Archive of SID

اثر غلظت‌های تحت کشنده اندوسولفان بر فاکتورهای خونی و ایمنی موکوس ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*)

- **محسن تجری***: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- **ابوالقاسم کمالی**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- **هومن رجبی‌اسلامی**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- **حامد پاک‌نژاد**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۷

چکیده

با توجه به اهمیت ماهی کلمه خزری به‌عنوان یکی از گونه‌های ارزشمند دریای خزر و ورود سموم کشاورزی به این دریا هدف از این تحقیق بررسی اثرات تحت کشنده سمیت اندوسولفان بر فاکتورهای ایمنی موکوس و فاکتورهای خونی ماهی کلمه می‌باشد. پس از تعیین میزان LC۵۰ برای این گونه تعداد ۲۰ عدد ماهی با میانگین وزنی ۲/۳۲±۱۸/٤٦ گرم در هر مخزن در مجاورت ۱۰ درصد و ۲۰ درصد سم اندوسولفان به‌مدت ۲۱ روز قرار گرفتند. نمونه‌برداری از موکوس و خون در روز ۱، ۷، ۱٤ و ۲۱ انجام شد. نتایج نشان داد که میزان پروتئین کل و ایمنوگلوبین در تیمار ۲۰ درصد پس از ۲۱ روز قرارگیری در معرض سم اندوسولفان بالاترین میزان را داشت که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت (P<۰/۰۵). با افزایش مدت زمان قرارگیری در معرض سم و غلظت سم میزان هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول قرمز کاهش یافت و بیش‌ترین میزان این فاکتورها در گروه شاهد بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). تعداد گلبول‌های سفید با افزایش غلظت سم و زمان افزایش یافت. قرارگیری در معرض سم اندوسولفان می‌تواند اثرات تحریکی برسیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی کلمه داشته باشد.

کلمات کلیدی: اندوسولفان، فاکتورهای خونی و ایمنی موکوس

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: tajari@bandargaziau.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

انسان‌ها برای جلوگیری از نابودی و از بین رفتن محصولات کشاورزی که با صرف هزینه، زحمت و زمان بسیار به‌دست می‌آید و هم‌چنین به‌دلیل رشد جمعیت و محدودیت‌های موجود در تولید محصولات مختلف غذایی از روش‌های مختلفی جهت کنترل و دفع آفات نباتی استفاده می‌نمایند. یکی از رایج‌ترین این روش‌ها استفاده از سموم دفع آفات می‌باشد. امروزه آفت‌کش‌ها عمدتاً در کشاورزی و به‌منظور کنترل آفات گیاهی به‌کاربرده می‌شوند اما استفاده بیش از حد و مداوم آفت‌کش‌ها سلامت بشر را به‌مخاطره انداخته و اثرات معکوسی بر موجودات غیرهدف دارد و موجب آلودگی منابع آب، خاک و هوا می‌گردد (بهادر، ۱۳۸۶؛ موسوی و رستگار، ۱۳۷۷). اگرچه تمامی اکوسیستم‌ها در برابر اثرات سمیت آفت‌کش‌ها حساس هستند اما این حساسیت در اکوسیستم‌های آبی به‌مراتب بیش‌تر است و اثرات زیانبار این آلودگی‌ها پایه‌های اصلی در زنجیره غذایی یعنی فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها را مورد تهدید جدی قرارمی‌دهند (کردوانی، ۱۳۷۴). اکوسیستم‌های آبی به‌عنوان بزرگ‌ترین بخش محیط طبیعی همواره با تهدیدهایی مانند محدودیت ژنتیکی و تنوع زیستی مواجه می‌باشد. Van-DerGeest و همکاران (۱۹۹۷) با توجه به حلالیت بالای آفت‌کش‌ها در بافت چربی، این مواد به آسانی از بدن موجودات دفع نمی‌شوند. آفت‌کش‌ها با غلظت‌های بالایی در بدن پستانداران (ازجمله انسان) مشاهده شده‌اند. این مواد به‌علت فعل و انفعالات شیمیایی اندک، پایداری در مقابل اکسیداسیون و پایداری در مقابل دیگر فرآیندهای تخریب به‌مدت طولانی در محیط باقی می‌مانند. بعضی از این سموم به‌خاطر امکان رقابت و هم‌پوشانی با هورمون‌های درون‌ریز در محل‌های اتصال سیستم عصبی و سلولی (Binding sites) مهم می‌باشند. به‌دلیل سطوح معین هورمون‌های سیار در موجودات زنده و افزایش مقادیر مواد شیمیایی (حتی مواد شیمیایی با قرابت کم) موجود در برخی از اکوسیستم‌های آبی، می‌توانند رقیب هورمون‌های درون‌ریز برای اتصال به گیرنده‌های هورمون در محل‌های اتصالشان باشند. فعالیت‌های مولکولی و سلولی این مواد شیمیایی فقط شامل رقابت برای گیرنده‌های هورمون نیست بلکه شامل تغییر و دگرگونی در متابولیسم و سنتز هورمون، تحریک مسیرهای سلولی هورمون‌های درون‌ریز، تغییر الگوهای متیلاسیون DNA، کاهش قابلیت اتصال گیرنده‌های هورمونی در پاسخ به عناصر وابسته DNA یا از کار افتادن کلیدهای ژنی کنترل کننده سیستم درون‌ریز در طی رشد می‌باشد. تولید بچه ماهی با کیفیت مناسب به عوامل محیطی زیادی بستگی دارد که یکی از عواملی که بر مراحل رشد ابتدایی ماهی ان تاثیر منفی می‌گذارد، سموم هستند. سموم و آفت‌کش‌ها عمده‌ترین 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 و Barahona، ۲۰۰۵) سموم ارگانوفسفره مثل دیازینون و ارگانوکلره مثل آندوسولفان پس‌ازاستفاده در کشاورزی و باغداری، در مدت کوتاهی پس از پاشیدن بر روی خاک‌ها و گیاهان از طریق آب حاصل از آبیاری یا بارندگی شسته شده، وارد منابع آبی می‌شوند.با ورود این سموم به‌آب بسیاری ازموجودات‌شامل‌بی‌مهرگان، پرندگان، پستانداران و ماهی‌ها آسیب خواهند دید. ورود سموم به آب‌ها می‌تواند باعث مرگ و میر آبزیان شده یا در بدن آن‌ها تجمع یافته و از طریق زنجیره‌های غذایی وارد بدن انسان که مصرف کننده آن‌هاست شود. ماهی کلمه خزر متعلق به خانواده کپورماهیان می‌باشد ویکی ازگونه‌های ارزشمند دریای خزر بوده که دارای اهمیت اقتصادی شیلاتی و منبع غذایی مهمی برای فیل ماهی دریای خزر به‌شمار می‌رود (Keyvanshokooh و Kalbassi، ۲۰۰۶). بنابراین هدف از این تحقیق بررسی اثرات تحت‌کشنده اندوسولفان بر فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی موکوس ماهی کلمه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در زمستان ۱۳۹۶ تا بهار ۱۳۹۷ در سالن‌شهید ناصر فضلی‌برآبادی دانشگاه علوم‌کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد.

