مطالعه اثرات شوینده آنیونی (شامپو) بر پارامترهای خونی بچه تاس‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) پرورشی

فاطمه آرین فر[1*]
سورنا ابدالی[2]
مهناز سادات صادقی[3]
علی حلاجیان[4]

۱. دانشجو کارشناس ارشد، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
۲. دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
۳. دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
۴. کارشناس ارشد، موسسه تحقیقات بین المللی تاس ماهیان دریایی، رشت، ایران

*** نویسنده مسئول مکاتبات**
ja_ff87@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۵/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۹/۲۰
کد مقاله: ۱۳۹۲۰۴۱۰۶۹
این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

چکیده

شوینده‌ها یکی از آلاینده‌های مهم بوده که از طریق فاضلاب‌های صنعتی و خانگی وارد منابع زیستی آبزیان شده و زیست آبزیان را به مخاطره می‌اندازد این تحقیق نیز به بررسی اثرات دترجنت آنیونی (شامپو) بر فاکتورهای خونی ۱۲۰ عدد تاسماهی شیپ پرورشی یک ساله با میانگین وزنی ۵/۲ ± ۳۱/۶ گرم، طی مجاورت کوتاه‌مدت در غلظت‌های ۰، ۵ ، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر در ۱۲ عدد آکواریوم ۱۰۰ لیتری پرداخته است. اجرای این تحقیق در بهار ۱۳۹۱ در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انجام پذیرفت. جهت تعیین درصد لکوسیت‌ها، RBC، WBC، هماتوکریت و هموگلوبین از سیاه‌رگ دمی ماهیان به کمک سرنگ ۲ سی‌سی در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸ ، ۷۲ و ۹۶ ساعت خون‌گیری صورت گرفت. نتایج پارامترهای خونی نشان داد که گلبول‌های قرمز خون، درصد هماتوکریت، هموگلوبین، نوتروفیل، ائوزینوفیل و مونوسیت با افزایش غلظت و زمان مجاورت با شوینده از ۲۴ ساعت تا ۹۶ ساعت نسبت به شاهد افزایش یافته ولی گلبول سفید و لنفوسیت نسبت به شاهد کاهش یافته و تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($P < ۰/۰۵$). بنابراین ماهیان پس از مواجه با آلاینده‌ها به علت کاهش اکسیژن محلول آب باعث فعالیت بیشتر ماهی و درنتیجه موجب کمبود اکسیژن در ماهی شده و با افزایش غلظت شوینده و مدت زمان ماندگاری ماهی در محیط با افزایش کلبول قرمز و با کاهش ایمنی ماهی همراه می‌باشد، بنابراین فاکتورهای خونی ماهیان برای مقابله با آلاینده‌های وارد شده به محیط زیست‌شان دست‌خوش تغییراتی می‌شوند.

واژگان کلیدی: تاسماهی شیپ، شوینده آنیونی (شامپو)، پارامترهای خونی، *Acipenser nudiventris*.

مقدمه

خون اولین و حساس‌ترین بافت در بدن نسبت به تغییرات ایجاد شده در موجود زنده است و در تحقیقات ماهی‌شناسی کاربرد وسیعی دارد. تحقیقات نشان می‌دهد که کیفیت و کمیت فاکتورهای خونی می‌تواند شاخص خوبی برای تشخیص و تعیین سلامت و یا بیماری‌های ماهیان باشد، استفاده از پارامترهای خون‌شناسی قادر است اطلاعات گسترده‌ای در مورد واکنش‌های فیزیولوژیک ماهی در مقابل با تغییرات محیط خارجی، نظیر بروز استرس و انواع بیماری‌ها در اختیار محققین قرار دهد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۲).

سیستم‌های آبی پیوسته مواجه با مشکلات ناشی از آلاینده‌ها هستند که از منابع مختلف از جمله فاضلاب‌های شهری و صنعتی که اکثراً بدون هیچ تصفیه‌ای به آب‌ها رها می‌شوند و موجودات آبزی به‌طور مداوم در معرض خطرات ناشی از این آلودگی‌های محیط زیستشان قرار دارند. یکی از این مواد آلوده کننده، شوینده آنیونی مانند شامپو است که به میزان زیاد مورد استفاده قرار می‌گیرد. شامپوها از پاک‌کننده‌های

سنتزی هستند و ماده اصلی تشکیل دهنده آن شامل عامل پاک‌کننده مثل سدیم لوریل اتر سولفات و تری اتانول آمین سولفات، عامل تقویت کننده کف مثل بتائین، عامل حالت دهنده مو و عامل نگهدارنده مواد ضدعفونی کننده و میکروب‌کش، عامل صدفی کننده مثل اتیلن گلیکول و عامل غلیظ کننده مثل نمک طعام و عامل رنگ و بو مثل عصاره گیاهان می‌باشد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۲). این شوینده‌ها یکی از آلاینده‌های مهم بوده که توسط فاضلاب‌ها به آب‌های ساحلی و همچنین به طور مستقیم و یا غیر مستقیم وارد اکوسیستم‌های آبی می‌شوند. مواد شوینده در غلظت‌های زیاد موجب تغییرات فاکتورهای خونی و بافتی در موجودات آبزی به خصوص ماهیان می‌شود (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۲).

