Archive of SID

تأثیر غلظتهای تحت حاد علف‌کش بوتاکلر بر برخی پارامترهای خونی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchusmykiss*)

محمود نفیسی بهابادی[1*]، شهرام دادگر[2]، فرحناز لکزایی[2]، ژاله مهاجری برازجانی[3]، راضیه عبدالهی[1]

*nafisi@pgu.ac.ir

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

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۵

چکیده

هدف از انجام این تحقیق ارزیابی اثرات علف‌کش بوتاکلر بر برخی از پارامترهای خونی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بود. ابتدا غلظت LC_{50}علف‌کش بوتاکلردر مدت ۹۶ ساعت تعیین و سپس تعداد ۱۵۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلا با میانگین وزنی۲/۳۳±۲۰/۲۵ گرم در ۵ تیمار، شامل ۴ تیمار آزمایشی(۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد میزان LC_{50}) و یک تیمار شاهد و هر تیمار شامل سه تکرار به مدت ۶ روز، مورد آزمایش قرار گرفتند و تغییر تعدادی از پارامترهای خونی بررسی شد. نتایج نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، میزان هموگلوبین و هماتوکریت و مقادیر حجم متوسط گلبولی، هموگلوبین متوسط گلبولی و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی در تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنادار آماری داشتند($p<0.05$)، بطوریکه با افزایش غلظت سم بوتاکلر تعداد گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت، همچنین فاکتورهای MCH و MCHC سیر نزولی داشتند. تفاوت معنادار ($p<0.05$) بین تیمار شاهد با تیمارهای مورد آزمون در این دو فاکتور نیز مشاهده گردید. از لحاظ MCV نیز، اختلاف معنادار آماری بین تیمار شاهد و سایر تیمارها مشاهده گردید ($p<0.05$). این سم موجب کاهش معنی‌دار در تمامی فاکتورهای مورد بررسی در این آزمایش گردید که تمام فاکتورها با افزایش غلظت سم بوتاکلر روند کاهشی را نشان دادند. همچنین در تمامی فاکتورها به استثنای WBC اختلاف معنی‌دار بین دو غلظت پایینتر (۲۵٪ و ۵۰٪) با دو غلظت بالاتر (۷۵٪ و ۱۰۰٪) از این علف‌کش نیز وجود داشت. بنظر می‌رسد تغییر حاصله در فاکتورهای خونی ماهیان قرار گرفته در معرض سم بوتاکلر باعث کاهش ایمنی غیراختصاصی و بروز تلفات آنها شده است.

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

*نویسنده مسئول

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

امروزه آفت‌کش‌ها عمدتا در کشاورزی و به منظور کنترل آفات گیاهی به کار برده می‌شوند اما استفاده بیش از حد و مداوم آفت‌کش‌ها سلامت بشر را به مخاطره انداخته و اثرات معکوسی بر موجودات غیرهدف دارد و موجب آلودگی منابع آب،خاک و هوا می گردد(بهادر و بهادر،۱۳۸۶، موسوی و رستگار، ۱۳۷۷). کاربرد مواد شیمیایی مصنوعی به عنوان آفت‌کش از سال ۱۹۳۰ میلادی آغاز و در طی دهه ۱۹۴۰ و پس از جنگ جهانی دوم به طور وسیع‌تری گسترش یافت. آمار نشان می دهد که از مجموع حدود ۳۵۰۰۰ تن ماده دفع آفات نباتی توزیع شده درسطح کشور، حدود ۲۵۰۰۰ تن آن در اراضی کشاورزی استان‌های شمال کشور مورد مصرف کشاورزان قرار می‌گیرد (Arjomandi *et al.*, ، Tavakol, 2007 2010، موسوی و رستگار، ۱۳۷۷).

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

مصرف بی رویه و استفاده نادرست از انواع آفت کش ها باعث وارد شدن آسیب به محیط و انواع موجودات زنده اکوسیستم‌ها می‌شود. استفاده علف هرزکش بوتاکلر در مزارع برنج شمال کشور باعث می شود که سموم باقی مانده در محیط توسط هرز آب های کشاورزی و آب های روان به سواحل دریای خزر راه پیدا کنند.

