

تأثیر غلظتهای تحت حاد علف کش بوتاکلر بر برخی پارامترهای خونی ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محمود نفیسی بهابادی^{۱*}، شهرام دادگر^۲، فرحناز لکزایی^۲، ژاله مهاجری برازجانی^۳، راضیه عبدالهی^۱

*nafisi@pgu.ac.ir

۱. پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران
۲. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳. دانشگاه آزاد اسلامی بوشهر، بوشهر، ایران

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۴

چکیده

هدف از انجام این تحقیق ارزیابی اثرات علف کش بوتاکلر بر برخی از پارامترهای خونی ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بود. ابتدا غلظت LC₅₀ علف کش بوتاکلر در مدت ۹۶ ساعت تعیین و سپس تعداد ۱۵۰ قطعه بچه ماهی قزل آلا با میانگین وزنی ۲۰/۲۵±۲/۳۳ گرم در ۵ تیمار، شامل ۴ تیمار آزمایشی (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد میزان LC₅₀) و یک تیمار شاهد و هر تیمار شامل سه تکرار به مدت ۶ روز، مورد آزمایش قرار گرفتند و تغییر تعدادی از پارامترهای خونی بررسی شد. نتایج نشان داد که تعداد گلبولهای قرمز و سفید، میزان هموگلوبین و هماتوکریت و مقادیر حجم متوسط گلبولی، هموگلوبین متوسط گلبولی و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی در تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنادار آماری داشتند (p<0.05)، بطوریکه با افزایش غلظت سم بوتاکلر تعداد گلبولهای قرمز، گلبولهای سفید و مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت، همچنین فاکتورهای MCH و MCHC سیر نزولی داشتند. تفاوت معنادار (p<0.05) بین تیمار شاهد با تیمارهای مورد آزمون در این دو فاکتور نیز مشاهده گردید. از لحاظ MCV نیز، اختلاف معنادار آماری بین تیمار شاهد و سایر تیمارها مشاهده گردید (p<0.05). این سم موجب کاهش معنی دار در تمامی فاکتورهای مورد بررسی در این آزمایش گردید که تمام فاکتورها با افزایش غلظت سم بوتاکلر روند کاهشی را نشان دادند. همچنین در تمامی فاکتورها به استثنای WBC اختلاف معنی دار بین دو غلظت پایینتر (۲۵٪ و ۵۰٪) با دو غلظت بالاتر (۷۵٪ و ۱۰۰٪) از این علف کش نیز وجود داشت. بنظر می رسد تغییر حاصله در فاکتورهای خونی ماهیان قرار گرفته در معرض سم بوتاکلر باعث کاهش ایمنی غیراختصاصی و بروز تلفات آنها شده است.

کلمات کلیدی: ماهی قزل آلائی رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss*، بوتاکلر، ایمنی غیر اختصاصی، فاکتورهای خونی.

*نویسنده مسئول

مقدمه

امروزه آفت‌کش‌ها عمدتاً در کشاورزی و به منظور کنترل آفات گیاهی به کار برده می‌شوند اما استفاده بیش از حد و مداوم آفت‌کش‌ها سلامت بشر را به مخاطره انداخته و اثرات معکوسی بر موجودات غیرهدف دارد و موجب آلودگی منابع آب، خاک و هوا می‌گردد (بهادر و موسوی و رستگار، ۱۳۷۷). کاربرد مواد شیمیایی مصنوعی به عنوان آفت‌کش از سال ۱۹۳۰ میلادی آغاز و در طی دهه ۱۹۴۰ و پس از جنگ جهانی دوم به طور وسیع‌تری گسترش یافت. آمار نشان می‌دهد که از مجموع حدود ۳۵۰۰۰ تن ماده دفع آفات نباتی توزیع شده در سطح کشور، حدود ۲۵۰۰۰ تن آن در اراضی کشاورزی استان‌های شمال کشور مورد مصرف کشاورزان قرار می‌گیرد (Tavakol, 2007, Arjomandi et al., 2010, موسوی و رستگار، ۱۳۷۷).

اگرچه تمامی اکوسیستم‌ها در برابر اثرات سمیت آفت‌کش‌ها حساس هستند اما این حساسیت در اکوسیستم‌های آبی به مراتب بیشتر است و اثرات زیان‌بار این آلودگی‌ها پایه‌های اصلی در زنجیره غذایی یعنی فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها را مورد تهدید جدی قرار می‌دهند (کردوانی، ۱۳۷۴). تولید بچه ماهی با کیفیت مناسب به عوامل محیطی زیادی بستگی دارد که یکی از عواملی که بر مراحل رشد ابتدایی ماهیان تأثیر منفی می‌گذارد، سموم هستند. سموم و آفت‌کش‌ها عمده ترین عوامل ایجاد مسمومیت در ماهیان هستند که از بین هزاران ماده شیمیایی رهاسازی شده آفت‌کش‌ها حتی در غلظت‌های بسیار کم موجب مرگ و میر زیادی می‌شوند (Sanchez-fortun and Barahona, 2005).

مصرف بی‌رویه و استفاده نادرست از انواع آفت‌کش‌ها باعث وارد شدن آسیب به محیط و انواع موجودات زنده اکوسیستم‌ها می‌شود. استفاده علف‌هرزکش بوتاکلر در مزارع برنج شمال کشور باعث می‌شود که سموم باقی‌مانده در محیط توسط هرز آب‌های کشاورزی و آب‌های روان به سواحل دریای خزر راه پیدا کنند.

