شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۷۰، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶

صفحات ۴۳-۳۶

بررسی اثر سم موتاژن بوتاکلر بر برخی شاخص های خونی ماهی قزل-آلای رنگین کمان

امیررضا عابد علم دوست*[۱]، ، علیرضا میرواقفی[۲]، پوریا غلامزاده[۳]

۱. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۲. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱/۳۰ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۷/۲۰

چکیده

در مطالعه حاضر اثر سم موتاژن بوتاکر با غلظت‌های حاد مختلف (۰، ۰/۴، ۰/۵ و ۱ میلی-گرم بر لیتر) با نامگذاری به‌ترتیب A، B، C و D با طول مواجهه متفاوت (۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بر روی برخی از شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین کمان سنجیده شد. برای این منظور ۱۸۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در چهار تیمار با غلظت‌های یاد شده همراه با سه تکرار در مواجه با سم بوتاکلر قرار گرفتند و پس از خونگیری فاکتورهای WBC، RBC، هموگلوبین، هماتوکریت، در صد لنفوسیت مونوسیت، بازوفیل، ائوزینوفیل، MCH، MCHC، MCV، PCV پروتئین کل و آنزیم‌های آمینو ترانسفراز شامل ALP، AST و ALT مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. بر اساس آنالیز آماری تجزیه واریانس دوطرفه، هم متغیر غلظت و هم متغیر زمان به همراه اثر این دو متغییر موجب بروز تفاوت معنی‌دار ($P>۰/۰۵$) تنها در گروه‌های C و D شدند و هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد (A) و گروه B در هیچ یک از سه بازه زمانی دیده نشد. به‌صورت کلی با حرکت از تیمار C۷۲ به D۹۶ میزان آنزیم‌های آمینو ترانسفراز و پروتئین کل افزایش و سایر فاکتورهای خونی کاهش یافتند که نشان دهنده تخریب کبدی، کلیوی و کاهش ایمنی غیر اختصاصی در اثر مواجهه با سم بوتاکر در قزل-آلای رنگین کمان می‌باشد.

واژگان کلیدی: شاخص‌های خونی، سم بوتاکلر، قزل‌آلای رنگین کمان.

* نویسنده مسوول: تلفن: ۰۴۴+۹۸۲۶۳۲۲۲۳ ایمیل: amirabed@ut.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

۱. مقدمه

آلاینده‌های زیست محیطی متعددی تاثیرات مخرب گسترده در موجودات از جمله جمعیت‌های انسانی، سطوح مختلف اکوسیستم، سطح تولیدمثلی، عملکرد ارگان‌های بدن، اندازه جمعیت و تنوع زیستی دارند (Chang *et al.*, 2013; Hussain *et al.*, 2013). در میان این آلاینده‌ها عموماً حشره‌کش‌ها، آفت‌کش ها و علف‌کش ها از همه متداول‌تر و رایج‌تر هستند. این ترکیبات به‌صورت گسترده‌ای در کشورهای در حال رشد در بخش کشاورزی به مصرف می‌رسند (Ateeq *et al.*, 2006; Hussain *et al.*, 2012) و میزان مصرف آن‌ها در طی دو دهه اخیر به شدت افزایش یافته است که موجب تجمع این مواد در محصولات کشاورزی، آب‌های سطحی و زیر زمینی و خاک شده است. بقایای این ترکیبات در آب، محصولات غذایی، ماهی و اکوسیستم می‌تواند برای موجودات و جوامع انسانی بسیار خطر آفرین باشد (Farombi *et al.*, 2008; Ahmad *et al.*, 2012; Ali *et al.*, 2014; Isa *et al.*, 2014).