از بین علف‌کش‌ها یکی از پرمصرف‌ترین آن‌ها علف‌کش بوتاکلر می‌باشد که فرمول شیمیایی آن N-(Boutaxymethyl)-2chloro 2-6-diethyl Acetanilide است (Roy, 2002). بوتاکلر جزو علف هرزکش های کلرواستانیلید است که برای کنترل سریع هنگام رویش غیرمنتظره علف های یکساله و علف های هرز پهن برگ در مزارع برنج و جو استفاده می شود. اثر این سم به میزان آبی که در دسترس گیاه است بستگی دارد (نوروزیان، ۱۳۷۸). تاثیر سم بوتاکلر به کرات در ماهیان مختلف مورد بررسی قرار گرفته که از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

تأثیر علف کش بوتاکلر روی برخی از پارامترهای هماتولوژی در ماهی سفید توسط فرخ روزلاشیدانی و همکاران (۱۳۸۹) بررسی و در آن پاسخ عمده هماتولوژیک ماهیان سفید به سم بوتاکلر کاهش معنی‌دار ($P<0.05$) گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و MCHC و افزایش معنی‌دار MCV و MCH گزارش شد. کاهش میزان RBC، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهی کپور معمولی[1] که در معرض سم ارگانوکلره اندوسولفان[2] قرار گرفته بودند نیز توسط Jenkins و همکاران(۲۰۰۳) گزارش شد.

تاثیر سم ارگانوکلره آلاکلر[3] روی شاخص‌های هماتولوژی و بافت‌شناسی کپور معمولی توسطMikula و همکاران(۲۰۰۸) بررسی و مشخص شد که میزان RBC، MCHC، MCH و هموگلوبین آن با افزایش غلظت سم کاهش یافته و میزان PVC و MCV افزایش پیدا می‌کند. استفاده از مدل‌های جانوری در پایش آلودگی‌های زیست‌محیطی و بررسی اثرات بیولوژی سموم بر شاخص‌های سلامت مدل‌های آزمایشی گیاهی و جانوری می تواند به عنوان یکی از متداول‌ترین روش‌ها در مطالعات سم‌شناسی مورد توجه قرار گیرد که در این میان خون یکی از مهمترین پارامترهای مطالعه تاثیرات سموم بوده و نسبت به تغییرات درون‌محیطی بسیار مستعد است و به مانند تابلوی سلامت موجود زنده عمل می کند، پس سنجش فاکتورهای خونی می‌تواند اطلاعات مناسبی را در

[1]. *Cyprinuscarpio*
[2]. Endosulfan
[3]. Alchlor

www.SID.ir

Archive of SID

رابطه با تغییرات ایجاد شده در بدن موجود زنده به پژوهشگر دهد. خون، منعکس‌کننده خصوصیات آسیب‌شناسی بافتی ماهی است و شاخص‌های هماتولوژیک به عنوان پارامترهای بسیار مناسبی برای تشخیص تغییرات فیزیولوژیک بعد از مواجه با عوامل آلاینده قابل استفاده هستند. به عبارت دیگر، شاخص‌های خونی بیانگر وضعیت کلی سلامت ماهی هستند (Adhikari *et al*., 2004؛ Maheswaran *et al*., 2008). در میان فعالیت‌های گوناگون صنعت شیلات در سال‌های اخیر، صنعت پرورش ماهی قزل‌آلا با توجه به شرایط اقلیمی مطلوب و بستر مناسب در مناطق مختلف در رودخانه‌ها، دریاچه‌ها، نهرها و.. گسترش یافته است (شمس الدین وندی و همکاران، ۱۳۸۶). ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مهمترین گونه آزاد ماهیان پرورشی اکثر مزارع پرورش ماهیان سردآبی دنیا و تقریبا صد درصد مزارع پرورش ماهیان سردآبی ایران را بخود اختصاص می‌دهد (نفیسی بهابادی، ۱۳۸۹) که با توجه به ارزش اقتصادی این گونه و افزایش روزافزون مصرف سموم آفت‌کش در کشاورزی و حساسیت متفاوت ماهیان در سنین مختلف به این سموم ضروری است. آزمایش‌های سم‌شناسی برای این ماهیان در سنین مختلف با غلظتهای متفاوت صورت گیرد.

