



## اثر غلظت‌های تحت‌کشنده سم سایپرمترین (Cypermethrin) بر برخی از پارامترهای هماتولوژی سیاه‌ماهی (*Capoeta damascina*, Valenciennes, 1842)

فهیمه صفوی، هادی پورباقر\*، آرش جوانشیر خویی، سهیل ایگدري، سعید شهبازی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج صندوق پستی ۴۳۱۴

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	در این تحقیق، تاثیر قرار گرفتن در معرض غلظت‌های تحت‌حاد سایپرمترین بر برخی پارامترهای خون‌شناسی سیاه‌ماهی ( <i>Capoeta damascina</i> ) مورد مطالعه قرار گرفت. برای انجام پژوهش از ماهیانی با میانگین وزنی $10 \pm 150$ گرم و میانگین طولی $1 \pm 21$ سانتی‌متر (میانگین $\pm$ انحراف معیار) استفاده شد. ماهیان به مدت ۱۰ روز در معرض سم سایپرمترین با غلظت‌های ( $0.175$ ، $0.15$ ، $0.125 \mu\text{g L}^{-1}$ ) و یک گروه کنترل (هرکدام با سه تکرار) قرار گرفتند، سپس با نمونه‌برداری در روزهای اول، پنجم و دهم آزمایش هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (Hct)، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، حجم متوسط گلبول‌های قرمز خون (MCV) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) خون اندازه‌گیری شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پارامترهای RBC، Hct، MCV و Hb در گروه‌های در معرض سایپرمترین نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار و پارامترهای WBC و MCHC افزایش معنی‌داری از خود نسبت به شاهد نشان دادند. بنابراین می‌توان در یک نتیجه‌گیری کلی بیان نمود که این آلاینده زیست‌محیطی دارای اثرات منفی شدیدی بر پارامترهای خونی سیاه‌ماهی شده و با اختلال این پارامترها احتمال آسیب‌های زیستی دیگری نیز وجود دارد.
تاریخچه مقاله: دریافت: ۹۴/۰۳/۲۶ اصلاح: ۹۴/۰۶/۰۲ پذیرش: ۹۴/۰۷/۱۰	
کلمات کلیدی: حشره کش خون‌شناسی سایپرمترین سیاه‌ماهی	

### مقدمه

اکوسیستم‌های آبی به عنوان بزرگ‌ترین بخش محیط طبیعی همواره با تهدیدهایی نظیر محدودیت ژنتیکی و تنوع زیستی مواجه می‌باشند (Van-Der Geest *et al.*, 1997). آفت‌کش‌ها امروزه از اصلی‌ترین عوامل ایجاد مسمومیت در ماهیان هستند که از بین هزاران ماده شیمیایی رهاسازی شده، حتی در غلظت‌های بسیار کم موجب مرگ و میر زیاد می‌شوند (Sanchez-Fortun and Barahona, 2005).

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [poorbagher@ut.ac.ir](mailto:poorbagher@ut.ac.ir)

سموم پایروترویید، نسل جدیدی از حشره‌کش‌ها را به وجود آورده‌اند که به طور گسترده‌ای به جای حشره‌کش‌های ارگانوکلره، ارگانوفسفره و کاربامات‌ها استفاده می‌شود (Aydin et al., 2005). سایپرمتترین یک آفت‌کش غیرسیستمیک می‌باشد که شامل ایزومر فعال پایروترویید سنتز شده است و برای کنترل آفات، حشرات و انگل‌های خارجی و اخیراً نیز در شیمی درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. حلالیت سایپرمتترین در آب بسیار کم است ( $5-10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) و به شدت بر روی مواد آلی و انواع مختلف سطوح جذب می‌شود (Stephenson, 1982). این ترکیب هم‌چنین برای کنترل انگل‌های خارجی (*Lepeophthirus salmonis*, *Caligus elongatus*) در قفس‌های پرورشی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (Richards, 1983; Roth et al., 1993; Hart et al., 1997; Boxaspen and Holm, 2001). ورود سایپرمتترین به آب‌های سطحی و قرار گرفتن ماهیان در معرض آن حتی در دوزهای پایین، نه تنها موجب بروز اختلالات عصبی در ماهیان می‌گردد، بلکه سبب تاثیر دراز مدت بر جمعیت ماهیان از طریق اختلال در عملکرد تولید مثلی می‌شود (Moore and Waring, 2001). بروز ناهنجاری‌هایی در بافت‌های عضلانی و کبد ماهی و کاهش پروتئین کل آن‌ها (Tantarpale, 2011) تغییر پارامترهای خونی و عملکرد آنزیم‌های بیوشیمیایی نظیر آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز و لاکتات، کاهش رشد و تاثیر بر عملکرد شنا (Haya, 1989) و هم‌چنین سبب بروز استرس (Velisek et al., 2006; Das and Mukherjee, 2003) نیز می‌شود.

بررسی شاخص‌های خونی در بسیاری از زمینه‌های تحقیقاتی آبی‌پروری و پرورش ماهی و در عرصه سم‌شناسی و پایش زیستی برای تعیین خطرات اکوتوکسیکولوژیکی آفت‌کش‌ها و به عنوان شاخص مناسب برای نشان دادن تغییرات پاتولوژیکی فیزیولوژیکی و بیماری‌ها به شمار می‌رود (Banaee et al., 2008; Adedeji et al., 2009). ماهیان یکی از مهم‌ترین موجودات آبی می‌باشند که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند (Dutta and Meijer, 2003) و به همین دلیل جهت انجام آزمایشات زیست‌سنجی در بعد وسیعی از آن‌ها استفاده می‌شود. ویژگی‌های بیوشیمیایی خون به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های وضعیت فیزیولوژیکی ماهی قلمداد می‌شود.