از بین علف‌کش‌ها یکی از پرمصرف‌ترین آن‌ها علف‌کش بوتاکلر می‌باشد که فرمول شیمیایی آن

2-6-diethyl N-(Boutaxymethyl)-2chloro

Acetanilide است (Roy, 2002). بوتاکلر جزو علف‌هرزکش‌های کلرواستانیلید است که برای کنترل سریع هنگام رویش غیرمنتظره علف‌های یکساله و علف‌های هرز پهن برگ در مزارع برنج و جو استفاده می‌شود. اثر این سم به میزان آبی که در دسترس گیاه است بستگی دارد (نوروزیان، ۱۳۷۸). تأثیر سم بوتاکلر به کرات در ماهیان مختلف مورد بررسی قرار گرفته که از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

تأثیر علف‌کش بوتاکلر روی برخی از پارامترهای هماتولوژی در ماهی سفید توسط فرخ روزلاشیدانی و همکاران (۱۳۸۹) بررسی و در آن پاسخ عمده هماتولوژیک ماهیان سفید به سم بوتاکلر کاهش معنی‌دار ($P < 0.05$) گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و MCHC و افزایش معنی‌دار MCV و MCH گزارش شد. کاهش میزان RBC، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهی کپور معمولی^۱ که در معرض سم ارگانوکلره اندوسولفان^۲ قرار گرفته بودند نیز توسط Jenkins و همکاران (۲۰۰۳) گزارش شد.

تأثیر سم ارگانوکلره آلاکلر^۳ روی شاخص‌های هماتولوژی و بافت‌شناسی کپور معمولی توسط Mikula و همکاران (۲۰۰۸) بررسی و مشخص شد که میزان RBC، MCHC، MCH و هموگلوبین آن با افزایش غلظت سم کاهش یافته و میزان PVC و MCV افزایش پیدا می‌کند. استفاده از مدل‌های جانوری در پایش آلودگی‌های زیست‌محیطی و بررسی اثرات بیولوژی سموم بر شاخص‌های سلامت مدل‌های آزمایشی گیاهی و جانوری می‌تواند به عنوان یکی از متداول‌ترین روش‌ها در مطالعات سم‌شناسی مورد توجه قرار گیرد که در این میان خون یکی از مهمترین پارامترهای مطالعه تأثیرات سموم بوده و نسبت به تغییرات درون‌محیطی بسیار مستعد است و به مانند تابلوی سلامت موجود زنده عمل می‌کند، پس سنجش فاکتورهای خونی می‌تواند اطلاعات مناسبی را در

^۱.Cyprinus carpio

^۲.Endosulfan

^۳.Alchlor

رابطه با تغییرات ایجاد شده در بدن موجود زنده به پژوهشگر دهد. خون، منعکس کننده خصوصیات آسیب شناسی بافتی ماهی است و شاخص های هماتولوژیک به عنوان پارامترهای بسیار مناسبی برای تشخیص تغییرات فیزیولوژیک بعد از مواجهه با عوامل آلاینده قابل استفاده هستند. به عبارت دیگر، شاخص های خونی بیانگر وضعیت کلی سلامت ماهی هستند (Adhikari et al., 2004; Maheswaran et al., 2008). در میان فعالیت های گوناگون صنعت شیلات در سال های اخیر، صنعت پرورش ماهی قزل آلا با توجه به شرایط اقلیمی مطلوب و بستر مناسب در مناطق مختلف در رودخانه ها، دریاچه ها، نهرها و... گسترش یافته است (شمس الدین وندی و همکاران، ۱۳۸۶). ماهی قزل آلا رنگین کمان مهمترین گونه آزاد ماهیان پرورشی اکثر مزارع پرورش ماهیان سردآبی دنیا و تقریباً صد درصد مزارع پرورش ماهیان سردآبی ایران را بخود اختصاص می دهد (نفیسی بهابادی، ۱۳۸۹) که با توجه به ارزش اقتصادی این گونه و افزایش روزافزون مصرف سموم آفت کش در کشاورزی و حساسیت متفاوت ماهیان در سنین مختلف به این سموم ضروری است. آزمایش های سم شناسی برای این ماهیان در سنین مختلف با غلظت های متفاوت صورت گیرد. هدف از تحقیق حاضر، تعیین سمیت حاد یا کشنده (LC_{50} 96 h) علف کش بوتاکلر روی بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان و بررسی پاسخ هماتولوژیک این ماهی با غلظت های تحت حاد بوتاکلر می باشد.

