تأثیرات سمیت کشنده و زیر حد کشنده فلز سرب بر پارامترهای هماتولوژیکی بچه‌ماهیان قره‌برون (*Acipenser persicus*)

*معصومه یوسف‌پور[۱]، شهلا جمیلی[۲]، مهدی یوسفیان[۳]، علی ماشین‌چیان[۱] و غلامحسین وثوقی[۴]

[۱]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم و فنون دریایی، گروه بیولوژی دریا، تهران، ایران، [۲]مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران، [۳]پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران، [۴]دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۹/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۳/۲

چکیده

هدف این پژوهش بررسی تأثیرات فلز سرب بر فاکتورهای هماتولوژیکی (تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، M.C.V، M.C.H، تعداد گلبول سفید، درصد لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل، بازوفیل و ائوزینوفیل در بچه‌ماهیان قره‌برون (*Acipenser persicus*) قرار گرفته در معرض غلظت کشنده (LC50) و غلظت‌های زیر حد کشنده به‌ترتیب LC50 ۲۵ درصد و LC50 ۷۵ درصد نیترات سرب پس از ۹۶ ساعت و مقایسه با حالت عادی است. ابتدا آزمایش‌هایی برای تعیین LC50 ۹۶ ساعته نیترات سرب بر روی ماهی‌ها طبق روش متداول O.E.C.D به‌صورت ساکن در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ساری در شرایط کیفی ثابت آب رودخانه تجن با حرارت: ۱±۸ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن O_2: ۸/۳ میلی‌گرم در لیتر، سختی کل: ۳۷۰ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم در فصل زمستان انجام شد. پس از آزمایش بقا و تعیین محدوده کشندگی ۱۰۰۰-۹۰۰ میلی‌گرم سرب در لیتر، ماهیان به‌مدت ۹۶ ساعت در معرض ۸ غلظت (۸۸۳/٤، ۹۰۰، ۹۱٦/۷، ۹۳۳/٤، ۹۵۰، ۹٦٦/۷، ۹۸۳/٤ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب در لیتر) نیترات سرب به اضافه یک گروه شاهد (غلظت= ۰) قرار گرفتند. در هر ونیرو ۱۰ عدد ماهی با میانگین وزنی ۳۵-۳۰ گرمی معرفی گردید (حجم آب: ۱ لیتر به‌ازای ۱ گرم ماهی). اکسیژن‌دهی از طریق پمپ‌های هواده و نوردهی مطابق طول روز بوده است. میزان LC50 ۹٦ ساعته برای این ماهیان ۹٤٤/۱۱۸ میلی‌گرم سرب در لیتر به‌دست آمده است. به‌منظور تعیین فاکتورهای خونی، ماهیان به‌مدت ۹٦ ساعت در معرض غلظت‌های کشنده و زیر حد کشنده نیترات سرب به‌ترتیب ۹٤٤/۱۱۸ (LC50)، ۷۰۸/۰۸۸ (LC50 ۷۵ درصد) و ۲۳٦ (LC50 ۲۵ درصد) میلی‌گرم سرب در لیتر قرار گرفتند و در پایان این زمان در هر تیمار از ۳ عدد ماهی خون‌گیری به‌عمل آمد. تمامی آزمایش‌ها با سه تکرار انجام شده است. روند تغییرات پارامترهای خونی به این ترتیب بوده که در ۲۳٦ میلی‌گرم سرب در لیتر، افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول قرمز و افزایش غیرمعنی‌داری در غلظت هموگلوبین، درصد هماتوکریت، MCV و MCH ایجاد شده است. در ۷۰۸/۰۸۸ میلی‌گرم سرب در لیتر، کاهش غیرمعنی‌دار در تعداد گلبول قرمز، افزایش غیرمعنی‌دار در غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت و افزایش معنی‌داری در MCV و MCH مشاهده شد. در غلظت ۹٤٤/۱۱۸ میلی‌گرم سرب در لیتر، کاهش معنی‌دار در تعداد گلبول قرمز، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت و افزایش غیرمعنی‌دار در MCV و MCH رخ داد. در تعداد گلبول سفید، مونوسیت و بازوفیل افزایش غیرمعنی‌دار و در لنفوسیت و ائوزینوفیل کاهش غیرمعنی‌داری در همه تیمارها مشاهده شد. درصد نوتروفیل در ماهیان قرار گرفته در معرض ۲۳٦ میلی‌گرم سرب در

* مسئول مکاتبه: masi_yousefpour@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

لیتر ثابت ماند، اما افزایش غیرمعنی‌داری در غلظت زیر حد کشنده (۷۰۸/۰۸۸ میلی‌گرم سرب در لیتر) و غلظت کشنده (۹٤٤/۱۱۸ میلی‌گرم سرب در لیتر) رخ داد.

واژه‌های کلیدی: *Acipenser persicus*، نیترات سرب، غلظت کشنده، زیر حد کشنده

مقدمه

ماهیان خاویاری اهمیت بسیار زیادی دارند و از بین آن‌ها حفظ ذخایر تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) دارای اهمیت بسیار است. از طرفی فلزات سنگین به‌عنوان عامل اصلی آلودگی اکوسیستم‌های آبی مطرح می‌باشند. استفاده از سوخت‌های فسیلی، فرسایش زمین، تخلیه فاضلاب‌های شهری و کشاورزی به آب‌ها و استفاده از کودها و سموم شیمیایی باعث ورود سرب به اکوسیستم‌های آبی می‌شود. تجمع سرب به‌میزان غلظت این عنصر در آب، مدت زمانی‌که ماهی در معرض آلودگی قرار دارد، شوری، سختی، درجه حرارت آب و به سرعت تجمع کاتیون‌ها وابسته است (Salmeron و همکاران، ۱۹۹۰). آزمایش خون به‌عنوان تشخیص ثانوی برای بررسی تأثیر این مواد سمی بر فاکتورهای هماتولوژیکی و بیوشیمیایی خون به‌کار می‌رود. تجزیه و تحلیل هماتولوژیک که شامل شمارش گلبول قرمز، سفید و شمارش افتراقی گلبول سفید می‌باشد، اطلاعاتی را در مورد سیستم خون‌سازی و پاسخ‌های ایمنی‌شناسی می‌دهد (Compbell، ۱۹۹۵).