آفت‌کش ها در غلظت های بالا موجب کاهش رشد، تولیدمثل و بقای ماهیان شده و تاثیرهای جبران ناپذیری را بر جمعیت‌های آبزی دارا است (Hussain *et al.*, 2013). آفت‌کش‌ها تحت عنوان آلاینده اصلی آبها در سراسر جهان شناخته می‌شوند که موجب اختلال در محیط زیست آبزیان می‌شود (Naveed *et al.*, 2011). علفکشها معمولا قبل و بعد از برداشت محصولات کشاورزی برای حذف علف‌های پهن برگ مورد استفاده قرار می‌گیرند. علف‌کش ها ساخت رنگدانه-های مفید متعددی را در سلول‌های گیاهی، با اختلال در فرایندهای متعددی همچون فتوسنتز، میتوز، تقسیم سلولی، تشکیل برگ، رشد ریشه و عملکرد آنزیم ها، د چار اختلال می‌کنند (Unger, 1996). بو تاکلر (۲-کلرو ۲ ، ۶ – دی مت یل –N-بوتوکسی متیل استانیلید) یکی از اعضای مهم خانواده علفکش-های کلرو استانلید است که به‌صورت گسترده و متداول در کشاورزی مدرن در آسیا در کشورهایی مانند هند، پاکستان و ایران (اصولاً در شالیزارهای برنج در شمال کشور) مورد استفاده قرار می گیرند (Ateeq *et al.*, 2006; Bibi *et al.*, 2014; Ahmadivand *et al.*, 2015). میزان LC_{50} (۹۶ ساعت) برای سم بوتاکلر در ماهیان بین ۰/۱۴ تا ۰/۵۲ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شده است (Tomlin, 1994). تاثیرات مخرب زیادی از این ترکیب در ماهیان گزارش شده است (Lasheidani *et al.*, 2008). نشان داده شده است که بوتاکلر موجب تخریب ترشح هورمون های درون ریز و ممانعت از تکامل و ایمنی در جنین گورخر ماهی (*Danio rario*) شده است (Tu *et al.*, 2013). همچنین اثر غلظت‌های متفاوت بوتاکلر بر بد شکلی‌های سلول‌های خونی در ماهی روهو (*Labio rohita*) مورد مطالعه و به اثبات رسیده است (Ghaffar *et al.*, 2015). علاوه بر این تاثیرات سرطان‌زایی و جهش زایی بوتاکلر در ارگانیسم‌های متعدد و مطالعات متفاوت به اثبات رسیده است و اکنون این ترکیب در لیست علف‌کش‌های موتاژن و کارسینوژن قرار گرفته است (Shirasu *et al.*, 1977). به‌صورت کلی میزان LC_{50} بوتاکلر در ماهیان سردابی بیشتر از ماهیان گرمابی ا ست. شاید دلیل این امر متابولیسم پایین‌تر ماهیان سردابی نسبت به ماهیان گرمابی به دلیل سردتر بودن محیط است اما از سویی دیگر بوتاکلر موجود در آب‌های با درجه حرارت پایین‌تر دیرتر تجزیه شده و موجودات پر سلولی مدت زمان طولانی‌تری در معرض آن قرار می‌گیرند. تا کنون مطالعه‌ای در رابطه با اثر غلظت‌های حاد این ترکیب در ماهی های سردآبی بر شاخص‌های خونی خصوصاً آنزیم‌های آمینوترانسفراز صورت نگرفته است. در مطالعه حاضر اثر غلظت‌های حاد ترکیب بوتاکلر در بازه های زمانی متفاوت بر شاخص‌های تعداد گلبول قرمز و سفید، در صد انواع گلبول‌های سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، پروتئین کل، PV، MCH، MCHC و آنزیم‌های آمینوترانسفراز (AST، ALP و ALT) به‌عنوان شاخصی متاخر و متاثر از عمل موتاژنی این ماده مورد مطالعه قرار گرفته است.

۲. مواد و روش‌ها

در مجموع ۱۸۰ قطعه ماهی قزل‌آلا با وزن ۱۵۰ تا ۱۷۰ گرم به مدت ۱۰ روز برای سازگاری با شرایط کارگاه بیماری های آبزیان گروه شیلات

