تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۲/۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۷/۲۳

نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۶، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۲

تأثیر دیازینون در پارامترهای هماتولوژیک خون سیاه‌ماهی (*Capoeta damascina*)

❖ **عارف پیربیگی:** دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، دانشکدهٔ منابع طبیعی، گروه شیلات، کرج، صندوق پستی ۴۳۱۴، ایران
❖ **هادی پورباقر*:** استادیار، دانشگاه تهران، دانشکدهٔ منابع طبیعی، گروه شیلات، کرج، صندوق پستی ۴۳۱۴، ایران
❖ **سهیل ایگدری:** استادیار، دانشگاه تهران، دانشکدهٔ منابع طبیعی، گروه شیلات، کرج، صندوق پستی ۴۳۱۴، ایران
❖ **علیرضا میرواقفی:** دانشیار، دانشگاه تهران، دانشکدهٔ منابع طبیعی، گروه شیلات، کرج، صندوق پستی ۴۳۱۴، ایران

چکیده

دیازینون یکی از پرکاربردترین آفت‌کش‌های گروه ارگانوفسفره است که پس از استفاده به منظور ازبین‌بردن آفات مختلف ممکن است به محیط‌های آبی راه یابد و تأثیراتی را بر آبزیان و در نهایت انسان بگذارد. به همین علت، مطالعهٔ حاضر به منظور بررسی تأثیرات غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ پی‌پی‌ام (که قبلاً در برخی مناطق تخمین زده شده بودند) از آفت‌کش دیازینون در پارامترهای هماتولوژیک (هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، MCV[1]، MCH[2]، MCHC[3]، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، ائوزینوفیل‌ها و مونوسیت‌های خون *Capoeta damascina*) با میانگین وزنی ۱۵/۸۴ گرم و میانگین طولی ۱۳/۰۶ سانتی‌متر در مدت ۹ روز و با سه زمان نمونه‌برداری در روزهای اول، پنجم و نهم انجام شد. سنجش‌ها در ماهیان در معرض دیازینون، نسبت به گروه کنترل، در هر سه زمان نمونه‌برداری نشان‌دهندهٔ کاهشی معنی‌دار در میزان هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز و لنفوسیت‌ها بود، اما تعداد نوتروفیل‌ها به صورت معنی‌داری در گروه‌های در معرض دیازینون نسبت به گروه کنترل افزایش یافت؛ با این حال، تفاوت عمده‌ای در مقادیر MCV، MCH و MCHC مشاهده نشد. این مطالعه نشان می‌دهد که پارامترهای خونی این ماهی می‌توانند بیومارکر مناسبی برای وجود دیازینون در محیط آبی باشند.

واژگان کلیدی: آفت‌کش، دیازینون، پارامترهای هماتولوژیک، خون *Capoeta damascina*.

* نویسندهٔ مسئول: تلفن: ۰۹۱۱۳۷۳۱۸۶۵ Email: hpoorbagher@yahoo.com

۱. حجم متوسط گلبول‌های قرمز خون (Mean corpuscular volume)
۲. هموگلوبین متوسط گلبول‌های قرمز خون (Mean corpuscular hemoglobin)
۳. غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز خون (Mean corpuscular hemoglobin concentration)