تهیه نمونه و شرایط نگه‌داری ماهیان: تعداد ۱۸۰ بچه ماهی کلمه با محدوده وزنی حدود ۲/۳۲±۱۸/۴۶ گرم از مرکزتکثیر و پرورش سیجوال تهیه و به‌وسیله پلاستیک‌های حاوی یک سوم آب و مابقی اکسیژن، به سالن ونیرو شهید ناصر فضلی‌برآبادی انتقال یافتند. به‌منظور جلوگیری از بروز بیماری ۴۸ ساعت قبل از آبگیری برای ورود ماهیان، مخزن پلاستیکی با آب و فرمالین رقیق شده ضدعفونی شدند. جهت کاهش استرس برای ماهی و هم‌دما شدن دو محیط، نایلون‌های حاوی ماهی به‌مدت ۳۰ دقیقه در آب مخازن آداپتاسیون که از دو روز قبل به میزان ۱۰۰ لیتر آب کلرزدایی و با هواده هوادهی شده آبگیری شده بود، قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت جهت کاهش استرس و از بین بردن بیماری‌های پوستی احتمالی، ماهیان به‌آرامی به تشت با آب کلرزدایی شده و حاوی محلول ۲۰ گرم در لیتر نمک به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند و ونیروها مجدداً تخلیه و با آب کلرزدایی شده آبگیری شدند و ماهیان به‌آرامی به مخزن پلاستیکی مدنظر منتقل شدند. دوز کشندگی به‌وسیله ۷۰ عدد ماهی سالم انجام شد. تمامی آزمایشات در مخزن‌های ۵۰۰ لیتری انجام شد. ماهیان روزانه دو بار مورد غذادهی قرار می‌گرفتند و ماهیان مرده برای اجتناب از بدتر شدن کیفیت آب، فوراً از مخزن‌ها خارج می‌شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

تعیین غلظت کشندگی حاد یا Lc۵۰: در این تحقیق به‌دلیل عدم وجود غلظت سمیت کشنده اندوسولفان در ماهی کلمه، مقادیر سمیت‌کشنده یا LC۵۰ تعیین گردید.به این منظور ابتدادامنه گسترده محدود شونده با مرور منابع، غلظت‌های (۰، ۵، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ ملی‌گرم بر لیتر) به‌دست آمد. روش انجام آزمایش غلظت کشندگی حاد به‌صورت استاتیک بود. برای انجام آزمایش LC۵۰ اندوسولفان، ماهیان کلمه در ۸ تیمار با سه تکرار (یک گروه به‌عنوان شاهد و در هر تیمار ۲۰ ماهی) به‌صورت تصادفی در مخازن ۵۰۰ لیتری قرارگرفتند. با شروع آزمایش کشندگی حاد، هیچ‌گونه تعویض آبی در مخازن آزمایش صورت نگرفت و غلظت سم هم تجدید نشد. در طی آزمایش حتی‌المقدور شرایط فیزیک و شیمیایی کنترل گردید و در طی دوره آزمایش تا حدی یکسان نگه‌داری شد تا تنها عامل متغیر دوزهای مختلف اندوسولفان باشد. هوادهی در تمامی مخازن به گونه‌ای که حداقل آشفتگی در آب ایجاد شود صورت گرفت (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲). میزان مرگ و میر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه شد. تعداد مرگ و میر از زمان القای سم تا ساعت ۲۴، مرگ و میر روز اول محسوب شد. هم‌چنین تعداد مرگ و میر از زمان القای سم تا ۴۸ ساعت، مرگ و میر روز دوم، تعداد مرگ و میر از زمان القای سم تا ۷۲ ساعت، مرگ و میر روز سوم و تعداد مرگ و میر از زمان القای سم تا ۹۶ ساعت، مرگ و میر روز چهارم درنظر گرفته شد. با توجه به این‌که مخازن با حجم ۱۰۰ لیتر آب‌گیری شده بود، برای تهیه غلظت مخزن آزمایش از فرمول M1V1=M2V2 استفاده شد (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲). لازم به ذکر است تجزیه و تحلیل داده‌های میزان تلفات ماهی کلمه در زمان‌های ذکر شده در معرض سم‌اندوسولفان با استفاده از رگرسیون پروبیت در نرم‌افزار Spss صورت گرفت. بر این اساس میزان LC۵۰ پس از ۹۶ ساعت ۱۵۱/۱ میلی‌گرم برلیتر به‌دست آمد. و بر این اساس آزمایش سمیت تحت کشنده در تیمار ۱۰٪ (۱۵ میلی‌گرم برلیتر) و ۲۰٪ (۳۰ میلی‌گرم برلیتر) محاسبه شد.