Archive of SID

www.SID.ir

دانشگاه تهران نگهداری شدند و سپس ماهیان در ۱۲ مخزن ۳۰۰ لیتری که تا ۲۵۰ لیتر آبگیری شده بودند تقسیم شدند (در هر مخزن ۱۵ قطعه ماهی). از آنجایی که LC_{50} ۹۶ ساعت برای سم بوتاکلر در ماهی قزل آلا ۰/۵۲ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شده است (Tomlin, 1994)، در مطالعه حاضر سه غلظت ۰/۴، ۰/۵ و ۱/۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با سه تکرار (سه مخزن به‌ازای هر غلظت) در نظر گرفته شد. این گروه‌ها به‌ترتیب با نام‌های B، C و D نامگذاری شدند. گروهی نیز با غلظت صفر به‌عنوان گروه شاهد با سه تکرار در نظر گرفته شد که تحت عنوان گروه A نامگذاری شد. زمان‌های نمونه‌برداری از تمامی مخازن عبارت بود از ۴۸ ، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از اضافه نمودن سم با غلظت‌های مذکور. درجه حرارت آب در زمان سازگاری و تیماردهی ۸ الی ۱۱ درجه سانتی‌گراد بود و در تمام مخازن هوادهی صورت می‌گرفت. ۴ روز قبل از اضافه شدن سم به تیمارها، غذادهی قطع شد و در طول مدت زمانی که ماهیان در معرض سم بودند غذادهی صورت نگرفت. همچنین در طول دوره مواجهه با سم، تعویض آب انجام نشد. ماهیان در زمان‌های نمونه‌برداری به‌صورت تصادفی از هر مخزن صید شدند و پس از بیهوش کردن ماهیان با استفاده از پودر گل میخک به‌منظور خونگیری، ساقه دمی ماهیان قطع شد و خون در تیوب‌های حاوی EDTA K2 ریخته و به‌منظور اندازه‌گیری شاخص‌های تعداد گلبول قرمز و سفید، درصد انواع گلبول‌های سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، پروتئین کل، PV، MCH، MCHC و آنزیم‌های آمینوترانسفراز (AST، ALP و ALT) به آزمایشگاه منتقل شدند.

۲.۱. تجزیه و تحلیل آماری

شیوه نمونه‌برداری از ماهی‌ها به‌صورت تصادفی و تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از پایان دوره آزمایش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (IBM SPSS Statistics v23) و آزمون تجزیه واریانس دو طرفه (Two way ANOVA) به‌منظور بررسی اثر غلظت سم، طول زمان مواجهه و اثر مشترک غلظت سم و طول مواجهه و همچنین جهت مقایسه میانگین گروهها (میانگین± خطای معیار) با یکدیگر از آزمون Tukey در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

۳. نتایج

در مطالعه حاضر فاکتور های WBC، RBC، هموگلوبین، هماتوکریت، درصد لنفوسیت، درصد مونوسیت، درصد بازوفیل، درصد ائوزینوفیل، MCH، MCHC، MCV، PCV پروتئین کل و آنزیم های آمینو ترانسفراز شامل ALP، AST و ALP مورد اندازه گیری قرار گرفتند. بر اساس آنالیز آماری تجزیه واریانس دوطرفه هم متغییر غلظت و هم متغیر زمان به همراه اثر این دو متغیر موجب بروز تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ تنها در گروههای ۰/۵ (C) و ۱ میلی گرم بر لیتر (D) بوتاکلر شدند و هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد (A) و گروه ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر (B) سم بوتاکلر در هیچ یک از سه بازه زمانی دیده نشد. به‌دلیل تعداد بالای شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شده و تنوع بالای تفاوت‌ها و شباهت‌های معنی‌دار بین گروه‌ها و تیمارهای مختلف، نتایج حاصل در جدول ۱جمع آوری و ارایه شده است. لازم به ذکر است که در هیچ‌کدام از نمونه‌ها سلول‌های بازوفیل مشاهده نشدند بنابراین این شاخص از محاسبات حذف گردید.

۴. بحث و نتیجه گیری

از آن‌جایی‌که شاخص‌های خونی بهترین نشانگر زیستی برای ارزیابی‌های پاتوفیزیولوژیک در جانداران مختلف در معرض سموم هستند (Maheswaran *et al.*, 2008; Hussain *et al.*, 2012) در مطالعه حاضر میزان شاخص‌های خونی تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، MCV، PCV، MCH، MCHC، هماتوکریت، پروتئین کل، تعداد گلبول‌های سفید و درصد انواع آن به همراه آنزیمهای ترانسفراز از جمله ALP، AST و ALT در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تحت تیمار حاد ۰/۴، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر در دوره زمانی ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت مواجه با سم بوتاکلر مورد بررسی قرار گرفت.