ماهیان خاویاری در بین تمامی ماهیان به‌عنوان فسیل زنده از قدیمی‌ترین گروه‌های رده ماهیان استخوانی- غضروفی هستند که در آب‌های معتدله نیمکره شمالی در اورپا، آسیا و آمریکای شمالی پراکنده شده اند و دریای خزر منبع اصلی این ماهیان بوده و کشورهای ایران و روسیه بزرگ‌ترین تولیدکنندگان خاویار جهان به‌شمار می‌آیند. به خاطر ازدیاد تقاضا و افزایش مصرف خاویار که نوعی غذای پرکالری و سرشار از ویتامین است و همچنین گوشت لذیذ این ماهیان روز به روز تاسیسات صید تاس‌ماهیان و تولید خاویار آن‌ها توسعه یافته است. اما نسل این ماهیان در دنیا به خاطر کثرت صید، دیر به بلوغ جنسی رسیدن (مدت زمان رسیدگی جنسی برحسب گونه و جنسیت ماهی متفاوت بوده به‌طوری که ماده تاس‌ماهی شیپ ۱۲ سال و نر آن ۹ سال طول می‌کشد تا برای اولین بار به بلوغ جنسی برسند (حلاجیان و همکاران، ۱۳۸۶)

از تحقیقات صورت گرفته در ارتباط با اثرات شوینده‌ها بر روی ماهیان می‌توان به شاهسونی و همکاران (۱۳۸۲) در ماهی حوض (*Carassius auratus*)، گلچین‌راد و همکاران (۱۳۸۷) در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، Adewoye (۲۰۱۰) و Ogundiran و همکاران (۲۰۱۰) در گربه ماهی جوان آفریقایی (*Clarias agariepinus*)، Srivastava و Srivastava (۲۰۱۱) درگربه ماهی آب‌شیرین (*Hetropneustes fossilis*) اشاره نمود.

با توجه به تحقیقات صورت گرفته اثرات زیان‌بار شوینده‌ها توسط محققین بر روی گونه‌ها مختلف ماهیان ولی تاکنون تحقیقی از اثر شوینده‌ها بر روی ماهیان خاویاری صورت نگرفته است و با توجه به اهمیت ماهیان خاویاری به‌عنوان یک ماهی ارزآور برای کشور، لذا این تحقیق با هدف بررسی اثرات شوینده آنیونی (شامپو) بر برخی از پارامترهای هماتولوژی و سرلوژی خون در بچه تاسماهی شیپ پرورشی در شرایط آزمایشگاهی پرداخته است تا از نتایج این تحقیق بتوان به اثرات زیانبار آن پی برد. همچنین نتایج این تحقیق می‌تواند راهگشایی برای پرورش‌دهندگان شیلاتی بخش‌های دولتی و خصوصی باشد.

مواد و روش‌ها

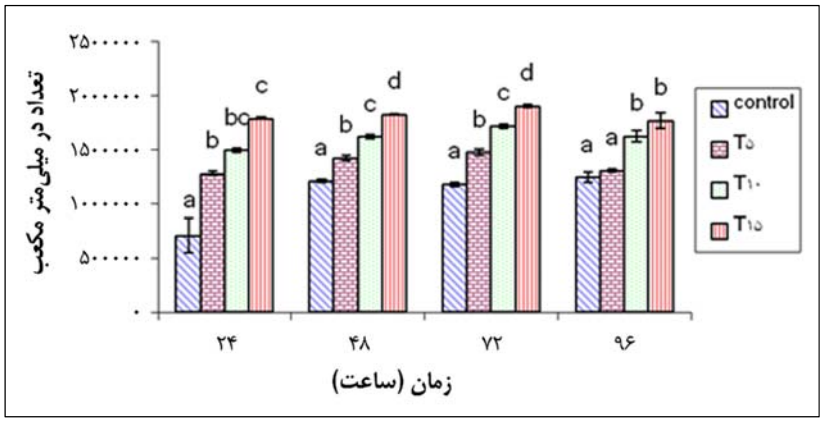
اجرای این تحقیق در بهار ۱۳۹۱ به مدت ۳۰ روز عملی و آزمایشگاهی در بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انجام پذیرفت. تعداد ۱۲۰ عدد بچه ماهی شیپ پرورشی یک‌ساله با میانگین وزنی ۵/۲±۳۱/۶ گرم و طول کل ۳/۵±۲۱/۵ سانتی‌متر، جهت انجام آزمون به آکواریوم‌های ۱۰۰ لیتری موجود در آن بخش انتقال یافتند. به منظور سازگار کردن بچه ماهیان با شرایط آزمایشگاهی قبل از شروع آزمون به مدت ۴۸ ساعت در آکواریوم‌های با دمای آب ۱/۰۱±۲۰/۱۲ سانتی‌گراد، pH ۰/۳±۷/۱ و اکسیژن محلول ۰/۳±۷/۱ میلی‌گرم بر لیتر تحت هیچ‌گونه استرسی نگهداری شدند. آزمایشات در ۱۲ آکواریوم با حجم مفید ۹۰ لیتر آب در ۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار به ترتیب شامل تیمارهای شاهد، ۵، ۱۰ و ۱۵ ppm از دترجنت آنیونی شامپو انجام گرفت . تعداد ۱۰ عدد بچه ماهی وارد هر آکواریوم گردید و آکواریوم‌ها مرتباً هوادهی می‌شدند (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۲). در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از قرار گرفتن ماهی‌ها در معرض دترجنت آنیونی، از هر آکواریوم ۳ عدد ماهی به صورت تصادفی توسط ساچوک صید، ابتدا بدن آن‌ها با پارچه تنظیف خشک گردید، سپس خون‌گیری از سیاه‌رگ دمی با سرنگ ۲ سی‌سی انجام شد. ابتدا یک قطره از خون را روی لام جهت شمارش افتراقی ریخته با متانول فیکس پس از خشک شدن با گیمسار ۱۰ درصد رنگ‌آمیزی و به کمک میکروسکوپ نوری درصد سلول‌های سفید خون سنجیده شد. خون موجود در سرنگ به داخل تیوپ آغشته به هپارین منتقل گردید. جهت مخلوط شدن بهتر هپارین با

خون، تیوپ به آرامی تکان داده می‌شد. از خون موجود هر تیوپ علاوه بر این‌که یاخته‌های قرمز (RBC) و سفید (WBC) توسط لام هموسیتومتر و لامل، پیپت ملانژور و محلول رنگی رقیق کننده شمارش گردید. هماتوکریت (PCV) به کمک لوله موئینه و سانتریفوژ میکروهماتوکریت به مدت ۵ دقیقه در ۷۰۰۰ دور در دقیقه، هموگلوبین (Hb) به کمک اسپکترو فتومتر (مدل UV/VIS – ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) با طول موج ۵۴۰ نانومتر، و شاخص‌های یاخته قرمز (MCH، MCHC، MCV) مورد بررسی قرار گرفت (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن و از نرم افزارهای SPSS ویرایش ۱۶ و Excel 2007 استفاده شد.

