

Effects of Chronic Toxicity of Bensulfuron-Methyl on Hematological and Serum Biochemical Markers and Liver Tissue of Common carp (*Cyprinus carpio*)

Fatemeh Rahmani Khanghahi[1]✉, Shila Omidzahir[2]✉, Abdolali Movahedinia[2]✉, Maryam Akhoundian[2]✉

[1] *Graduated from the Faculty of Marine and Environmental Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran*
[2] *Department of Marine Biology, Faculty of Marine and Environmental Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran*

Received: *4 July 2023*, ***Accepted:*** *13 September 2023*

10.22059/jvr.2023.362740.3370 20.1001.1.20082525.1402.78.4.3.1

Abstract

BACKGROUND Agricultural pesticides can cause environmental pollution and damage to aquatic organisms. Bensulfuron-methyl is a widely used herbicide in agricultural fields, especially rice fields. Despite the solubility of Bensulfuron-methyl in water and its entry into aquatic environments, limited research has been conducted on the toxicity of this herbicide in aquatic organisms.

OBJECTIVES: This study aims to investigate the effects of chronic toxicity of Bensulfuron-methyl in common carp (*Cyprinus carpio*).

METHODS: The fish were divided into four groups. Group 1 was considered as a control, and groups 2, 3, and 4 were exposed to 10 %, 20 %, and 30 % of the 96 h lethal concentration 50 of Bensulfuron-methyl equal to 0, 0.162, 0.324 and 0.486 g/L. After 21 days, blood samples, serum levels, and liver tissue of fishes were analyzed.

RESULTS: The number of white blood cells increased in groups 2 and 3 (received 0.162 and 0.324 g/L Bensulfuron-methyl) compared to group 1, while a significant decrease was observed in group 4 (received 0.486 g/L Bensulfuron-methyl) compared to other groups. The number of red blood cells, the amount of hemoglobin, and the percentage of hematocrit in groups 3 and 4 showed a significant decrease compared to other groups, and the values of mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, and mean corpuscular hemoglobin concentration were not significantly different in any groups. The amount of total serum protein in groups 3 and 4 decreased significantly compared to the control group. Serum glucose showed a significant increase in groups 3 and 4 compared to other groups. The values for aspartate aminotransferase, alanine transaminase, and alkaline phosphatase enzymes showed an increasing trend with the increase of Bensulfuron-methyl concentration. The most liver tissue damage was observed in group 4, which included hyperemia, hepatocyte vacuolar degeneration, edematous cell infiltration, bile duct hyperplasia, and hepatic necrosis.

CONCLUSIONS: The increase in the concentration of Bensulfuron-methyl can cause liver tissue damage and changes in hematological and serum biochemical markers in common carp.

Keywords: Bensulfuron methyl, *Common carp*, Hematology, Liver, Toxicology

Copyright © Journal of Veterinary Research: Open Access; Copying, distribution and publication are free for full use with attribution. ©The Author(s).
Publisher: University of Tehran Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Shila Omidzahir, Tel/Fax: +9811-35305113/+9811-35302921

How to cite this article:

Rahmani Khanghahi F, Omidzahir S, Movahedinia A, Akhoundian M. Effects of Chronic Toxicity of Bensulfuron-Methyl on Hematological and Serum Biochemical Markers and Liver Tissue of Common carp (*Cyprinus carpio*). J Vet Res, 2023; 78(4): 259-271. doi: 10.22059/jvr.2023.362740.3370

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Mean serum levels in different groups. Note: the letters above numbers indicate significant differences among group).

Table 2. Type and severity of the damage observed in the liver tissue. Note: $^{-}$ indicates no damage; $^{+}$ mild damage, $^{++}$ moderate damage, and $^{+++}$ severe damage.

Figure 1. Mean level of hematological markers in different groups. Note: the letters in the columns indicate significant differences among groups.

Figure 2. Liver tissue, H&E staining (×40). (A) group 1 or control, (B) group 2 (received 0.162 g/L Bensulfuron-methyl), (C) and (D) group 3 (received 0.324 g/L Bensulfuron-methyl), (E) and (F) group 4 (received 0.486 g/L Bensulfuron-methyl). Arrow 1 indicates hepatocyte vacuolar degeneration; arrow 2 shows hyperemia; arrow 3 shows edematous cell infiltration; arrow 4 shows hepatic necrosis; and arrow 5 indicates bile duct hyperplasia.

مجله تحقیقات دامپزشکی
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۶۱۹۰-۲۲۵۱
مقاله پژوهشی
انتشارات دانشگاه تهران
دوره ۷۸، شماره ۴، ۱۴۰۲، ۲۷۱-۲۵۹

بررسی اثرات سمیت مزمن بن‌سولفورون‌متیل بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم و بافت کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

فاطمه رحمانی‌خانقاهی[۱]، شیلا امیدظهیر[۲]، عبدالعلی موحدی‌نیا[۲]، مریم آخوندیان[۲]

[۱] *دانش‌آموخته دانشکده علوم دریایی و محیطی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران*
[۲] *گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی و محیطی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران*

تاریخ دریافت: ۱۳ تیر ماه ۱۴۰۲ ، **تاریخ پذیرش:** ۲۲ شهریور ماه ۱۴۰۲
10.22059/jvr.2023.362740.3370
20.1001.1.20082525.1402.78.4.3.1

چکیده

زمینه مطالعه: سموم دفع آفات کشاورزی از عوامل مهمی می‌باشند که می‌توانند با ورود به محیط‌های آبی سبب آلودگی محیط زیست و آسیب به موجودات آبزی گردند. بن‌سولفورون‌متیل یک علف‌کش است که در مزارع کشاورزی به ویژه مزارع برنج کاربرد فراوانی دارد.

هدف: با وجود حلالیت بن‌سولفورون‌متیل در آب و ورود آن به محیط‌های آبی مطالعات محدودی بر روی میزان سمیت این علف‌کش در موجودات آبزی صورت گرفته است. مطالعه حاضر اثرات سمیت مزمن بن‌سولفورون‌متیل را در ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار داده است.

روش‌کار: ماهی‌ها در ۴ گروه تقسیم شدند. گروه ۱ به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و گروه‌های ۲، ۳ و ۴ به ترتیب در معرض غلظت‌های ۱۰ درصد، ۲۰ درصد و ۳۰ درصد میانه غلظت کشنده ۹۶ ساعته بن‌سولفورون‌متیل برابر با ۰، ۰/۱۶۲، ۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر بن‌سولفورون متیل قرار گرفتند. پس از ۲۱ روز نمونه‌های خون، سرم و بافت کبد ماهی‌ها بررسی شدند.

نتایج: تعداد گلبول‌های سفید خون در گروه‌های ۲ و ۳ (۰/۱۶۲ و ۰/۳۲۴ گرم در لیتر) نسبت به گروه ۱ (شاهد) افزایش یافت، در حالی که در گروه ۴ (۰/۴۸۶ گرم در لیتر) کاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد. تعداد گلبول‌های قرمز، مقدار هموگلوبین و درصد هماتوکریت در گروه‌های ۳ و ۴ (۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر) روند کاهشی و معنی‌داری را نسبت به سایرگروه‌ها نشان دادند و مقادیر MCV، MCH و MCHC در هیچ‌یک از گروه‌ها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. مقدار پروتئین تام سرم در گروه‌های ۳ و ۴ (۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر) نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار داشت. گلوکز سرم در گروه‌های ۳ و ۴ (۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر) در مقایسه با گروه‌های دیگر افزایش معنی‌داری نشان داد و آنزیم‌های AST، ALT و ALP با افزایش غلظت بن‌سولفورون متیل روند افزایشی داشتند. بیشترین آسیب بافتی درگروه ۴ (۰/۴۸۶ گرم در لیتر) به صورت پرخونی، دژنرسانس واکوئلی هپاتوسیت‌ها، نفوذ سلول‌های آماسی، هیپرپلازی مجاری صفراوی و نکروز هپاتوسیت‌ها در بافت کبد مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری نهایی: افزایش غلظت بن‌سولفورون‌متیل سبب بروز و مشاهده آسیب‌های بافتی در کبد و تغییرات در شاخص‌های خونی و سرمی ماهی کپور معمولی گردید.