هدف از تحقیق حاضر، تعیین سمیت حاد یا کشنده (LC_{50} 96 h) علف‌کش بوتاکلر روی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان و بررسی پاسخ هماتولوژیک این ماهی با غلظت های تحت حاد بوتاکلر می‌باشد.

مواد و روش ها

این تحقیق در پاییز ۱۳۹۲ ودر شرایط آزمایشگاهی به منظور ارزیابی اثرات سمیت حاد سم بوتاکلر بر فاکتورهای خونی ماهی قزل آلای رنگین کمان در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس بوشهر انجام گرفت. ماده مورد آزمایش سم بوتاکلر با درجه خلوص ۶۰ درصد همراه با حلال به صورت امولسیون به عنوان یک علف کش از فروشگاه سموم کشاورزی خریداری و از این سم همراه با حلال آن برای آزمایش‌های LC_{50} 96h و بررسی فاکتورهای خونی استفاده شد. تعداد ۱۵۰ قطعه بچه ماهی قزل آلا با میانگین وزنی ۲/۳۳±۲۰/۲۵ گرم و میانگین طولی ۲/۹۶±۱۲/۱ سانتی متر از یکی از مراکز تکثیر این گونه در استان فارس خریداری و در کمتر از ۱۲ ساعت در مخزن مجهز به کپسول اکسیژن به محل انجام آزمایش منتقل شدند. ماهیان پس از ورود به آزمایشگاه برای عادت پذیری با شرایط جدید به مدت ۲۴ ساعت به منظور جلوگیری از ورود استرس غذادهی نشدند و پس از آن غذادهی ۲ بار در روز ۶ صبح و ۶ عصر به میزان ٪۱/۵ وزن توده زنده صورت گرفت، جیره غذایی به صورت اکسترود با علامت اختصاری (EX-GT1) از شرکت تعاونی ۲۱ بیضاء خریداری و مورد مصرف قرار گرفت. دوره عادت پذیری ۵ روز بود و ماهیها در این مدت در تانک‌های پرورش نگهداری شدند و آب تانک ها به صورت روزانه و به میزان صد درصد بر اساس یافته‌های (Nafisi and Soltani, 2008) تعویض شد. فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب نیز به صورت روزانه اندازه‌گیری شده بطوریکه شوری آن در دامنه ۲/۷۴-۲/۵۰ گرم در لیتر، اکسیژن محلول ۱±۸ میلی گرم در لیتر، درجه حرارت آب در دامنه ۴±۱۵ درجه سانتیگراد و pH در دامنه ۸/۱۵-۷/۲۵ ثبت شد. پس از مراحل آداپتاسیون، ماهی ها به آکواریوم‌های آماده شده برای انجام آزمایش وارد شدند. در آکواریوم‌های تعیین شده، ۲۴ ساعت قبل از آزمایش تا حجم ۴۸ لیتر آبگیری شده و جهت تامین اکسیژن مورد نیاز ماهیها از یک سیستم مرکزی هوادهی از نوع هواده حلزونی با قدرت ۰/۴ کیلووات، دبی هوای خروجی ۱/۳ متر مکعب در دقیقه و فشار خروجی ۱۱۰ میلی بار استفاده شد (Nafisi and Soltani, 2008). این هواده میزان اکسیژن تانکها را در طول دوره آزمایش در حدود شرایط اشباع نگه داشت.