آزمایش سمیت تحت حاد: پس از محاسبه LC۵۰، آزمایش سمیت تحت‌کشنده انجام شد.۱۸۰ قطعه ماهیان کلمه به‌صورت تصادفی در ۹ مخزن فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری با حجم ۱۰۰ لیتر در گروه‌های شاهد (۰)، تیمار یک (۱۰ درصد) و تیمار دو (۲۰ درصد) اندوسولفان قرار گرفتند. آزمایش سمیت تحت‌کشنده برخلاف آزمایش کشندگی حاد به‌صورت تجدیدپذیر بودو تعویض آب در مخازن آزمایش انجام می‌شد و غذادهی نیز روزانه طی ۲ مرحله به‌میزان۱/۵درصد وزن انجام می‌شد. پس از تجدید آب غلظت سم محاسبه و به‌مخازن اضافه می‌شد. شرایط تیمارها روزانه چک شد و هوادهی به‌طور منظم انجام شد. در نوبت‌های غذادهی، هوادهی موقتاً قطع و سپس مجدداً برقرار می‌شد. pHبادستگاه قابل حمل سنجش pH(مدل تیاس)واکسیژن محلول با دستگاه دیجیتال اندازه‌گیری اکسیژن (مدل DO- ۵۵۱۰) به‌طور روزانه اندازه‌گیری شد.

جمع‌آوری موکوس پوست: پس از ۲۱ روز قرارگیری درمعرض اندوسولفان نمونه‌برداری از موکوس انجام‌شد. از هرمخزن ۵ عدد ماهی به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری و پس از بی‌هوشی با ۵۰ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک به‌صورت انفرادی درون کیسه‌های پلاستیکی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی‌مولار قرار گرفتند. ماهیان از ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی نشدند. پس از ۲ دقیقه ماهیان از کیسه‌ها خارج و به درون آب پر از اکسیژن قرار گرفتند. موکوس جمع‌آوری‌شده به لوله‌های سانتریفیوژ استریل ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و بادور g× ۱۵۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانترفیوژ شدند و سوپرنتانت به میکروتیوپ‌های ۱/۵ سی‌سی منتقل شدند. نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی موکوس درون فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

سنجش مقدار پروتئین: برای اندازه‌گیری پروتئین محلول از معرف رنگی فولین فنول سیو کالتیو استفاده گردید، در این روش ابتدا پروتئین با یون Cu2+ موجود در محلول قلیایی واکنش می‌دهد. در ادامه با اضافه کردن معرف فولین، آنیون‌های فسفو مولیبدات و فسفو تنگستات موجود در معرف با تریپتوفان و تیروزین موجود در پروتئین واکنش‌داده و عمل احیا صورت می‌گیرد. به‌نظر می‌رسدیون‌مس در این واکنش‌نقش کاتالیزوری‌دارد.درنهایت‌محلول آبی رنگ به‌دست می‌آید.

اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین کل: جهت اندازه‌گیری توتال ایمونو گلبولین از روش Siwicki and Anderson (۱۹۹۳) استفاده شد. ابتدا میزان‌پروتئین تعیین‌شده‌و سپس به نمونه موکوس پلی‌اتیلن گلایکول ۱۲ درصد اضافه شد. پس از ۲ ساعت در دمای اتاق نمونه‌ها سانتریفوژ شده و غلظت پروتئین در قسمت بالایی محلول مجددا توسط روش بردفورد اندازه‌گیری شد. میزان ایمونوگلبولین کل از تفریق غلظت پروتئین در نمونه اولیه و غلظت پروتئین پس از افزودن پلی‌اتیلن گلایکول محاسبه شد.