۱. مقدمه

آلودگی اکوسیستم‌های آبی به یکی از معضلات امروز جوامع بشری در سراسر جهان تبدیل شده است، چرا که این منابع دارای کاربری‌های متنوع‌اند. افزایش تولیدات کشاورزی (Arjmandi *et al*., 2010) و به تبع آن افزایش استفاده از آفت‌کش‌ها که در برخی مناطق تا ۲/۵ میلیون تن در سال هم می‌رسند (Dehghani *et al*., 2011)، سبب بروز نگرانی‌های زیادی در خصوص تأثیرات سوء آنها شده است (ibid). ارگانوفسفره‌ها، به‌منزلهٔ دسته‌ای از آفت‌کش‌ها، از چند دههٔ قبل، به علت پایداری کمتر در محیط نسبت به ارگانوکلره‌ها جانشین آنها شدند (Girón-Pérez *et al*., 2007)؛ به طوری که، کاربرد سادهٔ آنها سبب استفادهٔ گسترده از آنها شده است (Pan and Dutta, 1998). دیازینون یکی از آفت‌کش‌های گروه ارگانوفسفره‌هاست (De-Blaquière *et al*., 2000) که دارای مصارف زیادی در بخش‌های مختلف کشاورزی و غیر کشاورزی، به منظور ازبین‌بردن آفات گوناگون، است (ibid). از جمله کاربردهای آن می‌توان به استفاده در مزارع برنج (Kanazawa, 1978) و حتی در بخش صنعت و پزشکی هم اشاره کرد (Agrahari *et al*., 2007). تحقیقات نشان داده است که این آفت‌کش‌ها می‌توانند پس از استفاده تا چند ماه در خاک فعال باشند (Köprücü *et al*., 2006). عوامل مختلفی از جمله تغییرات فصل (Adedeji *et al*., 2009)، تغییرات دما و PH محیط می‌توانند روی سمیت و اثرگذاری آفت‌کش‌ها تأثیر داشته باشند (Fisher, 1991). آفت‌کش‌ها از طرق مختلف به داخل منابع آبی راه می‌یابند (Pan and Dutta, 1998) و آب را آلوده می‌کنند (Kanazawa, 1978)؛ همچنین، ممکن است از راه‌های گوناگونی از جمله تغذیه به آبزیان نیز منتقل شوند (Das and Mukherjee, 2003) و بدین ترتیب ارگانیسم‌هایی که هدف این آفت‌کش‌ها نیستند ممکن است در معرض خطر قرار گیرند (Rao, 2006) و متعاقباً سلامت انسان را نیز به خطر بیندازند (Das and Mukherjee, 2003)، چرا که ماهی‌ها از جمله آبزیان‌اند که اهمیت اقتصادی بالایی برای انسان دارند (Adhikari *et al*., 2004)؛ علاوه بر این، ماهی‌ها یکی از مهم‌ترین منابع غذایی مورد نیاز انسان نیز هستند (Oruç and Usta, 2007). با توجه به تأثیر آفت‌کش‌ها در ماهی (Dutta and Meijer, 2003)، نخستین هدف مطالعات اکوتوکسیکولوژی به‌دست‌آوردن بیومارکر مناسب برای بررسی این تأثیرات است (Oliveira-Ribeiro *et al*., 2006). تحقیقات نشان داده است که فعالیت آنزیم استیل کولین استراز (De-Blaquière *et al*., 2000) و پارامترهای هماتولوژیک خون (Pimpão *et al*., 2007) در اثر این آفت‌کش‌ها دچار تغییراتی می‌شوند؛ در نتیجه این پارامترها می‌توانند بیومارکرهای مناسبی بدین منظور باشند (Sancho *et al*., 2000). به طوری که، تغییر در فعالیت استیل کولین استراز خود ممکن است بر تغذیه و تولیدمثل ماهیان تأثیر منفی بگذارد (Dutta and Meijer, 2003). سنجش پارامترهای خون از این جهت حائز اهمیت است که عوامل متعددی از جمله آلاینده‌ها می‌توانند سبب تغییر در ویژگی‌های آن شوند (Bahmani *et al*., 2001). با توجه به حضور خون در بخش‌هایی از بدن که در تماس مستقیم با محیط هستند، تغییرات محیطی می‌توانند از طریق تأثیراتی که در خون می‌گذارند در خون نشان داده شوند (Adhikari *et al*., 2004)؛ از این‌رو، پارامترهای هماتولوژیک می‌توانند اطلاعات پایه‌ای مناسبی را برای مطالعات مختلف فراهم کنند (Hrubec *et al*., 2008). تغییر پارامترهای هماتولوژیک می‌تواند نشان‌دهندهٔ

آسیب بافتی نیز باشد به طوری که، تغییرات بافت‌ها خود می‌تواند سبب تغییرات کلی مثل تغییر در رشد شود (Vosylienė, 1999). همچنین، پارامترهای هماتولوژیک نقش مهمی در تشخیص بیماری دارند (Arnold, 2005) و تغییرات برخی پارامترهای هماتولوژیک، از جمله هموگلوبین و هماتوکریت، می‌تواند به علت وجود استرسور در محیط باشد (Roche and Bogé, 2000)، اما با توجه به حضور گلبول‌های قرمز هسته‌دار در ماهی سنجش این پارامترها به شیوهٔ دستی انجام می‌گیرد و نمی‌توان از وسایل پیشرفته‌ای استفاده کرد که در موارد انسانی به کار می‌روند (Arnold, 2005).