کلمات کلیدی: بن‌سولفورون متیل، خون شناسی، سم شناسی، کبد، ماهی کپور معمولی

کپی‌رایت © مجله تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است، © نویسندگان.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: *شیلا امیدظهیر، گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی و محیطی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران*

مقدمه

استفاده از سموم مختلف در مبارزه با آفات دارای تاریخچه بسیار طولانی است. با توجه به تراکم کشت‌های مختلف و این که ساده‌ترین راه پیشگیری از بروز آفات در مزارع کشاورزی، استفاده از مواد شیمیایی است، سال‌هاست بشر برای دفع آفات از انواع مواد شیمیایی استفاده می‌کند (۱). برای از بین بردن بیماری‌های گیاهی و افزایش محصولات کشاورزی از سموم مختلف دفع آفات استفاده می‌شود که همواره با نگرانی‌های عمده‌ای در مورد خطرات زیست محیطی ناشی از مصرف آفت‌کش‌ها همراه بوده است. به دلیل استفاده نابجا و بیش

از حد مجاز از سموم دفع آفات و پایداری این مواد در محیط عوارض جانبی مختلفی به سموم دفع آفات نسبت داده شده است (۲). مصرف گسترده آفت‌کش‌ها سبب به خطر افتادن سلامت موجودات زنده گردیده است و تأثیر نامطلوب این سموم بر محیط شامل آلودگی منابع آب و خاک، تجمع آفت‌کش‌ها در بدن جانداران و ورود آن‌ها به زنجیره غذایی است (۱). مقاومت نسبت به سموم آفت‌کش در جمعیت‌های آفات سبب افزایش غلظت این ترکیبات و ازدیاد تعداد دفعات سمپاشی شده که به نوبه خود بیش از پیش سلامت محیط زیست و جوامع موجودات زنده را به خطر انداخته است (۳). آفت‌کش‌ها از طرق مختلف به بوم‌سامانه‌های آبی راه پیدا می‌کنند. آفت‌کش‌ها در طبیعت جا به جا می‌شوند و علاوه بر انتشار در داخل یک محیط، از محیطی به محیط دیگر انتقال می‌یابند. این مواد از یک محیط غیر زنده به محیط زنده یا بر عکس آن به طور مداوم جابجا می‌گردند و در هر محیط تأثیرات منفی خود را بر جا می‌گذارند که در این جابجایی موجودات زنده متأثر می‌گردند (۴). استفاده بی رویه سموم، آبیاری و زهکشی مزارع و ریزش‌های جوی عواملی می‌باشند که سبب ورود این سموم به محیط‌های آبی می‌گردند و از این طریق موجودات آبزی از جمله ماهی‌ها در معرض این سموم قرار می‌گیرند (۵). آفت‌کش‌ها می‌توانند سبب کاهش کیفیت و کارایی بوم‌سامانه‌های آبی از طریق تأثیر بر زنجیره‌های غذایی، تغییر ساختارهای اجتماعی و کاهش تنوع گونه‌ای شوند (۶). آفت‌کش‌ها و پسماندهای آن‌ها از جمله مهم‌ترین عوامل تخریب و انهدام بوم‌سامانه‌های آبی می‌باشند (۷). بنابراین جهت حفاظت از بوم‌سامانه‌های آبی لازم است که میزان مصرف مجاز و اثرات این مواد شیمیایی در موجودات آبزی مورد ارزیابی قرار گیرند (۸).

یکی از سموم آفت‌کش که در مزارع کشاورزی کاربرد فراوانی دارد، بن‌سولفورون‌متیل (Bensulfuron methyl) با نام تجاری لونداکس (Londax) است. بن‌سولفورون‌متیل با فرمول شیمیایی $C_{16}H_{18}N_4O_7S$ علف‌کشی از خانواده سولفونیل اوره می‌باشد که عملکرد آنزیم استولاکتات سینتاز را مهار و ساخت آمینواسیدهای ضروری والین، لوسین و ایزولوسین را متوقف می‌کند. به این ترتیب بن‌سولفورون‌متیل از تقسیم سلولی و رشد علف‌های هرز جلوگیری می‌کند و برای کنترل علف‌های هرز و پهن برگ‌ها در مزارع محصولات مختلفی همچون برنج، گندم، سویا و ذرت در بسیاری از مناطق دنیا به کار می‌رود. بن‌سولفورون متیل یکی از رایج ترین علف‌کش‌های مزارع شالیکاری برنج در جهان است (۹). کاربرد فراوان آفت‌کش‌ها در مزارع شالیکاری می‌تواند سبب ورود سموم مختلف به محیط‌های آبی از طریق زهکشی، آبیاری و پساب مزارع شود و در نتیجه از این طریق موجودات آبزی از جمله ماهی‌ها در معرض این سموم قرار می‌گیرند، بنابراین داشتن اطلاعات دقیق در مورد میزان سمیت آفت‌کش‌های مختلف، مقدار مجاز مصرف و جلوگیری از مصرف بی رویه آن‌ها نقش مهمی در بروز آلودگی در محیط‌های آبی می‌تواند ایفا کند. غلظت‌های مزمن سموم دفع آفات به طورمستقیم بر عملکرد موجودات زنده تأثیر می‌گذارد، رفتار طبیعی آن‌ها را از بین می‌برد و همچنین می‌تواند پایداری جمعیت طبیعی را مختل کند (۵، ۸). با توجه به این که مطالعات محدودی بر روی سم بن‌سولفورون متیل در موجودات آبزی صورت گرفته است و در کشور ما علی‌رغم مصرف این سم در مزارع کشاورزی به ویژه مزارع برنج پژوهشی در زمینه سمیت مزمن این سم صورت نگرفته است، مطالعه حاضر به بررسی تأثیر سمیت مزمن بن‌سولفورون متیل بر شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی سرم و بافت کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرداخته است.

مواد و روش کار

تهیه و آماده‌سازی ماهی‌ها: در مطالعه حاضر ماهی‌های کپور معمولی (*C. carpio*) با میانگین وزنی ۱/۶±۱۲/۳ گرم و میانگین طولی ۱/۵±۹/۷ سانتی‌متر از مزرعه پرورش ماهی‌های گرمابی خریداری شدند. قبل از شروع مطالعه ماهی‌ها به منظور سازگاری با شرایط محیطی جدید، به مدت ۱ هفته در آکواریوم‌های محل آزمایش، نگهداری و در مدت سازگاری روزانه به میزان ۲ درصد وزن بدن غذادهی شدند.

تهیه بن‌سولفورون‌متیل: بن‌سولفورون‌متیل (شرکت گیاه، ایران) با نام تجاری لونداکس به صورت پودر قابل انتشار در آب (DF 60%) از فروشگاه سموم کشاورزی خریداری گردید. در هر یک از مراحل آزمایش مقدار محاسبه شده از پودر بن‌سولفورون‌متیل توسط ترازوی دیجیتالی (اوهایوس، سوییس) با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن و به آب آکواریوم ماهی‌های مورد آزمایش اضافه شد.

آزمایش سمیت مزمن: برای ارزیابی اثرات سمیت مزمن بن‌سولفورون متیل، ماهی‌ها در ۴ گروه با تعداد ۱۲ ماهی در هر آکواریوم با حجم ۲۵ لیتر آب در سه تکرار تقسیم شدند. گروه ۱ به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و غلظتی از بن‌سولفورون‌متیل را دریافت نکرد و گروه‌های ۲، ۳ و ۴ به ترتیب در معرض غلظت‌های ۱۰ درصد، ۲۰ درصد و ۳۰ درصد میانه غلظت کشنده ۹۶ ساعته (96h LC_{50}) برابر با ۰/۱۶۲، ۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر بن‌سولفورون متیل قرار گرفتند. میانه غلظت کشنده ۹۶ ساعته (96h LC_{50}) بن‌سولفورون‌متیل براساس مطالعه Rahmani Khanqahi و همکاران در سال ۲۰۲۰، ۱/۶۲ گرم در لیتر در نظر گرفته شد (۱۰). در مدت انجام آزمایش، ماهی‌ها هر روز به میزان ۲ درصد وزن بدن غذادهی شدند و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب شامل درجه حرارت، pH و اکسیژن محلول آب اندازه‌گیری و کنترل شد. در طول مدت آزمایش درجه حرارت آب ۰/۴±۲۵/۳، pH ۰/۲±۷/۷ و اکسیژن محلول ۰/۳±۷/۳ ثبت شد. یک روز در میان ۵۰ درصد آب آکواریوم‌ها سیفون و با آب کلرزدایی شده تانک ذخیره آب جایگزین شد و غلظت مورد نظر از بن‌سولفورون متیل به آکواریوم‌های در معرض سم بن‌سولفورون متیل اضافه گردید. پس از گذشت ۲۱ روز، ۶ عدد ماهی از هر گروه به طور تصادفی انتخاب شدند و برای ارزیابی شاخص‌های خونی، سرمی و آسیب‌شناسی بافت کبد مورد ارزیابی قرار گرفتند. در مطالعه حاضر تمام ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد (۱۱).