خونگیری: پس از بی‌هوشی، آب اضافی از سطح بدن ماهی‌ها به‌وسیله حوله نرم خشک شد، خونگیری با استفاده از سرنگ آغشته به هپارین و از ناحیه ساقه دمی انجام شد. تا زمان اتمام خونگیری از تمام ماهیان، نمونه‌های خون گرفته شده در ظرف دربسته و در تماس غیرمستقیم با یخ قرار گرفتند. پس از اتمام خونگیری، نمونه‌های خون به آزمایشگاه منتقل شد و در آن‌جا تعداد کل گلبول‌های سفید، تعداد کل گلبول‌های قرمز، محتوای هموگلوبین و سطح هماتوکریت اندازه‌گیری

www.SID.ir

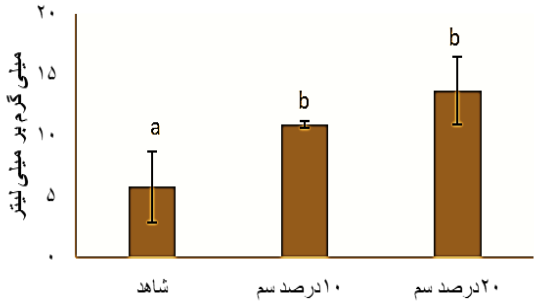
Archive of SID

شد.شمارش گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز به‌روش هموسیتومتری انجام گرفت. مقدار هماتوکریت و غلظت هموگلوبین نیز به‌روش میکروهماتوکریتوسیانومت هموگلوبین سنجش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها و تعیین سطوح معنی‌داری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۶ و هم‌چنین آزمون آماری دانکن با درصد اطمینان ۹۵ و با آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) انجام شد. داده‌ها به‌صورت میانگین± انحراف معیار مشخص شدند.

نتایج

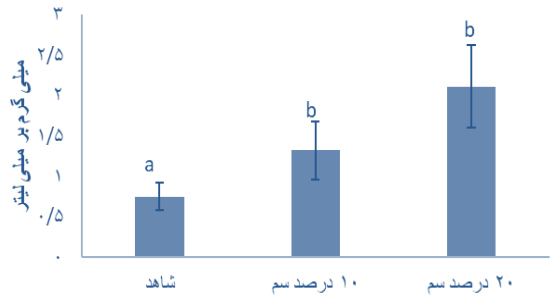
نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان پروتئین کل موکوس پس ۲۱ روز قرارگیری در معرض سم اندوسولفان نشان داد که بالاترین میزان در تیمار ۲۰ درصد و کم‌ترین میزان در گروه شاهد بود و مقدار پروتئین در تیمار ۱۰ درصد و ۲۰ درصد اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵) (شکل ۱).



شکل ۱: نمودار تاثیر سم اندوسولفان در غلظت‌های تحت‌کشنده بر میزان پروتئین کل موکوس ماهی کلمه

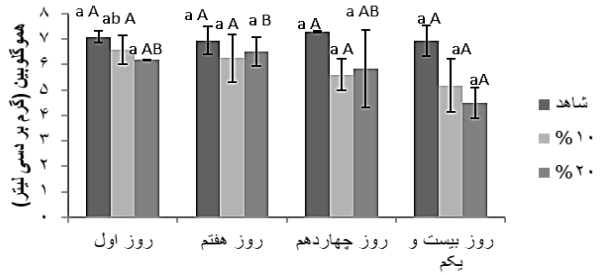
حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

نتایج به‌دست آمده از میزان ایمنوگلوبین نیز روندی مشابه با پروتئین کل را نشان داد به‌طوری‌که کم‌ترین میزان در گروه شاهد و بیش‌ترین میزان در تیمار ۲۰ درصد سم بود و بین تیمار ۱۰ درصد و ۲۰ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵)(شکل ۲). نتایج حاصل‌ازتاثیر ۲۱ روزه سم اندوسولفان بر هموگلوبین در شکل ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان قرارگیری در معرض اندوسولفان میزان هموگلوبین کاهش یافت و بالاترین سطح هموگلوبین در گروه شاهد مشاهده شد اما میزان هموگلوبین در روزهای مختلف و در غلظت‌های متفاوت اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت (P>۰/۰۵). نتایج حاصل از اندازه‌گیری هماتوکریت در گروه‌های مختلف بالاترین میزان را در گروه شاهد و کم‌ترین میزان را در تیمار ۲۰ درصد در روزهای مختلف نشان داد. میزان هماتوکریت در روزهای مواجهه با سم اختلاف معنی‌داری را در گروه شاهد نسبت به سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). هم‌چنین در تیمار ۲۰ درصد نیز باافزایش‌مدت‌زمان‌قرارگیری‌در معرض اندوسولفان میزان هماتوکریت کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵) (شکل ۴).



شکل۲: نمودار تاثیر سم اندوسولفان در غلظت‌های تحت‌کشنده بر میزان ایمنوگلوبین کل موکوس ماهی کلمه

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).



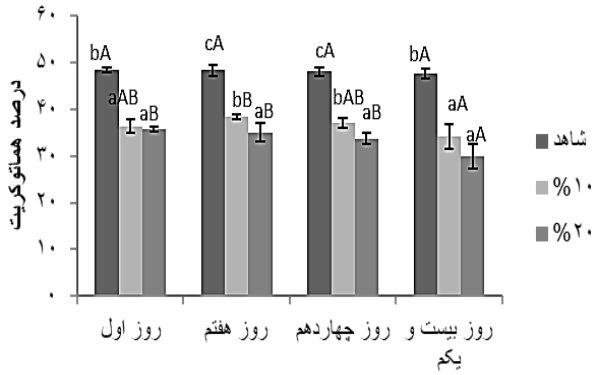
شکل۳: نمودار تاثیر سم اندوسولفان در غلظت‌های تحت‌کشنده بر میزان هموگلوبین ماهی کلمه

حروف کوچک و بزرگ اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) را در روزهای مواجهه (A-B) و دوز اندوسولفان (a-b) نشان می‌دهند.