پژوهش‌های انجام شده در خصوص فلزات سنگین به‌طور عمده در حد تعیین LC50 ۹٦ ساعته و یا بررسی تأثیرات آن‌ها بر بافت‌های مختلف ماهیان بوده است. در مورد تاس‌ماهی ایرانی نیز مطالعاتی در زمینه تأثیر آلاینده‌های نفتی، علف‌کش‌ها و تعیین میزان غلظت کشنده LC50 ۹٦ ساعته آن‌ها انجام شده است.

حسینعلی‌خوشباوررستمی و مهدی سلطانی (۱۳۸۱) تأثیر سمیت حاد دیازینون را روی شاخص‌های خونی بچه‌ماهی شیپ بررسی و میزان LC50 ۹٦ ساعته آن را ۷/٦۷ میلی‌گرم در لیتر مشخص نمودند. مسمومیت حاد در معرض این سم موجب کاهش گلبول سفید، لنفوسیت و تغییرات در سطوح اریتروسیت و لکوسیت به‌دلیل بروز اختلال در روند خون‌سازی و کاهش ایمنی در ماهی شیپ گردیده است.

شریف‌پور و همکاران (۱۳۸٤)، LC50 و ضایعات بافتی ناشی از سم آندوسولفان در بچه‌فیل‌ماهی *Huso huso* بررسی نمودند.

نظامی و همکاران (۱۳۸٤)، LC50 ۹٦ ساعته دو ترکیب نفتی فنل و ۱- نفتول بر بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی را تعیین نمودند.

Olamdimeji و همکاران (۱۹۸۹) میزان LC50 ۹٦ ساعته و LC50 ٤۸ ساعته نیترات سرب را به‌ترتیب برای *Oreochromis niloticus*، ۳/۳٤ و ۲/۱۵ میلی‌گرم در لیتر، برای *Clarias lazera*، ۱/۹۱ و ۱/۷۲ میلی‌گرم در لیتر، برای *Chironomus tentans*، ۲/٦۸ و ۱/۷۷ میلی‌گرم در لیتر و برای *Benacus sp.*، ۱/۸۹ و ۱/۳٦ میلی‌گرم در لیتر سرب گزارش نموده‌اند.

Olaifa و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی استرس سمیت سرب در گربه‌ماهیان انگشت‌قد آفریقایی (*Clarias gariepinus*)، میزان LC50 ۹٦ ساعته سرب را ۰/٦، ۰/۵۸ و ۰/٦۲ میلی‌گرم در لیتر در تکرارهای مختلف یافتند.

Martinz و همکاران (۲۰۰٤) در بررسی تأثیرات سمیت حاد سرب (نیترات سرب) بر فاکتورهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در ماهی *Prochilodus lineatus*، میزان LC50 ۲٤ ساعته را ۱۲٦ میلی‌گرم سرب در لیتر و LC50 ۹٦ ساعته را ۹۵

Archive of SID
www.SID.ir

میلی‌گرم سرب در لیتر گزارش نموده‌اند. به این ترتیب میزان غلظت تحت کشنده سرب براساس ۲۵ درصد و ۷۵ درصد LC50 ۹۶ ساعته، ۲٤ و ۷۱ میلی‌گرم سرب در لیتر بوده است. در این پژوهش میزان هماتوکریت، کلسترول، گلوگز، پروتئین و چربی کل در ماهیان قرار گرفته در معرض غلظت تحت کشنده سرب در ساعت‌های مختلف اندازه‌گیری و بررسی شد.

Syed Lal Shah (۲۰۰۵) در بررسی تغییرات پارامترهای هماتولوژی ماهی *Tinca tinca*، ماهیان را در معرض غلظت‌های مختلف سرب (۷۵/٤۲، ۳۰۰/٤۵، ۳۰/۲٤، ۳۰/۹٦، ۳۰/۵۰٤، ۷۵/۹٦ و ۷۵/۵۰٤ میلی‌گرم در لیتر) در کوتاه‌مدت قرار داد و تغییرات فاکتورهای خونی Hct، Hb، MCV، MCH، RBC و MCHC را بررسی نمود.

Syed Lal Shah و Ahmet Altindag (۲۰۰۵) در پژوهشی با عنوان مطالعه اختلالات پارامترهای ایمنولوژیکی در ماهی *Tinca tinca*، ماهیان را در معرض دو غلظت کشنده و تحت کشنده جیوه، کادمیوم و سرب در حالت حاد و مزمن در غلظت‌های جیوه ۱/۰، کادمیوم ٦/۵ و سرب ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر قرار دادند. نتایج تحقیق این محققین حاکی از تغییرات لکوکریت و تعداد کل گلبول سفید در تیمارهای مختلف بوده است.

از آنجایی‌که ماهیان خاویاری از گونه‌های مهم شیلاتی هستند و از طرفی افزایش فلز سرب در آب و رسوبات دریای خزر روی این ماهیان به‌دلیل نوع رفتار تغذیه‌ای آن نیز تأثیرگذار خواهد بود. بنابراین هدف از این پژوهش تعیین LC50 ۹٦ ساعته نیترات سرب و بررسی تأثیرات حاد فلز سرب بر فاکتورهای هماتولوژیکی ماهیانی که در معرض غلظت‌های مختلف سرب بوده‌اند، می‌باشد.

مواد و روش‌ها

بچه‌ماهیان قره‌برون در این پژوهش از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی سد سنگر رشت تهیه و به پژوهشکده اکولوژی دریای خزر در ساری منتقل شدند. پس از انتقال، ماهیان وارد ونیروهای فایبرگلاس شده تا پس از طی مراحل سازگاری به‌مدت ۸ روز در آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گیرند. در این مدت ماهیان با غذای دستی تغذیه و آب روزانه تعویض می‌شد. آب مورد استفاده از رودخانه تجن بود که تقریباً مشابه با آب رودخانه محل زندگی ماهیان (سپیدرود در گیلان) می‌باشد.