مسلماً تغییرات پارامترهای هماتولوژیک خون در اثر مسمومیت می‌تواند نمودی از تغییرات بافت خون‌ساز و بافت‌های گوناگون ماهی در خلال مسمومیت باشد. عموماً اعتقاد بر این است که کیفیت و خصوصیات سلول‌های خونی به همان نسبت که از تغییرات فیزیولوژیکی تاثیر می‌پذیرند، نسبت به تغییرات آسیب‌شناسی نیز حساس هستند (Stoskopf, 1993). حساسیت گونه‌های مختلف ماهیان به مواد سمی متغیر است از این‌رو ضروری است آزمایش‌های سم‌شناسی برای ماهیان مختلف صورت گیرد (Finny, 1971). از تاثیر سموم بر روی شاخص‌های خونی ماهیان می‌توان به بررسی تاثیر علف‌کش بوتاکلر بر فاکتورهای هماتولوژیکی ماهی استخوانی آب شیرین (*Clarias batrachus*) توسط Kumar (2003)، تاثیر سم ارگانوکلره آندوسولفان بر فاکتورهای هماتولوژیکی ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) توسط Giron-perez و همکاران (2008)، تاثیر سم ارگانوکلره Alachlor بر روی شاخص‌های هماتولوژیکی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) توسط Mikula و همکاران (2008) اشاره نمود.

*Capoeta damascina* (Valenciennes, 1842) از ماهیان خانواده Cyprinidea و با نام فارسی سیاه‌ماهی و یا توئینی می‌باشد. این گونه در چشمه‌ها، رودخانه‌ها و تالاب‌های آب شیرین به فراوانی یافت شده و از گیاهان آبی و ریشه درختان به عنوان پناه‌گاه استفاده کرده و در رودخانه‌هایی با عمق ۱/۵-۱ متر و بستر ماسه‌ای تجمع یافته و از جلبک‌ها و گیاهان آبی تغذیه می‌کند. تغییرات دمای آب از ۲-۳۰ درجه، گل‌آلودگی و سرعت آب را تحمل می‌کند (Abdoli, 2000). اعضای جنس سیاه‌ماهی (*Capoeta* spp.) از مرکز تا غرب آسیا پراکندگی دارد که این پراکنش شامل کشورهای ترکیه، آذربایجان، افغانستان، ارمنستان، گرجستان، عراق، ایران، فلسطین اشغالی و ازبکستان می‌شود (Turan, 2008). هم‌چنین این گونه از لحاظ ماهی‌گیری در آب‌های داخلی و صید ورزشی تا حدی مهم است (Abdoli, 2000).

تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تاثیر سایپرمترین بر پارامترهای خونی سیاه ماهی به عمل نیامده است. بنابراین با توجه به این مطلب و هم‌چنین با در نظر گرفتن این‌که مطالعات قبلی مضر بودن این آفت‌کش را برای ماهیان به اثبات رسانیده است و نیز اغلب رودخانه‌های محل زندگی، تخم‌ریزی و پرورش مرحله لاروی سیاه ماهی به طور خاص در مجاورت زمین‌های کشاورزی و باغات مصرف کننده سم سایپرمترین واقع شده‌اند، آثار این سم بر روی برخی از فاکتورهای خونی سیاه‌ماهی مورد مطالعه قرار گرفت، چرا که این ماهی به علت خوراکی بودن ممکن است در صورت آسیب‌پذیری مشکلاتی را برای انسان یا سایر موجودات ایجاد کند.

## مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش از سیاه ماهی‌هایی با وزن متوسط ۱۵۰ گرم و میانگین طولی ۱۲ سانتی‌متر که از رودخانه کردان (N ۳۵°۵۶' و E ۵۰°۴۹') به فاصله ۲۰ کیلومتری کرج به وسیله الکتروشوک صید شده بودند، استفاده شد. ماهیان، پس از تخلیه از تانک حمل و نقل، به مدت ۹۶ ساعت در آکواریوم‌هایی به ابعاد ۹۰×۱۲۰×۱۲۰ سانتی‌متر که از نظر درجه حرارت pH در شرایط مطلوب بود قرار گرفتند (pH=7 و T=22 °C) تا استرس‌های ناشی از حمل و نقل برطرف گردد و نیز ماهیان با شرایط آزمایش سازگار شوند. با توجه به اینکه (LC<sub>50</sub>, Olufayo and Alade (2012) سم سایپرمترین را ۰/۳۶ میلی لیتر در لیتر گزارش نموده بود، بنابراین جهت تیمار بندی ماهیان به ۳ تیمار سم با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ و هم‌چنین یک گروه شاهد تقسیم شدند. لازم به ذکر است که سم سایپرمترین از شرکت مهان خریداری گردید که دارای درصد خلوص تکنیکال ۹۵ درصد و ماده موثره ۱۰ درصد بود. به منظور انحلال سم در آب نیز به مقدار کافی محلول هم زده شد. جهت اجتناب از صید بیش از اندازه ماهی و آسیب‌رسانی به ذخایر این گونه امکان محاسبه مستقیم LC<sub>50</sub> وجود نداشت و غلظت‌های مورد نظر بر اساس آزمایشات پیشین محاسبه و انتخاب شد. به آکواریوم هر تیمار ۱۵ عدد ماهی اضافه شد. پارامترهای موثر فیزیوشیمیایی آب از جمله pH، سختی کل و درجه حرارت کنترل گردید که به ترتیب در دامنه متوسط pH=7-8.2، DH=250 mg L<sup>-1</sup> (CaCO<sub>3</sub>)، در حد اشباع و (°C) T=15±2 قرار داشتند. لازم به ذکر است در این مرحله از ۴ عدد آکواریوم ذخیره به منظور جابه‌جایی ماهیان در تیمارهای مختلف در هر ۲ روز یک‌بار استفاده گردید تا هم کیفیت آب شرایط بهتری داشته باشد و هم این‌که غلظت سم سایپرمترین در تمام طول دوره ثابت باشد و در طی دوره تغییراتی در ترکیب سم ایجاد نشود. طی دوره تحت تاثیر قرار دادن ماهیان در معرض سم سایپرمترین در روزهای اول، پنجم و دهم در نهایت ماهیان بی‌هوش شده و سپس خون‌گیری از ساقه دمی صورت گرفت. برای خون‌گیری، ابتدا چند فلس از محل مورد نیاز برداشته و سپس با پارچه و پنبه خشک گردید. در این روش، سوزن از سمت جانبی با زاویه ۴۵ درجه و به اندازه یک فلس زیر خط جانبی وارد شد، هنگامی که سوزن به ستون مهره‌ها برخورد کرد کمی آن را جابه‌جا کرده تا سوزن بین ستون مهره‌ها یعنی درون ورید ساقه دمی قرار گیرد (Ikeadaly and Ozaki, 1981). میزان خون برداشت شده از هر ماهی حدود ۱/۵ میلی‌لیتر بود. پس از خون‌گیری نمونه‌های خون در درون لوله‌های حاوی EDTA ریخته و به هم زده شدند و سپس بلافاصله در محفظه حاوی یخ قرار داده شدند.

