مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال اول، شماره سوم، زمستان ۱۳۹۱ (۱۲-۷)

اثر اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) بر شاخص‌های خونی ماهی قزل آلای رنگین کمان جوان (*Onchorhynchus mykiss*)

مجید محمدنژاد شموشکی[۱]*، رضا جهانشاهی[۲]، میثم رحمتی[۲]، هومن شجیعی[۳]

۱. استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرگز، گروه شیلات، بندرگز
۲. دانش‌آموخته مهندسی منابع طبیعی- شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرگز، گروه شیلات، بندرگز، ۳. استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، گروه زیست شناسی، دامغان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/٤/۱٦، تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۹/۱۰)

چکیده

در این تحقیق ابتدا سمیت حاد (LC50 96h) ماده شیمیایی اتیلن دی آمین ترا استیک اسید EDTA (EDTA) در پاییز سال ۱۳۹۰ برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات و به روش استاندارد O.E.C.D در طی ۹٦ ساعت انجام پذیرفت. ابتدا مقدار LC_{50} ۹٦ ساعته، EDTA برای ماهی قزل آلای رنگین کمان برابر ۲۲۳۱ نمونه تعیین گردید. سپس ماهیان با میانگین طولی و وزنی ۲/۱±۱۸/٤ سانتی متر و ۱۲±۵۱ گرم مدت ۹٦ ساعت به طور تصادفی به ۵ گروه آزمایشی (۸۰۰، ۱۱۰۰، ۱٤۰۰، ۱۷۰۰ و۲۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از سم EDTA) و یک گروه شاهد در ۳ تکرار تقسیم شدند. در طول دوره آزمایش پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب نظیر pH، اکسیژن محلول، سختی و درجه حرارت اندازه گیری شدند. داده‌ها با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج هماتولوژی نشان داد که سم EDTA باعث افزایش تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت و کاهش هموگلوبین، هماتوکریت، لنفوسیت می‌گردد و از این لحاظ تفاوت معنی دار آماری بین تیمارهای مورد نظر مشاهده گردید (P<۰/۰۵) اما هیچ تفاوت معنی دار آماری در تعداد گلبول‌های قرمز، MCV، MCH، MCHC در بین تیمارهای مورد بررسی مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). نتایج نشان داد که قرار گرفتن در معرض غلظتهای پایین سم EDTA باعث تغییر در پارامترهای خونی ماهی قزل آلای رنگین کمان و ضعیف شدن سیستم ایمنی بدن ماهی می‌گردد. نتایج بررسی نشان داد که سم EDTA باعث آسیب رساندن به سلامت ماهی قزل آلا می گردد.

واژه‌های کلیدی: EDTA، سمیت حاد، هماتولوژی، قزل‌آلای رنگین‌کمان

Study Effects of Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) on Haematological Parameters in *Onchorhynchus mykiss* Juvenile

M. Mohammad Nejad Shamoushaki[1]*, R. Jahanshahi [2], M. Rahmati[2], H. Shajiee[3]

1. Assistant Professor of Department of Fishery, Bandar Gaz Branch, Islamic Azad University, Bandar Gaz, 2. Graduated of fishery (BSc), Department of Fishery, Bandar Gaz Branch, Islamic Azad University, Bandar Gaz, 3. Assistant Professor of Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan

(Received: Jul. 6, 2012; Accepted: Dec. 1, 2013)

Abstract

In this study acute toxicity (96h LC_{50}) of EDTA has been carried out in laboratory conditions in 2011 fall for rainbow trout. The experiments were conducted for 96h with standard method (O.E.C.D). LC50 values of EDTA at 96 h were 2231 mgl^{-1}, to the rainbow trout. Then, individuals with a body weight of 51 ± 12 g and length 18.5 ± 2.1 cm were selected for six groups (five test group and control group). *Onchorhynchus mykiss* were exposed to 800, 1100, 1400, 1700 and 2100 mgl^{-1} of EDTA. Fish were exposed for 96 h. The experiments periods were controlled water physicochemical factors such as: pH, total hardness, dissolved oxygen and temperature. For analysis of all data SPSS software program was used. Haematology results show that exposure to EDTA causes an increase in leukocyte count (WBC), neutrophil, eosinophil, monocyte and a decrease in haemoglobin (Hb), haematocrit (HCT) and lymphocyte ($P<0.05$). Also, there are no significant effects in erythrocyte count (RBC), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin (MCH) and mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) ($P>0.05$). The results showed that exposure to low concentrations of EDTA causes changes in some haematological parameters of rainbow trout and may weaken the fish immune system. The results of this research showed that toxic EDTA endangers health of *Onchorhynchus mykiss*.