مواد و روش ها

این تحقیق در پاییز ۱۳۹۲ و در شرایط آزمایشگاهی به منظور ارزیابی اثرات سمیت حاد سم بوتاکلر بر فاکتورهای خونی ماهی قزل آلا رنگین کمان در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس بوشهر انجام گرفت. ماده مورد آزمایش سم بوتاکلر با درجه خلوص ۶۰ درصد همراه با حلال به صورت امولسیون به عنوان یک علف کش از فروشگاه سموم کشاورزی خریداری و از این سم همراه با حلال آن برای آزمایش های LC_{50} 96h و بررسی فاکتورهای خونی استفاده شد. تعداد ۱۵۰ قطعه بچه ماهی

قزل آلا با میانگین وزنی $20/25 \pm 2/33$ گرم و میانگین طولی $12/1 \pm 2/96$ سانتی متر از یکی از مراکز تکثیر این گونه در استان فارس خریداری و در کمتر از ۱۲ ساعت در مخزن مجهز به کپسول اکسیژن به محل انجام آزمایش منتقل شدند. ماهیان پس از ورود به آزمایشگاه برای عادت پذیری با شرایط جدید به مدت ۲۴ ساعت به منظور جلوگیری از ورود استرس غذایی نشدند و پس از آن غذادهی ۲ بار در روز ۶ صبح و ۶ عصر به میزان ۱/۵٪ وزن توده زنده صورت گرفت، جیره غذایی به صورت اکستروود با علامت اختصاری (EX-GT1) از شرکت تعاونی ۲۱ بیضاء خریداری و مورد مصرف قرار گرفت. دوره عادت پذیری ۵ روز بود و ماهیها در این مدت در تانک های پرورش نگهداری شدند و آب تانک ها به صورت روزانه و به میزان صد درصد بر اساس یافته های (Nafisi and Soltani, 2008) تعویض شد. فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب نیز به صورت روزانه اندازه گیری شده بطوریکه شوری آن در دامنه $2/50 - 2/74$ گرم در لیتر، اکسیژن محلول 8 ± 1 میلی گرم در لیتر، درجه حرارت آب در دامنه 15 ± 4 درجه سانتیگراد و pH در دامنه $7/25 - 8/15$ ثبت شد. پس از مراحل آدپتاسیون، ماهی ها به آکواریوم های آماده شده برای انجام آزمایش وارد شدند. در آکواریوم های تعیین شده، ۲۴ ساعت قبل از آزمایش تا حجم ۴۸ لیتر آبگیری شده و جهت تامین اکسیژن مورد نیاز ماهیها از یک سیستم مرکزی هوادهی از نوع هواده حلزونی با قدرت $0/4$ کیلووات، دبی هوای خروجی $1/3$ متر مکعب در دقیقه و فشار خروجی ۱۱۰ میلی بار استفاده شد (Nafisi and Soltani, 2008). این هواده میزان اکسیژن تانکها را در طول دوره آزمایش در حدود شرایط اشباع نگه داشت.

آزمایش تعیین LC_{50}

در این مرحله از انجام آزمایش اثرات سمیت حاد LC_{50} در مدت ۹۶ ساعت سم کشاورزی بوتاکلر روی بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان تعیین گردید. به منظور تعیین مقادیر غلظت کشنده سم بوتاکلر در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت، ۱۵۰ قطعه ماهی در ۵ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار ۱۵۳

روش های اندازه گیری پارامترهای هماتولوژی

اندازه گیری هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین و با استفاده از محلول درابکین صورت گرفت و هماتوکریت با روش لوله های میکرو هماتوکریت توسط سانتریفیوژ HETTINGER اندازه گیری شد. گلبول قرمز و گلبول سفید به وسیله لام نئوبار شمارش شد. برای محاسبه شاخص های گویچه ای از فرمول های ارائه شده توسط (Köprücü et al., 2006) استفاده شد که عبارتند از:

$$MCV = \frac{10 \times \text{درصد هماتوکریت}}{\text{تعداد گلبول های قرمز}}$$

$$MCH = \frac{10 \times \text{هموگلوبین}}{\text{تعداد گلبول های قرمز}}$$

$$MCHC = \frac{100 \times \text{هموگلوبین}}{\text{درصد هماتوکریت}}$$

تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه ریزی و اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده ها شامل محاسبه میانگین و انحراف معیار با استفاده از نرم افزار SAS و با استفاده از روش آماری تجزیه واریانس یکطرفه ANOVA و آزمون LSD صورت گرفت و مقادیر $P < 0.05$ معنی دار تلقی گردید. برای تجزیه و تحلیل داده های حاصل از مرگ و میر ماهیان در معرض سم بوتاکلر از روش آماری Probit program که بوسیله EPA آمریکا برای تجزیه و تحلیل داده های مرگ و میر ناشی از مسمومیت مزمن و حاد ماهیان و سایر آبزیان در آب های جاری و ساکن طراحی شده است (با سطح اطمینان ۹۵ درصد)، استفاده گردید (Aydin and Köprücü, 2005).

نتایج

بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق LC_{50} در مدت ۹۶ ساعت سم بوتاکلر روی بچه ماهیان قزل آلا ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز (MAC Value) این سم نیز ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر تعیین گردید

توزیع شده در هر تیمار ۳۰ قطعه و برای هر تکرار آن ۱۰ قطعه توزیع شدند. در معرض غلظت های صفر، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر آفت کش بوتاکلر به مدت ۹۶ ساعت قرار داده و هر ۲۴ ساعت تعداد تلفات ثبت گردید. در این مرحله LC_{50} سم بوتاکلر در مدت ۹۶ ساعت روی بچه ماهیان قزل آلا ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر تعیین شد و مقادیر LC_{50} طی ۹۶ ساعت و میزان حداکثر غلظت مجاز (۱۰٪ میزان LC_{50} در مدت ۹۶ ساعت) مشخص شدند و ماهیها به مدت ۶ روز تحت تاثیر غلظت های مشخص شده قرار گرفتند.