شاخص‌های مورد استفاده برای ارزیابی مشخصات خونی در این آزمایش شامل: RBC، Hct، MCV، MCHC، WBC و Hb بودند. برای به‌دست آوردن میزان Hct طبق روش Cyriac و همکاران (1989) خون وارد لوله‌های میکروهماتوکریت آغشته به هپارین شد، سپس این لوله‌ها در شیارهای مخصوص در سانتریفیوژ میکروهماتوکریت (مدل Hettich ساخت آلمان) قرار گرفتند. برای تعیین Hct لوله‌های مویینه به مدت ۵ دقیقه و با ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. در پایان عمل سانتریفیوژ میزان Hct بر حسب درصد با خط‌کش میکروهماتوکریت تعیین گردید. برای شمارش RBC و WBC از لام هموسیتمومتر و محلول رقیق کننده‌ی هایم استفاده شد و تعداد آن‌ها در هر میلی‌متر بیان شد (Desai and Parikh, 2012; Khoshbavar-Rostami et al., 2006). هم‌چنین، به منظور محاسبه MCV و MCHC از فرمول‌های ارائه شده Greer و همکاران (2008) استفاده شد. برای ارزیابی اثرات سم سایپرمترین بر

فاکتورهای خونی از آنالیز واریانس دو طرفه ANOVA و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی استفاده شد (Quinn and Keough, 2002). کلیه آنالیزها با استفاده از نرم افزار SPSS 17 صورت پذیرفت.

### نتایج

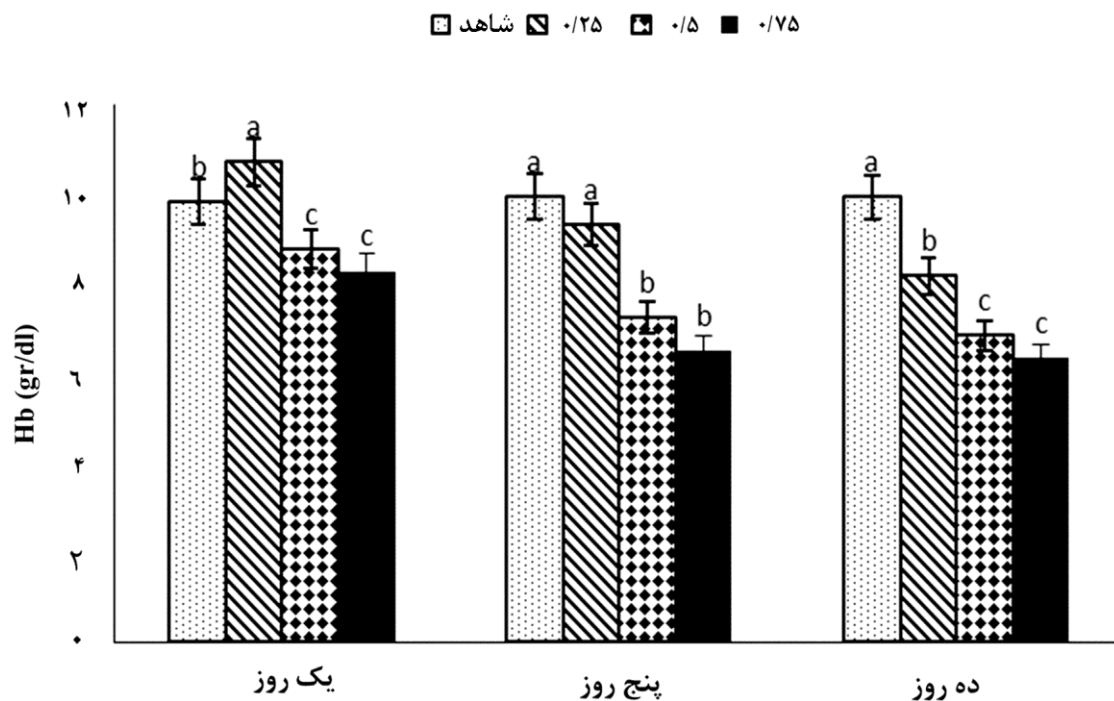
نتایج جهت بررسی تغییرات هموگلوبین نشان داد میزان این پارامتر در ماهیانی که در معرض سم قرار گرفته بودند نسبت به گروه کنترل دارای کاهش معنی‌داری بودند و نیز طول مدت قرار گرفتن ماهی در برابر سم باعث اثر منفی بر این پارامتر شده است به طوری که هر چه از مدت زمان آزمایش می‌گذشت میزان Hb برای هر یک از غلظت‌ها کاهش بیشتری را نشان داد (شکل ۱). پارامترهای RBC ( $F_{6,24}=8.965, P<0.001$ ), Hb ( $F_{6,24}=14.152, P<0.001$ ) و Hct ( $F_{6,24}=3.911, P=0.007$ ) در گروه‌های در معرض سایپرمتین نسبت به گروه شاهد در هر سه زمان نمونه‌گیری دارای کاهش معنی‌داری بودند. در واقع هر چه غلظت آفت کش افزایش یافت، این مقادیر دچار کاهش شدیدتری نسبت به گروه کنترل می‌شدند و در هر سه فاکتور زمان و سم اثر معنی‌دار داشتند. نتایج آزمایش‌های Hct و Hb نیز نشان می‌دهد که بیش‌ترین میانگین مربوط به تیمار شاهد بوده و هم‌چنین افزایش غلظت و مدت زمان قرارگیری در برابر سم موجب کاهش معنی‌دار در میزان Hct ماهیان مورد آزمایش می‌شود (شکل ۲).

براساس آزمون آنالیز واریانس بین تیمارهای ماهیان مورد بررسی، میزان RBC خون ماهیانی که در معرض سم سایپرمتین قرار گرفته بودند، نسبت به گروه شاهد پس از قرار گرفتن در مقابل سم کاسته شده بود و سایپرمتین بر روی این پارامتر خونی تأثیر کاهشی داشته است (شکل ۳).