Keywords: Acute toxicity, EDTA, Haematological, *Onchorhynchus mykiss*

* نویسنده مسئول: مجید محمدنژاد شموشکی Email: majid_m_sh@bandargaziau.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

انسان تولیدکننده آلاینده‌های متعدد و متنوعی است که بخش اعظم این مواد به طور مستقیم و غیرمستقیم به محیط‌های آبی وارد می‌گردد. بخشی از آلاینده‌ها مانند اغلب مواد آلی طی فرایندهای زیستی تجزیه می‌گردد ولی بعضی مواد در مقابل تجزیه مقاوم بوده و مدت زیادی در محیط‌های آبی باقی می‌مانند. سیستم‌های آبی پیوسته مواجه با مشکلات ناشی از آلاینده‌ها هستند که از منابع مختلف صنعتی، پساب‌های کشاورزی و فاضلاب‌های شهری اکثرا بدون هیچگونه تصفیه‌ای وارد آب می‌گردند. شوینده‌ها یکی از آلاینده‌های مهم بوده و توسط فاضلاب‌ها به آبهای ساحلی، رودخانه‌ها و سایر منابع آبی به طور مستقیم و غیرمستقیم وارد می‌شوند. امروزه شوینده‌های مصنوعی به دلیل مصرف زیادشان بسیار مهم بوده و موجودات آبزی را با خطر آلایندگی مواجه می سازند. این شوینده‌ها ممکن است توسط باکتری‌ها تجزیه شوند اما در غلظت‌های بالا ممکن است باکتری نتواند نقش خود را ایفا کند، زیرا غلظت‌های زیاد شوینده‌ها مانع عمل آنزیم‌های باکتری می‌شود (Shasavani and Movaseghi, 2003). اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) یک ماده شیمیایی است که در ساختار شوینده‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده در ساختمان خود دارای شش موضع برای ایجاد پیوند است و به نظر می‌رسد این ترکیب بتواند با برخی از ذرات رسوب کرده و کمپلکس تشکیل دهد. از آنجایی که این ماده در شوینده‌ها مورد استفاده قرار می گیرد می تواند وارد آب و محیط زیست شود و اثرات مخربی بر جانوران آبزی از جمله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که نوعی ماهی سرد آبی است، داشته باشد. با توجه به اینکه برخی اکوسیستم‌های آبی ایران در معرض ورود آلاینده‌ها و شوینده‌های خانگی و صنعتی هستند نیاز مبرم به بررسی تأثیر این آلاینده‌ها بر روی موجودات آبزی احساس می‌گردد. به طور کلی سمیت یک آلاینده از طریق سنجش زیستی ارزیابی می‌گردد که بوسیله آن غلظت لازم جهت ایجاد تلفات نیمی از موجودات مورد آزمایش در یک دوره زمانی مشخص (کوتاه مدت و بلندمدت) معلوم می شود. این آزمایشات شاخه‌ای از علم Ecotoxicology بوده و وظیفه آن قضاوت درباره توان بالقوه مواد آلاینده و بررسی تأثیرات زیان بخش این مواد بر اکوسیستم و موجود زنده می‌باشد (Kardovani, 1994). ماهی‌ها یکی از مهمترین موجودات آبزی می باشند که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند و به همین دلیل جهت انجام آزمایش‌های زیست سنجی در بعد وسیعی از آنها استفاده می‌گردد (Ola, 1990). حساسیت گونه های مختلف ماهیان به مواد سمی متغییر است از این‌رو ضروری است آزمایش‌های سم‌شناسی برای ماهیان مختلف صورت گیرد (Finney, 1971).