آزمایش بررسی اثرات سمیت حاد

در مرحله دوم آزمایش ماهیان در ۴ گروه آزمایشی و به صورت ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد میزان LC_{50} و یک گروه شاهد تقسیم شدند به گونه ای که هر تیمار با ۳ تکرار و تعداد ۱۲ قطعه ماهی به هر تکرار اختصاص یافت. ماهیها به صورت تصادفی در ۱۵ آکواریوم توزیع شدند. ابعاد آکواریوم ها ۴۰×۴۰×۴۰ سانتی متر بود که با ۴۸ لیتر آب پر شده و غلظت های مشخص سم (۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵۰، ۰/۱۸۷۵ و ۰/۲۵۰۰ میلی گرم در لیتر) ۲۴ ساعت قبل از رها سازی ماهیان به آب وارد شده بود و هوادهی نیز صورت گرفت. ماهیها به مدت ۶ روز تحت تاثیر غلظت های مذکور قرار گرفتند.

نمونه گیری و خون گیری

در پایان دوره آزمایش از هر تکرار تعداد ۵ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و به منظور جلوگیری از بروز استرس با استفاده از پودر گل میخک با غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر (مهرابی، ۱۳۷۶) بیهوش شده و سپس از طریق ورید ساقه دمی خونگیری انجام گرفت و نیم سی سی از خون را داخل لوله های استریل درب دار و هپارینه و در محفظه های حاوی یخ جهت مطالعات سرو لوژی به آزمایشگاه منتقل شد.

نتایج حاصل از بررسی برخی از فاکتورهای خونی مختلف از قبیل تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، میزان هموگلوبین و هماتوکریت و مقادیر حجم متوسط گلبولی، هموگلوبین متوسط گلبولی و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی نشان داد که در بین تیمارها اختلاف معنادار آماری وجود داشت ($p < 0.05$) (جدول ۱). با افزایش غلظت سم بوتاکلر فاکتورهای خونی اندازه‌گیری شده روند کاهشی داشت. تفاوت معنادار بین تیمار شاهد با تیمارهای ۲۵٪ و ۵۰٪ و با تیمارهای ۷۵٪ و ۱۰۰٪ میزان LC50 96h بوتاکلر، در این دو فاکتور اندازه‌گیری شد. از لحاظ MCV، اختلاف معنادار آماری بین تیمار شاهد و سایر تیمارها مشاهده گردید ($p < 0.05$).

بررسی میانگین میزان هموگلوبین و هماتوکریت بوضوح نشان داد که شرایط حاد و آلودگی شدید با علف کش بوتاکلر (تیمار ۱۰۰٪ میزان LC50) باعث کاهش میزان هموگلوبین بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان شده و مقدار آن را از $12/16 \pm 0/49$ به $4/13 \pm 0/0$ گرم در دسی لیتر کاهش داده است. همچنین درصد هماتوکریت در

آلودگی‌های شدید با علف کش بوتاکلر کاهش یافت و این رقم از $1/20 \pm 1/16$ به $16/26 \pm 1/41$ درصد رسید. درصد هماتوکریت در سایر تیمارهای آزمون نیز به صورت معنی‌داری کاهش یافتند ($p < 0.05$). بررسی میانگین میزان گلبول‌های سفید بوضوح نشان داد که آلودگی شدید با علف‌کش بوتاکلر باعث کاهش میزان گلبول‌های سفید از $28/90 \pm 0/21$ در گروه شاهد به $17/00 \pm 1/41$ هزار در میلی متر مکعب در غلظت بالای بوتاکلر، گردید. میزان هماتوکریت خون نیز با افزایش غلظت علف‌کش بوتاکلر به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). علف کش بوتاکلر سبب کاهش معنادار فاکتورهای یاخته قرمز خون شد ($p < 0.05$)، بطوری که میزان MCV از $235/02 \pm 1/98$ در گروه شاهد به $251/96 \pm 1/55$ فمتولیت در آلودگی شدید کاهش یافت و میزان MCH از $59/92 \pm 0/53$ پیکوگرم در گروه شاهد به $126/98 \pm 0/64$ پیکوگرم کاهش یافت، همچنین میزان MCHC نیز از $25/46 \pm 2/34$ درصد در گروه شاهد به $50/33 \pm 2/18$ درصد در آلودگی شدید کاهش یافت (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین پارامترهای هماتولوژیک بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تحت تأثیر غلظت‌های حاد (۱۰۰٪ میزان LC50) و تحت حاد سم بوتاکلر (mean±SD)