آزمایش تعیین LC_{50}

در این مرحله از انجام آزمایش اثرات سمیت حادLC_{50} در مدت ۹۶ ساعت سم کشاورزی بوتاکلر رویبچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان تعیین گردید. به منظور تعیین مقادیر غلظت کشنده سم بوتاکلر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت، ۱۵۰ قطعه ماهی در ۵ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار

www.SID.ir

Archive of SID

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

آزمایش بررسی اثرات سمیت حاد

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

نمونه گیری و خون گیری

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

روش های اندازه گیری پارامترهای هماتولوژی

اندازه گیری‌هموگلوبین به روش سیان‌مت هموگلوبین و با استفاده از محلول درابکین صورت گرفت و هماتوکریت با روش لوله های میکرو هماتوکریت توسط سانتریفیوژ HETTICHاندازه‌گیری شد. گلبول قرمز و گلبول سفید به وسیله لام نئوبار شمارش شد. برای محاسبه شاخص‌های گویچه‌ای از فرمول‌های ارائه‌شده توسط(Köprücü *et al.*, 2006) استفاده شد که عبارتند از :

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

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

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

تجزیه و تحلیل آماری

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

نتایج

بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق LC_{50} در مدت ۹۶ ساعت سم بوتاکلر روی بچه ماهیان قزل آلا ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز (MAC Value) این سم نیز ۰/۰۲۵ میلی گرم در لیتر تعیین گردید

www.SID.ir

Archive of SID

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

بررسی میانگین میزان هموگلوبین و هماتوکریت بوضوح نشان داد که شرایط حاد و آلودگی شدید با علف کش بوتاکلر(تیمار ۱۰۰٪ میزان LC_{50}) باعث کاهش میزان هموگلوبین بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان شده و مقدار آن را از ۱۲/۱۶±۰/۴۹ به ۴/۱۳±۰/۰ گرم در دسی لیتر کاهش داده است. همچنین درصد هماتوکریت در آلودگی‌های شدید با علف کش بوتاکلر کاهش یافت و این رقم از۱/۲۰± ۲۴/۱۶ به۱/۴۱± ۱۶/۲۶ درصد رسید. درصد هماتوکریت در سایر تیمارهای آزمون نیزبه صورت معنی‌داری کاهش یافتند ($p<0.05$). بررسی میانگین میزان گلبول‌های سفید بوضوح نشان داد که آلودگی شدید با علف‌کش بوتاکلر باعث کاهش میزان گلبول‌های سفید از۰/۲۱±۲۸/۹۰ در گروه شاهد به۱/۴۱±۱۷/۰۰ هزار در میلی متر مکعب در غلظت بالای بوتاکلر، گردید. میزان هماتوکریت خون نیز با افزایش غلظت علف‌کش بوتا کلر به صورت معنی‌داری کاهش یافت($p<0.05$). علف کش بوتاکلر سبب کاهش معنادار فاکتورهای یاخته قرمز خون شد ($p<0.05$)، بطوری که میزان MCV از ۱/۵۵±۲۵۱/۹۶ در گروه شاهد به ۱/۹۸±۲۳۵/۰۲ فمتولیتر در آلودگی شدید کاهش یافت و میزان MCH از ۰/۶۴±۱۲۶/۹۸ پیکوگرم در گروه شاهد به ۰/۵۳±۵۹/۹۲ پیکوگرم کاهش یافت، همچنین میزان MCHC نیز از۲/۳۴± ۵۰/۳۳ درصد در گروه شاهد به ۲/۱۸ ±۲۵/۴۶ درصد در آلودگی شدید کاهش یافت (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین پارامترهای هماتولوژیک بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تحت تأثیر غلظت‌های حاد (۱۰۰٪ میزان LC_{50}) و تحت حاد سم بوتاکلر (mean±SD)