ماهی *Capoeta damascina* از خانوادهٔ Cyprinidae است که پراکنش وسیعی در برخی کشورهای آسیایی دارد (Asadollah *et al*., 2011). بررسی‌ها نشان داده است که در مناطق پراکنش این ماهی و سایر کپورماهیان از آفت‌کش دیازینون به میزان درخور توجهی استفاده می‌شود. از آنجا که طبق مطالعات قبلی مشخص شده است که این آفت‌کش دارای تأثیرات مخربی در پارامترهای خونی ماهی‌هاست (Banaee *et al*., 2008)، بنابراین، بررسی تأثیرات آن در پارامترهای خونی ماهی مورد مطالعه که از حشرات آبزی تغذیه می‌کند و دارای ارزش صید ورزشی و تا حدی اقتصادی است (Abdoli, 2000) حائز اهمیت است، چرا که این ماهی به علت خوراکی‌بودن ممکن است در صورت آسیب‌پذیری مشکلاتی را برای انسان یا سایر موجودات ایجاد کند.

۲. مواد و روش‌ها

در این بررسی از آفت‌کش دیازینون با نام تجاری BASUDIN 50EC که شامل O,O-Diethyl O-[4-methyl- 6- (propan-2-yl) pyrimidin-2-yl] phosphorothioate است و از ماهی آب شیرین *Capoeta damascina* با میانگین وزنی ۱۵/۸۴ گرم و میانگین طولی ۱۳/۰۶ سانتی‌متر، صیدشده از رودخانهٔ کردان در ۲۰ کیلومتری کرج در مرکز ایران، استفاده شد. ماهیان پس از صید با الکتروشوکر با ولتاژ پایین، با تانک‌های مجهز به هواده، به آزمایشگاه منتقل شدند و در آزمایشگاه پس از هم‌دمایی به آکواریوم‌های ۱۴ لیتری منتقل و به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایشگاه سازگار شدند. طی این مدت شرایط دمایی، نوری و اکسیژن برای همهٔ ماهیان یکسان بود و ماهی‌ها روزی یک بار با غذای بیومار تغذیه می‌شدند. روزانه آب موجود در آکواریوم‌های ماهیان، به منظور جلوگیری از تجمع مواد غذایی باقی‌مانده و مواد دفعی ماهیان، با آب شیری که به مدت ۴۸ ساعت کلرزدایی شده بود تعویض می‌شد. پارامترهای آب طی این دوره شامل دما ۲۲.۵ ±۰.۵ ، pH=7 و TDS= 120 بودند.

پس از پایان این دوره، تانک‌ها کاملاً شسته شدند و برای آزمایش آماده شدند؛ ۴۸ ساعت قبل از شروع آزمایش، تغذیهٔ ماهیان متوقف شد و پس از اینکه آکواریوم‌های آزمایشی با آب شیری که هوادهی شده بود پر شدند ماهی‌ها به آنها وارد شدند.

میزان مشخص دیازینون به میزان مناسب آب اضافه شد تا غلظت‌های مورد نیاز تهیه شوند. غلظت‌های مورد استفاده در این آزمایش ۰/۵، ۱ و ۱/۵ پی‌پی‌ام دیازینون در لیتر بودند و یک گروه نیز که فاقد دیازینون بود به‌منزلهٔ شاهد در نظر گرفته شد. امکان محاسبهٔ LC50 وجود نداشت و غلظت مورد نظر بر اساس بیشترین میزان سم گزارش‌شده در اولین روز پس از اسپری دیازینون، که قبلاً (Arjmandi *et al*., 2010) تعیین کرده بودند، انتخاب شد (۱/۱۴ پی‌پی‌ام) و مقادیر کمتر و بیشتر از این غلظت در این آزمایش استفاده شدند.