میزان گلبول قرمز در همه روزهای مواجهه با سم اندوسولفان در گروه شاهد اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). بالاترین میزان گلبول قرمز در گروه شاهد و کم‌ترین میزان در تیمار ۱۰ درصد اندوسولفان در روز چهاردهم بود. با گذشت زمان در معرض قرارگیری سم اندوسولفان نیز میزان گلبول قرمز در تیمارهای مختلف کاهش یافت و این کاهش در سطح معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل ۵). نتایج حاصل از شمارش گلبول‌های سفید نشان داد که با افزایش دوز اندوسولفان و مدت زمان در معرض قرارگیری این سم میزان گلبول سفید نیز افزایش یافت به‌طوری‌که بالاترین تعداد گبول سفید در تیمار ۲۰ درصد در روز ۲۱ مواجهه با سم و کم‌ترین میزان در گروه شاهد بود. میزان گلبول سفید در تیمار ۲۰ درصد در روز ۱۴ و ۲۱ و در تیمار ۱۰ درصد در روز ۲۱ اختلاف معنی‌داری با سایر روزها و شاهد داشت (P<۰/۰۵) (شکل ۶).

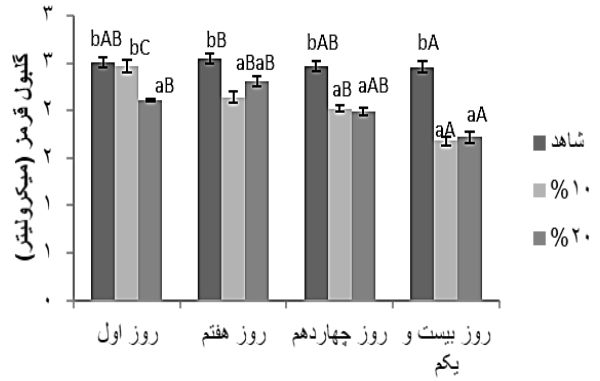
www.SID.ir

Archive of SID



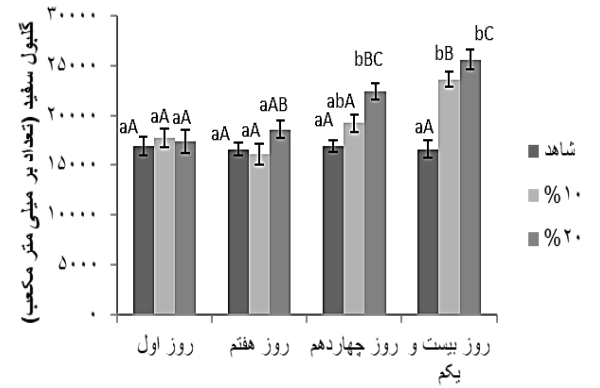
شکل ۴: نمودار تاثیر سم اندوسولفان در غلظت‌های تحت کشنده بر میزان هماتوکریت ماهی کلمه

حروف کوچک‌وبزرگ اختلاف معنی‌دار را در روزهای مواجهه (A-B) و دوز اندوسولفان (a-b) نشان می‌دهند (P<۰/۰۵).



شکل ۵: نمودار تاثیر سم اندوسولفان در غلظت‌های کشنده بر میزان گلبول قرمز ماهی کلمه

حروف کوچک‌وبزرگ اختلاف معنی‌دار را در روزهای مواجهه (A-B) و دوز اندوسولفان (a-b) نشان می‌دهند (P<۰/۰۵).



شکل ۶: نمودار تاثیر سم اندوسولفان در غلظت‌های تحت کشنده بر میزان گلبول سفید ماهی کلمه

حروف کوچک‌وبزرگ اختلاف معنی‌دار را در روزهای مواجهه (A-B) و دوز اندوسولفان (a-b) نشان می‌دهند (P<۰/۰۵).