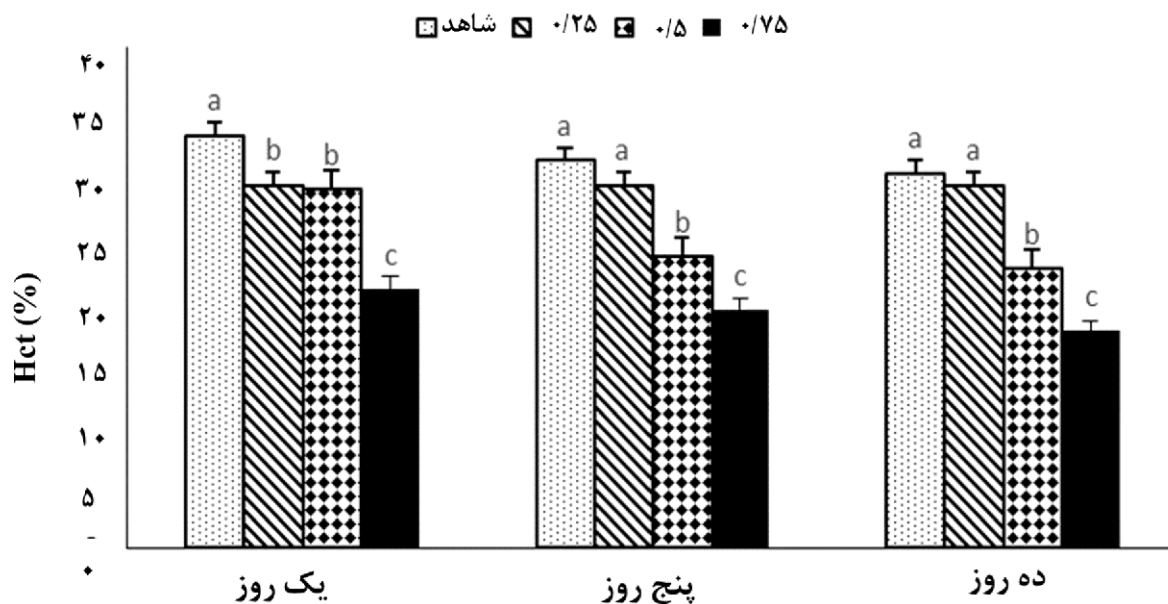
نتایج آزمایش‌های مربوط به WBC ( $F_{6,24}=11.246, P<0.001$ ) در ماهیان شاهد و تیمارهای  $0.1/5$ ،  $0.1/25$  و  $0.1/75$  از سم سایپرمتین نشان می‌دهد که کم‌ترین میانگین مربوط به تیمار شاهد می‌باشد و بین تیمارهای مورد بررسی از نظر WBC ماهیان، اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد و میزان WBC خون ماهیان مورد مطالعه پس از قرار گرفتن در معرض سم سایپرمتین نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است (شکل ۴).

نتایج اندازه‌گیری MCHC ( $F_{6,24}=54.435, P<0.001$ ) در ماهیان شاهد و تیمارهای  $0.1/5$ ،  $0.1/25$  و  $0.1/75$  از سم سایپرمتین نیز نشان می‌دهد که براساس آزمون آنالیز واریانس بین تیمارهای شاهد و سایر تیمارها از نظر MCHC اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شده است و MCHC خون ماهیان مورد مطالعه پس از قرار گرفتن در مقابل سم سایپرمتین افزایش داشت (شکل ۵).

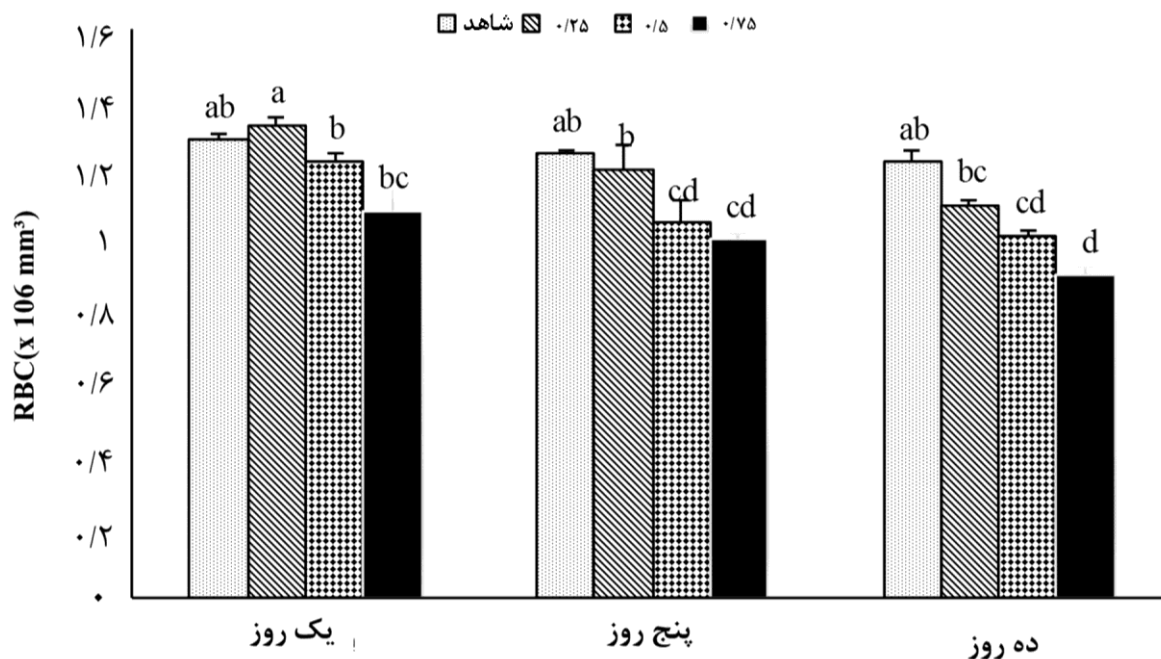
نتایج اندازه‌گیری MCV ( $F_{6,24}=105.997, P<0.001$ ) در ماهیان مورد مطالعه نیز نشان می‌دهد که براساس آزمون آنالیز واریانس بین تیمارهای شاهد و سایر تیمارها از نظر MCV اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شده است و MCV خون ماهیان مورد مطالعه پس از قرار گرفتن در مقابل سم سایپرمتین کاهش داشته است، هر چند تغییرات این پارامتر خونی نامنظم بوده است (شکل ۶).