آزمایش با ۳ تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد انجام گرفت. این آزمایش به مدت ۹ روز طول کشید و نمونه‌گیری‌ها در روزهای اول، پنجم و نهم پس از آغاز آزمایش انجام گرفتند. طی مدت آزمایش هر روز آب آکواریوم‌ها، به منظور حفظ میزان سم و خارج‌کردن مواد دفعی ماهیان، کاملاً تعویض و میزان سم مورد نظر دوباره به آنها اضافه می‌شد. دورهٔ نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی طی این آزمایش اعمال شد و همهٔ پارامترها در این آکواریوم‌ها، طی مدت آزمایش، مشابه یکدیگر و بدون تغییر بودند.

پس از صید ماهیان و بیهوش‌کردن آنها در محلول پودر گل میخک، خونگیری از ناحیهٔ ساقهٔ دمی ماهیان با سرنگ‌های ۱ سی‌سی آغشته به EDTA[1] به عمل آمد و خون به منظور شمارش پارامترهای هماتولوژیک به میکروتیوب‌های حاوی مادهٔ ضد انعقاد EDTA منتقل و در یخ نگهداری شد (Desai and Parikh, 2012).

پس از اتمام خونگیری، پارامترهای هماتولوژیک خون شامل RBC[2]، WBC[3]، هماتوکریت، هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC سنجش شدند؛ همچنین، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل نیز صورت گرفت (Banaee *et al*., 2008).

برای به‌دست‌آوردن میزان هموگلوبین از روش Drabkin (1946) استفاده شد و برای به‌دست‌آوردن هماتوکریت طبق روش Cyriac *et al*.(1989) خون وارد لوله‌های آغشته به هپارین شد؛ سپس، سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ صورت گرفت و مقادیر هماتوکریت قرائت شد. برای شمارش اریتروسیت‌ها (RBC) و لوکوسیت‌ها (WBC) از لام هموسیتومتر و محلول رقیق‌کنندهٔ هایم استفاده شد (Desai and Parikh, 2012) و تعداد آنها در هر میلی‌متر بیان شد. همچنین، به منظور محاسبهٔ MCH، MCV و MCHC از فرمول‌های ارائه‌شدهٔ Greer *et al*. (2008) استفاده شد.

به منظور شمارش تفریقی گلبول‌های سفید خون، یک قطره خون روی لام قرار داده شد و یک گسترش تهیه شد سپس، لام تهیه‌شده به مدت ۱ دقیقه در معرض هوا خشک و به مدت ۳۰ دقیقه در اتانول ۹۶ درصد ثابت شد و پس از آن رنگ‌آمیزی صورت گرفت. به منظور رنگ‌آمیزی از گیمسا استفاده شد که این فرآیند ۳۰ دقیقه به طول انجامید؛ سپس، شمارش گلبول‌های سفید در زیر میکروسکوپ انجام شد (Khoshbavar-Rostami *et al*., 2006).

آنالیز آماری بر اساس روش One-Way ANOVA و بر اساس نتایج تست توکی و با دقت $P \leq 0.05$ با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 انجام گرفت و به منظور رسم گراف‌ها نیز از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۰ استفاده شد (Banaee *et al*., 2008).