سپس آزمایش بقا برای اندازه‌گیری توان زیستی و تعیین وضعیت بقا در بچه‌ماهیان، در شرایط طبیعی و در محیط عاری از سم انجام شد تا میزان تلفات طبیعی بچه‌ماهیان مورد بررسی قرار گیرد. ۱۰ عدد بچه‌ماهی در هر ونیرو ریخته شد. برای تعیین محدوده کشندگی قبل از رهاسازی بچه‌ماهیان، ونیروها با آب رودخانه که میزان سختی آن ۳۷۰ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم بود، پر شدند. در این مرحله از ۱۰ ونیرو با غلظت‌های مختلف سرب و ۱ ونیرو به‌عنوان شاهد که ابعاد هر یک ۱۸۰×۱۵۰×۵۰ سانتی‌متر بود، استفاده شد (میزان آب‌گیری ۱ لیتر به‌ازای ۱ گرم ماهی). در هر ونیرو ۱۰ قطعه بچه‌ماهی رها شد. اکسیژن‌دهی از طریق پمپ‌های هواده و نوردهی مطابق طول روز انجام می‌شد. میانگین وزنی ۳۵-۳۰ گرم و میانگین طولی ماهیان مورد آزمایش ۳۰-۲۵ سانتی‌متر بود. ۲ روز قبل از شروع آزمایش غذادهی قطع گردید. در ونیرو شاهد غلظت صفر بوده و در بقیه به‌ترتیب غلظت‌های ۱۰۰۰، ۹۰۰، ۸۰۰، ۷۰۰، ٦۰۰، ۵۰۰، ٤۰۰، ۳۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات سرب اضافه گردید. نحوه تهیه محلول سرب به این صورت بوده که نیترات سرب با احتساب درجه

Archive of SID
www.SID.ir

خلوص و وزن اتمی بخش نیترات و کل عنصر سمی وزن شده و سپس در آب مقطر حل و سپس حجم آب به ۱۰۰۰ سی‌سی رسانیده و در نهایت این محلول به آب ونیروها با احتساب حجم اضافه گردید. هر ٢٤ ساعت راس ساعت معین ونیروها مورد بررسی قرار گرفته، میزان مرگ و میر ثبت و ماهیان مرده خارج گردیدند. این کار هر روز راس ساعت ۱۰ صبح انجام شد. این آزمایش در ۳ نوبت بر روی همان غلظت‌ها برای نشان دادن کاهش خطا انجام شد. سپس آزمایش‌هایی برای تعیین سمیت حاد LC50 بر روی ماهی‌ها در کوتاه‌مدت معمولاً ٤ روز بر طبق روش متداول O.E.C.D صورت گرفت. این آزمایش‌ها به‌صورت استاتیک انجام شد. به این معنی که محلول آزمایش تغییری نکرده و ثابت ماند. تعداد ۱۰ قطعه بچه‌ماهی با خصوصیات وزنی و طولی مشابه با مراحل آزمایش بقا و تعیین محدوده کشندگی در هر ونیرو رها گردیدند. برای تطابق ماهی‌ها با این شرایط تمامی آزمایش‌ها ٢٤ ساعت بعد از ورود ماهی‌ها به ونیروها آغاز گردید. یک ونیرو به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد (نیترات سرب= ۰) و در بقیه تیمارها به‌ترتیب غلظت‌های ۸۸۳/٤، ۹۰۰، ۹۱٦/۷، ۹۳۳/٤، ۹۵۰، ۹٦٦/۷، ۹۸۳/٤ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات سرب اضافه شد. سرب مورد استفاده به‌صورت نیترات سرب بوده و جرم مولکولی آن ۳۳۱/۲۱ گرم بر مول و درصد خلوص آن ۹۹/۵ درصد می‌باشد. در هر ٢٤ ساعت ونیروها مورد بررسی قرار گرفتند. حالت‌ها و رفتارهای ماهیان و میزان مرگ و میر آن‌ها ثبت گردید. این کار به‌مدت ۹٦ ساعت (٤ روز) و هر روز راس ساعت مشخص انجام شد. در تمام مدت پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب نیز بررسی گردید و هیچ تغییری مشاهده نشد. در طی انجام آزمایش‌ها غذادهی قطع گردید، زیرا به‌دلیل وجود پروتئین در غذا، آمونیاک دفعی از ماهیان سبب آلودگی محیط می‌شود. چون آزمایش طبق روش ساکن انجام می‌شود و آب تعویض نمی‌گردد، آلودگی با مواد ازته سبب مرگ و میر ماهیان می‌شود. پس از تکرار آزمایش‌ها و ثبت نتایج مرحله دوم و سوم با توجه به غلظت‌های مصرفی و در صد مرگ و میر میزان LC50 تعیین گردید.

برای تعیین فاکتورهای خونی بچه‌ماهیان قره‌برون در ٤ تیمار با غلظت‌های ۹٤٤/۱۱۸ (LC50)، ۷۰۸/۰۸۸ (LC50 ۷۵ درصد) و ۲۳٦ (LC50 ۲۵ درصد) و ۰ میلی‌گرم در لیتر سرب و ۳ تکرار به‌مدت ۹٦ ساعت قرار گرفتند. پس از این زمان در هر تیمار از ۳ قطعه بچه‌ماهی در شرایط آرام و بدون وارد آمدن هر گونه استرس خارجی خون‌گیری انجام شد. بچه‌ماهیان قره‌برون با ساچوک از داخل آب برداشته در طشتی که شامل ماده بیهوشی اسانس گل میخک و آب بوده قرار داده شدند تا کمی بیهوش شده و تحرک آن‌ها کم‌تر شود. سپس با استفاده از پارچه تنظیف و سرنگ‌های ۲ سی‌سی از ساقه دمی (۱ سانتی‌متر پایین‌تر از باله مخرجی ناحیه ساقه دمی با زاویه ٤۵ درجه) به مقدار مورد نیاز خون‌گیری شد. نمونه‌های خون در شرایط سرما به آزمایشگاه منتقل و به‌سرعت آزمایش‌های مورد نظر بر روی آن‌ها انجام پذیرفت. تکرار دوم و سوم نیز بر روی همان غلظت‌ها برای نشان دادن کاهش خطا انجام گردید.