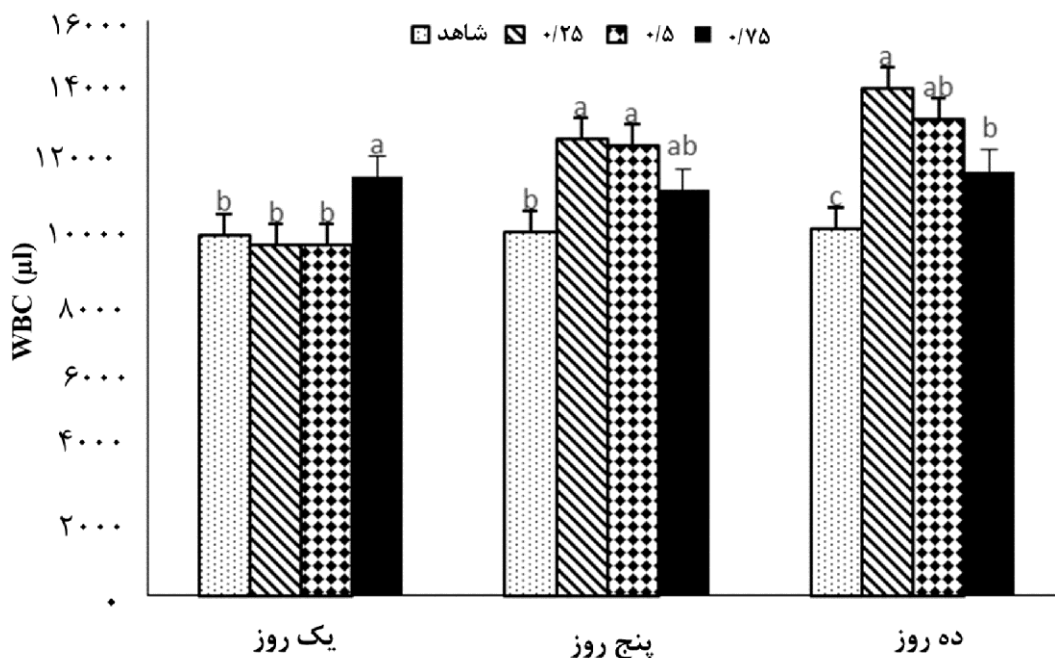
شکل ۱. میانگین  $\pm$  انحراف معیار هموگلوبین (Hb) ماهی *Capoeta damascina* در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده سایپرمترین به مدت ۱۰ روز. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ( $\alpha = 0.05$ ).



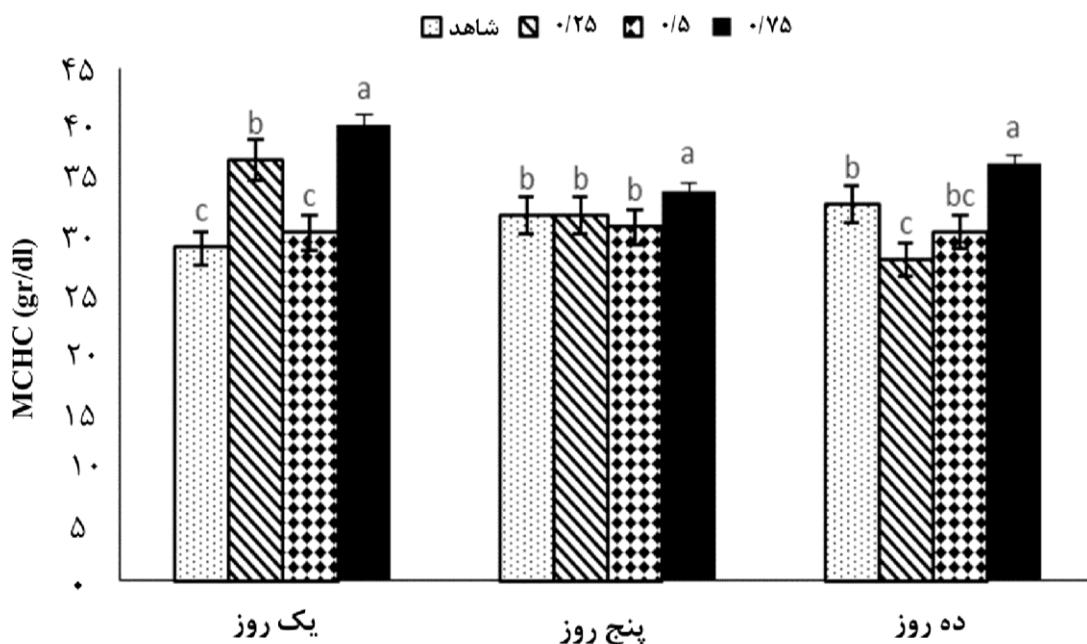
شکل ۲. میانگین  $\pm$  انحراف معیار هماتوکریت (Hct) ماهی *Capoeta damascina* در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده سایپرمترین به مدت ۱۰ روز. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ( $\alpha = 0.05$ ).



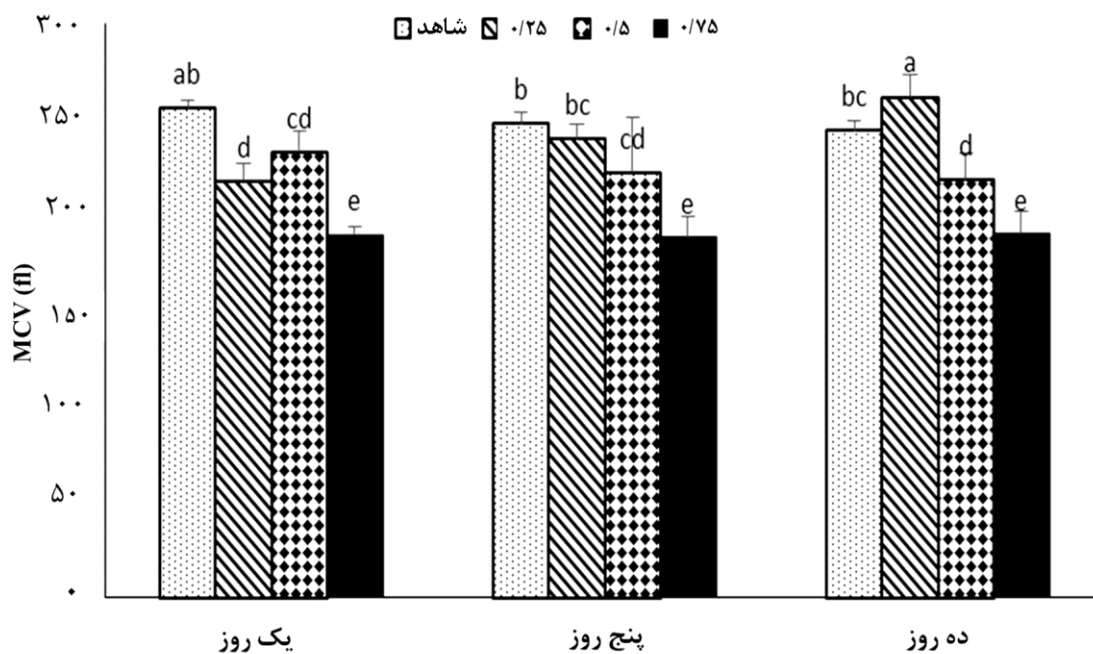
شکل ۳. میانگین  $\pm$  انحراف معیار گلبول قرمز (RBC) ماهی *Capoeta damascina* در مواجهه با غلظت‌های تحت‌کشنده سایپرمتترین به مدت ۱۰ روز. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ( $\alpha = 0.05$ ).