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* یکی از مهمترین ماهیان پرورشی است که به طور گسترده در تمام دنیا پراکنده شده و اصولاً سازگار به آب شیرین است. پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مناطق کوهستانی و در مجاورت رودخانه‌ها سرد و پر آب صورت می پذیرد که یکی از مکان‌های مهم ورود مواد آلاینده و شوینده های خانگی و صنعتی می‌باشند. ورود این شوینده و آلاینده‌های مختلف به رودخانه‌هایی مثل رودخانه هراز در شمال کشور که اصلی‌ترین نقطه پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور می‌باشد می‌تواند اثرات جالب توجهی بر حیات این ماهی بگذارد.

تغییرات پروفیل شیمیایی خون، در واقع بازتاب تغییر در پروسه متابولیسم و بیوشیمیایی ماهی است که به طور عمده ناشی از تأثیر آلاینده‌ها می‌باشد. آلاینده‌ها می‌توانند در غلظت‌هایی که کشندگی ندارد باعث سایر اختلالات بیولوژیکی و اکولوژیکی مثل: عقیم کردن، کاهش هماوری و تولیدمثل، عدم رشد کافی در موجودات یا بوجود آمدن نسل‌های مریض و ناسالم شوند که از این طریق باعث نابودی نسل‌های جانداران می گردند (Pajand, 1999).

با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ایی مبنی بر اثر سم EDTA بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان در کشور و در دنیا گزارش نشده است انجام مطالعه حاضر ضروری به نظر می‌رسید. لذا در این تحقیق ابتدا میزان سمیت حاد (Acute toxicity)، EDTA بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با هدف تعیین غلظت کشنده آن برای ۵۰ ٪ در ۹۶ ساعت و مشخص نمودن محدوده کشندگی صورت پذیرفته و در ادامه اثر غلظت‌های تحت کشنده این سم بر فاکتورهای خونی و سیستم ایمنی بدن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

روش تحقیق

این تحقیق در پاییز سال ۱۳۹۰ و در شرایط آزمایشگاهی انجام پذیرفت. ماده مورد آزمایش EDTA (اتیلن دی آمین ترا استیک اسید) از کمپانی مرک آلمان Merck تهیه شد. ماهیان جوان مورد آزمایش با با میانگین طولی و وزنی

Archive of SID

www.SID.ir

۱۸/۴±۲/۱ سانتی متر و ۱۲±۵۱ گرم از مزرعه پرورش ماهی تهیه و در کوتاهترین زمان ممکن در مخزن مجهز به کپسول اکسیژن به محل انجام آزمایشات منتقل شدند. ماهیان پس از ورود به آزمایشگاه برای آداپته شدن با شرایط جدید به مدت ۵ روز در تانک پرورشی نگهداری شدند و سپس به آکواریومهای آماده شده برای انجام آزمایش وارد گردیدند. در آکواریوم‌های تعیین شده ۲۴ ساعت قبل از آزمایش تا حجم ۳۰ لیتر آبگیری شده و با نصب هواده که شاخه اصلی آن به پمپ مرکزی هوا متصل بود به مدت چند ساعت هوادهی گردیده تا گازهای مضر از آب خارج شده و مواد مضر رسوب نماید.

میزان مرگ و میر ماهی‌ها (۱۰ عدد ماهی در هر تکرار) و رفتار ماهی های مورد آزمایش در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۷۲ و ۹۶ ساعت به ثبت رسید. ابتدا مقدار LC_{50} ۹۶ ساعته، EDTA برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برابر ۲۲۳۱ تعیین گردید. سپس ماهیان به طور تصادفی به ۵ گروه آزمایشی و یک گروه شاهد و در ۳ تکرار تقسیم شدند. ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به مدت ۹۶ ساعت در معرض غلظت‌های ۸۰۰، ۱۱۰۰، ۱۴۰۰، ۱۷۰۰ و۲۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر (ppm) از سم EDTA قرار گرفتند. در این تحقیق دستورالعمل‌های ذکر شده (Finney, 1971; TRC[1], 1984) اعمال گردید.