شرایط کیفی ثابت آب رودخانه تجن حرارت: ۱±۸ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن O_2: ۸/۳ میلی‌گرم بر لیتر، pH: ۷/٦۵، Ec: ۱/۳۰ میلی‌زیمنس، سختی کل: ۳۷۰ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم، نیترات: ۰/٦۸ میلی‌گرم بر لیتر، نیتریت: ۰/۰۱۸ میلی‌گرم بر لیتر، آمونیوم: ۰/۲۸ میلی‌گرم بر لیتر و T.D.S: ۰/٦۵ گرم بر لیتر در طول مدت آزمایش بود.

Archive of SID
www.SID.ir

روش آماری برای تعیین LC50: داده‌ها با استفاده از روش آماری Probit Analysis مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. همچنین میزان حداکثر غلظت مجاز M.A.T.C تعیین گردید.

نتایج مربوط به پارامترهای خونی با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS (Ver. 12) و روش تحلیل آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) و آزمون Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

حداکثر غلظت مجاز این سم که هیچ‌گونه اثر سوء بر روی ماهی نداشته باشد (M.A.T.C) به‌طور متوسط ۰/۱ میزان LC می‌باشد (Maximum Allowable Toxicant Concentration).

جدول ۱- مقادیر عددی LC سرب

LC	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹٦ ساعت
۱۰	۱۰۳۵/۹۷۸	۹۷٤/۰٦۱	۹٤۳/۰٦۲	۹۰۱/۱۷۹
۵۰	۱۱٦۰/۵٤۵	۱۰۱٤/٤۳۷	۹۹٦/۰۵۲	۹٤٤/۱۱۸
۹۰	۱۲۸۵/۱۱۲	۱۰۵٤/۸۱۲	۱۰٤۹/۰٤۱	۹۸۷/۰۵٦

جدول ۲- مقادیر حداکثر غلظت مجاز مختلف (M.A.T.C) نیترات سرب برای ماهیان مورد آزمایش بر حسب میلی‌گرم در لیتر

زمان	۲٤h	٤۸h	۷۲h	۹٦h
LC	۱۱٦/۰۵٤۵	۱۰۱/٤٤۳۷	۹۹/٦۰۵۲	۹٤/٤۱۱۸

جدول ۳- معادلات رگرسیون و ضریب همبستگی بین غلظت سرب با میزان مرگ و میر ماهیان

زمان	معادله خط رگرسیون	ضریب همبستگی
۲٤	y= -۱۸/۸۸۹۷+۰/۰۲۰۷۲۳ x	۰/۷۳۳*
٤۸	y= -٦۱/۷۸٦+۰/۰٦۷۸٦۸ x	۰/۸۷۳**
۷۲	y= -۱۱۹/۸۷۵+۰/۱۳۲۸۷۲۳ x	۰/۹۷٦**
۹٦	y= -۲۳۱/۱٦۹+۰/۲٦۰۷٤۵ x	۱**

* معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰۵) و ** معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰۵).

شکل ۱- مقادیر مختلف LC 10 نیترات سرب در ماهی قره‌برون در ساعات مختلف

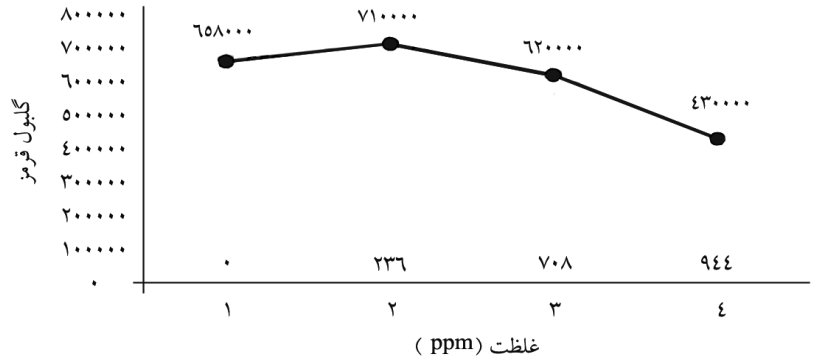
Archive of SID
www.SID.ir

شکل ۲- مقادیر مختلف LC 50 نیترات سرب در ماهی قره‌برون در ساعات مختلف

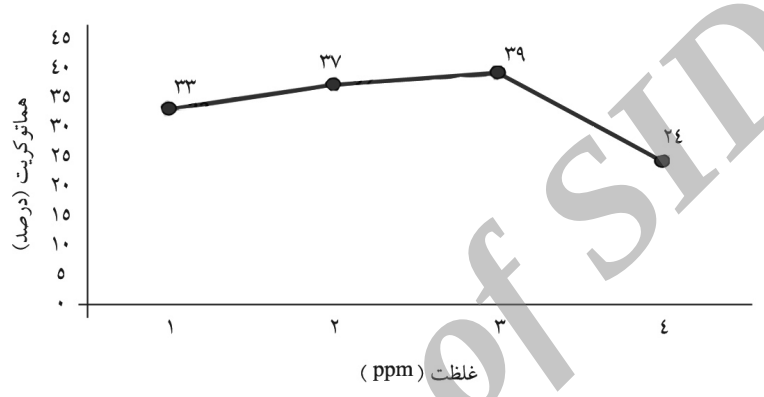
شکل ۳- مقادیر مختلف LC 90 نیترات سرب در ماهی قره‌برون در ساعات مختلف

روند تغییرات در پارامترهای خونی طبق نتایج به این ترتیب بوده است که در ماهیان قرار گرفته در معرض غلظت کشنده ppm ۱۱۸ /۹۴۴، غلظت‌های تحت کشنده ppm ۷۰۸/۰۸۸ و ppm ۲۳۶ و ماهیان گروه شاهد به‌ترتیب تعداد گلبول قرمز ۴۳۰۰۰۰، ۶۲۰۰۰۰، ۷۱۰۰۰۰ و ۶۵۸۰۰۰، میانگین هموگلوبین خون ۹/۵، ۱۰/۶، ۱۱/۲ و ۶/۵ گرم بر دسی‌لیتر و میانگین هماتوکریت خون ۳۳، ۳۷، ۳۹ و ۲۴ بوده است. طبق نتایج میانگین M.C.V به‌ترتیب ۵۰۱، ۵۲۱، ۶۲۹ و ۵۲۸ فمتولیتر fl (μ^3) و میانگین M.C.H، ۱۴۴/۴، ۱۴۹/۳، ۱۸۰/۵ و ۱۵۱/۲ پیکوگرم pg به‌دست آمده است (شکل‌های ۴ تا ۸).