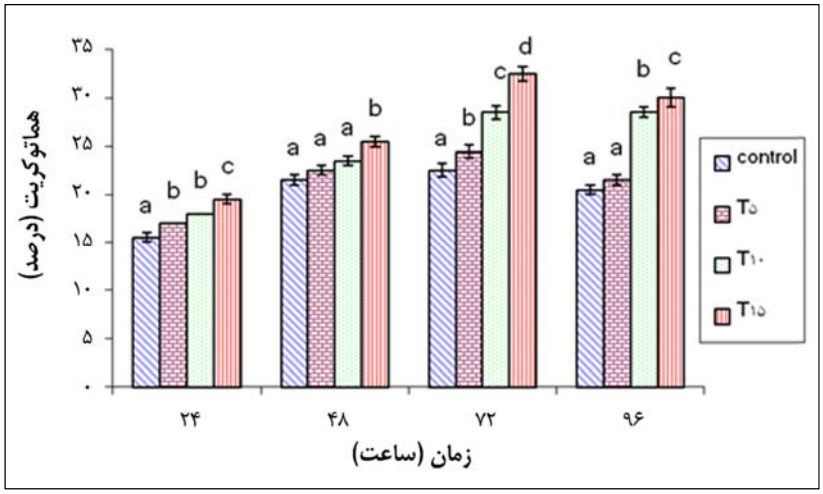
نتایج

بر اساس جدول ۱ و شکل ۱ تعداد اریتروسیت‌های خون ماهی شیپ تیمارهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به تیمار شاهد تا زمان ۹۶ ساعت بیشتر بود. در ۲۴ ساعت تیمار ۱۵ با تیمارهای شاهد و ۵ و همچنین تیمارهای ۵ و ۱۰ با شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵) در صورتی‌که تیمار ۱۰ با تیمارهای ۵ و ۱۵ اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P> ۰/۰۵).



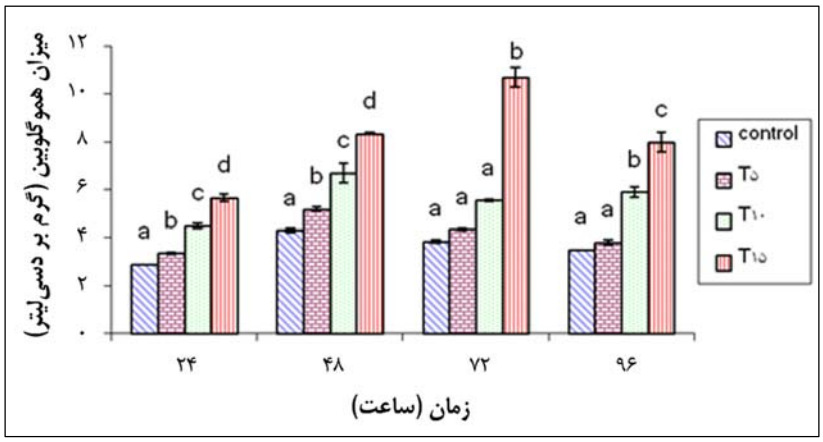
شکل ۱: تعداد گلبول‌های قرمز خون بچه تاس‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه در بهار ۱۳۹۱.

طبق جدول ۱ و شکل ۲ میزان درصد هماتوکریت خون در زمان‌های متفاوت دارای نوسان کمی بود به‌طوری‌که تمامی تیمارها در زمان ۷۲ ساعت با هم اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد و در سایر زمان‌ها این اختلاف بین تیمارها کم و یا فاقد اختلاف معنی‌داری بودند.



شکل ۲: میانگین درصد هماتوکریت خون بچه تاس‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه در بهار ۱۳۹۱.

بر اساس جدول ۱ و شکل ۳ میزان هموگلوبین تیمار ۱۵ نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. در ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت تمامی تیمارها با همدیگر و با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (P<۰/۰۵). در ۷۲ ساعت شاهد با تیمارهای ۵ و ۱۰ اختلاف معنی‌داری نداشته (۰/۰۵ <P) ولی با تیمار ۱۵ اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). در ۹۶ ساعت تیمارهای شاهد و ۵ با تیمارهای ۱۰ و ۱۵ اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵) ولی تیمار شاهد با تیمار ۵ اختلاف معنی‌داری نشان نداد (۰/۰۵ <P)، درصورتی‌که در تیمار ۱۰ با تیمار ۱۵ اختلاف وجود داشت.



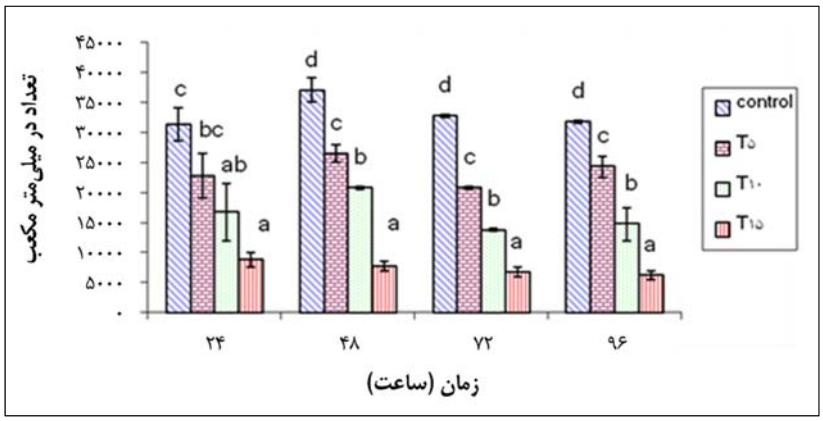
شکل۳: میانگین میزان هموگلوبین خون بچه تاس‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه در بهار ۱۳۹۱.

طبق جدول ۱ میانگین حجم متوسط سلولی (MCV) در زمان‌ها و تیمارهای مختلف دارای نوسان کمی بود به طوری‌که تیمار ۱۵ در زمان‌های ۲۴ و ۹۶ ساعت با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵) و در سایر زمان‌ها این اختلاف بین تیمارها کم و یا فاقد اختلاف معنی‌داری بودند.