پارامترهای کیفی آب

در تمام مدت آزمایش فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مورد بررسی قرار گرفتند، به طوریکه در ۹۶ ساعت دمای آب ۱۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول در حد اشباع، سختی آب ۲۷۳ میلی‌گرم در لیتر، pH برابر ۸ و دوره روشنایی ۱۴ ساعت و تاریکی ۱۰ ساعت بود. ضمن اینکه در طول دوره آزمایش غذادهی قطع گردید.

اندازه‌گیری فاکتورهای خونی

بعد از طی دوره تحت تأثیر قرار دادن ماهیان در معرض سم ماهیان با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک بیهوش شده سپس بیومتری ماهیان انجام پذیرفت. سپس از قطع ورید ساقه دمی خونگیری انجام گرفته و در ادامه فاکتورهای خونی توسط دستگاه‌های مختلف در آزمایشگاه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای شمارش گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید یا لکوسیت‌ها از روش توصیه شده توسط (Simmons, 1997) و برای اندازه‌گیری هموگلوبین از روش سیان‌مت هموگلوبین استفاده گردید (Ameri Mahabadi, 1999). همچنین فاکتورهای هماتوکریت و شاخص‌های گلبول قرمز نیز از طریق فرمول‌های زیر بدست آمد:

حجم متوسط گلبول قرمز برحسب فمتولیتر (fl)

$$M.C.V = \frac{HCT\,(\%)\times 10}{RBC\,/\,million}$$

غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی برحسب پیکوگرم (p_g)

$$M.C.H = \frac{Hb(gr\%)\times 10}{RBC/million}$$

غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز بر حسب درصد

$$M.C.H.C = \frac{Hb\times 100}{HCT}$$

برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید پس از تهیه گسترش مناسب از خون، گسترش‌ها با روش گیمسا رنگ‌آمیزی شد.

آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 13 و برای رسم نمودارها از برنامه Excel 2003 استفاده گردید. داده‌ها ابتدا جهت اطمینان از نرمال بودن با آزمون Shapiro-wilk بررسی شدند. سپس در صورت نرمال بودن توزیع داده‌های مورد بررسی با استفاده ازآزمون تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ ابتدا اختلاف کلی بین میانگین‌ها مشخص و سپس با آزمون دانکن (Duncan) گروه‌ها از یکدیگر تفکیک گردیدند و در مواقعی که داده‌ها نرمال نبودند، از آزمون ناپارامتری کروسکال ـ والیس (Kruskal-Wallis) جهت مقایسه تیمارها، و از آزمون من ـ ویتنی (Mann-Whitney) برای مقایسه جفتی بین تیمارها استفاده شد.

نتایج

بر اساس نتایج بدست آمده مقدار LC_{50} سم EDTA در ۹۶ ساعت برابر ۲۲۳۱ میلی‌گرم در لیتر (جدول ۱)، حداکثر غلظت مجاز آن (MATC value)[2] برابر ۲۲۳,۱ ppm و مقدار حداقل غلظت مؤثر این سم (LOEC)[3] ۲۰۰۰ ppm برای ماهی قزل آلای رنگین کمان محاسبه گردید. نتایج بدست

[1] Toxicology Research Concentration

[2] Maximum Allowable Effect Concentration

[3] Lowest observed effect concentration

Archive of SID

www.SID.ir

آمده برای مقدار LC_{50} در ۹۶ ساعت نشان می‌دهد که میزان LC_{50} با افزایش ساعات آزمایش کاهش یافته است بعبارت دیگر هر چقدر ساعات آزمایش افزایش می یابد غلظت کمتری از EDTA لازم است تا ۵۰ درصد از جمعیت ماهی قزل آلای رنگین کمان تلف شوند و مقدار LC_{50} در ساعات اولیه آزمایش همواره بیشتر از LC_{50} در پایان ۹۶ ساعت می‌باشد.