خونگیری و جمع‌آوری نمونه‌های خون جهت بررسی شاخص‌های خونی و سرمی: نمونه‌های ماهی با استفاده از سرنگ انسولین از طریق رگ ساقه دمی خون‌گیری شدند. برای بررسی شاخص‌های خونی، نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد و برای بررسی شاخص‌های سرمی نمونه‌های خون در لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد جمع‌آوری و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند.

بررسی شاخص‌های خونی: شمارش گلبول‌های سفید خون با استفاده از پیپت ملانژور مخصوص شمارش گلبول سفید، محلول رقیق کننده ریس و لام نئوبار، شمارش گلبول‌های قرمز با کمک پیپت ملانژور مخصوص شمارش گلبول قرمز، محلول رقیق کننده کلرید سدیم و لام نئوبار، اندازه‌گیری هماتوکریت (Hct) به روش میکروهماتوکریت و با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت، ارزیابی هموگلوبین (Hb) با محلول درابکین به روش سیانومت هموگلوبین و محاسبه MCV، MCH و MCHC با استفاده از میزان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز به دست آمده انجام شد (۱۲).

بررسی شاخص‌های سرمی: سرم مربوط به هریک از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده در سانتریفیوژ با دور g× ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شدند. سپس شاخص‌های سرمی شامل پروتئین تام، گلوکز و آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) با استفاده از کیت بیوشیمیایی (پارس آزمون، ایران) و دستگاه اتوآنالایزر (کوباس میرا، آلمان) اندازه‌گیری شدند.

بررسی آسیب‌شناسی بافت کبد: در این مرحله ابتدا نمونه‌های ماهی توسط عصاره گل میخک بیهوش شدند. سپس نمونه‌های ماهی کالبدگشایی و بافت کبد هر یک از آن‌ها جداسازی و در ظروف پلاستیکی حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد نگهداری شدند. آماده‌سازی بافت‌ها در دستگاه پردازنده بافت (دید سبز، ایران) انجام شد و با استفاده از میکروتوم (لایتز ۱۵۱۲، آلمان) برش‌هایی با اندازه ۵ میکرومتر تهیه شدند. نمونه‌های بافت روی لام قرار گرفتند و به روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند. لام‌های تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری (الیمپوس CX21، ژاپن) مورد ارزیابی قرارگرفتند و تصاویر بافتی با استفاده از سیستم عکس‌برداری متصل به میکروسکوپ تهیه شدند. شدت آسیب‌های بافتی براساس عدم وجود، خفیف، متوسط و شدید با درجات - ، + ، ++ و +++ ثبت شدند (۱۳).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 22 انجام شد. برای بررسی تغییرات شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم در گروه‌های مختلف، ابتدا نرمال بودن هر مجموعه از داده‌ها به طور جداگانه با استفاده از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس برای بررسی رابطه معنی‌داری هر یک از شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم در گروه‌های مختلف، از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه (one way ANOVA) و آزمون تعقیبی دانکن استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های خونی: نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های خونی نشان داد تعداد گلبول‌های سفید خون در گروه ۲ (۰/۱۶۲گرم در لیتر) نسبت به گروه شاهد افزایش یافت، اما این افزایش از تفاوت معنی‌دار برخوردار نبود ($P>0/05$)، در حالی که در گروه ۳ (۰/۳۲۴ گرم در لیتر) افزایش معنی‌دار گلبول‌های سفید خون نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده گردید ($P<0/05$)، و گروه ۴ (۰/۴۸۶ گرم در لیتر) کاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید را نسبت به گروه‌های دیگر نشان داد ($P<0/05$) (تصویر ۱). تعداد گلبول‌های قرمز، مقدار هموگلوبین و درصد هماتوکریت در گروه ۲ (۰/۱۶۲ گرم در لیتر) نسبت به گروه ۱ (شاهد) از تفاوت معنی‌داری برخوردار نبود ($P>0/05$)، اما در گروه‌های ۳ و ۴ (۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر) تعداد گلبول‌های قرمز، مقدار هموگلوبین و درصد هماتوکریت روند کاهشی و معنی‌داری را نسبت به گروه ۱ (شاهد) و گروه ۲ (۰/۱۶۲ گرم در لیتر) نشان دادند ($P<0/05$). مقادیر MCV، MCH و MCHC در هیچ یک از گروه‌ها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P>0/05$) (تصویر ۱).

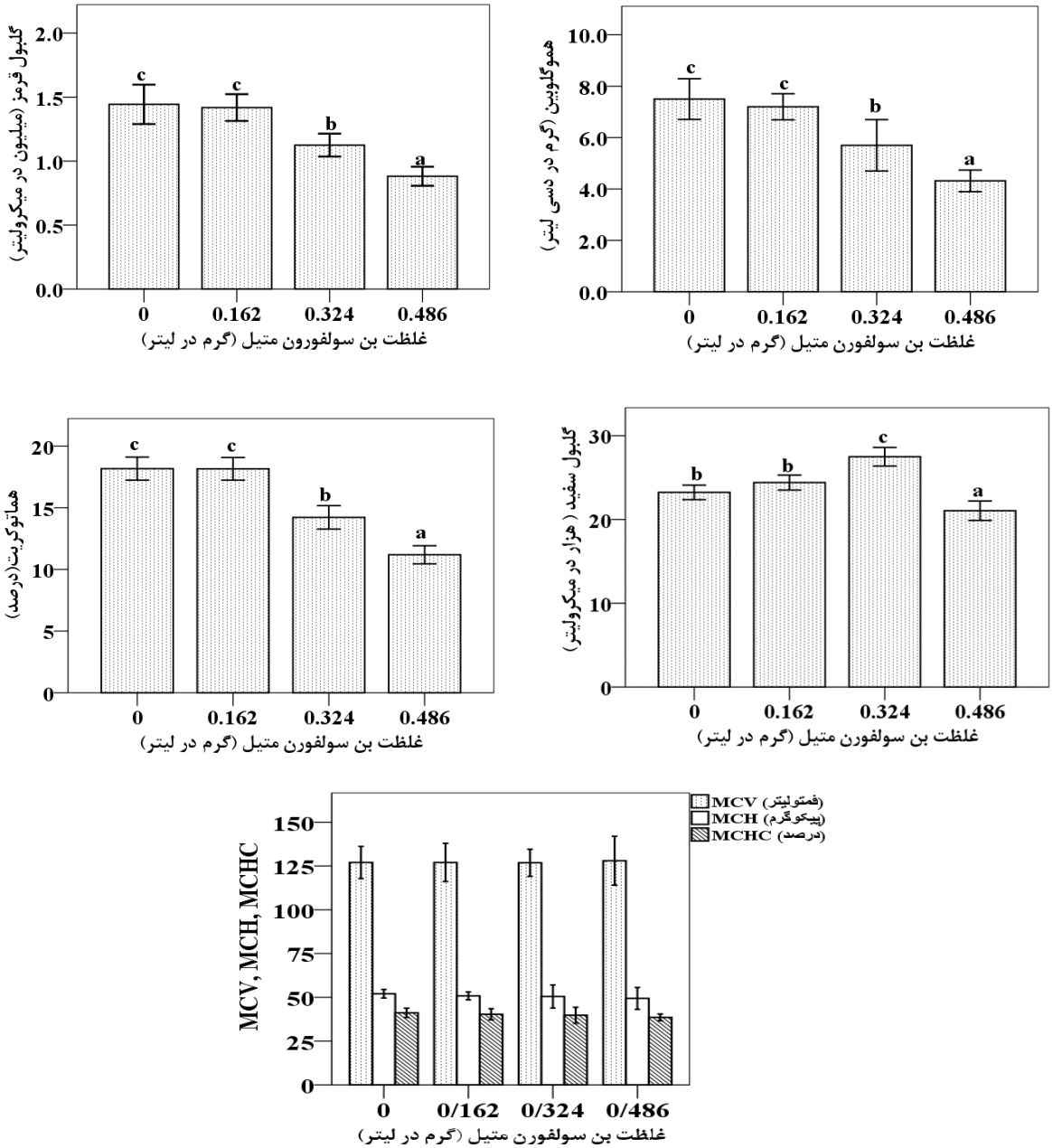
شاخص‌های بیوشیمیایی سرم: نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم نشان داد مقدار پروتئین تام سرم، با افزایش غلظت سم بن‌سولفورون متیل کاهش یافت، به طوری که در گروه‌های ۳ و ۴ (۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر) نسبت به گروه ۱ (شاهد) کاهش معنی‌دار مشاهده گردید ($P<0/05$) (جدول ۱). مقدار گلوکز سرم در گروه‌های دریافت کننده بن‌سولفورون متیل افزایش پیدا کرد، به طوری که این افزایش در گروه‌های ۳ و ۴ (۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر) در مقایسه با گروه ۱ (شاهد) و گروه ۲ (۰/۱۶۲ گرم در لیتر) تفاوت معنی‌داری داشت ($P<0/05$) و در گروه ۴ (۰/۴۸۶ گرم در لیتر) نیز نسبت به گروه ۳ (۰/۳۲۴ گرم در لیتر) افزایش معنی‌دار مشاهده گردید ($P<0/05$) (جدول ۱). مقادیر آنزیم‌های AST، ALT و ALP نیز با افزایش غلظت بن‌سولفورون متیل روند افزایشی نشان داد، هرچند که این افزایش در گروه ۲ (۰/۱۶۲ گرم در لیتر) نسبت به گروه ۱ (شاهد) از تفاوت معنی‌دار برخوردار نبود ($P>0/05$)، اما در گروه‌های ۳ و ۴ (۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر) نسبت به گروه ۱ (شاهد) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P<0/05$) (جدول ۱).