میانگین تغییرات غلظت هموگلوبین ذره‌ای (MCHC) در زمان‌ها و تیمارهای مختلف مطابق جدول ۱ دارای نوسان بود به طوری‌که تمامی تیمارها با شاهد در تمامی زمان‌های مورد آزمون دارای اختلاف معنی‌داری بوده است. در زمان ۴۸ ساعت کلیه تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری داشته ولی در زمان ۹۶ ساعت بین تیمارها اختلافی مشاهده نگردید.

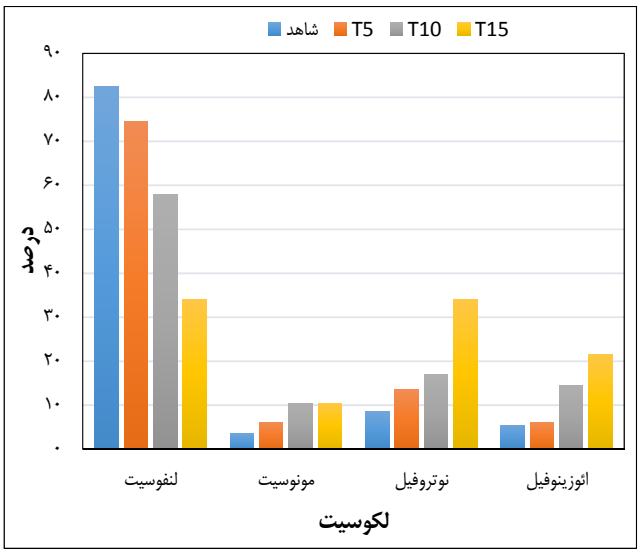
میانگین هموگلوبین ذره‌ای (MCH) در تیمارهای مختلف دارای نوسان بود (جدول ۱) به طوری‌که تمامی تیمارها با شاهد در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت دارای اختلاف معنی‌داری بوده است (P<۰/۰۵). همچنین تیمارهای ۱۰ و ۱۵ در تمامی زمان‌های مورد آزمون با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. شاهد و تیمار ۵ در زمان‌های ۲۴ و ۹۶ ساعت اختلافی با همدیگر نداشتند (P>۰/۰۵).

همچنین بر اساس جدول ۲ و شکل ۴ تعداد گلبول‌های سفید خون ماهی شیپ تیمارهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به تیمار شاهد تا زمان ۹۶ ساعت کمتر بود. در ۲۴ ساعت تیمار ۱۵ با تیمارهای شاهد و ۵ و همچنین تیمار ۱۰ با شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵)، در صورتی‌که تیمار ۱۰ با تیمارهای ۵ و ۱۵ و همچنین تیمار ۵ با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (P> ۰/۰۵).

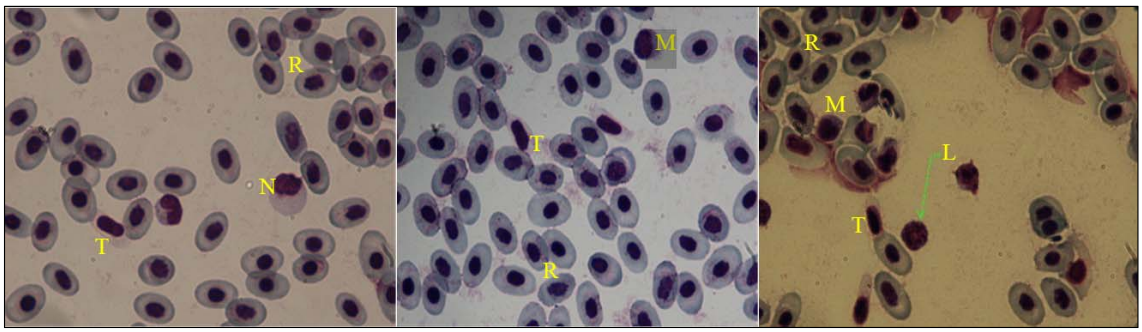


شکل ٤: تغییرات تعداد گلبول‌های سفید خون بچه تاس‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه در بهار ۱۳۹۱.

در شمارش افتراقی خون تاس‌ماهی شیپ پرورشی مطابق جدول ۲ و شکل ۵ شاهد، بیش‌ترین مقدار مربوط به لنفوسیت‌ها وکم‌ترین درصد مربوط به مونوسیت‌ها بوده است، و بیش‌ترین درصد نوتروفیل در غلظت ppm ۱۵ مشاهده گردید. شکل۶ نمایی از لکوسیت‌های خون را نشان می‌دهد.



شکل۵: مقایسه درصد لکوسیت‌های خون تاس‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) پرورشی قرار گرفتن در ماده شوینده شامپو پس از ۹٦ ساعت.



شکل ٦: نمایی از گلبول‌های قرمز (R) و لنفوسیت (L)، مونوسیت (M)، نوتروفیل (N) و ترمبوسیت (T) در خون تاس‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) پرورشی.

جدول ۱: متوسط سلول‌های قرمز خون بچه تاس‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) پرورشی در تیمارها و زمان‌های مختلف.