جدول ۱. غلظت‌های کشنده سم EDTA بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

نام سم	غلظت (mg/l)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
EDTA	LC10	۱۹۲۰	۱۸۴۷	۱۸۰۳	۱۷۷۸
	LC50	۲۵۳۹	۲۳۳۳	۲۲۷۱	۲۲۳۱
	LC90	۳۱۵۹	۲۹۱۹	۲۷۱۸	۲۶۴۸

نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای خونی ماهیان قزل‌آلای مورد آزمایش نشان داد که در میزان تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت، موگلوبین (Hb) و هماتوکریت (HCT)، خون ماهیان در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی دار آماری مشاهده می‌گردد ($p<۰/۰۵$). اما نتایج حاصل از شمارش تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، MCV ، MCH، MCHC خون ماهیان مورد آزمایش نشان داد که در بین تیمارهای مختلف هیچگونه اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نمی‌گردد ($p>۰/۰۵$) (جدول۲). نتایج هماتولوژی نشان داد که سم EDTA باعث افزایش تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت و کاهش هموگلوبین، هماتوکریت، لنفوسیت می‌گردد، اما هیچ تأثیری در تعداد گلبول‌های قرمز، MCV، MCH، MCHC خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ندارد.

جدول ۲. مقدار متوسط فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف

فاکتورهای خونی/ تیمار(ppm)	۸۰۰	۱۱۰۰	۱۴۰۰	۱۷۰۰	۲۱۰۰	شاهد
گلبول قرمز ($۱۰۶/mm^3$)	۰/۷۰۳۲±۰/۰۴۷۹ [a]	۰/۶۷۸۶±۰/۰۲۴۵ [a]	۰/۹۱۷۳±۰/۴۴۵۵ [a]	۰/۶۷۵۹±۰/۰۳۹۹ [a]	۰/۶۷۴۲±۰/۰۰۳۲ [a]	۰/۸۰۱۷±۰/۰۴۸۴ [a]
هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	۷/۰۴ ± ۰/۵۵ [a]	۶/۸۲ ± ۰/۲۵ [a]	۷/۰۶ ± ۰/۲۲ [a]	۷/۲ ± ۰/۴۶ [ab]	۶/۷۳ ± ۰/۱۲ [a]	۸/۱۲ ± ۰/۴۸ [b]
هماتوکریت (درصد)	۲۲/۷۶ ± ۰/۴۶ [c]	۲۰/۷ ± ۱/۲۸ [b]	۱۹/۸۲ ± ۰/۶۲ [b]	۱۹/۲۷ ± ۰/۴۹ [ab]	۱۸/۸ ± ۰/۱۷ [a]	۲۴/۲۸±۰/۲۳ [d]
MCV (فمتولیتر)	۲۸۸/۰۹±۱۴/۹۱ [a]	۲۹۲/۱۶ ± ۹/۹۴ [a]	۲۸۹/۹۹± ۸/۴۲ [a]	۲۸۶/۰۱± ۴/۳۴ [a]	۲۸۰/۲۲±۱/۴۸ [a]	۲۹۰/۵۹±۸/۵ [a]
MCH (پیکوگرم)	۱۰۰/۰۰۴±۱/۲۴ [a]	۱۰۰/۴۹ ±۰/۸۹ [a]	۱۰۱/۱۸±۰/۳۲ [a]	۱۰۱/۴۲ ±۰/۲۵ [a]	۱۰۰/۹۴±۰/۳۵ [a]	۱۰۱/۴۷±۰/۶۶ [a]
MCHC (درصد)	۳۴/۱۳±۱/۵۷ [a]	۳۴/۴۳±۱/۱۴ [a]	۳۴/۹۱ ± ۱/۱ [a]	۳۵/۴۷ ± ۰/۴۵ [a]	۳۶/۰۲ ± ۰/۰۷۵ [a]	۳۴/۸۷± ۰/۸۴ [a]
گلبول سفید (mm^3)	۷۵۶۰±۳۳۶/۱۶ [b]	۷۸۰۰±۳۸۹/۸۷ [b]	۷۴۲۰± ۵۰۶/۹۵ [b]	۸۸۰۰± ۴۵۸/۲۶ [c]	۱۲۷۳۳/۳۳±۶۸۰/۶۹ [d]	۵۳۲۰±۸۳/۶۷ [a]
لنفوسیت (درصد)	۸۹/۸ ± ۰/۸۴ [b]	۹۰ ± ۱/۴۱ [b]	۹۰ ± ۰/۷۱ [b]	۸۹ ± ۰ [ab]	۸۸/۳۳ ±۰/۵۸ [a]	۹۲/۸ ±۰/۸۴ [c]
نوتروفیل (درصد)	۹/۸ ± ۱/۱ [b]	۹/۸۳ ± ۱/۱۷ [b]	۹/۴ ± ۰/۵۵ [b]	/۳۳ ± ۰/۵۸ [b]	۱۰/۳۳ ±۱/۱۶ [b]	۷/۲ ± ۰/۸۴ [a]
ائوزینوفیل (درصد)	۰/۴ ± ۰/۵۵ [abc]	۰/۱۷ ± ۰/۴۱ [ab]	۰/۶ ± ۰/۵۵ [bc]	۰/۶۷ ±۰/۵۸ [bc]	۱ ± ۰ [c]	۰ ± ۰ [a]
مونوسیت (درصد)	۰ ± ۰ [a]	۰ ± ۰ [a]	۰ ± ۰ [a]	۰ ± ۰ [a]	۰/۳۳ ± ۰/۵۸ [a]	۰ ± ۰ [b]