در طول دوران مواجهه هیچ گونه تلفاتی در

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه میانگین (mean±SD) شاخصهای مختلف خونی در قزل آلای رنگین کمان تحت تاثیر غلظت‌های مختلف و حاد سم بوتاکلر

شاخص / ساعت	A	B	C	D
گلبولهای سفید($10^3/\mu l$)				
۴۸	۶۱/۲ ± ۰/۲۱^a	۵۹/۹ ± ۱/۲۳^a	۵۵/۱ ± ۰/۵۱^a	۳۵/۶ ± ۱/۸^b
۷۲	۶۶/۸ ± ۱/۰۵^a	۶۲/۱ ± ۰/۵۱^a	۵۶/۸ ± ۱/۲^a	۲۵/۶ ± ۱/۱^c
۹۶	۶۱/۶ ± ۰/۵۷^a	۵۸/۸ ± ۱/۵۱^a	۳۶/۱ ± ۲/۱^b	۱۷/۱ ± ۲/۱^d
هماتوکریت(۰/۰)				
۴۸	۲۱/۲ ± ۱/۳^a	۲۰/۸ ± ۱/۳^a	۲۱/۸ ± ۲/۵^a	۱۶/۸ ± ۰/۹۱^b
۷۲	۲۰/۲ ± ۰/۹۱^a	۲۳/۱ ± ۰/۷^a	۲۳/۰۵ ± ۲/۳^a	۱۴/۱ ± ۱/۸^c
۹۶	۲۲/۸ ± ۱/۸^a	۲۰/۱ ± ۳/۱^a	۱۶/۹ ± ۱/۱۲^b	۱۰/۱ ± ۲/۱^d
لنفوسیت(۰/۰)				
۴۸	۹۴/۱ ± ۳/۱^a	۹۲/۲ ± ۳/۲^a	۹۰/۲ ± ۲/۰۸^a	۸۰/۸ ± ۲/۵^b
۷۲	۹۴/۸ ± ۰/۵۱^a	۹۲/۸ ± ۳/۵^a	۹۱/۲ ± ۱/۸^a	۷۹/۳ ± ۲/۱^b
۹۶	۹۰/۲ ± ۲/۲۳^a	۹۴/۰۳ ± ۱/۰۶^a	۹۰/۸ ± ۱/۳^a	۸۰/۴ ± ۱/۵^b
ائوزینونیل				
۴۸	۱/۰۱ ± ۰/۰۱^a	۰/۶۸ ± ۰/۰۲^a	۰/۸ ± ۰/۰۲^a	۰/۴ ± ۰/۰^a
۷۲	۰/۸ ± ۰/۰۲^a	۰/۷۷ ± ۰/۰۳^a	۰/۷ ± ۰^a	۰/۷ ± ۰/۰۳^a
۹۶	۰/۷ ± ۰/۰۱^a	۱/۲۱ ± ۰/۱۱^a	۰/۸ ± ۰/۰۳^a	۰/۶ ± ۰/۲^a
مونوسیت				
۴۸	۱۰/۱ ± ۱/۲^a	۹/۹ ± ۲/۱^a	۸/۱ ± ۳/۲۳^a	۸/۳ ± ۲/۲۵^a
۷۲	۱۰/۱ ± ۲/۲^a	۱۱/۱ ± ۳۰/۰۱^a	۸/۹ ± ۳/۰۳^a	۸/۶ ± ۲/۸۱^a
۹۶	۹/۸ ± ۱/۸^a	۹/۸ ± ۲/۸^a	۹/۱ ± ۲/۱^a	۸/۱ ± ۲/۲۲^a
PCV(۰/۰)				
۴۸	۳۴/۱۲ ± ۱/۲۳^a	۳۱/۸ ± ۰/۶۳^a	۲۶/۸ ± ۰/۷۳^b	۱۷/۸ ± ۰/۰۱^c