جدول ۱. شاخص‌های سرمی (میانگین ± انحراف معیار) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (حروف لاتین بالای اعداد تفاوت معنی‌داری را در بین گروه‌های مختلف نشان می‌دهد).

شاخص (واحد)	غلظت بن سولفورن متیل (گرم در لیتر)			
	۰	۰/۱۶۲	۰/۳۲۴	۰/۴۸۶
پروتئین تام (گرم در دسی‌لیتر)	۳/۲۵ ± ۰/۳۳۴^{c}	۳/۰۴ ± ۰/۱۲۹ ^{b}	۲/۴۸ ± ۰/۱۶۰^{ab}	۱/۷۸ ± ۰/۱۶۱^{a}
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴۹/۸۳ ± ۲/۴۱۴^{a}	۵۲/۵۰ ± ۳/۰۸۵^{a}	۸۴/۰۰± ۳/۵۶۸^{b}	۱۰۲/۵۰± ۳/۹۵۶^{c}
AST (واحد بین‌المللی در لیتر)	۸۴/۳۳ ± ۴/۱۲۸^{a}	۸۷/۱۷ ± ۴/۹۲۹^{a}	۱۱۸/۱۷ ± ۷/۲۶۴^{b}	۱۵۷/۵۰± ۹/۶۹۱^{c}
ALT (واحد بین‌المللی در لیتر)	۲۶/۱۷۲ ± ۲/۳۸۶^{a}	۲۸/۸۳ ± ۱/۵۱۵^{ab}	۳۴/۱۷ ± ۲/۸۸۰^{b}	۵۰/۳۳ ± ۳/۴۱۲^{c}
ALP (واحد بین‌المللی در لیتر)	۱۱۴/۸۳ ± ۵/۵۲۲^{a}	۱۱۸/۸۳ ± ۴/۴۴۵^{a}	۱۴۶/۸۳ ± ۱۱/۳۷۱^{b}	۲۰۷/۰۰ ± ۷/۴۵۷^{c}

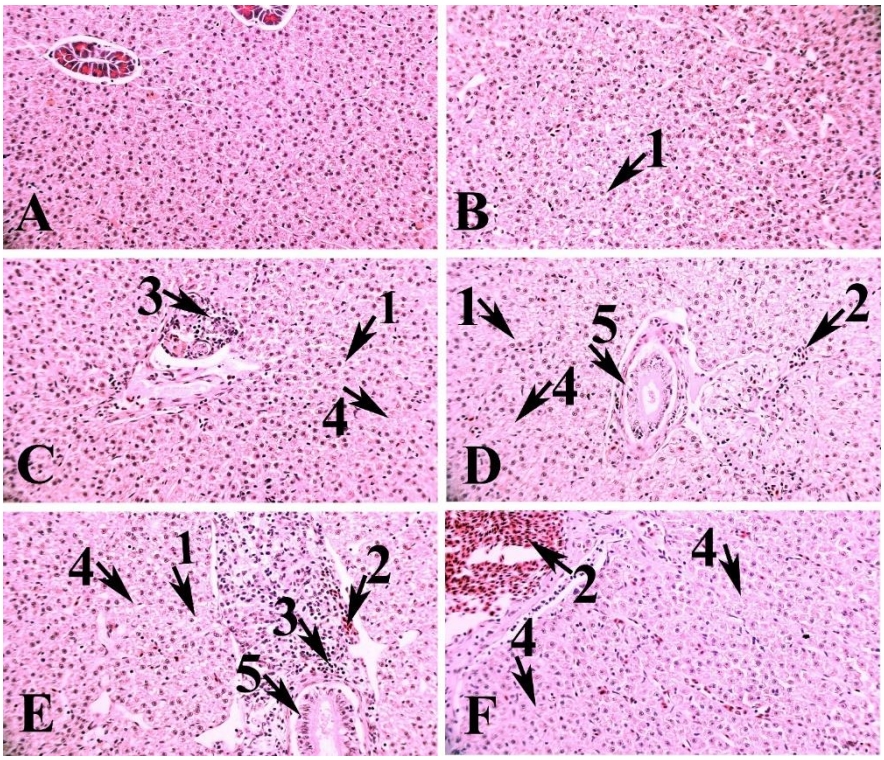
جدول ۲. نوع و شدت آسیب‌های مشاهده شده در بافت کبد (علایم -،+،++ و +++ به ترتیب عدم وجود، خفیف، متوسط و شدید بودن ضایعه را نشان می‌دهند).

بافت کبد	غلظت بن سولفورن متیل (گرم در لیتر)			
	۰	۰/۱۶۲	۰/۳۲۴	۰/۴۸۶
آسیب بافتی	۰	-	+	++
پرخونی	-	+	++	++
دژنرسانس واکوئولی هپاتوسیت‌ها	-	-	+	++
نفوذ سلول های آماسی	-	-	+	++
هیپرپلازی مجاری صفراوی	-	-	+	++
نکروز هپاتوسیت‌ها	-	-	+	++



تصویر ۱. شاخص‌های خونی (میانگین ± انحراف معیار) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (حروف بالای ستون‌ها تفاوت معنی‌داری را در بین گروه‌های مختلف نشان می‌دهد).

آسیب‌شناسی بافت کبد: نتایج حاصل از بررسی آسیب‌شناسی بافت کبد نشان داد ماهی‌ها در گروه ۱ دارای شرایط طبیعی بافتی بودند و علامتی از آسیب بافت کبد در این گروه مشاهده نگردید. در گروه ۲ (۰/۱۶۲ گرم در لیتر) تنها دژنرسانس واکوئولی خفیف در بافت کبد مشاهده گردید، در حالی که در گروه ۳ (۰/۳۲۴ گرم در لیتر) آسیب بافتی افزایش یافت و علائمی نظیر پرخونی خفیف، دژنرسانس واکوئلی متوسط هپاتوسیت‌ها، نفوذ سلول‌های آماسی، هیپرپلازی مجاری صفراوی و نکروز هپاتوسیت‌ها با درجه خفیف مشاهده گردید. شدیدترین ضایعات در گروه ۴ (۰/۴۸۶ گرم در لیتر) به صورت پرخونی، دژنرسانس واکوئلی، نفوذ سلول‌های آماسی، هیپرپلازی مجاری صفراوی و نکروز هپاتوسیت‌ها با درجه متوسط دیده شد (جدول ۲، تصویر ۲).