a حروف لاتین غیر مشترک نشان‌دهنده معنی‌دار بودن بین تیمارها می‌باشد ($P< ۰/۰۵$).

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که سم EDTA در غلظت‌های غیرکشنده، تغییراتی بر روی فاکتورهای ایمونوفیزیولوژیک ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌گذارد، به طوری که بر اساس نتایج هماتولوژی بدست آمده مشخص گردید که افزایش غلظت سم EDTA باعث افزایش تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت و کاهش هموگلوبین، هماتوکریت، لنفوسیت می‌گردد اما هیچ تأثیر معنی‌دار آماری در تعداد گلبول‌های قرمز، MCV، MCH، MCHC خون ماهی قزل‌آلا نمی‌گذارد. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد هرچقدر مقدار غلظت سم EDTA افزایش می‌یابد اثرات سم بر فاکتورهای خونی ماهی نیز تشدید می‌گردد به طوریکه با افزایش میزان غلظت سم کاهش هموگلوبین، هماتوکریت و لنفوسیت خون ماهی قزل آلا در تیمار ۲۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بسیار بیشتر از ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. همچنین افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون با افزایش غلظت سم نیز افزایش می‌یابد.

در خصوص مطالعات صورت گرفته ناشی از اثر سم EDTA بر روی فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلا تاکنون هیچ مطالعه‌ای در ایران و در دنیا یافت نشده است.

اما در سایر تحقیقات صورت گرفته توسط محققین اثرات سموم و آلاینده‌های مختلف بر تغییرات فاکتورهای خونی و ضعیف شدن سیستم ایمنی بدن ماهیان مختلف به اثبات رسیده است که به عنوان مثال می‌توان به اثر سم دیازینون که

Archive of SID

www.SID.ir

از سموم متداول کشاورزی مورد استفاده در استانهای شمالی کشور می‌باشد بر روی کپور ماهیان به صورت کاهش میزان هموگلوبین، هماتوکریت و لنفوسیت در ماهی کپور علفخوار ۸۵۰ گرمی (Porgholam *et al*., 2001)، ماهی کپور علفخوار ۵ گرمی (Porgholam *et al*., 2006)، و در ماهی کپور معمولی (Sastry and Sharma, 1980; Hamm *et al*., 1998; Goodman *et al*., 1979) اشاره کرد که با تحقیق حاضر همسو بود. در سایر تحقیقات صورت گرفته بر روی سایر ماهیان نیز نتایج متفاوتی از تحقیق حاضر در اثر سم دیازینون در ماهی چالباش (Sotani and Khoshbavar-Rostami, 2002)، ماهی شیپ (Khoshbavar-Rostami and Sotani, 2005)، ماهی ازون برون جوان (Khoshbavar-Rostami *et al*., 2004)، فیل ماهی (Khoshbavar-Rostami *et al*., 2005)، ماهی انگشت قد گربه ماهی اروپایی (Sibel *et al*., 2006)، گربه ماهی آفریقایی (Adedeji *et al*., 2009) به صورت کاهش میزان گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH، MCHC، لنفوسیت گزارش گردید که فقط در مورد کاهش هموگلوبین، هماتوکریت و لنفوسیت نتایج مشابهی گزارش گردید. همچنین در ماهی چالباش (Sotani and Khoshbavar-Rostami, 2002) و گربه ماهی آفریقایی (Adedeji *et al*., 2009) افزایش مونوسیت گزارش گردید که با تحقیق حاضر همسویی داشت.