تیمار / فاکتورهای خونی	شاهد	غلظت ۵ ppm					غلظت ۱۰ ppm					غلظت ۱۵ ppm			
		۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
اریتروسیت (میلی متر مکعب)	۱۰۸۶۲۵۰±۸۳۰۸۵.۰۵	۱۲۸۰۰۰۰±۲۸۲۸۴.۲۷	۳۵۳۵۵.۳۴ ۱۳۲۵۰۰۰±	۱۴۷۵۰۰±۳۵۳۵۵.۳۴	۱۳۰۵۰۰±۲۱۲۱۳.۲	۱۴۹۵۰۰±۲۱۲۱۳.۲	۱۶۲۰۰۰±۲۸۲۸۴.۲۷	۱۷۲۰۰۰۰±۲۸۲۸۴.۲۷	۱۶۲۵۰۰۰±۷۷۷۸۱.۷۵	۱۷۹۰۰۰۰±۱۴۱۴۲.۱۴	۱۸۲۵۰۰۰±۱۰۷۱.۰۶	± ۲۱۲۱۳.۲ ۱۹۰۵۰۰۰	۱۷۷۰۰۰۰±۹۸۹۹۴.۹۵
هماتوکریت (درصد)	۲۰±۰.۷۰	۱۷	۲۲.۵±۷۰	۲۴.۵±۷۰	۲۱.۵±۷۰	۱۸	۲۳.۵±۷۰	۲۸.۵±۷۰	۲۸.۵±۷۰	۱۹.۵±۷۰	۲۵.۵±۷۰	۲۷±۴.۱۴	۳۰±۱.۴۱
هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)	۳.۶۳ ±۰.۲۱	۳.۳۵±۰.۷۰	۵.۲±۰.۱۴	۴.۳۵ ±۰.۷۰	۳.۸ ±۰.۱۴	۴.۵±۰.۱۴	۶.۷ ±۰.۵۶	۵.۵۵ ±۰.۷۰	۵.۹ ±۰.۲۸۲	۵.۶۵ ±۰.۲۱	۸.۳۵ ±۰.۷۰	۱۰.۷ ±۳.۳۹	۸ ±۰.۵۶
MCV (فمتولیتر)	۱۸.۵۶±۰.۲۹	۱۹.۷±۰.۲۸	۲۴.۰۵±۱.۶۲	۱۸.۶±۰.۱۴	۱۷.۷±۰.۸۴	۲۵.۱۵±۰.۹۱	۲۹..۰۲±۲.۶۸	۱۹.۹	۱۹.۸۵±۷	۲۹/۷۵±۰/۹۱	۳۳/۳±۰/۱۴	۹۰/۳±۱۱/۰۳	۲۶/۰۵±۱/۳۳
MCHC (درصد)	۳۹..۰۳±۰.۴۰	۲۶/۷±۰/۲۸	۳۱/۶۵±۰/۲۱	۲۹/۷±۱/۴۷	۲۹/۱۵±۱/۰۶	۲۵/۳±۰/۲۸	۱۳±۹/۸۹	۲۸/۵±۰/۱۴	۳۲/۵±۰/۷	۲۲/۵±۰/۵۶	۲۸/۵±۲/۱۲	۲۶/۵±۰/۵۶	۳۰/۸±۰/۵۶
MCH (گرم بر دسی لیتر)	۴/۲۵±۱/۷۶	۳/۵±۱/۵	۶	۱۰/۵±۰/۵	۶	۱۱/۵±۲/۱۲	۱۳±۲/۱۲	۱۴/۵±۰/۷۰	۱۴/۵±۳/۵۳	۱۸/۵±۲/۵	۲۸/۵±۱/۵	۲۸/۵±۱/۵	۲۱/۵±۱/۵

جدول ۲: متوسط سلول‌های سفیدخون بچه تاس‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) پرورشی در تیمارها و زمان‌های مختلف.

تیمار / فاکتورهای خونی	شاهد	غلظت ۵ ppm					غلظت ۱۰ ppm					غلظت ۱۵ ppm			
		۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
لکوسیت (میلی متر مکعب)	±۱۸۵۶.۱۵ ۳۳۱۸۷	۵۳۰۳.۳۱ ۲۲۷۵۰±	۲۶۵۰۰±۲۱۲۱.۳۲	۲۰۷۵۰±۳۵۳.۵۵	۲۴۲۵۰±۲۴۷۴.۸۷	۱۶۷۵۰±۶۷۱۷.۵۱	۲۰۷۵۰±۳۵۳.۵۵	۱۳۷۵۰±۳۵۳.۵۵	۱۴۷۵۰±۳۸۸۹..۰۸	۸۷۵۰±۱۷۶۷.۷۶	۷۷۵۰±۱۰۶۰.۶۶	۶۷۵۰±۱۰۶۰.۶۶	۶۲۵۰±۱۰۶۰.۶۶
لنفوسیت (درصد)	۸۴/۷۵ ± ۲/۱۱	۸۴/۵±۰/۷۰	۱۲/۵±۰/۷۰	۷۵/۵±۲/۷۹	۷۴/۵±۰/۷۰	۶۹/۵±۰/۷۰	۵۴/۵±۱۶/۲۶	۵۸±۲/۸۲	۵۸±۰/۶۵	۶۲±۳/۵۳	۳۴	۳۰±۲/۸۲	۳۴±۵/۶۵
مونوسیت (درصد)	۱/۵ ±۳/۳۵	۱±۱/۴۱	۷	۶	۶±۲/۸۲	۵/۵±۳/۵۳	۶/۵±۳/۵۳	۹/۵±۰/۷۰	۱۰/۵±۰/۷۰	۵/۵±۴/۹	۸/۵±۰/۷۰	۱۲/۵±۰/۷۰	۱۰/۵±۲/۱۱
نوتروفیل(درصد)	۶/۶۲ ±۰/۸۷	۱۱/۵±۴/۹۴	۷/۵±۰/۷۰	۸±۲/۸۲	۱۳/۵±۳/۵۳	۱۳/۵±۲/۱۲	۲۶±۹/۸۹	۱۸±۱/۴۱	۱۷±۲/۸۲	۱۳/۵±۴/۹۴	۲۹±۲/۸۲	۳۰±۴/۲۴	۳۴±۱/۴۱
ائوزینوفیل(درصد)	۴/۲۵ ±۲/۱۱	۳/۵±۲/۱۲	۶	۱۰/۵±۰/۷۰	۶	۱۱/۵±۲/۱۲	۱۳/۵±۳/۵۳	۱۴/۵±۰/۷۰	۱۴/۵±۳/۵۳	۱۸/۵±۳/۵۳	۲۸/۵±۱۲	۲۸/۵±۹/۲۸	۲۱/۵±۲/۱۲

بحث و نتیجه‌گیری

محیط زیست ماهیان و شرایط حاکم بر آن نظیر درجه حرارت، مواد غذایی، آلودگی و صید بر مقادیر متابولیت‌ها و سلول‌های خونی تاثیر می‌گذارد و عوامل خونی به‌عنوان بهترین فاکتور جهت بررسی وضعیت تعادل موجود زنده با محیط پیرامون خود است که برای دستیابی به وضعیت خونی ماهیان در شرایط خاص زندگی، به تصویر کشیدن تنوع سلول‌های خونی (گلبول‌های سفید و قرمز) به تناسب گونه، سن، فصول سال و تغییر شاخص‌های خونی به هنگام بیماری امری ضروری بوده به همین دلیل سنجش پارامترهای خون شاخص مهمی جهت ارزیابی وضعیت سلامت و فیزیولوژیکی اندام‌های ماهیان و تجزیه و تحلیل نشانه‌های خونی راهنمای با ارزشی در ارزیابی وضعیت زیستی آبزیان می‌باشد (بهمنی و کاظمی، ۱۳۸۲).