صفات / غلظت سم بوتاکلر (LC_{50})	RBC	HTC	HB	WBC	MCV	MCH	MCHC
شاهد	۰/۹۶^{a} ±۰/۰	۲۴/۱۶^{a} ±۱/۲۰	۱۲/۱۶^{a} ±۰/۴۹	۲۸/۹۰^{a} ±۰/۲۱	۲۵۱/۹۶^{a} ±۱/۵۵	۱۲۶/۹۸^{a} ±۰/۶۴	۵۰/۳۳^{a} ±۲/۳۴
٪۲۵	۰/۹۶^{ab} ±۰/۰۲	۲۱/۳۳^{b} ±۱/۴۱	۹/۲۳^{b} ±۰/۷۷	۲۶/۷۳^{b} ±۱/۰۵	۲۳۵/۰۲^{b} ±۱/۶۷	۹۹/۲۶^{b} ±۰/۸۰	۴۳/۲۶^{b} ±۲/۲۲
٪۵۰	۰/۷۸^{b} ±۰/۰۳	۱۹/۳۳^{c} ±۱/۴۱	۷/۷۰^{c} ±۰/۲۰	۲۱/۴۰^{c} ±۰/۶۳	۲۲۰/۴۱^{b} ±۱۰/۹۶	۸۷/۷۵^{b} ±۱۱/۷۳	۳۹/۷۵^{b} ±۲/۳۴
٪۷۵	۰/۷۵^{c} ±۰/۰۷	۱۷/۱۶^{d} ±۱/۰۶	۴/۴۳^{d} ±۰/۳۵	۱۹/۱۳^{d} ±۱/۶۹	۲۲۶/۹۲^{b} ±۲/۹۶	۵۸/۶۰^{c} ±۰/۸۸	۲۵/۸۲^{c} ±۲/۵۶
٪۱۰۰	۰/۶۹^{c} ±۰/۰۸	۱۶/۲۶^{d} ±۱/۴۱	۴/۱۳^{d} ±۰/۰	۱۷/۰۰^{e} ±۱/۴۱	۲۳۵/۰۲^{b} ±۱/۹۸	۵۹/۹۲^{c} ±۰/۵۳	۲۵/۴۶^{c} ±۲/۱۸

میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون، از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی دار نیستند.

بحث

در این پژوهش، مسمومیت‌زایی علف‌کش بوتاکلر در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان همراه با تاثیر آن بر رفتار بالینی و نیز برخی فاکتورهای خونی مورد مطالعه قرار گرفت. طی ۶ روز آزمایش مسمومیت زایی با سم بوتاکلر هیچ گونه تلفاتی در گروه شاهد مشاهده نشد. همچنین میزان اکسیژن در هر دو گروه شاهد و آزمون در حد اشباع قرار داشت. شایع ترین علائم رفتاری غیر طبیعی در ماهیان سندرم فلج عصبی بود که ماهیان بلافاصله پس از قرار گرفتن در سم دچار بی‌تابی شدید و با افزایش غلظت سم، دچار شنای نیم دایره و حرکات تشنجی شدند که این موارد در گزارش محققان دیگر نیز ذکر شده است

www.SID.ir

Archive of SID

(سلطانی و خوشباور رستمی، ۱۳۸۱ و Svobodova *et al*., 2003). موارد دیگری از قبیل تجمع ماهیان در اطراف محلهوادهی، شنا در نزدیک سطح آب، ظهور لکه های سیاه روی بدن و سفید شدن سیاهی چشم موارد مشاهده ای دیگری بودند که می‌توان به آنها اشاره کرد.

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

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

مقادیر MCV، MCH و MCHC کاملاً به مقادیر پارامترهای هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول های قرمز خون وابسته می باشد؛ بنابراین تغییرات در پارامترهای ذکر شده سبب تغییر در این سه فاکتور می گردد. در تطابق با نتایج حاصل از مطالعه حاضر، Mekkawy و همکاران در سال ۲۰۱۱ کاهش معنادار میزان MCV، MCH و MCHCرا در گربه ماهی آفریقایی[1] قرار داده شده در معرض نونیل فنول گزارش کردند. همچنین گزارش شده است که درمعرض‌گذاری ماهی کپور معمولی با آفت‌کش ارگانوکلره لیندان موجب کاهش معنادار پارامترهای MCV، MCH و MCHC در مقایسه با تیمار کنترل می‌شود (Saravanan *et al*., 2011). کاهش مقادیر MCV، MCH و MCHC به