کاهش گلبول‌های قرمز و هموگلوبین نشان‌دهنده کم خونی یا خونریزی شدید است. هموگلوبین پایین در حیوانات عموماً به معنی کم خونی است (Hisa and Connie, 1998)، که در تحقیق جاری نیز کاهش هموگلوبین در خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پس از مجاورت با سم EDTA مشاهده گردید.

افزایش تعداد گلبول‌های سفید در ابتدا به معنی قرار گرفتن بدن در معرض عفونت است (Bannaee *et al*., 2008)، که به نظر می‌رسد با توجه به دوره کم و ۹۶ ساعته در معرض قرار گرفتن ماهی در مجاورت سم مورد آزمایش، افزایش تعداد گلبول‌های سفید مشاهده شده در تحقیق جاری ناشی از همین مسئله باشد. ۵ نوع سلول سفید (لنفوسیت، مونوسیت،نوتروفیل، ائوزینوفیل و بازوفیل) در بدن وجود دارد که هر کدام نقش متفاوتی را در مقابله با ارگانیزم‌های خارجی بازی می‌کنند. کاهش تعداد لنفوسیت به دلیل نقص در سیستم ایمنی بدن می‌باشد (Bannaee *et al*., 2008). تغییرات در سطوح گلبول‌های سفید و قرمز می تواند نشانه کم خونی و نقص در سیستم ایمنی بدن باشد. مواد سمی می‌توانند باعث کاهش لنفوسیت‌ها در بدن شوند (Bannaee *et al*., 2008)، که در تحقیق جاری نیز این کاهش در خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در اثر مجاورت با سم مشاهده گردید. کم خونی می‌تواند به وسیله آسیب‌های کبد، کلیه و طحال باشد (Bannaee *et al*., 2008). تغییرات در تعداد گلبول‌های قرمز و سفید بعد از مجاورت با سم EDTA می‌تواند به دلیل از بین رفتن بافت‌های خون‌ساز کلیه باشد که باعث کاهش ایمنی غیراختصاصی در ماهی می‌شود (Svoboda *et al*., 2001). در نتیجه با توجه به نتایج این تحقیق و تحقیقات صورت گرفته توسط محققین دیگر بر روی کپور ماهیان و نیز سایر ماهیان می‌توان گفت که سم EDTA باعث کم خونی، کاهش میزان فاکتورهای خونی و ضعیف شدن سیستم ایمنی بدن ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد که این تغییرات می‌تواند به دلیل از بین رفتن بافت‌های خون ساز از قبیل کلیه، طحال و کبد باشد.

سپاسگزاری

از جناب آقای مهندس فرشاد ماهی‌صفت که در تجزیه تحلیل آماری کار به ما یاری رساندند، نهایت سپاسگزاری و تشکر را داریم.

REFERENCES

Adedeji OB, Adeyemo OK, Agbede SA (2009) Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarias gariepinus*), African Journal of Biotechnology.; 8 (16): 3940-3946.

Ameri Mahabadi M (1999) Methods of Veterinary Hematology, Institute of Tehran University Publishing and Printing, 126 pages.

Bannaee M, Mirvagefei AR, Rafei GR, Majazi Amiri B (2008) Effecr of sub-lethal diazinon concentration on blood plasma biochemistry. Int. J. Environ. Res, 2(2): 189-198.