بحث

بوم‌سازگان‌های آبی همواره دریافت‌کننده حجم وسیعی از آلاینده‌هایی چون آفت‌کش‌ها، فلزات سنگین، هیدروکربن‌های نفتی و مواد آلی ناشی از فاضلاب‌های خانگی، معدنی، صنعتی و کشاورزی می‌باشند که تعادل بوم‌سازگان را برهم زده و از عملکرد درست آن ممانعت به‌عمل می‌آورد (Pourang و همکاران، ۲۰۰۵). بنابراین برآورد اثرات این آلاینده‌ها بر بوم‌سازگان‌ها ضروری است. حساسیت به آلاینده‌ها در گونه‌های مختلف و حتی در یک گونه مشخص نیز بسته به اندازه، سن، شرایط گونه و شرایط محیط آزمایش متفاوت است (Hedayati و Safahieh، ۲۰۱۱). پایش اکوسیستم‌های آبی در سال‌های اخیر از سنجش کمی مقدار آلاینده در آب، رسوب، بافت ماهی به سمت سنجش‌های کیفی اثرات آلاینده‌ها بر آبزیان با استفاده از زیست نشانگرهای آبی و مارکرهای مولکولی، بیوشیمیایی، خون شناسی، آنزیمی و بافتی سوق پیدا نموده است (Schelenk، ۲۰۰۲). پروتئین‌های موکوس که در غشای پلاسمایی ماکروفاژها و سایر گلبول‌های سفید قرار دارند و به گیرنده‌های قندی موجود در سطح میکروب‌ها متصل می‌شوند باعث به دام افتادن سریع میکروب می‌گردند و می‌توانند قابلیت آگلوتینه کردن میکروارگانیسم‌ها و خنثی کردن اثر آن‌ها را برای موکوس ایجاد کنند (شریفیان، ۱۳۹۲). سلول‌های موسوم به سلول‌های کیسه‌ای شکل در اپیدرم ماهیان، پروتئین‌هایی را ترشح می‌نماید که ماهیان را در برابر عفونت‌ها و آسیب‌های ناشی از انگل‌های خارجی حفاظت می‌نماید (Suzuki و همکاران، ۲۰۰۳). هم‌چنین ایمونوگلوبین در ماهیان از سلول‌های B ترشح می‌شوند که یکی از مؤلفه‌های ایمنی ذاتی می‌باشد. در پایان دوره قرارگیری در معرض سم اندوسولفان نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان پروتئین کل و ایمنوگلوبین موکوس نشان داد که سم باعث افزایش میزان این دو فاکتور در موکوس گردیده. در ارتباط با تاثیر سموم بر میزان فاکتورهای ایمنی موکوس مطالعات بسیار اندکی صورت گرفته است.

طی گزارش Martha و همکاران (۲۰۱۰) با اندازه‌گیری میزان ایمنوگلوبین سرم تحت تاثیر اندوسولفان نتایجی مشابه با نتایج مطالعه حاضر را گزارش کردند که اندوسولفان باعث افزایش میزان ایمنوگلوبین در سرم شده است و دلیل این امر را مرتبط با اثرات استروژنیک اندوسولفان ارائه کردند. که این اثرات استروژنیک باعث تسهیل بروز پاسخ‌های ایمنی هومورال می‌شود. افزایش میزان پروتئین و ایمونوگلوبین در موکوس تحت تاثیر سم نیز احتمالاً به‌دلیل حضور سم به‌عنوان یک عامل خارجی در سطح بدن ماهی و تحریک ترشح

www.SID.ir

Archive of SID

موکوس و افزایش مولفه‌های ایمنی داتی موجود در موکوس به‌منظور حفظ ایمنی است.

تغییر در پارامترهای خون‌شناسی ازجمله واکنش‌هایی است که جانور در پاسخ به تنش از خود نشان می‌دهد. بخشی از این تغییرات وابسته به ویژگی‌های گلبول قرمز است مانند تغییر در اندازه سلول و میزان ذخیره هموگلوبین و بخشی دیگر به غلظت پلاسما بستگی دارد که می‌تواند اثر خود را به‌صورت تغییر در تعداد گلبول‌ها در واحد حجم و هم‌چنین تغییر میزان هماتوکریت نشان دهد. تغییر غلظت خون، تغییر در مقدار شاخص‌های خونی را به‌دنبال دارد. این تغییر می‌تواند هم غلظت پلاسما و هم حجم گلبول‌ها را تحت تاثیر قرار دهد که متعاقب آن منجر به تغییراتی در مقدار هماتوکریت و هموگلوبین خواهد شد (Milligan و Wood، ۱۹۸۲).

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت و مدت زمان در معرض قرارگیری با اندوسولفان میزان هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول قرمز کاهش یافت و بالاترین میزان در گروه شاهد مشاهده شد. درواقع سم اندوسولفان دارای اثری منفی بر فاکتورهای خونی ماهی کلمه بود. کاهش شاخص‌های اریتروسیتی خون به‌دلیل کم‌خونی رخ می‌دهد. در طی کم‌خونی، کاهش در تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت‌مشاهده می‌شود که ممکن است به‌دلیل خونریزی، همولیز یا کاهش تولید گلبول‌های قرمز صورت پذیرد (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲). که این مطلب با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. به عبارت دیگر، کاهش تعداد سلول‌های قرمز خونی و مقدار هماتوکریت یکی از شاخص‌های بارز کم‌خونی می‌باشد.این کم‌خونی‌ناشی از اثررادیکال‌های آزاد اکسیژنی تولید شده توسط سم بر بافت طحال و کلیه که مراکز خون‌ساز در ماهیان هستند، می‌باشد که همین امر باعث کاهش تولید گلبول‌های قرمز خواهد شد. هم‌چنین سم با اثر بر گلبول‌های قرمز باعث از بین رفتن آن‌ها می‌شود. از این‌رو حذف گلبول‌های قرمز آسیب دیده ناشی از اثر سم، سبب آزاد شدن آهن هموگلوبین و تجمع ترکیبات پروتئینی حاوی آهن نظیر هموسیدرین و فریتین در طحال این ماهی‌ها می‌گردد (Edsal، ۱۹۹۹).