[1].*Clariasgariepinus*

www.SID.ir

Archive of SID

دنبال حضور بوتاکلر در مطالعه حاضر می‌تواند نشان‌دهنده کم‌خونی از نوع ماکروسیتی باشد و در واقع بیانگر واکنش دفاعی در مقابل آلاینده یا در نتیجه کاهش گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و مقادیر هماتوکریت به دنبال اثرات سوء بوتاکلر باشد (Vaseem and Banerjee, 2012). از سوی دیگر، کاهش گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت باعث استرس می‌شوند که به نوبه خود موجب کاهش رشد و دیگر پارامترهای مصرف غذا می‌شوند که تمام این عوامل می‌توانند کم‌خونی ناشی از ماده آلاینده را شدیدتر کنند (James and Sampath, 1999).

بررسی سمیت حاد[1] حشره‌کش دیازینون و علف‌کش ماچتی (بوتاکلر) روی بچه ماهی سیاه کولی[2] توسط پاشائی‌چلکاسری و همکاران (۱۳۹۱) انجام گرفت و نتایج نشان داد که میزان سمیت حاد دیازینون و بوتاکلر روی بچه ماهیان ۱ تا ۲ گرمی سیاه کولی به ترتیب برابر ۰/۰۹ و ۰/۶۱ میلی‌گرم در لیتر بود. احتمالا این نوع تغییرات ناشی از اثر مستقیم سم بر بافت خونساز کلیه و طحال می باشد، بنابراین با توجه به نتایج این مطالعه و سایر مطالعات مورد اشاره می توان چنین نتیجه گیری کرد که بوتاکلر به طور عمده موجب تضعیف سیتم ایمنی غیر اختصاصی قزل آلا می شود، که این امر می تواند به دلیل تخریب بافتهای خونساز و از دست رفتن توان دفاعی آن ها به دلایل افزایش غلظت سم و افزایش مدت زمان قرار گرفتن در معرض سم باشد. چنان که Oh و همکاران (۱۹۹۱)بیان کردند که یکی از عوامل تاثیر گذار در مسمومیت آبزیان زمان است. هنگامی که ماهی در معرض غلظت های ثابتی از سم باشد به مرور زمان مقاومت ماهی تحلیل می رود و سم فرصت بیشتری برای تأثیر روی ماهی پیدا می کند. افزایش غلظت هموگلوبین در خون ماهیان به عنوان اولین پاسخ این موجودات به مسمومیت با مواد سمی است و متعاقب این افزایش، کاهش تدریجی هموگلوبین تا رسیدن به غلظت کمتر ازحد طبیعی رخ می دهد.در مطالعه دیگری تاثیر مالاتیون بر گونه *Cyprinion wabosoni* بررسی شد و نتایج نشان دادکه سموم ارگانوفسفره موجب تغییراتی در بدن ماهی می شوند که باعث کاهش فعالیت بافت خونساز اولیه و در نتیجه سبب کم خونی در ماهی می شود (Khattak and Hafeezn, 1996).

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

منابع

بهادر، ع.، بهادر، ف. ۱۳۸۶. میکروبشناسی پزشکی. چاپاول. تهران. ناشرخسروی. ۲۷۲ صفحه.

پاشایی چلکاسری، ح .، فرخ روزلاشیدانی، م.، زمینی، ع.، ابراهیمیان، ی.۱۳۹۱. تعیین غلظت کشنده (LC_{50} 96h) حشره کش دیازینون و، علف کش ماچتی بر روی بچه ماهی سیاه کولی.(*Vimbavimbapersa*)مجله علمی شیلات ایران،سال سوم،شماره۹، صفحات ۶۸-۶۳..

سعیدی‌فر، م.، وهاب‌زاده رودسری، ح.، زمینی، ع.۱۳۹۱. تاثیر آفت‌کش دیازینون بر رفتار و برخی شاخص‌های خونی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله شیلات،سال ششم، شماره اول، صفحات۱۰۶-۹۵.

سلطانی، م.، خوشباوررستمی، ح.۱۳۸۱. مطالعه اثر دیازینون بر برخی شاخص های خونی و بیوشیمیایی تاس ماهی روسی یا چالباش (*Acipenser guldenstadti*). مجله علوم و فنون دریایی ایران، شماره ۱، صفحات ۶۵-۷۵.