۷۲	۳۴/۸۱ ± ۰/۷۳^a	۳۲/۰۸ ± ۰/۷۵^a	۲۵/۸۴ ± ۰/۸۱^b	۱۶/۱ ± ۰/۴۱^c
۹۶	۳۲/۰۱ ± ۰/۶۷^a	۳۱/۴۱ ± ۰/۳۷^a	۲۶/۱۲ ± ۰/۳۱^b	۱۶/۸ ± ۰/۹۱^c
RBC				
۴۸	۱/۲ ± ۰/۰۲^a	۱/۲ ± ۰/۰۵^a	۱/۰۸ ± ۰/۱^a	۰/۵۹ ± ۰/۰۱^b
۷۲	۱/۲۸ ± ۰/۰۳^a	۱/۰۳ ± ۰/۰۱^a	۱/۳ ± ۰/۰۸^a	۰/۶۱ ± ۰/۱^b
۹۶	۱/۰۵ ± ۰/۰۱^a	۱/۱ ± ۰/۰۸^a	۰/۵۹ ± ۰/۰۸^b	۰/۴۹ ± ۰/۰۳^b
Hb(g/dl)				
۴۸	۷/۲ ± ۰/۱۳^a	۷/۱ ± ۰/۲۳^a	۶/۸ ± ۰/۳۵^a	۲/۴ ± ۰/۰۳^b
۷۲	۷/۷ ± ۰/۸۱^a	۷/۲ ± ۰/۳۲^a	۶/۴ ± ۰/۱^a	۲/۸ ± ۰/۸^b
۹۶	۶/۲ ± ۰/۱۹^a	۶/۸ ± ۰/۳۲^a	۳/۸ ± ۰/۰۵^b	۲/۵ ± ۰/۰۱^b
MCV(fl)				
۴۸	۲۸۸/۳ ± ۱/۸۱^a	۲۶۵ ± ۰/۲۲^a	۲۳۵/۰۴ ± ۱/۵^b	۱۹۰/۳ ± ۱/۸^c
۷۲	۲۶۶/۸ ± ۱/۳۱^a	۲۷۱/۱ ± ۲/۹۶^a	۲۲۰/۴۱ ± ۱/۶۷^b	۱۹۳ ± ۱/۲۵^c
۹۶	۲۷۶/۸ ± ۱/۰۸^a	۲۶۸/۱ ± ۱/۶۷^a	۱۹۲/۰۴ ± ۲/۱^c	۱۸۶ ± ۲/۱۸^c
MCH(pg)				
۴۸	۶۸/۹ ± ۰/۶۴^a	۶۵/۲ ± ۰/۸۵^a	۶۶/۱ ± ۰/۸۳^a	۴۲/۱ ± ۰/۲۳^{bc}
۷۲	۶۸/۲ ± ۰/۷۱^a	۶۶/۸ ± ۱/۲۳^a	۵۹/۱ ± ۱/۲^a	۳۶/۸ ± ۰/۶۵^d
۹۶	۶۶/۱ ± ۰/۰۹^a	۶۲/۹ ± ۱/۰۲^a	۴۸/۱ ± ۰/۱۵^{bc}	۲۶/۹ ± ۰/۶۱^d
MCHC				
۴۸	۲۵/۸۱ ± ۳/۲^a	۲۴/۲۲ ± ۱/۲۵^a	۲۱/۰۱ ± ۰/۸^a	۱۹/۲ ± ۲/۳۱^b
۷۲	۲۵/۴۸ ± ۲/۲۵^a	۲۱/۲۵ ± ۲/۱^a	۲۲/۱۲ ± ۱/۰۸^a	۱۴/۲۱ ± ۰/۸^c
۹۶	۲۳/۷۱ ± ۳/۱^a	۲۳/۶۱ ± ۳/۸^a	۱۹/۲ ± ۱/۸^b	۱۴/۴۱ ± ۰/۳^c
ALT(IU/l)				
۴۸	۷/۳ ± ۱/۸۵^a	۹/۲۵ ± ۱/۵۲^a	۹/۸۱ ±۳۲^a	۲۲/۱ ± ۱/۰۸^b
۷۲	۸/۳ ± ۲/۹۱^a	۹/۶۱ ± ۱/۶۱^a	۱۰/۳۳ ± ۰/۸۱^a	۳۱/۳۳ ± ۳/۱^c
۹۶	۸/۱۲ ± ۲/۲۳^a	۱۰/۵۲ ± ۲/۷۱^a	۱۹/۸۱ ± ۲/۱^b	۴۵/۲۱ ± ۲/۲۷^d