تصویر ۲. بافت کبد، A) گروه ۱ (شاهد)، B) گروه ۲ (۰/۱۶۲ گرم در لیتر)، C و D) گروه ۳ (۰/۳۲۴ گرم در لیتر)، E و F) گروه۴ (۰/۴۸۶ گرم در لیتر)، پیکان 1: دژنرسانس واکوئلی هپاتوسیت، پیکان 2: پر خونی، پیکان 3: نفوذ سلول‌های آماسی، پیکان 4: نکروز هپاتوسیت، پیکان 5: هیپرپلازی مجرای صفراوی، رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی 40X.

بحث

بن‌سولفورون‌متیل یکی از سموم علف‌کش پرکاربرد است که در مزارع کشاورزی به ویژه مزارع برنج مورد استفاده قرار می‌گیرد. علف‌کش بن‌سولفورون‌متیل ۵۰ تا ۷۵ گرم در هر هکتار در مزارع برنج مورد استفاده قرار می‌گیرد و بهترین زمان مصرف این علف‌کش ۱ تا ۳ برگی شدن برنج و مراحل اولیه رویش علف‌های هرز تا زمان ۳ برگی شدن آن‌ها است. به دلیل حلالیت سم بن‌سولفورون‌متیل در آب مقادیر زیادی از این سم مصرف شده وارد محیط‌های آبی می‌گردد. از آنجایی که در مورد میزان سمیت علف‌کش بن‌سولفورون‌متیل و همچنین اثرات آن در آبزیان مطالعات بسیار محدودی صورت گرفته است، مطالعه حاضر تأثیر سمیت مزمن بن‌سولفورون‌متیل را بر شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی سرم و بافت کبد ماهی کپور معمولی مورد ارزیابی قرار داده است. ماهی کپور معمولی در تمام سواحل حوضه جنوبی دریای کاسپین وجود دارد و بیشترین فراوانی آن در جنوب شرقی دریای کاسپین است. ماهی کپور معمولی تحمل بالایی در برابر تغییرات دمای آب، اکسیژن محلول و گل آلودگی آب دارد. این ماهی به دلیل رژیم غذایی همه چیزخواری، رشد سریع، مقاومت بالا نسبت به شرایط محیطی، سازش‌پذیری بالا و سهولت نگهداری در شرایط پرورشی یکی از مهم‌ترین ماهی‌های پرورشی و همچنین مناسب برای انجام مطالعات آزمایشگاهی محسوب می‌شود. متأسفانه فعالیت‌های انسانی مانند سدسازی بر روی رودخانه‌ها، صید بی‌رویه و تخریب مکان‌های تخم‌ریزی باعث کاهش جمعیت طبیعی ماهی‌های کپور معمولی شده است و هم‌اکنون به عنوان گونه‌ای آسیب‌پذیر یا در معرض خطر ثبت شده است (۱۴).

عوامل مختلف محیطی می‌توانند سبب بروز استرس در ماهی‌ها شوند. ماهی‌ها در عملکردی با عنوان پاسخ به استرس، سازش‌های فیزیولوژیک مختلفی را در هنگام بروز استرس به کار می‌برند که سبب کاهش یا از بین بردن اثر عوامل استرس‌زا می‌گردد (۱۵). عوامل استرس‌زا می‌توانند با ایجاد اختلال در بافت‌های مختلف بدن سبب بروز اثرات نامطلوب در رفتار، رشد، تولیدمثل، عملکرد سیستم ایمنی و مقاومت بدن در برابر بیماری‌ها شوند (۱۶). آلاینده‌ها از جمله سموم آفت‌کش از جمله عوامل محیطی می‌باشند که می‌توانند سبب بروز استرس و تغییرات فیزیولوژیک در بدن ماهی‌ها شوند (۱۷).

تأثیر سمیت مزمن بن‌سولفورون‌متیل بر بافت کبد: تغییرات بافتی شاخص مهمی جهت تشخیص وضعیت سلامت ماهی و تأثیر مواد آلاینده محسوب می‌شود. بافت کبد به عنوان یک شاخص مهم زیستی از مهم‌ترین اندام‌های بدن ماهی است که در سم‌زدایی نقش بسزایی دارد. آسیب‌شناسی بافت کبد روشی کارا در مطالعات تأثیر مواجهه ماهی‌ها با سموم موجود در محیط آبی است (۱۸). در مطالعه حاضر نتایج حاصل از بررسی آسیب‌شناسی بافت کبد نشان داد با افزایش غلظت بن‌سولفورون متیل علایم و شدت آسیب افزایش پیدا کرد، به طوری که بیشترین آسیب در گروه ۴ (۰/۴۸۶ گرم در لیتر) به صورت پرخونی، دژنرسانس واکوئلی، نفوذ سلول‌های آماسی، هیپرپلازی مجاری صفراوی و نکروز هپاتوسیت‌ها با درجه متوسط دیده شد. در مطالعه Jiraungkoorskul و همکاران در سال ۲۰۰۳ اثر سمیت مزمن علف‌کش رانداپ در ماهی *تیلاپیای نیل* (*Oreochromis niloticus*) در بافت کبد به صورت واکوئله شدن و نکروز هپاتوسیت‌ها مشاهده شد (۱۹). بافت کبد به علت عملکرد، موقعیت و جریان خونی که دریافت می‌کند و نقش مهمی که در سوخت و ساز، پالایش و انتقال زیستی مواد در بدن دارد، تأثیر قابل توجهی از آلاینده‌های موجود در آب می‌پذیرد و به عنوان اندام مرکزی متابولیسم آلاینده‌ها در ماهی در نظر گرفته می‌شود (۲۰). بافت کبد نسبت به آلاینده‌ها حساس می‌باشد و یکی از وظایف مهم آن تمیزکردن مواد آلاینده از خون است. سلول‌های کوپفر کبدی نقش اصلی را در خارج کردن مواد مختلف از جریان خون برعهده دارند (۲۱). وجود آلاینده‌ها در محیط می‌توانند سبب آسیب به ساختار کبدی، اختلال در متابولیسم کبدی و در نتیجه تغییر در شاخص‌های بیوشیمیایی گردد (۲۲). از مهم‌ترین دلایل مطالعه کبد می‌توان به فعالیت‌های پیچیده زیستی همانند انتقال زیستی مواد زنوبیوتیک و متابولیزه‌کردن آن‌ها در این بافت اشاره نمود. طبق مطالعات صورت گرفته بسیاری از آلاینده‌ها گرایش به تجمع در کبد دارند، بنابراین کبد در مقایسه با دیگر بافت‌های بدن مقدار بیشتری از تجمع برخی مواد سمی را نشان می‌دهد (۲۳). اگرچه اطلاعاتی در مورد مکانیسم تأثیر این سم در ماهی وجود ندارد، ولی به نظر می‌رسد رادیکال‌های آزاد که در طی تبدیل زیستی سم در بافت کبد تولید می‌شوند، می‌تواند مهم‌ترین عامل استرس اکسیداتیو، کاهش توانایی آنتی‌اکسیدانی، اختلال در فعالیت‌های آنزیمی سلول‌های کبدی و اختلال در عملکرد بافت کبد باشد (۲۴).