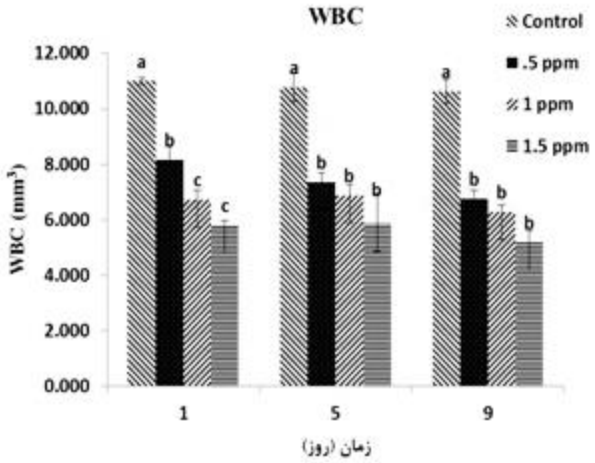
۳. نتایج

تغییرات ایجادشده در پارامترهای هماتولوژیک ماهیان قرارگرفته در معرض غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ پی‌پی‌ام از آفت‌کش دیازینون به مدت ۹ روز در نمودارهای ۱ تا ۱۲ نشان داده شده‌اند. پارامترهای هماتولوژیک RBC، هموگلوبین، هماتوکریت و WBC در گروه‌های در معرض دیازینون نسبت به گروه شاهد در هر سه زمان نمونه‌گیری دارای کاهش

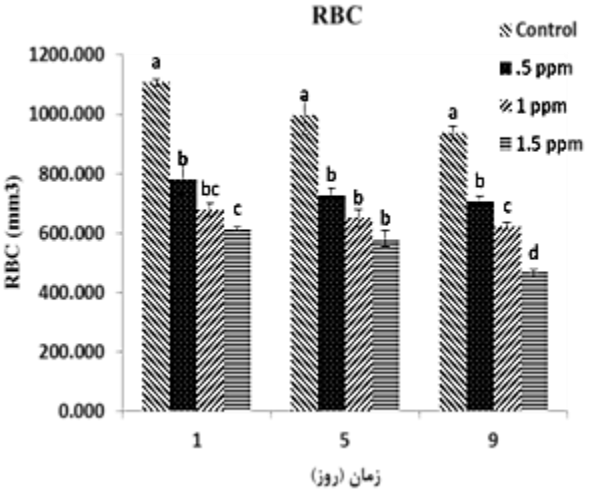
---

۱. اتیلن دی آمین ترا اسید
۲. گلبول‌های قرمز خون (Red blood cell)
۳. گلبول‌های سفید خون (White blood cell)

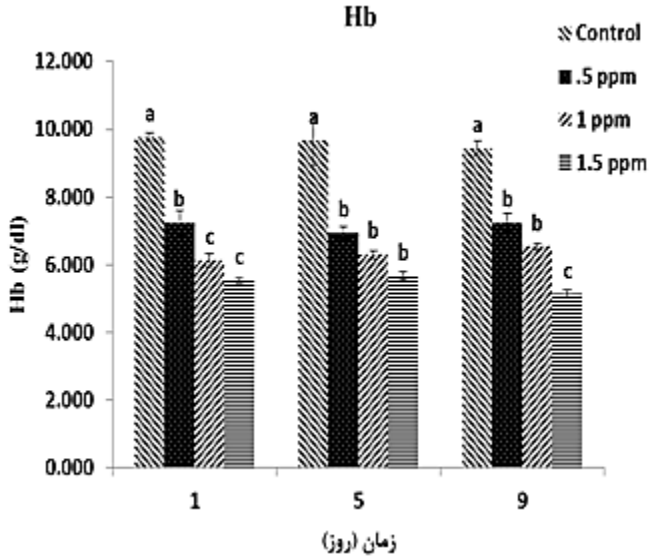
معنـی‌داری بودنـد (P≤0.05). در واقـع هـر چـه دز آفت‌کش افزایش یافـت، مقـادیر RBC، هموگلـوبین، هماتوکریت و WBC دچار کاهش شـدیدتری نسـبت به گروه کنترل شدند. MCH در روز نهم و در گروهی که در معـرض غلظـت ۱/۵ پـی‌پـی‌ام دیـازینون بـود افزایش معنی‌داری را نشان داد. در روز اول، MCV در گروه‌هایی که در معـرض دزهـای ۰/۵ و ۱ پـی‌پـی‌ام بودند به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت، اما در بررسی‌هایی که در روزهای پنجم و نهـم انجام شد تغییـرات معنـی‌داری بـین میـزان MCV در تیمارهای در معرض سم و گروه کنترل مشاهده نشد. MCHC طـی آزمـایش فاقـد تغییـرات عمـده بـود (P≥0.05).