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- ادامه جدول

شاخص / ساعت	A	B	C	D
(IU/l)AST				
۴۸	۵۱/۲۳ ± ۲/۹۱^{a}	۶۱/۲ ± ۳/۲^{a}	۸۶/۹۱ ± ۲/۲۲^{b}	۱۴۷/۱۲ ± ۲/۲^{c}
۷۲	۵۴/۵۱ ± ۳/۱۸^{a}	۶۰/۲۱ ± ۱/۳۱^{a}	۹۰/۱ ± ۴/۲۳^{b}	۱۸۰/۱۲ ± ۳/۱^{d}
۹۶	۵۴/۲۱ ± ۲/۳۱^{a}	۵۹/۲۵ ± ۱/۸۱^{a}	۱۳۵ ± ۳/۸۱^{c}	۲۲۹ ± ۲/۱۴^{d}
(IU/l)ALP				
۴۸	۶/۰۱ ± ۰/۰۲^{a}	۸/۲۵ ± ۲/۲۵^{a}	۸/۸۹ ± ۲/۸۱^{a}	۲۳/۳۲ ± ۴/۱^{b}
۷۲	۷/۹۱ ± ۲/۱۲^{a}	۸/۸۶ ± ۲/۹۲^{a}	۹/۲۱ ± ۳/۱^{a}	۳۰/۲۸ ± ۳/۳^{c}
۹۶	۸/۲۵ ± ۱/۸۹^{a}	۷/۳۲ ± ۱/۹۶^{a}	۲/۲۸ ± ۲/۸^{b}	۴۱/۱۲ ± ۲/۱۲^{d}
(g/dl) TP				
۴۸	۱/۹۵ ± ۱/۰۱^{a}	۱/۳۱ ± ۱/۲^{a}	۲/۱۴ ± ۱/۰۹^{a}	۳/۸۵ ± ۰/۲۶^{b}
۷۲	۲/۲۱ ± ۰/۲۸^{a}	۱/۸۹ ± ۱/۰۱^{a}	۲/۰۱ ± ۰/۰۳^{a}	۳/۸۲ ± ۰/۵۲^{b}
۹۶	۲/۵ ± ۰/۸۱^{a}	۲/۲۵ ± ۰/۰۳^{a}	۱/۸۵ ± ۰/۰۵^{a}	۴/۰۶ ± ۰/۰۳^{b}

ماهیان مشاهده نشد که نشان‌دهنده مقاومت آن‌ها به دوزهایی بالاتر از آنچه که در گذشته تحت عنوان غلظت LC_{50} (۰/۵۲ میلی گرم بر لیتر) در منابع قید شده بود است. از دیدگاه کلی می‌توان گفت که غلظت ۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر از لحظه مواجهه تا ۹۶ ساعت پس از مواجهه هیچ تاثیر معنی‌داری بر تغییر در شاخص‌های خونی مورد اندازه‌گیری نداشت. همچنین در طول دوره آزمایش هیچ رفتار غیرطبیعی از جمله گیجی، بی حالی، تنفس شدید و شنای غیر طبیعی در میان ماهیان مشاهده نشد که این امر بر خلاف گزارشهای سایر محققان دیگر در رابطه با علف‌کش‌ها و آفت‌کش‌های مختلف است (Svobodova *et al.*, 2003) و با توجه به کاهش تعداد گلبول های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت خصوصاً در تیمار گروه D، مشاهدات حاصل غیرمنطقی به‌نظر می‌رسد. دلیل این امر ممکن است هوادهی مطلوب مخازن، فعالیت اندک ماهیان به‌واسطه محدودیت فضایی در مخازن و درجه حرارت پایین آب و در نتیجه متابولیسم پایین‌تر ماهیان و کاهش مکانیسم‌های اکسیژن‌خواه و یا سازگاری ماهیان با شرایط کمبود اکسیژن درونی در طی کاهش تدریجی ظرفیت حمل اکسیژن خون به دلیل افت شاخص‌های حمل اکسیژن باشد (Nussey *et al.*, 1995; Hussain *et al.*, 2014). تمامی شاخص های خونی بجز آنزیم‌های ترانسفراز در غلظتهای بالا دچار افت معنی‌داری شدند که این امر با یافته های نفیسی و همکاران (۱۳۹۵) مطابقت داشت با این تفاوت که این افت در شاخص‌ها در مطالعه حاضر در غلظت‌های بسیار بالاتری رخ داد (NafisiBahabadi *et al.*, 2016).