شکل ۴. میانگین  $\pm$  انحراف معیار گلبول سفید (WBC) ماهی *Capoeta* در مواجهه با غلظت‌های تحت‌کشنده سایپرمتترین به مدت ۱۰ روز. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ( $\alpha = 0.05$ ).



شکل ۵. میانگین  $\pm$  انحراف معیار MCHC ماهی *Capoeta damascina* در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده سایپرمترین به مدت ۱۰ روز. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ( $\alpha = 0.05$ ).



شکل ۶. میانگین  $\pm$  انحراف معیار MCV ماهی *Capoeta damascina* در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده سایپرمترین به مدت ۱۰ روز. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ( $\alpha = 0.05$ ).

## بحث

با توجه به سطح آلودگی اکوسیستم‌های آبی کشور با سموم کاربردی مختلف، ارزیابی تاثیر این سموم بر آبزیان و پایش اکوسیستم‌های آبی با استفاده از مدل‌های آزمایشگاهی امری ضروری می‌باشد. خون یک بازتابنده پاتوفیزیولوژیک از کل بدن بوده و در نتیجه پارامترهای خونی در تشخیص وضعیت ساختاری و عملکردی ماهیان قرار گرفته در معرض سموم مهم هستند (Adhikari *et al.*, 2004).

در طی دوره تحت تاثیر قرار دادن ماهیان در معرض سم سایپرمتین هیچ گونه تلفاتی در ماهیان مورد آزمایش مشاهده نشد. نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای خون ماهیان مورد آزمایش نشان داد که افزایش غلظت سم سایپرمتین در سیاه ماهیانی که در معرض سم قرار گرفته بودند موجب کاهش معنی‌دار در پارامترهای RBC، Hb، Hct، نسبت به گروه شاهد می‌شود. مطالعات (Adhikari *et al.*, 2004) نیز نشان داد وقتی ماهی *Labeo rohita* در معرض غلظت ۰/۱۶، ۰/۴۰ و ۰/۸۰ میکرو لیتر بر لیتر سم سایپرمتین قرار می‌گیرد بسته به غلظت سم در مقایسه با گروه کنترل منجر به کاهش در RBC، مقدار Hb و Hct می‌شود که کم‌خونی ماهی را به همراه دارد. همچنین Dörtüci و Girgin (2002) با بررسی تاثیر سم سایپرمتین بر روی پارامترهای خونی ماهی کپور معمولی نشان دادند که پارامترهای RBC، Hb، Hct، MCV، با افزایش زمان قرار گرفتن در معرض سایپرمتین از ۶ ساعت به ۱۵ ساعت، کاهش یافتند، اما MCHC افزایش یافته است. نتایج مطالعات دیگری نظیر Seth و Saxena (2002) با بررسی سایپرمتین بر ماهی *Channa punctatus* نیز نتایج این تحقیق را تایید می‌کند.

هم‌چنین نتایج مطالعه حاضر جهت بررسی تاثیر مدت زمان آزمایش بر سمیت نیز برای تمام پارامترهای مورد بررسی اختلاف معنی‌داری نشان داد. به طور مثال در غلظت  $0.25 \mu\text{g/L}^{-1}$  میزان RBC به گذشت زمان کاهش بیشتری را نشان می‌داد. هم‌چنین میزان Hct و Hb نیز با گذشت زمان در یک غلظت ثابت کاهش معنی‌دار داشت. از عوامل تأثیرگذار در مسمومیت آبزیان عامل زمان است. هنگامی که 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 دارد (Sharifpoor *et al.*, 2007).

در مطالعه‌ی حاضر استرس آفت‌کش منجر به کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و شرایط کم‌خونی در *Capoeta damascina* شد، احتمالاً از بین رفتن گلبول‌های بالغ و در نتیجه کاهش RBC باعث اختلال در مکانیسم ترکیب آهن می‌گردد. با کاهش RBC و Hb در ماهیان قرار گرفته در معرض آفت‌کش ظرفیت حمل اکسیژن خون نیز کاهش می‌یابد. تغییر در تعداد گلبول‌های قرمز پس از قرار گرفتن ماهی در معرض سایپرمتین ممکن است در اثر کاهش ایمنی غیراختصاصی ماهی نیز باشد (Svoboda *et al.*, 2001). گزارش‌هایی از کاهش تعداد RBC در طی قرار گرفتن در معرض آفت‌کش‌های مختلف وجود دارد (Anees, 1978). Krishan و Gray (1981)، یافته‌هایی شبیه به این مطالعه داشته‌اند. تغییر در پارامترهای خونی در ارتباط با سایپرمتین باعث ایجاد کم‌خونی در نتیجه‌ی کاهش ساخت سلول‌های قرمز خون و معادل آن RBC در مغز استخوان می‌گردد (Morgan *et al.*, 1980).