MCHC	MCH	MCV	WBC	HB	HTC	RBC	صفات
							غلظت سم بوتاکلر (LC50)
$50/33^a \pm 2/34$	$126/98^a \pm 0/64$	$251/96^a \pm 1/55$	$28/90^a \pm 0/21$	$12/16^a \pm 0/49$	$24/16^a \pm 1/20$	$0/96^a \pm 0/0$	شاهد
$43/26^b \pm 2/22$	$99/26^b \pm 0/80$	$235/02^b \pm 1/67$	$26/73^b \pm 1/05$	$9/23^b \pm 0/77$	$21/33^b \pm 1/41$	$0/96^b \pm 0/02$	۲۵٪
$39/75^b \pm 2/34$	$87/75^b \pm 1/73$	$220/41^b \pm 10/96$	$21/40^c \pm 0/63$	$7/70^c \pm 0/20$	$19/33^c \pm 1/41$	$0/78^b \pm 0/03$	۵۰٪
$25/82^c \pm 2/56$	$58/60^c \pm 0/88$	$226/92^b \pm 2/96$	$19/13^d \pm 1/69$	$4/43^d \pm 0/35$	$17/16^d \pm 1/06$	$0/75^c \pm 0/07$	۷۵٪
$25/46^c \pm 2/18$	$59/92^c \pm 0/53$	$235/02^b \pm 1/98$	$17/00^e \pm 1/41$	$4/13^d \pm 0/0$	$16/26^d \pm 1/41$	$0/69^c \pm 0/08$	۱۰۰٪

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار نیستند.

بحث

در این پژوهش، مسمومیت‌زایی علف‌کش بوتاکلر در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان همراه با تأثیر آن بر رفتار بالینی و نیز برخی فاکتورهای خونی مورد مطالعه قرار گرفت. طی ۶ روز آزمایش مسمومیت‌زایی با سم بوتاکلر هیچ گونه تلفاتی در گروه شاهد مشاهده نشد. همچنین

میزان اکسیژن در هر دو گروه شاهد و آزمون در حد اشباع قرار داشت. شایع‌ترین علائم رفتاری غیر طبیعی در ماهیان سندرم فلج عصبی بود که ماهیان بلافاصله پس از قرار گرفتن در سم دچار بی‌تابی شدید و با افزایش غلظت سم، دچار شنای نیم دایره و حرکات تشنجی شدند که این موارد در گزارش محققان دیگر نیز ذکر شده است

غلظت هموگلوبین با تخریب کبد، از بین رفتن آب پلاسما و تغلیظ خون تغییر می‌کند (Nicula et al., 2013). در مطالعه حاضر با افزایش غلظت سم بوتاکلر در آب، مقدار هموگلوبین خون ماهیان نیز کاهش یافت. این کاهش را می‌توان به کمتر شدن تعداد گلبول‌های قرمز نسبت داد. در تحقیقی که توسط Zutshi و همکاران در سال ۲۰۱۰ به انجام رسیده مشخص شده که آلاینده می‌تواند تعادل اسمزی را برهم زده و ظرفیت حمل اکسیژن گلبول‌های قرمز را کاهش دهد؛ در نتیجه ماهی برای جبران این امر شروع به خون‌سازی و آزاد کردن گویچه‌های قرمز از دخیل خود می‌کند. مسلماً با در نظر گرفتن تأثیر مستقیم سم بر اندام‌های داخلی بدن می‌توان ادعا نمود که در مطالعه حاضر تخریب فرآیندهای خون‌سازی همانند تجزیه گلبول‌ها (Ololade and Oginni, 2010)، موجب بروز روند کاهشی فاکتورهای خونی همزمان با افزایش غلظت بوتاکلر شده است. البته دلایل دیگری نیز برای کاهش گلبول‌های خون ذکر شده است که به عنوان مثال کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در خون را می‌توان به تجمع آنها در آبشش ماهیان قرار گرفته در معرض استرس ناشی از حضور آلاینده نسبت داد (Narain and Srivastava, 1989).

مقادیر MCV، MCH و MCHC کاملاً به مقادیر پارامترهای هموگلوبین، همتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز خون وابسته می‌باشد؛ بنابراین تغییرات در پارامترهای ذکر شده سبب تغییر در این سه فاکتور می‌گردد. در تطابق با نتایج حاصل از مطالعه حاضر، Mekkawy و همکاران در سال ۲۰۱۱ کاهش معنادار میزان MCV، MCH و MCHC را در گربه ماهی آفریقایی^۱ قرار داده شده در معرض نونیل فنول گزارش کردند. همچنین گزارش شده است که در معرض‌گذاری ماهی کپور معمولی با آفت‌کش ارگانوکلر لپندان موجب کاهش معنادار پارامترهای MCV، MCH و MCHC در مقایسه با تیمار کنترل می‌شود (Saravanan et al., 2011). کاهش مقادیر MCV، MCH و MCHC به