شمس الدین وندی، ر.، صالح، ای.، سلامی، ح. ۱۳۸۶. سنجش سودآوری مزارع پرورش ماهی قزل‌آلا در ایلام و بررسی عوامل مؤثر بر آن. مجموعه مقالات ششمین

[1].Acute toxicity

[2].*Vimba vimba persa*

www.SID.ir

Archive of SID

کنفرانس اقتصادی کشاورزی ایران. دانشگاه فردوسی مشهد. دانشکده کشاورزی.

فرخ روز لاشیدانی، م.، قاسمی نژاد، ا.، فلک رو،ک.، فهیم سیده، م.، رحیمی بشر، م.۱۳۸۹. تاثیر علف کش بوتاکلر بر برخی از پارامترهای هماتولوژی در ماهی سفید. مجله علوم زیستی واحد لاهیجان، سال چهارم ،شماره اول، صفحات ۶۵-۵۷.

کردوانی، پ.۱۳۷۴. زئوهیدروبیولوژی. انتشارات دانشگاه تهران. ۷۷ ص.

موسوی، م.، رستگار، م.۱۳۷۷. آفتکش ها در کشاورزی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی. واحد ورامین.۳۰۰ ص.

مهرابی، ی. ۱۳۷۶. مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی پودر میخک بر روی قزل‌آلای رنگین کمان. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۴۱-۴۰، صفحه ۱۶۰-۱۶۲.

نفیسی بهابادی، م.۱۳۸۹. راهنمای عملی پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان. انتشارات دانشگاه هرمزگان. چاپ دوم. ۳۶۵ص.

نوروزیان، م.۱۳۷۸. فهرست سموم مجاز کشور. انتشارات سازمان حفظ نباتات.۲۳۳ ص.

Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C. T., and Ayyappan, S., 2004. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeorohita* (Hamilton). Ecotoxicology and environmental safety, 58(2): 220-226.

AydMn, R. and Köprücü, K., 2005. Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinuscarpio*L.) embryos and larvae. Pesticide Biochemistry and Physiology: 82, 220-225.

Arjmandi, R., Tavakol, M. and Shayeghi, M., 2010. Determination of organophosphorus insecticide residues in the rice paddies. International Journal of Environmental Science Technology, 7(1): 175-182.

Farré, M., Gajda-Schrantz, K., Kantiani, L. and Barceló, D., 2009 . Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 393(1): 81-95.

Hymavathi, V. and Rao, L.M. 2000. Effect of sublethal concentration of lead on the Haematology and Biochemical Constituents of *Channapunctatus*. Bulletin of Pure and Applied Sciences, 19: 1-5.

James, R. and Sampath, K., 1999. Effect of the ion-exchanging agent, Zeolite, on reduction of cadmium toxicity: an experimental study on growth and elemental uptake in Heteropneustesfossilis (Bloch). Journal of Aquaculture in the Tropics, 62: 222-229.

Jenkins, F., Smith, J., Hajanna, B., Shameen, H., Umadevi, K., Sandhyra, V. and Madhavi, R., 2003. Effect of sublethal concentration of endosulfan of hematological and serum biochemical parameters in the Carp (*CyprinusCarpio*) Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 70:993-997.

khattak, I.U.D. and Hafeez, M.A., 1996. Effect of malathionon blood parameters of fish, *Cyprinion watsoni* pak. Journal of Zoology, 28: 45-49.

Köprücü, S.Ş., Köprücü, K., Ural, M.Ş., İspir, Ü. and Pala, M., 2006. Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of

www.SID.ir

Archive of SID

fingerling European catfish (*Silurusglanis L.*). Pesticide biochemistry and physiology, 86(2): 99-105.

Maheswaran, R., Devapaul, A., Muralidharan, S., Velmurugan, B. and Ignacimuthu, S., 2008. Haematological studies of fresh water fish, *Clariasbatrachus* (L.) exposed to mercuric chloride. International Journal of Integrative Biology, 2(1): 49-54.