در مطالعه‌ی حاضر Hct خون ماهیان آلوده به سم کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. مطالعات ما شواهدی ارائه می‌کند که سایپرمتین همولیز RBC را تحت تاثیر قرار می‌دهد. کاهش تعداد RBC، غلظت Hb و Hct احتمالاً نشان دهنده همولیز اریتروسیت و یا آسیب جبران ناپذیر ریختی بر عملکرد آبشش است. کاهش غلظت Hb ممکن است به دلیل افزایش سرعت نابودی Hb و یا کاهش سرعت سنتز Hb باشد (Jee *et al.*, 2005; Moss *et al.*, 1964). کم‌خونی ممکن است به علت مهار خون‌سازی و ساخت Hb و افزایش تخریب RBC در اندام‌های خون‌ساز باشد. کاهش RBC و Hb در ماهی کپور معمولی

(*Cyprinus carpio* L.) پس از قرارگیری در معرض دیازینون نیز توسط Svoboda و همکارانش (2001) گزارش شده است. در سایر آفت‌کش‌های موثر نیز شواهدی از کاهش خون‌سازی و وجود کم‌خونی وجود داشته است. کاهش RBC، Hb و Hct با ظرفیت حمل اکسیژن خون در ارتباط است که ممکن است به علت مهار خون‌سازی و افزایش سرعت تخریب اریتروسیت در اندام‌های خون‌ساز باشد (Akinrotimi *et al.*, 2012).

کاهش Hct می‌تواند به طور مستقیم در ارتباط با کاهش تعداد RBC باشد به عنوان مثال، Oginni و Ololade (2010) بیان کردند که کاهش Hb می‌تواند ناشی از پاره شدن RBC باشد، بنابراین آسیب RBC می‌تواند علت کاهش Hb در این مطالعه باشد. به طور کلی عواملی که سبب کاهش تعداد RBC می‌گردد نیز باعث کم شدن Hct می‌شود (Banaee *et al.*, 2008)، بنابراین می‌توان کاهش Hct در این مطالعه را به کاهش تعداد RBC یا انقباض RBC نسبت داد (Narain and Srivastava, 1989). RBC محتوی Hb است پس اختلالات RBC می‌تواند در Hb تأثیر گذارد.

پژوهش حاضر نشان داد که تعداد کل WBC به طور معنی‌داری در گروه‌های قرار گرفته در معرض سایپرمتترین افزایش یافته است. Masud و Singh (2013)، با بررسی تأثیر سم سایپرمتترین بر هماتولوژی خون ماهی کپور و هم‌چنین مطالعه (Akinrotimi *et al.*, 2012) با مطالعه گربه ماهی آفریقایی افزایش میزان کل WBC ماهیان در معرض سم را گزارش داده است. گلبول‌های سفید در طول آلودگی با تحریک بافت‌های هماتوپوئیتیک<sup>1</sup> و سیستم ایمنی از طریق تولید آنتی‌بادی و مواد شیمیایی که به عنوان عامل دفاعی در برابر عفونت هستند، نقش مهمی ایفا می‌کنند (Lebelo *et al.*, 2001; Remyła *et al.*, 2008). بنابراین افزایش شمار WBC به عنوان یک پاسخ پاتولوژیک رخ داده است. گلبول‌های سفید سلول‌های مهمی در سیستم ایمنی هستند که نقش اصلی دفاعی را انجام می‌دهند. گلبول‌های سفید بلافاصله به تغییرات محیطی پاسخ می‌دهند. در طول مدت قرار گرفتن در معرض سایپرمتترین تعداد WBC افزایش یافت، این نشان می‌دهد که ماهی می‌تواند یک مکانیزم دفاعی برای غلبه بر استرس ناشی از مواد سمی را نشان دهد. مطالعه حاضر نشان می‌دهد این اختلالات در شاخص‌های خونی یک واکنش دفاعی در برابر سمیت سایپرمتترین از طریق تحریک خون‌سازی بوده و یا ممکن است به علت اختلال در سوخت و ساز و فعالیت‌های هموپوئیتیک ماهیان قرار گرفته در معرض غلظت‌های تحت کشنده سایپرمتترین رخ داده باشد (Masud and Singh, 2013). به عبارت دیگر می‌توان گفت آزاد شدن WBC از طحال به جریان خون برای مبارزه با سم بوده است (Akinrotimi *et al.*, 2012).

بنابراین می‌توان در یک نتیجه‌گیری کلی بیان نمود که سم سایپرمتترین از نظر زیست محیطی دارای اثرات منفی شدیدی بر پارامترهای خونی سیاه ماهی شده و در نتیجه با اختلال این پارامترها احتمال آسیب‌های زیستی دیگری نیز وجود دارد که بررسی دقیق تر پارامترهای مربوط به استرس نظیر گلوکز و کورتیزول امکان اظهار نظر دقیق تر را فراهم می‌آورد.

## منابع

- Abdoli, A. 2000. The Inland Water Fishes of Iran. Nature and Wildlife Meusume of Iran, Tehran. 376 p.
- Adedeji, O.B., Adeyemo, O.K., Agbede, S.A. 2009. Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarias gariepinus*). African Journal of Biotechnology. 8: 3940-3946.
- Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C.T., Ayyappan, S. 2004. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost *Labeo rohita* (Hamilton). Ecotoxicology and Environmental Safety. 58: 220-226.