(سلطانی و خوش‌باور رستمی، ۱۳۸۱ و Svobodova et al., 2003). موارد دیگری از قبیل تجمع ماهیان در اطراف محله‌واهی، شنا در نزدیک سطح آب، ظهور لکه‌های سیاه روی بدن و سفید شدن سیاهی چشم موارد مشاهده‌ای دیگری بودند که می‌توان به آنها اشاره کرد. با توجه به نتایج ارائه شده در جدول شماره ۱ مشخص است که تعداد گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و مقادیر هموگلوبین و همتوکریت، با افزایش غلظت سم بوتاکلر، کاهش یافتند. این امر نشان می‌دهد که ماهیان در معرض قرار گرفته، دچار شرایط کم‌خونی شده و مسلماً بیانگر تأثیر مخرب آفت‌کش بوتاکلر بر ظرفیت حمل اکسیژن خون است که باعث می‌شود ماهی نتواند انتقال اکسیژن را بخوبی انجام دهد. گزارش شده است که تعداد گلبول‌های سفید ماهی در مواجهه با آلاینده‌های محیطی به دلیل تحریک سیستم دفاعی بدن افزایش می‌یابد (Hymavathi and Rao, 2000). از طرف دیگر به دلیل ایجاد حالت مسمومیت، ماهی برای رفع نیازهای خود به اکسیژن، میزان تولید هموگلوبین و گلبول‌های قرمز را افزایش می‌دهد (Fareé et al., 2009). در واقع، علت اصلی افزایش گویچه‌های قرمز می‌تواند تلاش بدن برای رفع نقصان اکسیژن‌رسانی در اثر آسیب به آبشش و آزاد شدن آنها از محل ذخیره خود در خون باشد (Svoboda et al., 2001). برای توضیح این تناقض که در نتایج ما با گزارش‌های مذکور فوق مشاهده می‌شود، کمتر بودن تعداد گلبول‌های خونی در غلظت‌های بالاتر بوتاکلر را می‌توان به تخریب گلبول‌های خونی تولید شده و یا آسیب اندام‌های تولیدکننده آنها همچون طحال و کبد در اثر حضور سم نسبت داد (Shah and Altindag, 2004). تأثیر کاهشی سایر آلاینده‌های طبیعی همانند نونیل فنول و دیازینون بر شاخص‌های شمارشی خون ماهیان قبلاً نشان داده شده است (سعیدی فر و همکاران، ۱۳۹۱؛ Mekkawy et al., 2011). همچنین ذکر شده است که غلظت‌های ۲۵٪ و ۷۵٪ سم بوتاکلر باعث کاهش معنادار RBC، همتوکریت، هموگلوبین، MCH و MCHC در ماهی سفید می‌شود (فرخ روز لاشیدانی و همکاران، ۱۳۸۹).

¹. *Clarias gariepinus*

بررسی شد و نتایج نشان داد که سموم ارگانوفسفره موجب تغییراتی در بدن ماهی می شوند که باعث کاهش فعالیت بافت خونساز اولیه و در نتیجه سبب کم خونی در ماهی می شود (Khattak and Hafeezn, 1996).

با توجه به نتایج این تحقیق و دیگر محققین روی کپور ماهیان و نیز سایر ماهیان می توان گفت که سم بوتاکلر علف کش غالب مزارع برنج موجب کم خونی، کاهش میزان فاکتورهای خونی هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول سفید، گلبول قرمز، MCV، MCH، و MCHC و ضعیف شدن سیستم ایمنی بدن ماهیان می گردد. لذا مطالعات پایشی از مقادیر این سم در رودخانه ها بیش از پیش ضرورت دارد.

منابع

- بهادر، ع.، بهادر، ف. ۱۳۸۶. میکروبیشناسی پزشکی. چاپاول. تهران. ناشرخسروی. ۲۷۲ صفحه.
- پاشایی چلکاسری، ح.، فرخ روزلاشیدانی، م.، زمینی، ع.، ابراهیمیان، ی. ۱۳۹۱. تعیین غلظت کشنده (LC₅₀ 96h) حشره کش دیازینون و، علف کش ماچتی بر روی بچه ماهی سیاه کولی. (Vimbavimbapersa) مجله علمی شیلات ایران، سال سوم، شماره ۹، صفحات ۶۸-۶۳.
- سعیدی فر، م.، وهابزاده رودسری، ح.، زمینی، ع. ۱۳۹۱. تاثیر آفت کش دیازینون بر رفتار و برخی شاخص های خونی بچه ماهیان قزل آلا ی رنگین کمان. مجله شیلات، سال ششم، شماره اول، صفحات ۱۰۶-۹۵.
- سلطانی، م.، خوشباوررستمی، ح. ۱۳۸۱. مطالعه اثر دیازینون بر برخی شاخص های خونی و بیوشیمیایی تاس ماهی روسی یا چالباش (*Acipenser guldenstadti*) مجله علوم و فنون دریایی ایران، شماره ۱، صفحات ۶۵-۷۵.
- شمس الدین ونندی، ر.، صالح، ای.، سلامی، ح. ۱۳۸۶. سنجش سودآوری مزارع پرورش ماهی قزل آلا در ایلام و بررسی عوامل مؤثر بر آن. مجموعه مقالات ششمین

دنبال حضور بوتاکلر در مطالعه حاضر می تواند نشان دهنده کم خونی از نوع ماکروسیتی باشد و در واقع بیانگر واکنش دفاعی در مقابل آلاینده یا در نتیجه کاهش گلبول های قرمز، هموگلوبین و مقادیر هماتوکریت به دنبال اثرات سوء بوتاکلر باشد (Vaseem and Banerjee, 2012). از سوی دیگر، کاهش گلبول های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت باعث استرس می شوند که به نوبه خود موجب کاهش رشد و دیگر پارامترهای مصرف غذا می شوند که تمام این عوامل می توانند کم خونی ناشی از ماده آلاینده را شدیدتر کنند (James and Sampath, 1999).