Oh و همکاران (۱۹۹۱) بیان کردند که یکی از عوامل تأثیر گذار در مسمومیت آبزیان، زمان است. هنگامی‌که ماهی در معرض غلظت ثابتی از سم باشد، به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می‌رود و هم سم فرصت بیش‌تری برای تأثیرگذاری روی ماهی پیدا می‌کند. ضمن این‌که در مواردی تجمع سم در بافت‌های ماهی نیز باعث افزایش‌تأثیر سوء آن بر بدن ماهی می‌شود. طبق نظر Krylov (۱۹۹۸) فرایندهای آسیب‌شناسی خون ماهیان دراثر مسومیت را می‌توان این طور تقسیم‌بندی کرد که افزایش غلظت هموگلوبین در خون ماهیان به‌عنوان اولین پاسخ این موجودات به مسمومیت با موادسمی است و متعاقب این افزایش، کاهش تدریجی هموگلوبین تا رسیدن به غلظت کم‌تر از نرمال رخ می‌دهد.

هم‌راستا با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، Svoboda و همکاران (۲۰۰۳) تاثیر سم دلتامترون راروی شاخص‌های خونی ماهی کپور بررسی کردند. در این پژوهش سم دلتامترون برای ماهیان طبقه بندی شد و علت تغییرات در گلبول‌های قرمز و پروتئین کل پلاسمای خون ماهیانی که در معرض غلظت غیرکشنده این سم قرار گرفتند را آسیب دیدن بافت خون‌ساز کلیه و بافت سنتزکننده پروتئین دانست. هم‌چنین نوریان و همکاران (۱۳۹۳) گزارش کردند که سم دیازینون باعث کاهش میزان هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول قرمز و افزایش گلبول‌های سفید در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد.

MuhammadRiazوهمکاران(۲۰۱۸)گزارش کردند که قرارگیری ماهی روهیتا در معرض سم دیافنترون برای طولانی مدت (۳۲ و ۶۴ روز) باعث افزایش فاکتورهای خونی (هماتوکریت، هموگلوبین، گلبول قرمز و گلبول سفید) شد. این افزایش می‌تواند ناشی از آزاد شدن خون از ارگان‌های خون‌ساز و فعال شدن فرآیندهای تولید گلبول قرمز تحت تاثیر سم باشد. در واقع افزایش تعداد گلبول‌های قرمز اولین مکانیسم برای مقابله با شرایط کمبود اکسیژنی است که تحت شرایط قرارگیری در معرض سم برای طولانی مدت به‌وجود آمده است (Varadarajanوهمکاران، ۲۰۱۳).هم‌چنین Alwanوهمکاران(۲۰۰۹) افزایش در میزان هموگلوبین را ناشی از افزایش میزان گلبول قرمز عنوان کردند. افزایش تعداد گلبول‌های سفید در خون به‌خوبی مؤید وجود عامل نامناسب خارجی در بدن جانوران است و این امر یکی از مهم‌ترین فرایندهای دفاع هومورال در از بین بردن عوامل خارجی و باکتری‌ها شناخته می‌شود. افزایش گلبول‌های سفید و کاهش برخی لکوسیت‌ها یک پاسخ فیزیولوژیک و سازگاری با شرایط در جانوران است که تحت اثر آلاینده‌های مختلف بعضی سلول‌های ایمنی بدن فعال‌تر می‌شوند و افزایش در تعداد گلبول‌های سفید نشان‌دهنده افزایش فعالیت ایمنی بدن برای مقابله با شرایط استرس‌زا است (Modesto و Martinez، ۲۰۱۰).

نتایج نهایی به‌دست آمده از این تحقیق در ارتباط با قرارگیری در معرض تحت کشنده سم اندوسولفان نشان داد که میزان پروتئین کل و ایمنوگلوبین موکوس در ماهیانی که در معرض غلظت ۲۰ درصد سم اندوسولفان بودند بالاترین سطح را داشتند هم‌چنین با افزایش مدت‌زمان‌وغلظت‌سم‌ازمقدارفاکتورها خونی(هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول قرمز) کاسته می‌شود. اما تعداد گلبول‌های سفید به‌عنوان یکی از پاسخ‌های ایمنی هومورال نسبت به ورود عوامل خارجی به بدن افزایش یافت. بنابراین طبق این یافته‌ها می‌توان چنین

www.SID.ir

Archive of SID

استنباط کرد که قرارگیری در معرض سم اندوسولفان باعث تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهی کلمه می‌شود.

پیشنهاد می‌شود به‌منظور جلوگیری از به‌خطر افتادن گونه‌های با ارزش دریای خزر ازجمله ماهی کلمه از ورود آفت‌کش‌ها به این دریا جلوگیری شود و یا از آفت‌کش‌هایی با درجه سمیت کم‌تر استفاده شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی را از کلیه پرسنل آزمایشگاه شهید ناصر فضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان دارند.

منابع

۱. **بهادر، ع. و بهادر، ف.، ۱۳۸۶.** میکروب‌شناسی پزشکی. چاپ اول. تهران. نشر خسروی. ۲۷۲ صفحه.

۲. **کردوانی، پ.، ۱۳۷۴.**. زئوهیدروبیولوژی. انتشارات دانشگاه تهران. ۷۷ صفحه.

۳. **شریفیان، م.، ۱۳۹۲.** تاثیر سطوح متفاوت ویتامین A بر خصوصیات ضدباکتریایی موکوس اپیدرم ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*). مجله علوم و فنون شیلات. دوره ۲، شماره ۵۹، صفحات ۲۳ تا ۳۴.