تأثیر سمیت مزمن بن‌سولفورون‌متیل بر شاخص‌های خونی: شاخص‌های خونی در مطالعات سم‌شناسی به عنوان یک روش مفید برای ارزیابی اثرات سمیت تحت کشنده آفت کش‌ها بر ماهی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۵). وجود سموم در محیط‌های آبی بر روی کیفیت آب و در نتیجه سطوح طبیعی شاخص‌های خونی که رابطه نزدیکی با محیط خارجی دارد تأثیر می‌گذارد (۲۶). بررسی شاخص‌های خونی روشی مؤثر و کاربردی جهت مدیریت سلامت و بهداشت ماهی در نظر گرفته می‌شود که در ارزیابی اثرات عوامل استرس‌زا به کار می‌رود. شاخص‌های خونی شامل تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و مقدار هموگلوبین در ماهی‌های در معرض آلاینده‌های آبی مورد مطالعه قرار می‌گیرد (۲۷). تأثیر عوامل محیطی بر شاخص‌های خونی می‌تواند در یک محدوده دارای روند افزایشی و در محدوده دیگر روند کاهشی داشته باشد که این وضعیت به محدوده‌های مطلوب شرایط محیطی برای آن گونه ماهی بستگی دارد (۱۵). در مطالعه حاضر تعداد گلبول‌های سفید خون در گروه‌های ۲ و ۳ (۰/۱۶۲ و ۰/۳۲۴ گرم در لیتر) روند افزایشی را نشان داد، به طوری که این افزایش در گروه ۳ (۰/۳۲۴ گرم در لیتر) نسبت به سایر گروه‌ها از تفاوت معنی‌دار برخوردار بود. در مطالعه Ramesh و همکاران در سال ۲۰۰۹ تأثیر ناشی از میانه غلظت کشنده علف‌کش آترازین در ماهی کپور معمولی به صورت افزایش گلبول‌های سفید گزارش شد (۲۸). گلبول‌های سفید نقش مهمی در تنظیم عملکرد سیستم ایمنی بدن دارند و افزایش آن‌ها در جانورانی که در معرض عوامل استرس‌زا قرار گرفته‌اند، نشان دهنده یک پاسخ حفاظتی است. بنابراین افزایش سطح گلبول‌های سفید خون پس از مواجهه با آلاینده‌ها با سیستم ایمنی غیراختصاصی بدن در ارتباط است. افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون ناشی از رهاسازی آن‌ها از بافت‌های خون‌ساز به جریان خون به دلیل وضعیت استرس ماهی به دنبال مواجهه با سم رخ می‌دهد (۲۸). در مطالعه حاضر با افزایش غلظت سم بن‌سولفورون متیل در گروه ۴ (۰/۴۸۶ گرم در لیتر) کاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید خون مشاهده شد. به نظر می‌رسد افزایش غلظت سم بن‌سولفورون تا ۰/۴۸۶ گرم در لیتر سبب تأثیر بر قسمت قدامی بافت کلیه به عنوان مکان اولیه خون‌سازی، مهار بلوغ گلبول‌های سفید و رهاسازی آن‌ها از ذخایر بافتی و در نتیجه سرکوب سیستم ایمنی غیر اختصاصی و کاهش گلبول‌های سفید خون گردید (۲۹، ۳۰). در مطالعه Kreutz و همکاران در سال ۲۰۱۱ کاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید خون ناشی از علف‌کش گلایفوزیت در گربه ماهی نقره‌ای (*Rhamdia quelen*) گزارش شده است (۳۱). همچنین در مطالعه‌ای دیگرکاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید پس از مواجهه ماهی‌های کپور معمولی در مواجهه با غلظت مزمن علف‌کش راندآپ مشاهده گردید (۳۲).

در مطالعه حاضر با افزایش غلظت سم بن‌سولفورون متیل روند کاهشی در تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و مقدار هموگلوبین روند کاهشی مشاهده گردید، به طوری که گروه ۴ (۰/۴۸۶ گرم در لیتر) نسبت به سایر گروه‌ها از تفاوت معنی‌دار برخوردار بود. در مطالعه Ramesh و همکاران در سال ۲۰۰۹ تأثیر ناشی از میانه غلظت کشنده علف کش آترازین در ماهی کپور معمولی به صورت کاهش گلبول‌های قرمز و هموگلوبین خون گزارش شد (۲۸). در مطالعه‌ای دیگر اثر غلظت‌های مختلف علف‌کش گلایفوزیت در ماهی *Leporinus obtusidens* سبب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و مقدار هموگلوبین شد (۳۳). همچنین تأثیر غلظت‌های مزمن علف‌کش گلایفوزیت در ماهی کپور معمولی به صورت کاهش معنی‌دار گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین نسبت به گروه شاهد گزارش شده است (۳۲). تغییر در تعداد گلبول‌های قرمز یک روش مواجهه ماهی‌ها در شرایط استرس‌زا محسوب می‌شود. تغییر در غلظت خون، تغییر در مقدار شاخص‌های خونی را به دنبال دارد و می‌تواند غلظت پلاسما و حجم گلبول‌ها را تحت تأثیر قرار دهد که متعاقب آن تغییراتی در مقدار هماتوکریت و هموگلوبین رخ می‌دهد.کاهش گلبول‌های قرمز می‌تواند به دلیل اختلال در روند خون‌سازی، چروکیدگی و تجزیه سریع غشاء گلبول‌های قرمز خون و از بین رفتن آن‌ها در بافت‌های خون‌ساز به دنبال در معرض قرار گرفتن با سم رخ دهد. بنابراین می‌توان گفت اختلال در روند خون‌سازی و تخریب گلبول‌های قرمز خون می‌تواند دو دلیل برای کاهش گلبول‌های قرمز خون باشند (۳۴). شمارش گلبول‌های قرمز خون به عنوان یک شاخص برای تشخیص کم خونی به کار می‌رود و از آن جایی که کم خونی به دلیل مهار روند خون‌سازی و افزایش تخریب گلبول‌های قرمز در بافت‌های خون‌ساز اتفاق می‌افتد، می‌تواند سبب کاهش سطح هماتوکریت و هموگلوبین گردد. بنابراین بررسی شاخص‌های خونی می‌تواند یک تابلو پاراکلینیکی قابل استناد از سلامت ماهی ارائه دهد (۳۵).

تأثیر سمیت مزمن بن‌سولفورون‌متیل بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم: بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی خون به عنوان یک شاخص مناسب جهت پایش سلامتی موجود زنده و پی بردن به واکنش فیزیولوژیک بدن به شرایط استرس‌زا صورت می‌گیرد (۳۶). تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی سرم به عنوان یکی از شاخص‌های زیستی با تغییرات فیزیولوژیکی و محیطی در ارتباط است. حضور آلاینده‌ها در محیط‌های آبی اثرات خود را بر سطوح مولکولی و سلولی اعمال می‌کند و سبب تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی می‌گردد (۳۰). در شرایطی که ماهی‌ها در معرض استرس‌هایی همچون سموم قرار می‌گیرند، تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی قابل انتظار خواهد بود. بنابراین سنجش بیوشیمیایی سرم خون ما را در نحوه کارکرد بافت‌ها و اعضاء مختلف بدن راهنمایی می‌کند (۳۷). شاخص‌های بیوشیمیایی مانند مقادیرگلوکز و پروتئین سرم خون به طور وسیعی برای ارزیابی استرس‌های ناشی از سموم به کار می‌رود (۲۸). در مطالعه حاضر مقدار پروتئین تام سرم خون، با افزایش غلظت بن‌سولفورون متیل کاهش یافت، به طوری که در گروه‌های ۳ و ۴ (۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر) نسبت به گروه ۱ (شاهد) کاهش معنی‌دار مشاهده گردید. در مطالعه Ramesh و همکاران در سال ۲۰۰۹ کاهش پروتئین سرم خون به دنبال تأثیر میانه غلظت کشنده علف‌کش آترازین در ماهی کپور معمولی گزارش شد. غلظت پروتئین سرم خون ماهی به عنوان شاخص سلامت عمومی به کار می‌رود (۲۸). کاهش پروتئین‌های سرم خون به دلیل آسیب به بافت کبد و کلیه و یا اختلال در عمکرد آنزیم‌هایی که در تولید این پروتئین‌ها نقش دارند، رخ می‌دهد (۳۰، ۳۸). بنابراین کاهش پروتئین‌های سرم خون می‌تواند به عنوان شاخص تأثیر تخریبی سموم بر بافت‌های کبد و کلیه محسوب شود (۲۸، ۳۹). همچنین افزایش تقاضای انرژی می‌تواند سبب افزایش کاتابولیسم پروتئین شود، فرایندی که در آن پروتئین به انرژی تبدیل می‌شود و در نتیجه منجر به کاهش غلظت پروتئین سرم خون می‌گردد (۳۷). در مطالعه Salbego و همکاران در سال ۲۰۱۰، کاهش پروتئین تام سرم به دنبال مواجهه ماهی *Leporinus obtusidens* با علف‌کش راندآپ به علت افزایش کاتوبولیسم پروتئین به دنبال افزایش تقاضای انرژی گزارش شد (۴۰).

در مطالعه حاضر مقدار گلوکز سرم، با افزایش غلظت بن‌سولفورون متیل افزایش یافت، به طوری که در گروه‌های ۳ و ۴ (۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر) نسبت به گروه ۱ (شاهد) و گروه ۲ (۰/۱۶۲ گرم در لیتر) از افزایش معنی‌دار برخوردار بودند. در مطالعه Crestani و همکاران در سال ۲۰۰۶، افزایش گلوکز خون متعاقب مواجهه با علف کش کلومازون در گربه‌ماهی نقره‌ای (*Rhamdia quelen*) مشاهده شد (۴۱).