Mekkawy, I. A., Mahmoud, U.M. and Sayed, A.E.D.H., 2011. Effects of 4-nonylphenol on blood cells of the African catfish *Clariasgariepinus* (Burchell, 1822). Tissue and Cell, 43(4): 223-229.

Mikula, P., Mpdra, H., Nemethora, D. and Groch, L., 2008. LASSOMTX (Alachlor 92/. WlV) on Hematological Inddices. Environmental Contamination and Toxicology, 81: 475-479.

Nafisi, M. and Soltani, M., 2008. Effect of different dietary energy levels and feeding rates on growth and body composition of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*), Iranian Journal ofFisheries Sciences,7(2s): 171-186.

Narain, A.S. and Srivastava, P.N., 1989. Anemia in the Freshwater Teleost, *HeteropneustesFossilis*, under the stress of Environmental pollution. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 43(4): 627-634.

Nicula, M., Dumitrescu, G., Petculescu-Ciochină, L., Bănăţean-Dunea, I., Marcu, A., Tăpălagă, I. and Lunca, M., 2013. Subsequent Study Regarding some Histopathological Tissue Changes Related to EDTA Experimental Exposure in Prussian Carp (*CarassiusGibelio*). Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies, 46(1): 265-272.

Oh, H.S., Lee. S.K., Kim, Y.H. and Roh, J.K., 1991. Mechanism of selective toxicity of diazinon to killfish(*Oryziaslatipes*) and loach (*Misgurnusanguillicaudatus*). Aquatic Toxicology and Risk Assesment, 14: 343-353.

Ololade, I.A. and Oginni, O., 2010. Toxic stress and hematological effects of nickel on African catfish,*Clariasgariepinus*, Fingerlings. Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 22: 14-19.

Roy, N.K. 2002. Chemestery of Pesticides. Indian agriculture. Research. 346 pp.

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

Saravanan, M., Prabhu Kumar, K. and Ramesh, M., 2011. Haematological and biochemical Responses of Freshwater teleost fish *Cyprinuscarpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane. Pesticide Biochemistry and Physiology, 100(3): 206-211.

Shah, S.L. and Altindag, A., 2004. Hematological parameters of tench (*Tincatinca* L.) after acute and chronic exposure to lethal and sublethal mercury

www.SID.ir

Archive of SID

treatments. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 73(5): 911-918.

Svoboda, M., luskova, V., Drastichova, J. and Ilabek, V., 2001. The effect of Diazinon on Hematological *Indices* of Common Carp (*CyprinusCarpio*). ActaVeterinaria Brno, 70: 457-465

Svobodova, Z., luscova, V., Drastichova, J., Svoboda, M. and Zlabek, V., 2003. The Effect of Deltamethrin on Hematological Indices of Common Carp (*CyprinusCarpio*). Actaveterinaria Brno, 72: 70-85.

Tavakol, M., 2007. Environmental impact assessment of diazinon in rice fields (a Case Study on Amol Township Rice Fields), M.Sc. Thesis, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.(In Persian).

Vaseem, H. and Banerjee, T.K., 2012. Toxicity analysis of effluent released during recovery of metals from polymetallic sea nodules using fish haematologicalparameters, In: The Functioning of Ecosystem. Edition: 1st, Chapter: 13, Publisher: INTECH, Rijeka, Croatia, pp. 249-260.

Zutshi, B., Prasad, S.R. and Nagaraja, R., 2010. Alteration in hematology of *Labeorohita* under Stress of pollution from Lakes of Bangalore, Karnataka, India. Environmental Monitoringand Assesment. 168(1-4): 11-19.

www.SID.ir

Archive of SID

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

Mahmoud NafisiBahabadi[*1]; Shahram Dadgar[2]; Farahnaz Lakzaei[2]; Zhaleh Mohajeri[3]; Razieh Abdolahi[1]

[*]nafisi@pgu.ir

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

Received: September 2015 Accepted: April 2016

Keywords: Rainbow trout, *Oncorhynchusmykiss*, Butachlor, Blood factors

Abstract

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

[*]Corresponding author

www.SID.ir