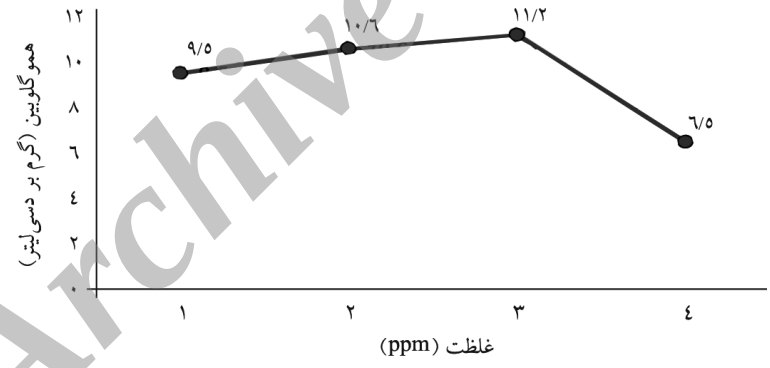
Archive of SID
www.SID.ir



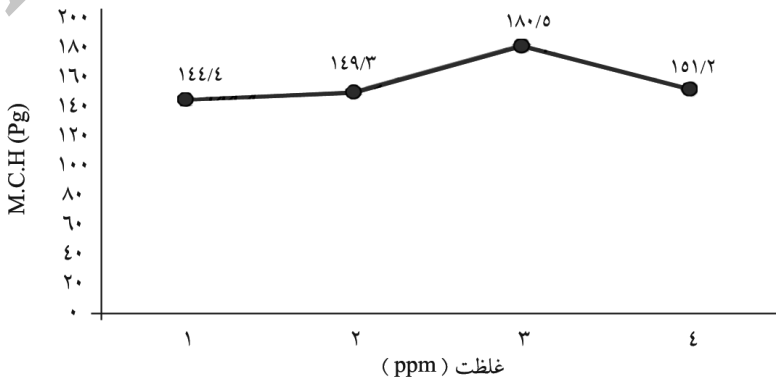
شکل ٤- مقایسه تعداد گلبول قرمز در غلظت‌های مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد پس از ۹٦ ساعت



شکل ٥- مقایسه درصد هماتوکریت در غلظت‌های مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد پس از ۹٦ ساعت

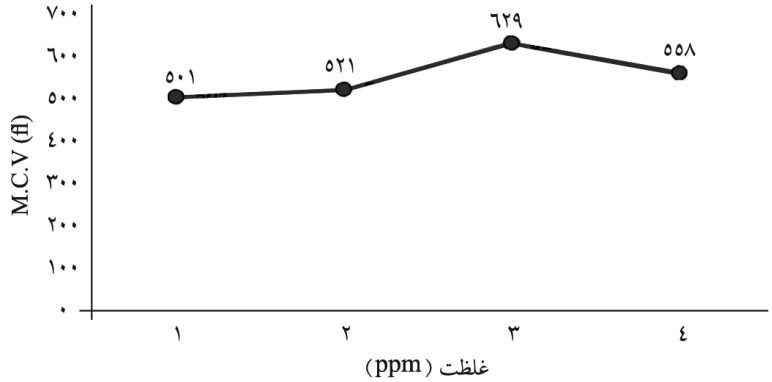


شکل ٦- مقایسه غلظت هموگلوبین در غلظت‌های مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد پس از ۹٦ ساعت



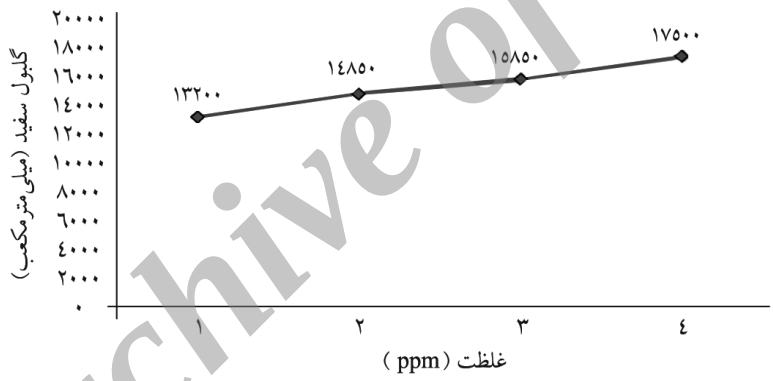
شکل ۷- مقایسه میانگین M.C.H در غلظت‌های مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد پس از ۹٦ ساعت

Archive of SID
www.SID.ir

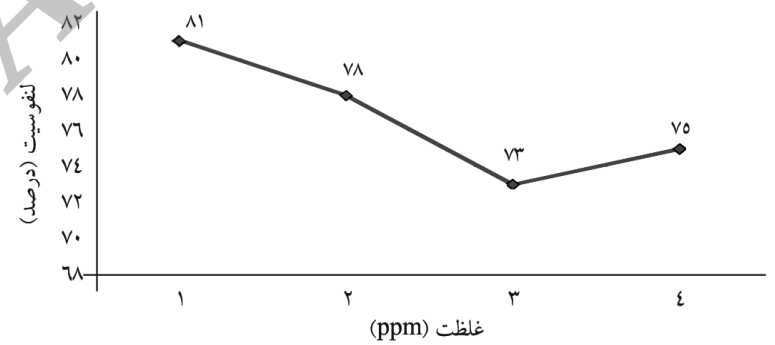


شکل ۸- مقایسه میانگین M.C.V در غلظت‌های مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد پس از ۹۶ ساعت

میانگین تعداد گلبول سفید خون به‌ترتیب ۱۳۲۰۰، ۱۴۸۵۰، ۱۵۸۵۰ و ۱۷۵۰۰، میانگین درصد لنفوسیت ۸۱، ۷۸، ۷۳ و ۷۵ درصد، درصد مونوسیت ۰، ۱، ۱ و ۱ درصد، میانگین درصد نوتروفیل ۱۷، ۱۷، ۲۴ و ۲۲ درصد، میانگین درصد بازوفیل ۰، ۱، ۱ و ۱ درصد و میانگین درصد ائوزینوفیل ۲، ۱، ۱ و ۱ درصد به‌دست آمده است (شکل‌های ۹ تا ۱۴).