از جمله پاسخ‌های فیزیولوژیک جانور به استرس، آزاد کردن هورمون‌های استرس و به دنبال آن پاسخ‌های فیزیولوژیک متناسب با این هورمون‌ها است (۱۵، ۱۶). تأثیر استرس بر متابولیسم کربوهیدرات در ماهی‌ها سبب تغییر مقادیر گلوکز، گلیکوژن و اسید لاکتیک

می‌گردد. در این میان سطح گلوکز خون به عنوان شاخص استرس محیطی محسوب می‌شود و تغییرات متابولیسم کربوهیدرات را در شرایط استرس انعکاس می‌دهد (۳۰، ۴۲). یکی از دلایل افزایش گلوکز در مطالعات سم‌شناسی و استرس محیطی، به دلیل افزایش هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی مانند کورتیزول اتفاق می‌افتد. افزایش میزان کورتیزول به علت افزایش تولید این هورمون در سلول‌های بینابینی کلیه در ماهی به دنبال تحریک محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-غده بین کلیوی اتفاق می‌افتد (۴۳).کورتیزول از طریق فرآیند گلیکوژنز باعث افزایش تولید گلوکز جهت تأمین انرژی لازم به دنبال افزایش نیازهای متابولیکی تحمیل شده به دنبال استرس ناشی از سم می‌گردد (۳۸، ۴۴). فعالیت‌های آنزیمی از دیگر شاخص‌های مهم بیوشیمیایی برای ارزیابی سلامتی جانوران در سم‌شناسی آبزیان شناخته می‌شوند. تغییرات فعالیت‌های آنزیمی در جانوران آبزی معمولاً برای نمایش آسیب بافتی ناشی از بیماری و استرس ناشی از سموم به کار می‌رود (۲۷، ۴۵) . در مطالعه حاضر مقدار آنزیم‌های AST، ALT و ALP با افزایش غلظت سم بن‌سولفورون متیل افزایش یافت، به طوری که گروه‌های ۳ و ۴ (۰/۳۲۴ و ۰/۴۸۶ گرم در لیتر) نسبت به گروه ۱ (شاهد) دارای تفاوت معنی‌دار بودند. آنزیم‌های AST، ALT و ALP به عنوان شاخص آسیب بافتی محسوب می‌شوند، به طوری که تخریب بافت سبب رهاسازی این آنزیم‌ها به خون می‌گردد (۳۲). اثرات سموم بر بافت‌ها می‌تواند لیپولیتیک باشد و در نتیجه غشاء سلولی و غشاء لیزوزومی، آنزیم‌ها را به جریان خون رهاسازی می‌کنند (۴۶). در مطالعه حاضر با توجه به مطالعه همزمان آسیب‌شناسی بافت کبد و سنجش مقدار آنزیم‌های AST،ALT و ALP می‌توان نتیجه گرفت آسیب بافتی کبد سبب افزایش این آنزیم‌ها در سرم خون گردید. افزایش معنی‌دار آنزیم‌های AST و ALT متعاقب در معرض قرارگرفتن ماهی‌های کپور معمولی با غلظت‌های مزمن گلایفوزیت نیز گزارش شده است (۳۳). در مطالعه‌ای دیگر تأثیر مزمن علف‌کش گلایفوزیت در ماهی *تیلاپیای نیل* (*Oreochromis niloticus*) به صورت افزایش معنی‌دار آنزیم‌های AST، ALT و ALP مشاهده و گزارش گردید (۱۹).

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد افزایش غلظت بن‌سولفورون‌متیل در گروه‌های مختلف سبب بروز و مشاهده آسیب‌های بافتی در کبد و تغییرات در شاخص‌های خونی و سرمی ماهی کپور معمولی گردید. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت با توجه به بالا بودن حجم زیر کشت مزارع برنج، مصرف سم بن‌سولفورون‌متیل در این مزارع، حلالیت این سم در آب و راه یافتن آن به محیط‌های آبی، مصرف بی‌رویه و بیش از حد مجاز این سم می‌تواند سبب بروز آسیب و در نتیجه اختلال در عملکرد طبیعی بافت‌های بدن ماهی گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان مطالعه حاضر از تمام عزیزانی که در این تحقیق همکاری داشتند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Newman MC, Clements WH. Ecotoxicology: a comprehensive treatment. 1st ed. CRC Press. New York, USA; 2007. doi: 10.1201/9780849333576

2. Vittozzi L, Fabrizi L, Di Consiglio E, Testai E. Mechanistic aspects of organophosphorothionate toxicity in fish and humans. Environ Int. 2001;26(3):125-9. doi: 10.1016/s0160-4120(00)00102-1 PMID: 11341695

3. Hoy MA. Myths, models and mitigation of resistance to pesticides. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biol Sci. 1998;353(1376):1787-95. doi: 10.1098/rstb.1998.0331 PMID: 10021775

4. Shaw IC, Chadwick J. Principles of environmental toxicology. 1st ed. Taylor & Francis Ltd. London, UK; 1998. doi: 10.1201/9781315273785

5. Matthews G. Pesticides: health, safety and the environment. 2nd ed. John Wiley & Sons Ltd. London, UK; 2015. doi: 10.1002/9781118975923

6. Pérez GL, Vera MS, Miranda LA. Effects of herbicide glyphosate and glyphosate-based formulations on aquatic ecosystems. Herb Environ. 2011;16:343-68. doi: 10.5772/12877

7. Hanazato T. Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. Environ Pollut. 2001;112(1):1-0. doi: 10.1016/s0269-7491(00)00110-x PMID: 11202648

8. Day K, Kaushik NK. The adsorption of fenvalerate to laboratory glassware and the alga *Chlamydomonas reinhardii*, and its effect on uptake of the pesticide by Daphnia *galeata mendotae*. Aquat Toxicol. 1987;10(2-3):131-42. doi: 10.1016/0166-445X(87)90019-1

9. Saeki M, Toyota K. Effect of bensulfuron-methyl (a sulfonylurea herbicide) on the soil bacterial community of a paddy soil microcosm. Biol Fertile Soils. 2004;40:110-8.

. doi: 10.1007/s00374-004-0747-1

10. Rahmani Khanqahi F, Omidzahir S, Movahedinia A, Akhoundian M. Determination of median lethal concentration of herbicide Bensulfuron methyl in common carp (*Cyprinus carpio*). Iran Sci Fish J. 2020;29(2):65-72. (In Persian). doi: 10.22092/ISFJ.2020.121666

11. Naderi MM, Sarvari A, Milanifar A, Boroujeni SB, Akhondi MM. Regulations and ethical considerations in animal experiments: international laws and islamic perspectives. Avicenna J Med Biotechnol. 2012;4(3):114. PMID: 23407588

12. Blaxhall PC, Daisley KW. Routine haematological methods for use with fish blood. J Fish Biol. 1973;5(6):771-81. doi: 10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x

13. Thophon S, Kruatrachue M, Upatham ES, Pokethitiyook P, Sahaphong S, Jaritkhuan S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. Environ Pollut. 2003;121(3):307-20. doi: 10.1016/s0269-7491(02)00270-1 PMID: 12685759

14. Vazirzadeh A, Yelghi S. Long-term changes in the biological parameters of wild carp (*Cyprinus carpio carpio*) from the south-eastern Caspian Sea. Iran J Sci. 2015;39(3.1):391-7. doi: 10.22099/IJSTS.2015.3262

15. Van Ham EH, Van Anholt RD, Kruitwagen G, Imsland AK, Foss A, Sveinsbø BO, et al. Environment affects stress in exercised turbot. Comp Biochem Physiol Part A: Mol Integr Physiol. 2003;136(3):525-38. doi: 10.1016/s1095-6433(03)00083-7 PMID: 14613782

16. Goos HT, Consten D. Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp, *Cyprinus carpio*. Mol Cell Endocrinol. 2002;197(1-2):105-116. doi: 10.1016/s0303-7207(02)00284-8 PMID: 12431803

17. Hosseini Koohkheili SZ, Omidzahir S, Hosseini SM, Movahedinia A. Determination of median lethal concentration (LC50) of Vista fungicide in Amur fish (*Ctenopharyngodon idella*). J Fish. 2021;74(3):431-42. (In Persian) doi: 10.22059/JFISHERIES.2021.326353.1266