<sup>1</sup> Hematopoietic

- Akinrotimi, O.A., Gabriel, U.U., Ariweriokuma, S.V. 2012. Hematotoxicity of Cypermethrin to African Catfish *Clarias Gariepinus* under Laboratory Conditions. *Journal of Environmental Engineering and Technology*. 2: 20-25.
- Anees, M.A. 1978. Haematological abnormalities in a fresh water teleost *Channa punctatus* exposed to sublethal and chronic levels of three organophosphores insecticides. *International Journal of Ecological and Environmental Science* 4: 53-60.
- Aydin, R., Köprücü, K., Dörücü, M., Köprücü, S.Ş., Pala, M. 2005. Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Aquaculture International*. 13: 451-458.
- Banaee, M., Mirvagefei, A.R., Rafei, G.R., Majazi Amiri, B. 2008. Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. *International Journal of Environmental Research*. 2: 189-198.
- Boxaspen, K., Holm, J.C. 2001. The development of pyrethrum-based treatments against the ectoparasitic salmon lice *Lepeophtheirus salmonis* in sea cage rearing of Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture Research*. 32: 701-707.
- Cyriac, P.J., Antony, A., Nambisan, P.N.K. 1989. Hemoglobin and hematocrit values in the fish *Oreochromis mossambicus* (peters) after short term exposure to copper and mercury. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 43: 315-320.
- Das, B.K., Mukherjee, S.C. 2003. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*. 134: 109-121.
- Desai, B., Parikh, P. 2012. Impact of Curzate (fungicide) on Hematological Parameters of *Oreochromis mossambicus*. *International Journal of Scientific and Engineering Research*. 3: 45-52.
- Dörücü, M., Girgin, A. 2002. The effect of cypermethrin on some haematological parameters of *Cyprinus carpio*. *Aquaculture International*. 9(2): 183-187.
- Dutta, H.M., Meijer, H.J.M. 2003. Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, *Lepomis macrochirus*: a microscopic analysis. *Environmental Pollution*. 125: 355-360.
- Finny, D. 1971. Probit analysis; a statistical treatment of the sigmoid response curve. Cambridge. 256 p.
- Giron-perez, M.I., Montes-Lopez, M., Garcia-Ramirez, L.A., Romero-Banuelos, C.A., Robledo-marengo, M.L. 2008. Effect of Sub-lethal Concentration of Endosulfan on Phagocytic and Hematological Parameters in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 80: 266-269.
- Greer, J.P., Foerster, J., Rodgers, G.M., Paraskevas, F., Glader, B., Arber, D.A., Means, R.T. 2008. *Wintrobe's clinical hematology*. Lippincott Williams and Wilkins. 3232 p.
- Hart, J.L., Thacker, J.R.M., Braidwood, J.C., Fraser, N.R., Matthews, J.E. 1997. Novel cypermethrin formulation for the control of sea lice on salmon (*Salmo salar*). *Veterinary Records*. 140: 179-181.
- Haya, K. 1989. Toxicity of pyrethroid insecticides to fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 8: 381-391.
- Ikeadaly, S., Ozaki, H. 1981. The examination of tail peduncle serving blood sampling method from aspect of observed serum constituent level in carp. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*. 47: 1447-1453.
- Jee, J.H., Masroor, F., Kang, J.C. 2005. Responses of cypermethrin-induced stress in haematological parameters of Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). *Aquaculture Research*. 36: 898-905.
- Khoshbavar-Rostami, H.A., Soltani, M., Hassan, H.M.D. 2006. Immune response of great sturgeon (*Huso huso*) subjected to long-term exposure to sublethal concentration of the organophosphate, diazinon. *Aquaculture*. 256: 88-94.
- Krishan, A.G., Garg, V. 1981. 2-3-4-triaminoazobenzene induced haematobiochemical anomalies in fish, *Channa punctatus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 26: 136-141.
- Kumar, A. 2003. *Aquatic environment and toxicology*. Daya Publishing House. 431 p.

- Lebelo, S.L., Saunders, D.K., Crawford, T.G. 2001. Observations on Blood Viscosity in Striped Bass, *Morone saxatilis* (Walbaum) Associated with Fish Hatchery Conditions. Transactions of the Kansas Academy of Science. 104: 183-194.
- Masud, S., Singh, I.J. 2013. Effect of Cypermethrin on some hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater Teleost, *Cyprinus carpio*. African Journal of Environmental Science and Technology. 7: 852-856.
- Mikula, P., Mpdra, H., Nemethora, D., Groch, L. 2008. Effects of Subchronic Exposure to LASSO MTX® (Alachlor 42% W/V) on Hematological Indices and Histology of the Common Carp, *Cyprinus carpio* L. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 81: 475-479.
- Moore, A., Waring, C.P. 2001. The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquatic Toxicology. 52: 1-12.
- Morgan, D.P., Stockdale, E.M., Roberts, R.J., Walter, H.W. 1980. Anemia associated with exposure to lindane. Archive of Environmental Health. 35: 307-310.
- Moss, J.A. Hathway, D.E. 1964. Transport of organic compounds in the mammalian partition of dieldrin and telodrin between the cellular components and soluble proteins of blood. Biochemistry Journal. 91: 383-393.
- 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.
- Ololade, I.A., Oginni, O. 2010. Toxic stress and hematological effects of nickel on African catfish, *Clarias gariepinus*, fingerlings. Journal of Environmental and Chemical Ecotoxicology. 22: 14-19.
- Quinn, G.P., Keough, M.J. 2002. Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge University Press. Cambridge. 537 p.
- Remyla, S.R., Ramesh, M., Sajwan, K.S., Senthil Kumar, K. 2008. Influence of zinc on cadmium induced haematological and biochemical responses in a freshwater teleost fish *Catla catla*. Fish Physiology and Biochemistry. 34: 169-174.
- Richards, R.H. 1983. Diseases of farmed fish Salmonids. Veterinary Records. 112: 124-126.
- Roth, M., Richards, R.H., Sommerville, C. 1993. Current practices in the chemotherapeutic control of sea lice infestations in aquaculture: A review. Journal of Fish Diseases. 16: 1-26.
- Sanchez-Fortun, S., Barahona, M.V. 2005. Comparative study on the environmental risk induced by several pyrethroids in estuarine and freshwater invertebrate organisms. Chemosphere. 59: 553-559.
- Saxena, K.K., Seth, N. 2002. Toxic effects of cypermethrin on certain hematological aspects of fresh water fish *Channa punctatus*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 69: 364-369.
- Sharifpoor, E., Soltani, M., Javadi, M. 2007. Determine LC<sub>50</sub> Milling Loss of tissue caused by Endosulfan pesticide in fish (*Huso huso*). Journal of the Fisheries. 12: 69-84.
- Stoskopf, M.K. 1993. Clinical pathology. Saunders Company. Fish Medicine. pp. 113-131.
- Svoboda, M., Luskova, V., Drastichova, J., Žlabek, V. 2001. The effect of diazinon on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta Veterinaria Brno. 70: 457-465.
- Tantarpale, S.A. 2011. Cypermethrin impact on total protein in muscle and liver of the freshwater fish *Canna striatus*. Department of Zoology, Vidya Bharati Mahavidyalaya, Amravati. Science Research Reporter. 1: 155-158.
- Turan, C. 2008. Molecular systematics of the Capoeta (*Cypriniformes: Cyprinidae*) species complex inferred from mitochondrial 16s rDNA sequence data. Acta Zoologica. 51: 1-14.
- Van-Der Geest, H.G., Stuijzand, S.C., Kraak, M.H.S., Admiraal, W. 1997. Impact of diazinon calamity in 1996 on the aquatic macroinvertebrates in the river Mesue, The Netherlands. Netherland Journal of Aquatic Ecology. 30: 327-330.
- Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z., Dobsikova, R., Novotny, L. Dudzik, M. 2006. Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Veterinarni Medicina. 51: 469-476.