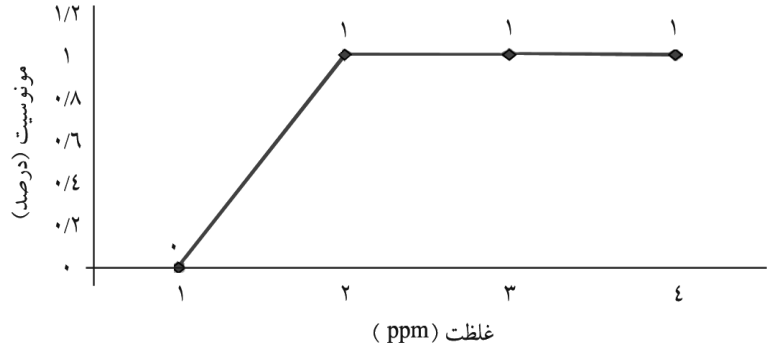


شکل ۹- مقایسه میانگین تعداد گلبول سفید در غلظت‌های مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد پس از ۹۶ ساعت

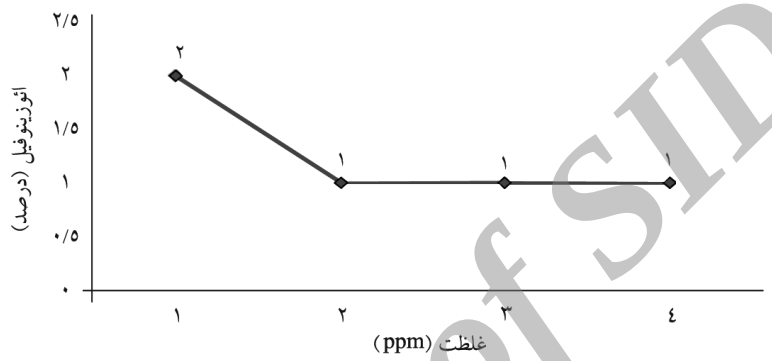


شکل ۱۰- مقایسه میانگین درصد لنفوسیت در غلظت‌های موردآزمایش نسبت به گروه شاهد پس از ۹۶ ساعت

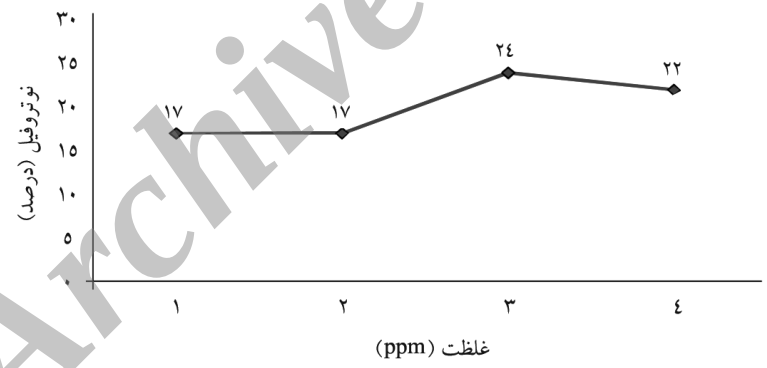
Archive of SID
www.SID.ir



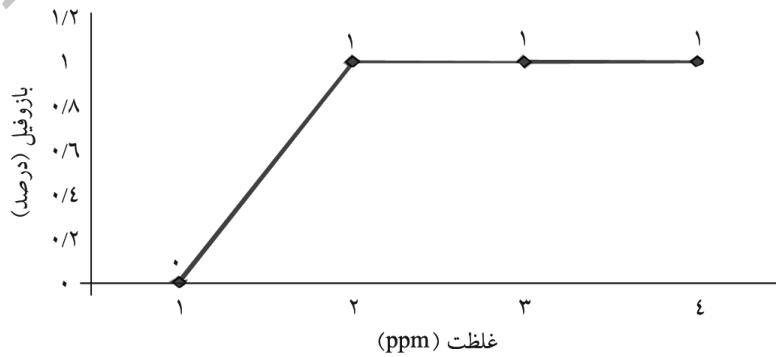
شکل ۱۱- مقایسه میانگین درصد مونوسیت در غلظت‌های مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد پس از ۹٦ ساعت



شکل ۱۲- مقایسه میانگین درصد ائوزینوفیل در غلظت‌های مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد پس از ۹٦ ساعت



شکل ۱۳- مقایسه میانگین درصد نوتروفیل در غلظت‌های مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد پس از ۹٦ ساعت



شکل ۱٤- مقایسه میانگین درصد بازوفیل در غلظت‌های مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد پس از ۹٦ ساعت

Archive of SID
www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

این پژوهش مشخص کرد که میزان غلظت کشنده نیترات سرب طی ٤ روز متوالی برای ۵۰ درصد از ماهیان برابر با ۹٤٤/۱۱۸ میلی‌گرم بر لیتر سرب است، بنابراین حداکثر غلظت مجاز نیترات سرب برای بچه تاس‌ماهی ایرانی ۹٤/٤۱۱۸ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. با توجه به این‌که آبی که ماهیان در آن قرار داشته‌اند، سختی بالایی داشته به همین دلیل می‌توان گفت غلظت کشنده نیترات سرب برای این ماهیان مقدار بالایی بوده است. سمیت سرب تابع سختی آب، گونه مورد آزمایش و سن ماهی است (Demayo و همکاران، ۱۹۸۱). با افزایش سختی آب سمیت سرب به واسطه تشکیل ترکیبات غیرآلی پیچیده که میزان سرب را برای ماهی تحت کنترل قرار می‌دهد، کاهش می‌یابد (Hodsun و همکاران، ۱۹۸٤).

Olaifa و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی استرس ناشی از سمیت سرب در گربه ماهیان انگشت‌قد آفریقایی *Clarias gariepinus*، میزان LC50 ۹٦ ساعته سرب را ۰/٦، ۰/۵۸ و ۰/٦۲ میلی‌گرم در لیتر در تکرارهای مختلف یافتند.