اریتروسیت‌ها نقش مهمی در انتقال اکسیژن ایفا می‌کند و از آن‌جایی که میزان اکسیژن آب رابطه عکس با تعداد اریتروسیت‌ها دارد، ماده دترجنت آنیونی باعث پایین آمدن اکسیژن محلول آب شده و شرایطی مانند هیپوکسی (کاهش اکسیژن) باعث افزایش قابل توجهی از اریتروسیت‌ها می‌گردد. افزایش تعداد یاخته‌های قرمز خون و هموگلوبین بیانگر تقاضای بالای نیاز اکسیژن برای دست‌یابی به اکسیژن بیشتر جهت سوخت و ساز بالاتر می‌باشد (Forster *et al*.,1992). بنابراین ماهیانی که در شرایط اکسیژن پایین زندگی می‌کنند ممکن است هموگلوبین بیش‌تری در گلبول قرمز و تعداد گلبول قرمز بیش‌تری برای حمل اکسیژن در خون شان داشته باشند (Reebs, 2009).

شاهسونی و همکاران (۱۳۸۲) با بررسی تاثیر ماده شوینده آنیونی (شامپو) بر پارامترهای خونی ماهی حوض، افزایش معنی‌دار در تعداد کل گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین گزارش نمودند. Casillas و Smith (۱۹۷۴) همچنین Gabriel و همکاران (۲۰۰۷)، در تحقیقات خود اثرات استرس بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را مطالعه کرده و گزارش نمودند که استرس به هر دلیلی سبب افزایش هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز می‌شود. Bansal و همکاران (۱۹۹۷) در بررسی هماتولوژی که بر روی ماهیان استخوانی آب شیرین انجام دادند، دریافتند که دسته‌ای از مواد شیمیایی سبب افزایش برخی از پارامترهای خونی از جمله اریتروسیت‌ها و هماتوکریت و هموگلوبین در ماهیان می‌گردد.

افزایش هماتوکریت و میزان هموگلوبین ماهیان مختلف، علل مختلف داشته و از پاسخ‌های ابتدایی ماهیان است و در واقع به آن‌ها این امکان را می‌دهد که از اکسیژن موجود در محیط حداکثر استفاده را داشته باشند (Swift, 1982). افزایش هماتوکریت در لای ماهی (*Tinca tinca*) تنها به دلیل تورم گلبول‌های قرمز می‌باشد اما در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به علت آزاد شدن گلبول قرمز از طحال و هم به علت تورم گلبول‌های قرمز رخ می‌دهد (Swift, 1982). افزایش هماتوکریت اگر با افزایش هموگلوبین همراه نباشد و تنها با افزایش MCV همراه باشد، ناشی از تورم گلبول قرمز است (بهرامی‌نژاد جونقانی، ۱۳۸۸). افزایش همزمان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز در ماهیان مقاوم به کمبود اکسیژن مانند کپور دریایی (*Diplodus annularis*) و سوف صخره‌ای (*Scorpaean porcus*) نشان دهنده‌ی آزاد شدن گلبول قرمز از اندام‌های ذخیره می‌باشد (Silikin and silikina, 2004). در تحقیق حاضر نیز همسو با تحقیقات صورت گرفته توسط محققین از جمله Forster و همکاران (۱۹۹۲)، شاهسونی و همکاران (۱۳۸۲)، Bansal و همکاران (۱۹۹۷)، با افزایش غلظت شوینده از یک طرف ماهیان به‌علت نیاز اکسیژنی و از طرف دیگر کاهش اکسیژن محلول به‌علت جذب اکسیژن توسط شوینده‌ها، تیمارها نسبت به گروه شاهد علاوه بر این که میزان گلبول قرمز خون ماهیان (شکل ۱) افزایش یافته است، با افزایش هموگلوبین، هماتوکریت، MCV و MCH نیز همراه بوده است.

Niimi (۱۹۹۷) اظهار نموده است که مواد سمی و آلودگی محیطی باعث کاهش گلبول‌های سفید خون ماهی کپور شده است.

نتایج

این مطالعه با سایر پژوهش‌های مشابه افزایش غلظت شوینده، باعث کاهش شدید تعداد گلبول‌های سفید خون ماهیان در تیمارها نسبت به گروه شاهد گردیده است. دلیل احتمالی کاهش تعداد گلبول سفید در برابر سموم و آلاینده‌ها به‌خاطر اثرات مضر آن‌ها بر قابلیت دوام غشای سلول‌ها می‌باشد (Singh *et al*., 2001).

گرانول‌های نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها حاوی مواد آنزیمی از جمله لیزوزوم‌ها و مواد آنزیمی مانند پروتئین‌های کاتیونی می‌باشند و افزایش در تعداد آن‌ها یک واکنش دفاعی غیر اختصاصی در ماهیان است (Stoskopf, 1993).

شریف پور و همکاران (۱۳۸۲) با مطالعه‌ای اعلام نمودند که یکی از عوامل تاثیرگذار در مسمومیت آبزیان عامل زمان است. به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می‌رود و هم آلاینده فرصت بیش‌تری برای تاثیرگذاری روی ماهی دارد که این نتیجه در مطالعه حاضر به اثبات رسیده است و در ماهی شیپ توانایی بیشتر نوتروفیل‌های بیگانه‌خوار در تمام غلظت‌های ماده‌ی دترجنت آنیونی بررسی شده و در نتیجه توان مقابله با آلاینده را دارد.

تعداد زیادی از محققین لنفوپنی (کاهش لنفوسیت‌ها) و گرانولوسیتوز (افزایش نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها) را از عوارض قرار گرفتن در معرض بسیاری از مواد آلاینده دانستند (Wlasow, 1985; Svobodova *et al*., 2003; Schwalger *et al*., 1993). منوسیت‌ها عمل ماکروفاژی ایفا می‌کنند و به عنوان سلول‌های خنثی کننده آنتی ژن عمل می‌کنند (تاکاشیما و هی‌بی‌یا، ۱۳۷۸). مطالعات زیادی که توسط محققان مختلف صورت گرفته نشان داد که افزایش تعداد کل نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل نشان‌دهنده شرایط نامناسب زیست‌محیطی می‌باشد (شاملو و همکاران، ۱۳۸۵؛ خوشباور رستمی و سلطانی، ۱۳۸۴؛ Svoboda *et al*., 2001; Ghosh and Banerjee, 1993). شاهسونی و همکاران (۱۳۸۲) با بررسی تاثیر ماده شوینده آنیونی (شامپو) بر پارامترهای خونی ماهی حوض در غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ ppm گزارش نمودند که تعداد لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و منوسیت‌های گروه ۲ و تعداد نوتروفیل‌های گروه ۳ و تعداد منوسیت‌های گروه ۱ آزمایش در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. سطح لکوسیت‌های خون ماهیان در تیمارهای مورد آزمون با افزایش غلظت و زمان مجاورت با شوینده از ۲۴ساعت تا ۹۶ ساعت نسبت به تیمارهای با غلظت پایین و شاهد افزایش یافت و تنها درصد لنفوسیت‌ها با افزایش غلظت در طول آزمایش، کاهش یافت است. تحقیق حاضر مشابه با گزارشات صورت گرفته توسط سایر محققین (شاهسونی و همکاران (۱۳۸۲)، خوشباور رستمی و سلطانی (۱۳۸۴)، شاملو و همکاران (۱۳۸۵)، Siwick *et al*., 1990; Gosh and Banerjee, 1993; Walsow, 1985; Murad and Houston *et al*, 1998; kicenuk *et al*., 2002; Svobodova *et al*., 2003) با افزایش غلظت شوینده در تیمارها نسبت به شاهد با افزایش لکوسیت‌های خونی همراه بوده و در بین لکوسیت‌ها با کاهش لنفوسیت‌ها و افزایش گرانولوسیت‌ها (نوتروفیل و ائوزینوفیل) در ماهیانی که در معرض سمیت حاد شوینده قرار گرفته بودند همراه بوده است.

بنابراین ماهیانی که در معرض دترجنت‌های آنیونی قرار می‌گیرند به‌علت جذب اکسیژن توسط این دترجنت‌ها و به دنبال آن کاهش اکسیژن محلول آب باعث ایجاد استرس و کمبود اکسیژن در ماهی شده که این عوامل در فاکتورهای خونی ماهیان برای مقابله با آلاینده‌های وارد شده به محیط زیست‌شان دست‌خوش تغییراتی می‌شوند. به‌طوری‌که با افزایش دوز شوینده و مدت زمان ماندگاری در محیط آلاینده با افزایش RBC در ماهی همراه می‌باشد.

منابع

آذری تاکامی، ق.، ۱۳۸۸. ماهیان خاویاری ؛ موسسه انتشارات دانشگاه تهران ؛ ۴۰۱ ص.

بهرامی نژاد جونقانی، ز.، ۱۳۸۸. مطالعه تغییرات خونی هنگام مقابله با کمبود اکسیژن در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، پایان نامه کارشناسی ارشد ، گروه بیولوژی دریا دانشگاه گیلان ، ۷۲ ص.

بهمنی، م. و کاظمی، ر.، ۱۳۸۲. مطالعه برخی عوامل بیوشیمیایی و خونی در تاس‌ماهیان پرورشی قره برون *Acipenser percicus* و فیل‌ماهی *Huso huso*. مجله علمی شیلات. ویژه‌نامه اولین سمپوزیم ملی ماهیان خاویاری. صفحات ۳۶-۲۹.

بهمنی، م.، ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر بر محورهای HPG ، HPI، سیستم ایمنی و فرآیند تولید مثل در تاس‌ماهی ایرانی *Acipenser persicus* . رساله دکتری تخصصی (ph.D.). دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد علوم و تحقیقات. ۲۷۴ ص.

تاکاشیما، اف.، و هی بی یا، تی.، ترجمه پوستی، ا. و صدیق مروستی، ع.، ۱۳۷۸. اطلس بافت شناسی ماهی : اشکال طبیعی و آسیب شناسی. انتشارات دانشگاه تهران.۳۲۸ ص.

حلاجیان، ع.، کاظمی، ر.، محسنی، م.، بهمنی، م. و یوسفی، ا.، ۱۳۸٦. تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی در تاسماهی شیپ پرورشی (*Acipenser nudiventris*) با استفاده از روش تکه برداری از گناد، مجله علمی شیلات ایران. سال شانزدهم. شماره ۳. ص.۷۲-۶۵

خوشباور رستمی، ح. و سلطانی، م.، ۱۳۸٤. بررسی تاثیر سمیت حاد دیازینون بر روی شاخص های خونی ماهی شیپ *Acipenser nudiventris* و تعیین میزان hLC_{50} ۹۶، مجله علمی شیلات ایران، سال چهارم، شماره۳، ص۵۹-۴۹.

شاملوفر، م.، کمالی، ا.، پیری، م.، یغمایی، ف. و مختومی، ن.، ۱۳۸۵. تعیین میزان hLC_{50} ۹۶ سم دیازینون و غلظت تحت کشنده آن بر عوامل خونی بچه فیل ماهی *Huso huso* . مجله علمی شیلات ایران، سال پانزدهم، شماره۴، ص۷۸-۶۹.

شاهسونی، د. و موثقی، ا. ر.، ۱۳۸۲. بررسی آسیب شناسی کبدی کلیوی ناشی از ماده شوینده آنیونی در ماهی قرمز ، مجله پژوهش وسازندگی شماره ۵۹.

شاهسونی، د.، مهری، م. و نظری، ک.، ۱۳۸۲. بررسی تاثیر ماده شوینده آنیونی (شامپو) بر پارامتراهی خونی ماهی حوض (*Carassius auratus*). فصلنامه پژوهش و سازندگی، شماره ۶۱

شریف‌پور، غ.، سلطانی، م. و جوادی، م.، ۱۳۸۲. تعیین LC50 و ضایعات بافتی ناشی از سم آندوسولفان در بچه فیل‌ماهی Huso huso. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۴۰، سال دوازدهم، صفحات ۸۴-۶۹.

کاظمی، ر. الف.، پوردهقانی، م.، یوسفی جوردهی، الف.، یارمحمدی، م. و نصری تجن،م.، ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. ۱۹۴ صفحه.

گلچین‌راد، ع.، عسکری حصنی، م.، ناصرعلوی، م.، ق. و عتباتی، آ.، ۱۳۸۷. تاثیر مواد شوینده آنیونی بر گلیکوژن کبد و گلوکز خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران. ۱۷(۳):۱۶۱-۱۶۴

Adewoye, S. O., 2010. A comparative study on the behavioral responses of *Clarias gariepinus* on exposure to soap and detergent effluents.

Bansal, S. K. and Dalela, R. C., 1997. Physiology disfunction of the haemopoietic system in a fresh water teleost.Bull.Enviro. Contam .Toxicol.Vol 22 .No 3.pp:18-20

Casillas, E., Smith, L. S., 1974. Effects of stress on blood coagulation and haematology in rianbow trout exposed to hypoxia,J.Fish Biol.Vol 6.No 5.pp:379-380

Forster, M. E., Davison, W., Axelsson, M. and Farrel, A. P., 1992. Cardiovascular response to hypoxia in the hagfish, *Eptatretus cirrhatus*. Respiration physiology, 3: 373-386.

Gabriel, U. U., Ezeri, G. N. O. and Opabunmi, O. O., 2007. Influens of sex, sorce, health status and acclimation on the haematology of Clarias gariepinus .African Joural of Biotechnology.3:463-467.

Ghosh, K. and Banerjee, V., 1993. Alteration in blood parameters in the fish Heteropneustes fossilis exposed to dimethoate. Environmental Ecology, 11(4):979-981.

Kiceniuk, J. W., Penrose, W. R. and Squires, W. R., 2002. Oil spill dispersants cause bradycardia in a marine fish, *Mar Poll Bull*, vol. 9(2).

Murad, A. and Houston, A. H., 1988. Leucocytes and leucopoietic capacity in goldfish Carassius auratus, exposed to sublethal levels of cadmium. Aquatic Toxicology, 13(2):141-154.

Niimi, A. J., 1997. Biological and toxicological effects of environmental contaminations in fish.Canadian Jounal of fisheries and aquatic Science. Vol 40. PP: 306-312

Ogundiran, M. A., Fawole O. O., Adewoye, S. O. and Ayandiran, T.A., 2010. Toxicological impact of detergent effluent on juvenile of African Catfish *(Clarias gariepinus)*

Reebs, S. G., 2009. Oxygen and fish behavior, Universite de Moncton, Canada, www.howfishbehave.ca.

Schwalger, J., Hoffmann, R. and Negele, R. D., 1993. Haematology in evaluation of experimental Hydrobiology Vodnany, Cech Republic, Litomys, 1:155-160.

Silkin, Y. A. and Silkina, E. N., 2004. Effect of hypoxia on physiological-biochemical blood parameters in some marine fish. Journal of Evolutionary Biochemistry and physiology, 10: 527-532.

Singh, N. N. and Srivastava, A. K., 1994. Formothion induced hematological changes in the freshwater Indian catfish Heteropenenustes fossilis. Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring, 4(1):137-140.

Siwicki, A. K., Cossarini-Dunier, M., Studnicka, M. and Demael, A., 1990. In vivo effect of the organophosphorus insecticide trichlorphon on immune response of carp Cyprinus carpio. Effect of high doses of trichlorphon on nonspecific immune response. Ecotoxiclogy and Environmental Safety 19(1):99-105.

Srivastava, G. and Srivastava, A. K., 2011. Toxicological effects of selenium on the haematological parameters of freshwater catfish, Heteropneustes fossilis.

Stoskopf, M. K., 1987. Basic Physiology In: Workshop on Marine Tropical fish (Stoskopf, M.K. and Citino, S. eds) Aquatic Diagnostic press, Baltimore, Maryland, Pp: 13-19.

Stoskopf, M. K., 1993. Fish Medicine. By W.B. Saunders Co. 128-131. 232-238. 327-331. 450-452. 498-504. 543. 614-617. 685-687. 754-758.

Svoboda, M., Luscova, V., Drastichova, J. and Habek, V., 2001. The effect of diazinon on haematological indices of common carp Cyprinus carpio.Acta veterinaria Brno, 70(1):457-465.

Svobodova, Z., Luscova, V., Drastichova, J., Svoboda, M. and Zlabek, V., 2003. Effect of deltamethrin on haematological indices of common carp Cyprinus carpio.Acta veterinaria Brno, 72(1): 79-85.

Swift, D. J., 1982. Changes in selected blood component concentrations of rainbow trout, Salma gairdneri, following the blocking of the cortisol stress response with betamethasone and subsequent exposure to phenol or hypoxia. Journal of Fish Biology, 21:269-277.

Watson, T. J. and Jackson, L. L., 1983. The heamatology of gold fish (Carassius auratus). Cytologia. 28:118-130.

Wilson, J. A., 1982. Principles of anlmal physiology, 2nd edn. Collier Macm~llan Canada, Ltd, p. 173-174

Wlasow, T., 1985. The leukocyte system in rainbow trout. Salmo gairdneri Rich, affected by prolonged subacute phenol intoxication. Acta Ichthyologyca, 15(1):83-94