شروع افت معنی‌دار در شاخص‌های خونی MCH، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های سفید از ۹۶ ساعت مواجهه با ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بوتاکلر (C۹۶) آغاز شد حال آن‌که این افت در MCV و PCV در همین غلظت ظرف ۴۸ ساعت مشاهده شد که حاکی از حساس‌تر بودن این دو شاخص اخیر است و می‌توان از این دو شاخص به‌منظور تشخیص زود هنگام در موارد مشکوک به مسمومیت با سم بوتاکلر استفاده کرد. مشخص شده که آلاینده ها می‌توانند تعادل اسمزی را برهم زده و ظرفیت حمل اکسیژن را در گلبول‌های قرمز را کاهش دهد؛ در نتیجه ماهی برای جبران این امر شروع به خون‌سازی و آزاد کردن گویچه‌های قرمز از ذخایر خود می‌کند (Zutshi *et al.*, 2010). اما در تحقیق حاضر با در نظر گرفتن تاثیر مستقیم سم بر اندام‌های داخلی بدن میتوان ادعا نمود که تخریب فرآیندهای خونسازی همانند تجزیه گلبولهای قرمز موجب بروز روند کاهشی فاکتورهای خونی مرتبط با حمل اکسیژن در راستای افزایش غلظت بوتاکلر شده است. البته دلایل دیگری نیز برای کاهش گلبول های خون ذکر شده است که به عنوان مثال می توان به تجمع گلبول های قرمز در بافت آبشش ماهیان قرار گرفته در معرض استرس ناشی حضور آلاینده نسبت داد (Narain and Srivastava, 1989). پارامترهای MCH، MCHC و PCV به هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز خون وابسته می باشد؛ بنابراین تغییرات در پارامترهای ذکر شده کاملا قابل توجیه است. کاهش MCH، MCHC و PCV در مطالعات

Archive of SID

www.SID.ir

با سموم آفت‌کش دیگر نیز در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است (Khattak and Hafeez, 1996; Saravanan *et al.*, 2011).

در بین گلبول‌های سفید گزارش شده لنفوسیت‌ها حساسیت بیشتری به سم در غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به ائوزینوفیل‌ها و مونوسیت‌ها از خود نشان دادند. تا کنون مطالعه‌ای در رابطه با اثر سم بوتاکلر بر آنزیم‌های شاخص تخریب کبدی در ماهیان سردابی گزارش نشده است. در مطالعه حاضر افزایش این آنزیم ها در خون در گروه C مشاهده می‌شود که در آن AST نسبت به ALP و ALT حساس‌تر بوده و ظرف ۴۸ ساعت به صورت معنی‌داری افزایش می یابد. این افزایش در مورد ALP و ALT در ۹۶ ساعت بعد از مواجهه در گروه C اتفاق می‌افتد.

در نهایت مطالعه حاضر کم خونی و تخریب کبدی را در مواجه حاد با سم بوتاکلر تایید می کند اما یافته های حاصل از این تحقیق در غلظت‌های بسیار بالاتر از آنچه در گذشته به چاپ رسیده است اتفاق افتاده است. در مجموع سم بوتاکلر برای پستانداران کم ضرر معرفی شده است و ماهیان سردابی در مقام مقایسه با ماهیان گرمابی به نسبت به این سم مقاومتر هستند که شاید دلیل این امر متابولیسم پایین تر این ماهیان در دماهای پایین است.

References

Ahmad, L., Khan, A., Khan, M.Z., 2012. Pyrethroid-induced reproductive toxico-pathology in non-target species. *Pakistan Veterinary Journal*, 32, 1-9.

Ahmadivand, S., Farahmand, H., Mirvaghefi, A., Eagderi, S., Zargar, A., 2015. Effects of (Anti) Androgenic Endocrine Disruptors (DEHP and Butachlor) on Immunoglobulin M (IgM) and Leukocytes Counts of Male Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 94, 695-700.

Ali, A., Khan, J.A., Khaliq, T., Javed, I., Muhammad, F., Aslam, B., Khan, M.Z., 2014. Hematobiochemical disruptions by lambda-cyhalothrin in rats. *Pakistan Veterinary Journal*, 34, 54-57.

Ateeq, B., Farah, M.A., Ahmad, W., 2006. Evidence of apoptotic effects of 2, 4-D and butachlor on walking catfish, *Clarias batrachus*, by transmission electron microscopy and DNA degradation studies. *Life Sciences*, 78, 977-986.

Bibi, N., Zuberi, A., Naeem, M., Ullah, I., Sarwar, H., Atika, B., 2014. Evaluation of acute toxicity of karate and its sub-lethal effects on protein and acetylcholinestrase activity in *Cyprinus carpio*. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 16, 731-737.