۴. **هدایتی، ع.؛ قربانی، ر.؛ باقری، ط.؛ احمدوند، ش. و جهانبخشی، ع.، ۱۳۹۲.** بررسی اثرات سمیت کشنده نانواکسید روی (ZnO NPs)، نانو اکسید مس(CuO NPs) و نانودی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2 NPs) و بررسی اثرات سمیت تحت‌کشنده آن‌ها بر فاکتورهای خون و بافت آبشش ماهی قرمز (*Carassius auratus*)، کپور معمولی (*Cyprinuscarpio*) و کلمه (*Rutilusrutilus*). دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان معاونت پژوهشی و فناوری دانشکده شیلات و محیط زیست. گروه شیلات تاریخ تصویب ۱۳۹۱. ۲۹ صفحه.

۵. **Alwan, S.F.; Hadi, A.A. and Shok, A.E., 2009.** Alterations in hematological parameters of fresh Water Fish, Tilapia zillii, exposed to aluminum. Benghazi Uni. Press. J. Sci. Appl. Vol. 3, pp: 12-19.

۶. **Edsall, C., 1999.** A blood chemisteryprofile for lake trout. J.Aq. Animal Health; 11;.81-86. Federal Insecticide (USA). Fungicide and rodenticide act. Environ Protect. Vol. 23, pp: 59-61.

۷. **Hedayati, A. and Safahieh, A., 2011.** Serum hormone and biochemical activity as biomarkers of mercury pollution in yellowfin exposed to sublethal concentration of endosulfan during metamorphosis. Comparative Biochemistry and physiology. Vol. 8, pp: 300-308.

۸. **Keyvanshokooh, S. and Kalbassi, M.R., 2006.** Genetic variation of *Rutilus rutilus* caspicus (jakowlew 1870) populations in Iran based on random amplified polymorphic DNA markers: a preliminary study. Aquaculture Research. Vol. 37, pp: 1437-1440.

۹. **Khattak, I.U.D. and Hafeez, M.A., 1996.** Effect of malathionon blood parameters of fish, *Cyprinion watsoni pak*. J. Zool. Vol. 28, pp: 45-49.

۱۰. **Krylov, O.N., 1998.** Manual for the prevention and diagnostics of the poisoning of the fishes by harmful substance. Moscow: Tsniiterkh. Vol. 12, pp: 51-53.

۱۱. **Martha, C.; Tellez, B.; Anne, S.; Josefina, C. and Solis, G., 2010.** Endosulfan increases seric interleukin-2 like (IL-2L) factor andimmunoglobulin M (IgM) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) challenged with *Aeromona hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 28, pp: 401-405.

۱۲. **Milligan, C.L. and Wood, C.M., 1982.** Disturbances in haematology, fluid volume distribution and circulatory function associated with low environmental ph in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. The Journal of Experimental Biology. Vol. 99, pp: 397-415.

۱۳. **Riaz, M.; Rabia, J.; Saman, I.; Rasheeda, A.; Amjada, M. and Iqbala, F., 2018.** Effect of Diafenthiuron exposure under short and long term experimental conditions on hematology, serum biochemical profile and elemental composition of a non-target organism, *Labeo rohita*. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 62, pp: 40-45.

۱۴. **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*). Aquat.Toxicol. Risk Asses. Vol. 14, pp: 343-353.

۱۵. **Pourang, N.; Tanabe, S.; Rezvani, S. and Dennis, H., 2005.** Trace elements accumulation in edible tissues of five sturgeon species from the Caspian Sea. Environmental Monitoring and Assessment. Vol. 100, pp: 89-108.

۱۶. **Sanchez-fortun, S. and Barahona, M.V., 2005.** Comparative study on the environmental risk induced by several pyrethroids inestuarine and fresh water invertebrate organisms, Chemosphere. Vol. 59, pp: 553-559.

۱۷. **Schlenk, D. and Di Giulo, R.T., 2002.** Biochemical responses as indicators of aquatic ecosystem health. In Adams, S.M.(ed). Biological indicators of aquatic ecosystem stress, AFS, Bethesda. Vol. 7, pp: 14-17.

www.SID.ir

Archive of SID

۱۸. **Siwicki, A.K. and Anderson, D.P., 1993.** Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum, Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods Olsztyn, Poland. Vol. 15, pp: 105-112.

۱۹. **Suzuki, Y.; Tasumi, S.; Tsutsui, Sh.; Okamoto, M. and Suetake, H., 2003.** Molecular diversity of skin mucus lectins in fish, Comprative Biochemistry and Physiology Part B. Vol. 136, pp: 723-730.

۲۰. **Svobodova, Z.; Luscova, V.; Drastichova, J.; Svoboda, M. and Zlabek, V., 2003.** The effect of deltamethrin on hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*). Acta vet. Brno. Vol. 72, pp: 79-85.

۲۱. **Van-Der Geest, H.G.; Stuijfzand, S.C.; Kraak, M.H.S. and Admiraal, W., 1997.** Impact of diazinon calamity in1996 on the aquatic macroinvertebrates in the river Mesue, The Netherlands, Netherland Journal of Aquatic Ecology. Vol. 30, pp: 327-330.

۲۲. **Varadarajan, R.; Jose, J.; Hari Sankar, H.S. and Philip, B., 2013.** Haematological and ionic alterations in *Oreochromis mossambicus* (peters) induced by phenolic compounds Aqua. Biol. Fish. Vol. 1, pp: 90-96.

www.SID.ir