Martinz و همکاران (۲۰۰٤) در بررسی تأثیرات سمیت حاد سرب (نیترات سرب) بر فاکتورهای مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی در ماهی *Prochilodus lineatus*، میزان LC50 ۲٤ ساعته را ۱۲٦ میلی‌گرم سرب در لیتر و LC50 ۹٦ ساعته را ۹۵ میلی‌گرم سرب در لیتر در آب با سختی ۸۲ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم گزارش نموده‌اند. به این ترتیب میزان غلظت تحت کشنده سرب براساس ۲۵ و ۷۵ درصد LC50 ۹٦ ساعته، ۲٤ و ۷۱ میلی‌گرم سرب در لیتر بوده است. محققان معتقدند یکی از عوامل تأثیرگذار در مسمومیت آبزیان عامل زمان است. هنگامی‌که ماهی در معرض غلظت ثابتی از سم قرار گیرد به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می‌رود و هم سم فرصت بیش‌تری برای تأثیرگذاری بر روی ماهی دارد (شریف‌پور، ۱۳۸۲).

تغییرات در پارامترهای خونی در ماهیان قرار گرفته در معرض غلظت‌های مورد نظر نشان داد که در دز ۲۳٦ ppm، افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول قرمز و افزایش غیرمعنی‌داری در غلظت هموگلوبین، درصد هماتوکریت، MCV، MCH و تعداد گلبول سفید، درصد مونوسیت و بازوفیل و کاهش غیرمعنی‌دار در لنفوسیت و ائوزینوفیل مشاهده شده و درصد نوتروفیل ثابت ماند. در دز ۷۰۸/۰۸۸ ppm، کاهش غیرمعنی‌دار در تعداد گلبول قرمز، افزایش غیرمعنی‌دار در غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت و افزایش معنی‌داری در MCV، MCH و افزایش غیرمعنی‌دار در تعداد گلبول سفید، مونوسیت و بازوفیل و نوتروفیل و کاهش غیرمعنی‌دار در لنفوسیت و ائوزینوفیل مشاهده شد. در دز ۹٤٤/۱۱۸ ppm، کاهش معنی‌دار در تعداد گلبول قرمز، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت و افزایش غیرمعنی‌دار در MCV، MCH و تعداد گلبول سفید، مونوسیت و بازوفیل و نوتروفیل و کاهش غیرمعنی‌دار در لنفوسیت و ائوزینوفیل ایجاد شده است.

سرب به‌عنوان یک عامل محدودکننده باعث مهار آنزیم اختصاصی دلتا آمینو لئولینیک اسید دهیدراز D و ALA در خون ماهیان شده و از بیوسنتز و ترتیب قرارگیری و آرایش هموگلوبین جلوگیری به‌عمل می‌آورد و سبب مرگ و میر سریع گلبول‌های قرمز خون می‌شود. ایجاد کم‌خونی (Anemia) یکی از شایع‌ترین علایم مسمومیت در ماهیان است که یا به‌دلیل قرار گرفتن طولانی در معرض سرب یا جبران اریتروپویزیس ایجاد می‌شود.

Martinz و همکاران (۲۰۰٤) در بررسی تأثیرات سمیت حاد سرب (نیترات سرب) بر فاکتورهای مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی در ماهی *Prochilodus lineatus* در معرض غلظت تحت کشنده سرب (٢٤

Archive of SID
www.SID.ir

و ۷۱ میلی‌گرم در لیتر سرب) در ساعت‌های مختلف مشاهده نموده‌اند که میزان هماتوکریت تغییر معنی‌داری در هیچ‌یک از غلظت‌ها نشان نداد.

Syed Lal Shah (۲۰۰۵) در بررسی تغییرات پارامترهای هماتولوژی ماهی *Tinca tinca* قرار داده شده در معرض سرب کوتاه‌مدت به این نتیجه رسید که در دز ۷۵/۴۲ ppm هیچ تغییر معنی‌داری در فاکتورهای خونی ایجاد نشد. دز ۳۰۰/۴۵ سبب افزایش معنی‌دار در هماتوکریت، MCV و MCH و کاهش در تعداد گلبول قرمز و MCHC، دز ۳۰/۲۴ سبب افزایش معنی‌دار در هماتوکریت و تعداد گلبول قرمز، دز ۳۰/۹۶ سبب افزایش معنی‌دار در هماتوکریت و کاهش در MCHC، دز ۳۰/۵۰۴ سبب کاهش معنی‌دار در تعداد گلبول قرمز و افزایش در MCV و MCH، دز ۷۵/۹۶ سبب افزایش معنی‌دار در هماتوکریت و کاهش در MCHC و MCH، دز ۷۵/۵۰۴ سبب کاهش معنی‌دار در هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز و افزایش معنی‌دار در MCV و MCH شده است.

افزایش میزان M.C.V مربوط به افزایش حجم اریتروسیت است که این پدیده ناشی از شرایط کم اکسیژنی حاکم بر محیط سلولی است. در واقع آلاینده‌ای که موجب آسیب‌دیدگی آبشش گردد باعث بروز شرایط کم‌اکسیژنی داخل سلولی می‌گردد که این پدیده منجر به افزایش حجم سلولی می‌شود (Heath، ۱۹۹۰).

لکوپنیا در *Oncorhynchus mykiss* پس از قرارگیری در معرض ارسنیک- کادمیوم و جیوه (Kotsanis و همکاران، ۲۰۰۰) به کاهش تعداد لنفوسیت‌ها مرتبط بوده است.

در پژوهشی از Syed Lal Shah و همکاران (۲۰۰۵) با عنوان مطالعه اختلالات پارامترهای ایمنولوژیکی در ماهی *Tinca tinca* قرار داده شده در معرض دو غلظت کشنده و تحت کشنده جیوه، کادمیوم و سرب در حالت حاد و مزمن که غلظت جیوه ۱/۰، کادمیوم ۶/۵ و سرب ۳۰۰ ppm بوده است، در مورد این ماهی فرض مقاومت بیش‌تر در برابر جیوه، کادمیوم و سرب در مقایسه با دیگر ماهیان درست نبوده است. در این پژوهش به این نتیجه رسیدند که در سمیت حاد LC50 ۴۸ ساعته و LC50 ۹۶ ساعته کاهش معنی‌داری در تعداد کل گلبول سفید در تیمارهای جیوه و کادمیوم مشاهده شده است. در غلظت ۱۰ درصد LC50 ۲۴ ساعته، در مسمومیت تحت کشنده، افزایش در تعداد کل گلبول سفید در تیمار جیوه مشاهده شده است. در غلظت مشابه پس از ۹۶ ساعت، کاهش در تعداد کل گلبول سفید در تیمار کادمیوم مشاهده شده است. در غلظت ۲۵ درصد LC50 ۲۴ ساعته افزایش در تعداد کل گلبول سفید در هر سه تیمار مشاهده شده است. در همه تیمارها پس از ۹۶ ساعت در معرض قرارگیری افزایش معنی‌داری در تعداد کل گلبول سفید دیده شده است. تعداد زیادی از محققان، لیمفوپنیا و گرانولوسیتوز را از عوارض قرارگیری در معرض بسیاری از آلاینده‌ها دانسته‌اند (Svoboda و همکاران، ۲۰۰۳).