Chang, J., Liu, S., Zhou, S., Wang, M., Zhu, G., 2013. Effects of butachlor on reproduction and hormone levels in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Experimental and Toxicologic Pathology* 65, 205-209.

Farombi, E.O., Ajimoko, Y.R., Adelowo, O.A., 2008. Effect of Butachlor on antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in fresh water African Catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 5, 423-427.

Ghaffar, A., Hussain, R., Khan, A., Abbas, R.Z., Asad, M., 2015. Butachlor induced clinico-hematological and cellular changes in fresh water fish *Labeo rohita* (Rohu). *Pakistan Veterinary Journal*, 35, 201-206.

Hussain, R., Khan, A., Mahmood, F., 2013. Pathological and some serum biochemical effects induced by malathion in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Journal of Animal and Plant Sciences*, 23, 1501-1506.

Hussain, R., Khan, A., Mahmood, F., Rehan, S., Ali, F., 2014. Clinico-hematological and tissue changes induced by butachlor in male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 109, 58-63.

Hussain, R., Mahmood, F., Khan, A., Javed, M.T., Rehan, S., Mehdi, T., 2012. Cellular and biochemical effects induced by atrazine on blood of male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103, 38-42.

Isa, H.W.M., Johari, W.L.W., Syahir, A., Shukor, M.A., Azwady, A.N., Shaharuddin, N., Muskhazli, M., 2014. Development of a bacterial-based tetrazolium dye (MTT) assay for monitoring of heavy metals. *International Journal of Agriculture and Biology*, 16, 1123-8.

Khattak, I.-U.-D., Hafeez, M., 1996. Effect of malathion on blood parameters of the fish, *Cyprinion watsoni*. *Pakistan Journal of Zoology*, 28, 45-49.

Lasheidani, M., Balouchi, S., Keyvan, A., Jamili, S., Falakrou, K., 2008. Effects of Butachlor on Density, Volume and Number of Abnormal Sperms in Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*, Kamenskii 1901). *Research Journal of Environmental Sciences* 2, 474-482.

Maheswaran, R., Devapaul, A., Muralidharan, S., Velmurugan, B., Ignacimuthu, S., 2008. Haematological studies of freshwater fish, *Clarias batrachus* (L.) exposed to mercuric chloride. *International Journal of Integrative Biology* 2, 49-54.

Archive of SID

www.SID.ir

NafisiBahabadi, M., Dadgar, S., Lakzaei, F., Mohajeri, Z., Abdolahi, R., 2016. The effect of subacute concentrations of Butachlor herbicide on some blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *ISFJ*, 25, 151-160.

Narain, A.S., Srivastava, P.N., 1989. Anemia in the freshwater teleost, *Heteropneustes fossilis*, under the stress of environmental pollution. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 43, 627-634.

Naveed, A., Janaiah, C., Adilabad, A., 2011. Effect of triazophos on protein metabolism in the fish *Channa punctatus* (Bloch). *Current Research Journal of Biological Sciences*, 3, 124-128.

Nussey, G., Van Vuren, J., Du Preez, H., 1995. Effect of copper on the differential white blood cell counts of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 111, 381-388.

Saravanan, M., Kumar, K.P., 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, 206-211.

Shirasu, Y., Moriya, M., Kato, K., Lienard, F., Tezuka, H., Teramoto, S., Kada, T., Year. Mutagenicity screening on pesticides and modification products: a basis of carcinogenicity evaluation. In: (Eds.), Proceeding of Cold Spring Harbor Conferences on Cell Proliferation, pp. 267-286.

Svobodova, Z., Luskova, V., Drastichova, J., Svoboda, M., Žlábek, V., 2003. Effect of deltamethrin on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno*, 72, 79-85.

Tomlin, C., 1994. The Pesticide Manual Incorporating the Agrochemical Handbook. British Crop Protection, Surrey, England.

Tu, W., Niu, L., Liu, W., Xu, C., 2013. Embryonic exposure to butachlor in zebrafish (*Danio rerio*): endocrine disruption, developmental toxicity and immunotoxicity. Ecotoxicology and Environmental Safety, 89, 189-195.

Unger, T.A., 1996. Pesticide synthesis handbook. William Andrew.

Zutshi, B., Prasad, S.G.R., Nagaraja, R., 2010. Alteration in hematology of *Labeo rohita* under stress of pollution from Lakes of Bangalore, Karnataka, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 168, 11-19.

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir