

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

امیررضا عابد علم دوست\*<sup>۱</sup>، علیرضا میرواقفی<sup>۲</sup>، پوریا غلامزاده<sup>۳</sup>

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

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

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

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

### چکیده

در مطالعه حاضر اثر سم موتازن بوتاکلر با غلظت های حاد مختلف (۰، ۰/۴، ۵/۰ و ۱ میلی-گرم بر لیتر) با نامگذاری به ترتیب A، B، C و D با طول مواجهه متفاوت (۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بر روی برخی از شاخص های خونی قزل آلالی رنگین کمان سنجیده شد. برای این منظور ۱۸۰ قطعه ماهی قزل آلالی رنگین کمان در چهار تیمار با غلظت های یاد شده همراه با سه تکرار در مواجهه با سم بوتاکلر قرار گرفتند و پس از خونگیری فاکتورهای WBC، RBC، هموگلوبین، هماتوکریت، در صد لنفوسیت، مونوسیت، بازوفیل، ائوزینوفیل، MCHC، MCH، PCV، پروتئین کل و آنزیم های آمینو ترانسفراز شامل ALP، AST و ALT مورد اندازه گیری قرار گرفتند. بر اساس آنالیز آماری تجزیه واریانس دوطرفه، هم متغیر غلظت و هم متغیر زمان به همراه اثر این دو متغیر موجب بروز تفاوت معنی دار ( $P > 0.05$ ) تنها در گروه های C و D شدند و هیچ تفاوت معنی داری بین گروه شاهد (A) و گروه B در هیچ یک از سه بازه زمانی دیده نشد. به صورت کلی با حرکت از تیمار CV۲ به D۹۶ میزان آنزیم های آمینو ترانسفراز و پروتئین کل افزایش و سایر فاکتورهای خونی کاهش یافتند که نشان دهنده تخریب کبدی، کلیوی و کاهش ایمنی غیر اختصاصی در اثر مواجهه با سم بوتاکلر در قزل-آلالی رنگین کمان می باشد.

واژگان کلیدی: شاخص های خونی، سم بوتاکلر، قزل آلالی رنگین کمان.

## ۱. مقدمه

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

آفت‌کش‌ها در غلظت‌های بالا موجب کاهش رشد، تولیدمثل و بقای ماهیان شده و تأثیرهای جبران‌ناپذیری را بر جمعیت‌های آبی دارد (Hussain et al., 2013). آفت‌کش‌ها تحت عنوان آلاینده اصلی آبها در سراسر جهان شناخته می‌شوند که موجب اختلال در محیط زیست آبیان می‌شود (Naveed et al., 2011). علف‌کشها معمولاً قبل و بعد از برداشت محصولات کشاورزی برای حذف علف‌های پهن برگ مورد استفاده قرار می‌گیرند. علف‌کش‌ها ساخت رنگدانه‌های مفید متعددی را در سلول‌های گیاهی، با اختلال در فرایندهای متعددی همچون فتوسنتز، میتوز، تقسیم سلولی، تشکیل برگ، رشد ریشه و عملکرد آنزیم‌ها، دچار اختلال می‌کنند (Unger, 1996). بو تاکلر (۲-کلرو ۲، ۶-دی متیل -N- بوتوکسی متیل استانیلید) یکی از اعضای مهم خانواده علف‌کش‌های کلرو استانیلید است که به‌صورت گسترده و متداول در کشاورزی مدرن در آسیا در کشورهای مانند هند، پاکستان و ایران (اصولاً در شالیزارهای برنج در شمال کشور) مورد استفاده قرار می‌گیرند (Ateeq et al., 2006; Bibi et al., 2014).

(LC<sub>50</sub> میزان (2014; Ahmadivand et al., 2015). میزان (۹۶ ساعت) برای سم بوتاکلر در ماهیان بین ۰/۱۴ تا ۰/۵۲ میلی گرم بر لیتر گزارش شده است (Tomlin, 1994). تأثیرات مخرب زیادی از این ترکیب در ماهیان گزارش شده است (Lasheidani et al., 2008). نشان داده شده است که بوتاکلر موجب تخریب ترشح هورمون‌های درون ریز و ممانعت از تکامل و ایمنی در جنین گورخر ماهی (Danio rario) شده است (Tu et al., 2013). همچنین اثر غلظت‌های متفاوت بوتاکلر بر بدشکلی‌های سلول‌های خونی در ماهی روهو (Labio rohita) مورد مطالعه و به اثبات رسیده است (Ghaffar et al., 2015). علاوه بر این تأثیرات سرطان‌زایی و جهش‌زایی بوتاکلر در ارگان‌های متعدد و مطالعات متفاوت به اثبات رسیده است و اکنون این ترکیب در لیست علف‌کش‌های موتاژن و کارسینوژن قرار گرفته است (Shirasu et al., 1977). به‌صورت کلی میزان LC<sub>50</sub> بوتاکلر در ماهیان سردابی بیشتر از ماهیان گرمابی است. شاید دلیل این امر متابولیسم پایین‌تر ماهیان سردابی نسبت به ماهیان گرمابی به دلیل سردتر بودن محیط است اما از سویی دیگر بوتاکلر موجود در آب‌های با درجه حرارت پایین‌تر دیرتر تجزیه شده و موجودات پر سلولی مدت زمان طولانی‌تری در معرض آن قرار می‌گیرند. تا کنون مطالعه‌ای در رابطه با اثر غلظت‌های حاد این ترکیب در ماهی‌های سردابی بر شاخص‌های خونی خصوصاً آنزیم‌های آمینوترانسفراز صورت نگرفته است. در مطالعه حاضر اثر غلظت‌های حاد ترکیب بوتاکلر در بازه‌های زمانی متفاوت بر شاخص‌های تعداد گلبول قرمز و سفید، در صد انواع گلبول‌های سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، پروتئین کل، MCH، MCHC، PV و آنزیم‌های آمینوترانسفراز (ALT و ALP، AST) به‌عنوان شاخصی متاخر و متأثر از عمل موتاژنی این ماده مورد مطالعه قرار گرفته است.

## ۲. مواد و روش‌ها

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

سم و طول مواجهه و همچنین جهت مقایسه میانگین گروهها (میانگین  $\pm$  خطای معیار) با یکدیگر از آزمون Tukey در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد.

### ۳. نتایج

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

### ۴. بحث و نتیجه گیری

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

دانشگاه تهران نگهداری شدند و سپس ماهیان در ۱۲ مخزن ۳۰۰ لیتری که تا ۲۵۰ لیتر آبگیری شده بودند تقسیم شدند (در هر مخزن ۱۵ قطعه ماهی). از آنجایی که LC<sub>50</sub> ۹۶ ساعت برای سم بوتاکلر در ماهی قزل آلابی ۰/۵۲ میلی گرم بر لیتر گزارش شده است (Tomlin, 1994)، در مطالعه حاضر سه غلظت ۰/۴، ۰/۵ و ۱/۰۰ میلی گرم بر لیتر با سه تکرار (سه مخزن به ازای هر غلظت) در نظر گرفته شد. این گروهها به ترتیب با نامهای B، C و D نامگذاری شدند. گروهی نیز با غلظت صفر به عنوان گروه شاهد با سه تکرار در نظر گرفته شد که تحت عنوان گروه A نامگذاری شد. زمانهای نمونه برداری از تمامی مخازن عبارت بود از ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از اضافه نمودن سم با غلظتهای مذکور. درجه حرارت آب در زمان سازگاری و تیماردهی ۸ الی ۱۱ درجه سانتی گراد بود و در تمام مخازن هوادهی صورت می گرفت. ۴ روز قبل از اضافه شدن سم به تیمارها، غذاهای قطع شد و در طول مدت زمانی که ماهیان در معرض سم بودند غذاهای صورت نگرفت. همچنین در طول دوره مواجهه با سم، تعویض آب انجام نشد. ماهیان در زمانهای نمونه برداری به صورت تصادفی از هر مخزن صید شدند و پس از بیهوش کردن ماهیان با استفاده از پودر گل میخک به منظور خونگیری، ساقه دمی ماهیان قطع شد و خون در تیوبهای حاوی EDTA K2 ریخته و به منظور اندازه گیری شاخصهای تعداد گلبول قرمز و سفید، در صد انواع گلبولهای سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، پروتئین کل، PV، MCH، MCHC و آنزیمهای آمینو ترانسفراز (ALP، AST و ALT) به آزمایشگاه منتقل شدند.

### ۲.۰۱. تجزیه و تحلیل آماری

شیوه نمونه برداری از ماهیها به صورت تصادفی و تجزیه و تحلیل آماری دادههای حاصل از پایان دوره آزمایش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی بود. تجزیه و تحلیل دادهها با استفاده از نرم افزار SPSS (IBM SPSS Statistics v23) و آزمون تجزیه واریانس دو طرفه (Two way ANOVA) به منظور بررسی اثر غلظت سم، طول زمان مواجهه و اثر مشترک غلظت

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

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

جدول ۲- ادامه جدول

D	C	B	A	شاخص / ساعت
				(IU/D)AST
۱۴۷/۱۲ ± ۲/۳ <sup>c</sup>	۸۶/۹۱ ± ۲/۲۳ <sup>b</sup>	۶۱/۲ ± ۳/۳ <sup>a</sup>	۵۱/۲۳ ± ۲/۹۱ <sup>a</sup>	۴۸
۱۸۰/۱۲ ± ۳/۱ <sup>d</sup>	۹۰/۱ ± ۴/۲۳ <sup>b</sup>	۶۰/۲۱ ± ۱/۳۱ <sup>a</sup>	۵۴/۵۱ ± ۳/۱۸ <sup>a</sup>	۷۲
۲۲۹ ± ۲/۱۴ <sup>d</sup>	۱۳۵ ± ۳/۸۱ <sup>c</sup>	۵۹/۲۵ ± ۱/۸۱ <sup>a</sup>	۵۴/۲۱ ± ۲/۳۱ <sup>a</sup>	۹۶
				(IU/D)ALP
۲۳/۳۲ ± ۴/۱ <sup>b</sup>	۸/۸۹ ± ۲/۸۱ <sup>a</sup>	۸/۲۵ ± ۲/۲۵ <sup>a</sup>	۶/۰۱ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۴۸
۳۰/۲۸ ± ۳/۳ <sup>c</sup>	۹/۲۱ ± ۳/۱ <sup>a</sup>	۸/۸۶ ± ۲/۹۲ <sup>a</sup>	۷/۹۱ ± ۲/۱۲ <sup>a</sup>	۷۲
۴۱/۱۲ ± ۲/۱۲ <sup>d</sup>	۲/۲۸ ± ۲/۸ <sup>b</sup>	۷/۳۲ ± ۱/۹۶ <sup>a</sup>	۸/۲۵ ± ۱/۸۹ <sup>a</sup>	۹۶
				(g/dl) TP
۳/۸۵ ± ۰/۳۶ <sup>b</sup>	۲/۱۴ ± ۱/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۳۱ ± ۱/۳ <sup>a</sup>	۱/۹۵ ± ۱/۰۱ <sup>a</sup>	۴۸
۳/۸۲ ± ۰/۵۲ <sup>b</sup>	۲/۰۱ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۱/۸۹ ± ۱/۰۱ <sup>a</sup>	۲/۲۱ ± ۰/۲۸ <sup>a</sup>	۷۲
۴/۰۶ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۱/۸۵ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۲/۲۵ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۲/۵ ± ۰/۸۱ <sup>a</sup>	۹۶

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

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

افزایش می یابد. این افزایش در مورد ALP و ALT در ۹۶ ساعت بعد از مواجهه در گروه C اتفاق می افتد. در نهایت مطالعه حاضر کم خونی و تخریب کبدی را در مواجهه حاد با سم بوتاکلر تایید می کند اما یافته های حاصل از این تحقیق در غلظت های بسیار بالاتر از آنچه در گذشته به چاپ رسیده است اتفاق افتاده است. در مجموع سم بوتاکلر برای پستانداران کم ضرر معرفی شده است و ماهیان سردابی در مقام مقایسه با ماهیان گرمابی به نسبت به این سم مقاومتر هستند که شاید دلیل این امر متابولیسم پایین تر این ماهیان در دماهای پایین است.

## References

- Ahmad, L., Khan, A., Khan, M.Z., 2012. Pyrethroid-induced reproductive toxico-pathology in non-target species. *Pakistan Veterinary Journal*, 32, 1-9.
- Ahmadivand, S., Farahmand, H., Mirvaghefi, A., Eagderi, S., Zargar, A., 2015. Effects of (Anti) Androgenic Endocrine Disruptors (DEHP and Butachlor) on Immunoglobulin M (IgM) and Leukocytes Counts of Male Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 94, 695-700.
- Ali, A., Khan, J.A., Khaliq, T., Javed, I., Muhammad, F., Aslam, B., Khan, M.Z., 2014. Hematobiochemical disruptions by lambda-cyhalothrin in rats. *Pakistan Veterinary Journal*, 34, 54-57.
- Ateeq, B., Farah, M.A., Ahmad, W., 2006. Evidence of apoptotic effects of 2, 4-D and butachlor on walking catfish, *Clarias batrachus*, by transmission electron microscopy and DNA degradation studies. *Life Sciences*, 78, 977-986.
- Bibi, N., Zuberi, A., Naeem, M., Ullah, I., Sarwar, H., Atika, B., 2014. Evaluation of acute toxicity of karate and its sub-lethal effects on protein and acetylcholinesterase activity in *Cyprinus carpio*. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 16, 731-737.
- Chang, J., Liu, S., Zhou, S., Wang, M., Zhu, G., 2013. Effects of butachlor on reproduction and hormone levels in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Experimental and Toxicologic Pathology* 65, 205-209.
- Farombi, E.O., Ajimoko, Y.R., Adelowo, O.A., 2008. Effect of Butachlor on antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in fresh water African Catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 5, 423-427.
- Ghaffar, A., Hussain, R., Khan, A., Abbas, R.Z., Asad, M., 2015. Butachlor induced clinico-hematological and cellular changes in fresh water fish *Labeo rohita* (Rohu). *Pakistan Veterinary Journal*, 35, 201-206.
- Hussain, R., Khan, A., Mahmood, F., 2013. Pathological and some serum biochemical effects induced by malathion in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Journal of Animal and Plant Sciences*, 23, 1501-1506.
- Hussain, R., Khan, A., Mahmood, F., Rehan, S., Ali, F., 2014. Clinico-hematological and tissue changes induced by butachlor in male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 109, 58-63.
- Hussain, R., Mahmood, F., Khan, A., Javed, M.T., Rehan, S., Mehdi, T., 2012. Cellular and biochemical effects induced by atrazine on blood of male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103, 38-42.
- Isa, H.W.M., Johari, W.L.W., Syahir, A., Shukor, M.A., Azwady, A.N., Shaharuddin, N., Muskhazli, M., 2014. Development of a bacterial-based tetrazolium dye (MTT) assay for monitoring of heavy metals. *International Journal of Agriculture and Biology*, 16, 1123-8.
- Khattak, I.-U.-D., Hafeez, M., 1996. Effect of malathion on blood parameters of the fish, *Cyprinion watsoni*. *Pakistan Journal of Zoology*, 28, 45-49.
- Lasheidani, M., Balouchi, S., Keyvan, A., Jamily, S., Falakrou, K., 2008. Effects of Butachlor on Density, Volume and Number of Abnormal Sperms in Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*, Kamenskii 1901). *Research Journal of Environmental Sciences* 2, 474-482.
- Maheswaran, R., Devapaul, A., Muralidharan, S., Velmurugan, B., Ignacimuthu, S., 2008. Haematological studies of freshwater fish, *Clarias batrachus* (L.) exposed to mercuric chloride. *International Journal of Integrative Biology* 2, 49-54.

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

در بین گلبول های سفید گزارش شده لنفوسیت ها حساسیت بیشتری به سم در غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر نسبت به ائوزینوفیل ها و مونوسیت ها از خود نشان دادند. تا کنون مطالعه ای در رابطه با اثر سم بوتاکلر بر آنزیم های شاخص تخریب کبدی در ماهیان سردابی گزارش نشده است. در مطالعه حاضر افزایش این آنزیم ها در خون در گروه C مشاهده می شود که در آن AST نسبت به ALP و ALT حساس تر بوده و ظرف ۴۸ ساعت به صورت معنی داری

- NafisiBahabadi, M., Dadgar, S., Lakzaei, F., Mohajeri, Z., Abdolahi, R., 2016. The effect of subacute concentrations of Butachlor herbicide on some blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *ISFJ*, 25, 151-160.
- Narain, A.S., Srivastava, P.N., 1989. Anemia in the freshwater teleost, *Heteropneustes fossilis*, under the stress of environmental pollution. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 43, 627-634.
- Naveed, A., Janaiah, C., Adilabad, A., 2011. Effect of triazophos on protein metabolism in the fish *Channa punctatus* (Bloch). *Current Research Journal of Biological Sciences*, 3, 124-128.
- Nussey, G., Van Vuren, J., Du Preez, H., 1995. Effect of copper on the differential white blood cell counts of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 111, 381-388.
- Saravanan, M., Kumar, K.P., Ramesh, M., 2011. Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 100, 206-211.
- Shirasu, Y., Moriya, M., Kato, K., Lienard, F., Tezuka, H., Teramoto, S., Kada, T., Year. Mutagenicity screening on pesticides and modification products: a basis of carcinogenicity evaluation. In: (Eds.), *Proceeding of Cold Spring Harbor Conferences on Cell Proliferation*, pp. 267-286.
- Svobodova, Z., Luskova, V., Drastichova, J., Svoboda, M., Žlábek, V., 2003. Effect of deltamethrin on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno*, 72, 79-85.
- Tomlin, C., 1994. *The Pesticide Manual Incorporating the Agrochemical Handbook*. British Crop Protection, Surrey, England.
- Tu, W., Niu, L., Liu, W., Xu, C., 2013. Embryonic exposure to butachlor in zebrafish (*Danio rerio*): endocrine disruption, developmental toxicity and immunotoxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 89, 189-195.
- Unger, T.A., 1996. *Pesticide synthesis handbook*. William Andrew.
- Zutshi, B., Prasad, S.G.R., Nagaraja, R., 2010. Alteration in hematology of *Labeo rohita* under stress of pollution from Lakes of Bangalore, Karnataka, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 168, 11-19.