در مجموع، آزمایش‌ها نشان داده که سرب سبب تغییرات معنی‌داری روی برخی از پارامترها شده است. این نتایج نشان‌دهنده اثر سرکوب‌کنندگی سرب روی سیستم ایمنی و فیزیولوژی ماهی می‌باشد. بنابراین از آنجایی‌که سیستم ایمنی به‌عنوان محافظ آبزیان در مقابل بیماری‌های عفونی محسوب می‌شود، بنابراین در معرض قرارگیری این موجودات با مواد سمی باعث به خطر افتادن و کاهش مقاومت در مقابل عوامل بیماری‌زا و در نهایت مرگ آن‌ها می‌شود.

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه دکتر پورغلام و پرسنل پژوهشکده اکولوژی دریای خزر و همچنین مهندس طلوعی ریاست مرکز شهید بهشتی که بچه ماهیان این پژوهش را در اختیار من قرار دادند، سپاسگزاریم.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

۱- نظامی، ش.، پژند، ذ.، خارا، ح.، افسرده، ع.، ۱۳۸٤. تعیین LC50 طی ۹٦ ساعت دو ترکیب نفتی فنل و ۱- نفتول بر بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی "*Acipenser persicus*". مجله علمی شیلات، سال چهاردهم، شماره ۱، صفحات ۱٤۷ تا ۱۵۹.

۲- سلطانی، م.، خوشباوررستمی، ح.، ۱۳۸۱. تأثیر سم دیازینون بر شاخص‌های هماتولوژیکی ماهی شیپ "*Acipenser nudiventris*" و تعیین LC50 آن. دومین همایش ملی ماهیان خاویاری، خلاصه مقالات، صفحات ٤۵ تا ٤۷.

۳- شریف‌پور، ع.، سلطانی، م.، جوادی، م.، ۱۳۸۲. تعیین LC50 و ضایعات بافتی ناشی از سم آندوسولفان در بچه‌فیل‌ماهی "*Huso huso*". مجله علمی شیلات، سال دوازدهم، شماره ٤، صفحات ٦۹ تا ۸٤.

1.Campbell, T.W., 1995. Avian Hematology and cytology. 2nd Edition. Lowa State University Press, Ames, IA. pp. 1-19.

2.Demayo, A., Taylor, M.C., Taylor, K.W., Hodson, P.V., 1981. Toxic effects of lead and lead compounds on human health, aquatic life, wildlife plants, and livestock. *Critical Reviews in Environmental Control* 12(4), 257-305.

3.Health, A.G., 1990. *Water pollution and fish physiology*. CRC Press, Boca Raton, Fl.

4.Hodson, P.V., Whittle, D.M., Wong, P.T.S., Borgmann, U., Thomas, R.L., Chau, Y.K., Nriagu, J.O., Hallet, D.J., 1984. Lead contamination of the Great Lakes and its potential effects on aquatic biota. *In*: J.O. Nriagu and M.S. Simmons (eds.), *Toxic contaminants in the Great Lakes*. John Wiley and Sons, Indianapolis, In.

5.Kotsanis, N., Georgudaki, J.L., Zoumbos, K.K., 2000. Changes in selected hematological parameters at early stages of the rainbow trout, Oncorhynchus mykiss, subjected to metal toxicants: arsenic, cadmium and mercury. *J. Appl. Ichthyol*. 16, 276-278.

6.Luskova, V., Svoboda, M., Kolarova, J., 2002. The effects of diazinon on blood plasma biochemistry in carp(*Cyprinus carpio*). *Acta vet. BRNO*, 71, 117-123.

7.Martinz, C.B.R., Nagae, M.Y., Zaia, C.T.B.V., Zaia, D.A.M., 2004. Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus. Braz. J. Biol*. 64 (4), 797-807.

8.Olamdimeji, A.A., Offem, B.O., 1989. Toxicity of lead to clarias lazera, *Oreochromis niloticus, Chironomus tentans* and *Benacus* sp. *Water, Air and Soil Pollution* 44 (3-4), 191-201.

9.Olaifa, F.E., Olaifa, A., Kand lewis, O.O., 2003. Toxic stress of lead on *Clarias gariepinus* (African cat fish) fingerlings. *African Journal of Biomedical Research* 6 (2), 101-104.

10.O.E.C.D., 2001. Guidelines for testing chemicals. No. 210. Section 2. Effect on biotic system direction, pp. 1-39.

11.Salmeron-Flores, P., Melendez-Camargo, M.E., Martinez-Tabche, L., 1990. Efecto hepatotóxico y nefrotóxico del plomo sobre la tilapia (*Sarotherodon aureus*). *An. Esc. Nac. Cienc. Biol. Mex*. 33, 147-156.

12.Svobodová, Z., Luscova, V., Drastichova, J., Svoboda, M., Zlabek, V., 2003. Effect of delthamethrin on haematological indices of common carp. *Acta vet. Brno*. 72, 79-85.

13.Syed Lal Shah, Ahmet A., 2005. Alterations in The Immunological Parameters of Tench (*Tinca tinca* L. 1758) After Acute and Chronic Exposure to Lethal and Sublethal Treatments With Mercury, Cadmium and Lead, Turk. *J. Vet. Anim. Sci*. 29, 1163-1168.

14.Syed Lal Shah., 2005. Haematological parameters in tench *Tinca tinca* after short term exposure to lead. Pakistan Science Foundation, G-5/2, Islamabad, Pakistan 1990.

Archive of SID

www.SID.ir