Finney D (1971) Probite analysis. Cambridge university: 1-33. Chem, 465-489.

Goodman LR, Hanson DJ, Coppage DL, Moore JC, Mattchewes E (1979)

Archive of SID

www.SID.ir

Diazinon: chronic toxity and brain acetylcholinesterase inhibition in the Sheepshead minnow, *Cyprinodon variegates*. Trans. Am. Fish. Soc.; 108: 479-488.

Kardovani P (1994) Natural ecosystems (Volume II) aquatic ecosystems. Paliz Press, 155-157.

Khoshbavar-Rostami H, Soltani M, Hassan HMD (2004) Changes in some hematological and serum biochemical parameters of beluga (*Huso huso*) following long-term exposure to diazinon. Iranian Journal of Fisheries. 5(2): 53-66.

Khoshbavar-Rostami H, Soltani M, Yelghi S (2005) Effects of diazinon on the hematological profiles of *Acipenser stelletus* and determination of LC50. J. Agric. Sci. Nature. Resure, Iran, 12(5): 100-108.

Khoshbavar-Rostami HA, Soltani M (2005) Effect of acute toxicity of diazinon on hematological parameters in ship (*Acipenser nudiventris*) and determine LC50. Iranian Journal of Fisheries, 14(3)49-60.

Hamm JT, Wilson BW, Hinton DE (1998) Organophsphate-induced acetylcholine-sterase inhibition and embryonic vetinal cell necrosis in vivo in the teleost (*Oryzias latipes*). Neurotoxicology, 19: 853-870.

Hisa M, Connie CW (1998) Respiratory function of hemogolobin. New England J. Med, 338: 239-247.

Ola Y (1990) Pollution from household waste, municipal, agricultural, industrial and natural, the structure and role of the Anzali Lagoon in front of them. Documents Fisheries Research Centre of Gilan Province, Iran.; No. 2, pp. 38.

Pajand Z (1999) Determine the lethal concentration (LC5096h) pesticide diazinon and the herbicides Butacolor on two species of sturgeon fish, *Acipenser persicus* and *Acipenser stellatus*. MSc thesis Fisheries, Islamic Azad University Branch Lahijan, Iran.; pp. 12 -16.

Porgholam R, Esmaiely F, Farhomand H, Soltani M, Yosefi P, Mehdad H (2001) Study of blood parameters of grass carp (*Ctenopharygondon idella*) after exposure to organophosphate diazinon. Journal of Fisheries, 3 (2): 1-18.

Porgholam R, Soltani M, Haji Mahi Aldit DH, Porgholam H, Ghoroghi A, Nahavandi R (2006) Determine the median lethal concentration (LC50) of diazinon and its effects sublethal concentrations on some hematological and biochemical parameters grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Iranian Journal of Fisheries, 5 (2): 67-82.

Sastry KV, Sharma K (1980) Diazinon effect of the activities of brain enzymes from *Opiocephalus punctatus* (Channa). Bull. Environ. Contam. Toxicol, 24: 326-332.

Sibel OK, Kenan K, Mevlüt S, Ener UI, Murat P (2006) Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis*), Pesticide Biochemistry and Physiology, 86: 99-105.

Simmons A (1997) Hematology, Simmons, Butterworth- Heinemann: 507.

Shahsavani D, Movaseghi AR (2003) Pathology of the liver - kidney in anionic detergent goldfish. Journal of Research and Development, 16 (2): 100-103.

Soltani M, Khoshbavar-Rostami H (2002) The study effects of diazinon on the some hematological and biochemical changes of *Acipeneser guldenstadti*. Journal of Marine Sceiences and Tecgnology, 4(1): 65-75.

Svoboda M, Luscova V, Drastichova J, Zlabek V (2001) The effect of diazinon on hematological indices of Common carp (*Cyprinus carpio*). Acta vet. Brno, 10: 457-465.

TRC (1984) O.E.C.D. Guidelines for testing of chemicals. Section 2. Effects on biotic systems. 1-39.

Archive of SID

www.SID.ir