18. Ebrahimzadeh SM, Kalbassi MR, Anbouhi MH, Farzaneh P. Histopathological effects of titanium dioxide nanoparticles on gill, liver and intestinal tissues of caspian trout (*Salmo caspius*) in acute toxicity. J Vet Res. 2019;75(1):65-73. (In Persian). doi: 10.22059/JVR.2018.259667.2806

19. Jiraungkoorskul W, Upatham ES, Kruatrachue M, Sahaphong S, Vichasri-Grams S, Pokethitiyook P. Biochemical and histopathological effects of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Environ Toxicol: An Int J. 2003;18(4):260-267. doi: 10.1002/tox.10123 PMID: 12900945

20. Naeemi A, Jamili S, Shabanipour N, Mashinchian A, Shariati Feizabadi S. Histopathological changes of gill, liver and kidney in Caspian kutum exposed to Linear Alkylbenzene Sulfonate. Iran J Fish Sci. 2013;12(4),887-897.. doi: 10.22092/IJFS.2018.114327

21. Sadauskas E, Wallin H, Stoltenberg M, Vogel U, Doering P, Larsen A, et al. Kupffer cells are central in the removal of nanoparticles from the organism. Part Fibre Toxicol. 2007;4(1):1-7. doi: 10.1186/1743-8977-4-10 PMID: 17949501

22. Di Giulio RT, Hinton DE. The toxicology of fishes. 1st ed. CRC Press. New York, USA; 2008. doi: 10.1201/9780203647295

23. de Oliveira Ribeiro CA, Belger L, Pelletier E, Rouleau C. Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Environ Res. 2002;90(3):217-25. doi: 10.1016/S0013-9351(02)00025-7

24. Banaee M, Sureda A, Mirvaghefi AR, Ahmadi K. Biochemical and histological changes in the liver tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sub-lethal concentrations of diazinon. Fish Physiol Biochem. 2013;39:489-501. doi: 10.1007/s10695-012-9714-1

25. Jaddi Y, Safahieh A, Movahedinia A, Dajandian S, Hallajian A, Hashemi R. Study of sublethal toxicity of pesticide diazinon on certain hematological parameters of Caspian Sea common bream fingerlings (*Abramis brama*). J Vet Res. 2016;71(1):17-25. (In Persian). doi: 10.22059/JVR.2016.57392

26. Van Vuren JH. The effects of toxicants on the haematology of Labeo umbratus (Teleostei: Cyprinidae). Comp Biochem Physiol C, C: Pharmacol Toxicol. 1986;83(1):155-9. doi: 10.1016/0742-8413(86)90029-0 PMID: 2869891

27. Saravanan M, Kumar KP, Ramesh M. Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane. Pestic Biochem Phys. 2011;100(3):206-211. doi: 10.1016/j.pestbp.2011.04.002

28. Ramesh M, Srinivasan R, Saravanan M. Effect of atrazine (Herbicide) on blood parameters of common carp *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes). Afr J Environ Sci Technol. 2009;3(12). doi: 10.4314/AJEST.V3I12.56294

29. Kotsanis N, Iliopoulou-Georgudaki J, Kapata-Zoumbos K. Changes in selected haematological parameters at early stages of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, subjected to metal toxicants: arsenic, cadmium and mercury. J Appl Ichthyol. 2000;16(6):276-278. doi: 10.1046/j.1439-0426.2000.00163.x

30. Kavitha C, Malarvizhi A, Kumaran SS, Ramesh M. Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. Food Chem Toxicol. 2010;48(10):2848-2854. doi: 10.1016/j.fct.2010.07.017 PMID: 20654677

31. Kreutz LC, Barcellos LJ, de Faria Valle S, de Oliveira Silva T, Anziliero D, dos Santos ED, et al. Altered hematological and immunological parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) following short term exposure to sublethal concentration of glyphosate. Fish Shellfish Immunol. 2011;30(1):51-7. doi: 10.1016/j.fsi.2010.09.012 PMID: 20883798

32. Gholami-Seyedkolaei SJ, Mirvaghefi A, Farahmand H, Kosari AA. Effect of a glyphosate-based herbicide in *Cyprinus carpio*: assessment of acetylcholinesterase activity, hematological responses and serum biochemical parameters. Ecotoxicol Environ Saf. 2013;98:135-141. doi: 10.1016/j.ecoenv.2013.09.011 PMID: 24075644

33. Glusczak L, dos Santos Miron D, Crestani M, da Fonseca MB, de Araújo Pedron F, Duarte MF, et al. Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). Ecotoxicol Environ Saf. 2006;65(2):237-241. doi: 10.1016/j.ecoenv.2005.07.017 PMID: 16174533

34. Saravanan M, Kumar KP, Ramesh M. Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane. Pestic Biochem Physiol. 2011;100(3):206-211. doi: 10.1016/j.pestbp.2011.04.002

35. Mazandarani M, Taheri Mirghaed A, Zargar A, Khodadadi Arpanahi F, Pirali Kheirabadi E, Mirzargar SS. Intestinal histology and haematology of caspian roach (*Rutilus caspicus*) exposed to *Yersinia ruckeri*. J Vet Res. 2020;76(1):44-51. (In Persian). doi: 10.22059/JVR.2019.262756.2828

36. Daliri MK, Firouzbakhsh F, Deldar H. Effect of oral administration of red alga (*Laurencia caspica*) hydroalcoholic extract on growth performance, hematological indices and serum biochemistry in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J Vet Res. 2020;75(3),328-340. (In Persian). doi: 10.22059/JVR.2019.274460.2893

37. Nikoo M, Falahatkar B, Alekhorshid M, Haghi BN, Asadollahpour A. Physiological stress responses in kutum *Rutilus frisii kutum* subjected to captivity. Int Aquat Res. 2010;2(1):55-60. doi: 10.1080/10888705.2012.709156 PMID: 23009626

38. Palaniappan PR, Vijayasundaram V. The effect of arsenic exposure and the efficacy of DMSA on the proteins and lipids of the gill tissues of *Labeo rohita*. Food Chem Toxicol. 2009;47(8):1752-1759. doi: 10.1016/j.fct.2009.04.016 PMID: 19394394

39. Das PC, Ayyappan S, Jena JK, Das BK. Acute toxicity of ammonia and its sub-lethal effects on selected haematological and enzymatic parameters of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). Aquac Res. 2004;35(2):134-143. doi: 10.1111/j.1365-2109.2004.00994.x

40. Salbego J, Pretto A, Gioda CR, de Menezes CC, Lazzari R, Radünz Neto J, et al. Herbicide formulation with glyphosate affects growth, acetylcholinesterase activity, and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). Arch Environ Contam Toxicol. 2010;58(3):740-5. doi: 10.1007/s00244-009-9464-y PMID: 20112104

41. Crestani M, Menezes C, Glusczak L, dos Santos Miron D, Lazzari R, Duarte MF, et al. Effects of clomazone herbicide on hematological and some parameters of protein and carbohydrate metabolism of silver catfish *Rhamdia quelen*. Ecotoxicol Environ Saf. 2006;65(1):48-55. doi: 10.1016/j.ecoenv.2005.06.008 PMID: 16099506

42. Banaei M, MIR VA, Rafei GR, Majazi AB. Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. Int J Environ Res, 2008;2(2):189-198. doi: 10.22059/IJER.2010.193

43. Flodmark LE, Urke HA, Halleraker JH, Arnekleiv JV, Vøllestad LA, Poléo AB. Cortisol and glucose responses in juvenile brown trout subjected to a fluctuating flow regime in an artificial stream. J Fish Biol. 2002;60(1):238-48. doi: 10.1111/j.1095-8649.2002.tb02401.x

44. Ahmad Z. Acute toxicity and haematological changes in common carp (*Cyprinus carpio*) caused by diazinon exposure. Afr J Biotech. 2011;10(63):13852-13859. doi: 10.5897/AJB11.1247

45. Gül Ş, Belge-Kurutaş E, Yıldız E, Şahan A, Doran F. Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (Cyprinidae) living in Seyhan Dam Lake, Turkey. Environ Int. 2004;30(5):605-609. doi: 10.1016/S0160-4120(03)00059-X PMID: 15051236

46. Jiraungkoorskul W, Upatham ES, Kruatrachue M, Sahaphong S, Vichasri-Grams S, Pokethitiyook P. Histopathological effects of Roundup, a glyphosate herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Sci Asia. 2020;28,121-127. doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.2002.28.121