بررسی سمیت حاد^۱ حشره کش دیازینون و علف کش ماچتی (بوتاکلر) روی بچه ماهی سیاه کولی توسط پاشایی چلکاسری و همکاران (۱۳۹۱) انجام گرفت و نتایج نشان داد که میزان سمیت حاد دیازینون و بوتاکلر روی بچه ماهیان ۱ تا ۲ گرمی سیاه کولی به ترتیب برابر ۰/۰۹ و ۰/۶۱ میلی گرم در لیتر بود. احتمالاً این نوع تغییرات ناشی از اثر مستقیم سم بر بافت خونساز کلیه و طحال می باشد، بنابراین با توجه به نتایج این مطالعه و سایر مطالعات مورد اشاره می توان چنین نتیجه گیری کرد که بوتاکلر به طور عمده موجب تضعیف سیستم ایمنی غیر اختصاصی قزل آلا می شود، که این امر می تواند به دلیل تخریب بافتهای خونساز و از دست رفتن توان دفاعی آن ها به دلایل افزایش غلظت سم و افزایش مدت زمان قرار گرفتن در معرض سم باشد. چنان که Oh و همکاران (۱۹۹۱) بیان کردند که یکی از عوامل تاثیر گذار در مسمومیت آبزیان زمان است. هنگامی که ماهی در معرض غلظت های ثابتی از سم باشد به مرور زمان مقاومت ماهی تحلیل می رود و سم فرصت بیشتری برای تأثیر روی ماهی پیدا می کند. افزایش غلظت هموگلوبین در خون ماهیان به عنوان اولین پاسخ این موجودات به مسمومیت با مواد سمی است و متعاقب این افزایش، کاهش تدریجی هموگلوبین تا رسیدن به غلظت کمتر از حد طبیعی رخ می دهد. در مطالعه دیگری تاثیر مالاتیون بر گونه *Cyprinion wabosoni*

^۱ Acute toxicity

^۲ *Vimba vimba persa*

- Environmental Science Technology, 7(1): 175-182.
- Farré, M., Gajda-Schranz, K., Kantiani, L. and Barceló, D., 2009.** Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 393(1): 81-95.
- Hymavathi, V. and Rao, L.M. 2000.** Effect of sublethal concentration of lead on the Haematology and Biochemical Constituents of *Channapunctatus*. *Bulletin of Pure and Applied Sciences*, 19: 1-5.
- James, R. and Sampath, K., 1999.** Effect of the ion-exchanging agent, Zeolite, on reduction of cadmium toxicity: an experimental study on growth and elemental uptake in *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 62: 222-229.
- Jenkins, F., Smith, J., Hajanna, B., Shameen, H., Umadevi, K., Sandhyra, V. and Madhavi, R., 2003.** Effect of sublethal concentration of endosulfan of hematological and serum biochemical parameters in the Carp (*Cyprinus Carpio*) *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70:993-997.
- khattak, I.U.D. and Hafeez, M.A., 1996.** Effect of malathionon blood parameters of fish, *Cyprinion watsoni* pak. *Journal of Zoology*, 28: 45-49.
- Köprücü, S.Ş., Köprücü, K., Ural, M.Ş., İspir, Ü. and Pala, M., 2006.** Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of
- کنفرانس اقتصادی کشاورزی ایران. دانشگاه فردوسی مشهد. دانشکده کشاورزی.
- فرخ روز لاشیدانی، م.، قاسمی نژاد، ا.، فلک رو، ک.، فهیم سیده، م.، رحیمی بشر، م. ۱۳۸۹. تأثیر علف کش بوتاکلر بر برخی از پارامترهای هماتولوژی در ماهی سفید. مجله علوم زیستی واحد لاهیجان، سال چهارم، شماره اول، صفحات ۶۵-۵۷.
- کردوانی، پ. ۱۳۷۴. زئوهیدروبیولوژی. انتشارات دانشگاه تهران. ۷۷ ص.
- موسوی، م.، رستگار، م. ۱۳۷۷. آفتکش ها در کشاورزی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی. واحد ورامین. ۳۰۰ ص.
- مهرابی، ی. ۱۳۷۶. مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی پودر میخک بر روی قزل آلائی رنگین کمان. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۴۱-۴۰، صفحه ۱۶۰-۱۶۲.
- نفیسی بهابادی، م. ۱۳۸۹. راهنمای عملی پرورش ماهی قزل آلائی رنگین کمان. انتشارات دانشگاه هرمزگان. چاپ دوم. ۳۶۵ ص.
- نوروزیان، م. ۱۳۷۸. فهرست سموم مجاز کشور. انتشارات سازمان حفظ نباتات. ۲۳۳ ص.
- Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C. T., and Ayyappan, S., 2004.** Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeorohita* (Hamilton). *Ecotoxicology and environmental safety*, 58(2): 220-226.
- AydMn, R. and Köprücü, K., 2005.** Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Pesticide Biochemistry and Physiology*: 82, 220-225.
- Arjmandi, R., Tavakol, M. and Shayeghi, M., 2010.** Determination of organophosphorus insecticide residues in the rice paddies. *International Journal of*

- fingerling European catfish (*Silurus glanis* L.). Pesticide biochemistry and physiology, 86(2): 99-105.
- Maheswaran, R., Devapaul, A., Muralidharan, S., Velmurugan, B. and Ignacimuthu, S., 2008.** Haematological studies of fresh water fish, *Clarias batrachus* (L.) exposed to mercuric chloride. International Journal of Integrative Biology, 2(1): 49-54.
- Mekkawy, I. A., Mahmoud, U.M. and Sayed, A.E.D.H., 2011.** Effects of 4-nonylphenol on blood cells of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). Tissue and Cell, 43(4): 223-229.
- Mikula, P., Mpdra, H., Nemethora, D. and Groch, L., 2008.** LASSOMTX (Alachlor 92/ WIV) on Hematological Indices. Environmental Contamination and Toxicology, 81: 475-479.
- Nafisi, M. and Soltani, M., 2008.** Effect of different dietary energy levels and feeding rates on growth and body composition of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Iranian Journal of Fisheries Sciences, 7(2s): 171-186.
- Narain, A.S. and Srivastava, P.N., 1989.** Anemia in the Freshwater Teleost, *Heteropneustes fossilis*, under the stress of Environmental pollution. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 43(4): 627-634.
- Nicula, M., Dumitrescu, G., Petculescu-Ciochină, L., Bănăţean-Dunea, I., Marcu, A., Tăpălagă, I. and Lunca, M., 2013.** Subsequent Study Regarding some Histopathological Tissue Changes Related to EDTA Experimental Exposure in Prussian Carp (*Carassius gibelio*). Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies, 46(1): 265-272.
- Oh, H.S., Lee, S.K., Kim, Y.H. and Roh, J.K., 1991.** Mechanism of selective toxicity of diazinon to killifish (*Oryzias latipes*) and loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). Aquatic Toxicology and Risk Assessment, 14: 343-353.
- Ololade, I.A. and Oginni, O., 2010.** Toxic stress and hematological effects of nickel on African catfish, *Clarias gariepinus*, Fingerlings. Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 22: 14-19.
- Roy, N.K. 2002. Chemistry of Pesticides. Indian agriculture. Research. 346 pp.
- Sanchez-fortun, S. and Barahona, M.V., 2005.** Comparative study on the environmental risk induced by several pyrethroids in estuarine and freshwater invertebrate organisms. Chemosphere, 59: 553-559.
- Saravanan, M., Prabhu Kumar, K. and Ramesh, M., 2011.** Haematological and biochemical Responses of Freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane. Pesticide Biochemistry and Physiology, 100(3): 206-211.
- Shah, S.L. and Altindag, A., 2004.** Hematological parameters of tench (*Tinca tinca* L.) after acute and chronic exposure to lethal and sublethal mercury

- treatments. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 73(5): 911-918.
- Svoboda, M., Iuskova, V., Drastichova, J. and Ilabek, V., 2001.** The effect of Diazinon on Hematological Indices of Common Carp (*CyprinusCarpio*). ActaVeterinaria Brno, 70: 457-465
- Svobodova, Z., Iusova, V., Drastichova, J., Svoboda, M. and Zlabek, V., 2003.** The Effect of Deltamethrin on Hematological Indices of Common Carp (*CyprinusCarpio*). Actaveterinaria Brno, 72: 70-85.
- Tavakol, M., 2007.** Environmental impact assessment of diazinon in rice fields (a Case Study on Amol Township Rice Fields), M.Sc. Thesis, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.(In Persian).
- Vaseem, H. and Banerjee, T.K., 2012.** Toxicity analysis of effluent released during recovery of metals from polymetallic sea nodules using fish haematological parameters, In: The Functioning of Ecosystem. Edition: 1st, Chapter: 13, Publisher: INTECH, Rijeka, Croatia, pp. 249-260.
- Zutshi, B., Prasad, S.R. and Nagaraja, R., 2010.** Alteration in hematology of *Labeorohita* under Stress of pollution from Lakes of Bangalore, Karnataka, India. Environmental Monitoring and Assessment. 168(1-4): 11-19.

The effect of subacute concentrations of Butachlor herbicide on some blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Mahmoud NafisiBahabadi^{*1}; Shahram Dadgar²; Farahnaz Lakzaei²;
Zhaleh Mohajeri³; Razieh Abdolahi¹

* nafisi@pgu.ir

1. Persian Gulf Research Institute, University of Persian Gulf, Bushehr, Iran
2. Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
3. Islamic Azad University, Bushehr, Iran

Received: September 2015

Accepted: April 2016

Keywords: Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Butachlor, Blood factors

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effect of Butachlor on some blood parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 150 pieces of fish in five experimental groups (25, 50, 75, 100% dosage of LC₅₀ and control) were exposed to various concentrations of the herbicide Butachlor for 6 days and changes in the blood parameters were studied. At the end of experiment, there were significant difference ($p < 0.05$) between experimental treatments in terms of their number of red and white blood cells, hemoglobin and hematocrit values. MCV, mean corpuscular hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin concentration. The number of red and white blood cells, hemoglobin and hematocrit values decreased with increasing Butachlor concentration. Also MCH and MCHC showed decreasing trend by increasing percentage of Butachlor. These two factors as well as MCH were significantly different in control compared to the other treatments. Regarding MCV, an insightful difference was observed between control group and other groups. Increasing Butachlor concentration reduced every studied factor eloquently. Moreover, in every factor except WBC, there was a significant difference between low (25%, 50%) and high (75% , 100%) concentration of the Butachlor. Evidently, change in different blood factors of fish under the Butachlor toxin had cause a reduction in their protection system and mortality.

* Corresponding author