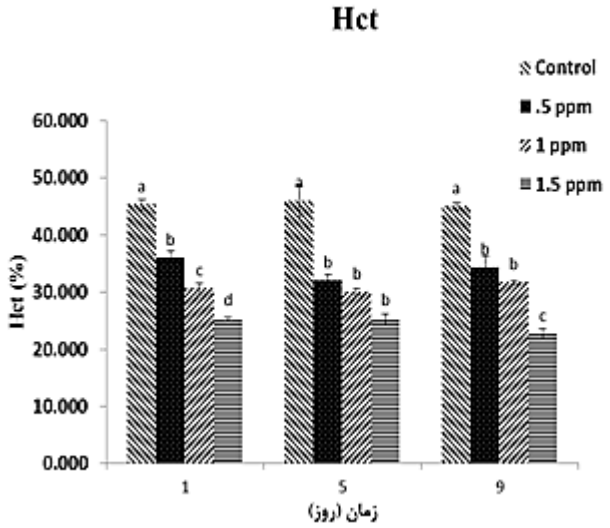
نمودار ۱. میزان هموگلوبین (WBC) ماهی *Capoeta damascina* قرارگرفته در معرض دیازینون و گروه کنترل به مدت ۹ روز. نمودار براساس SE mean است.



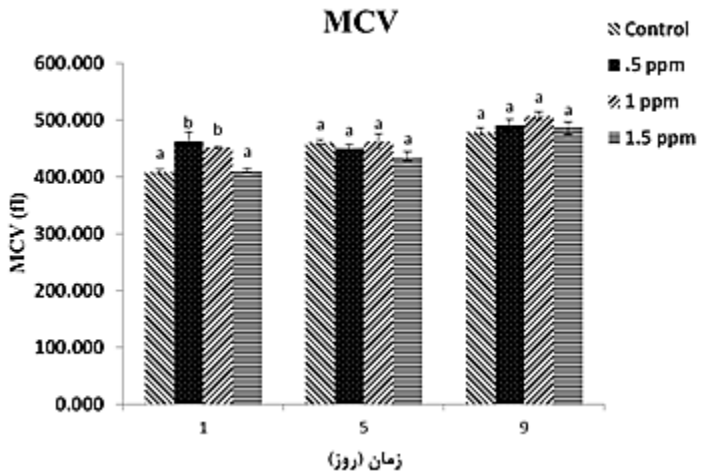
نمودار ۲. میزان هموگلوبین (RBC) ماهی *Capoeta damascina* قرارگرفته در معرض دیازینون و گروه کنترل به مدت ۹ روز. نمودار براساس SE mean است.



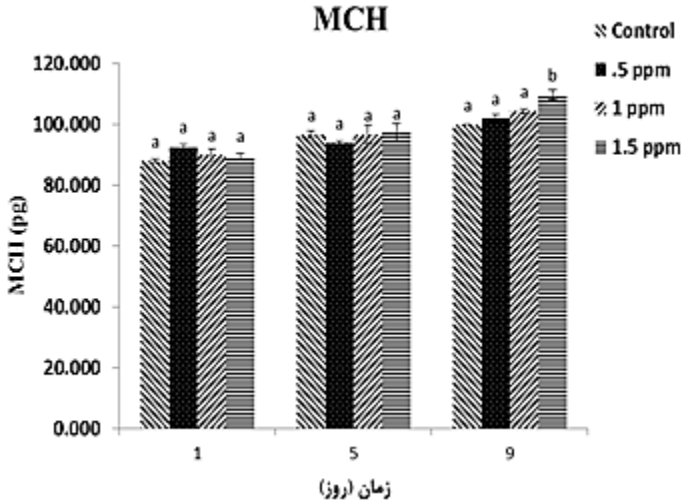
نمودار ۳. میزان هموگلوبین (Hb) ماهی *Capoeta damascina* قرارگرفته در معرض دیازینون و گروه کنترل به مدت ۹ روز. نمودار بر اساس SE mean است.



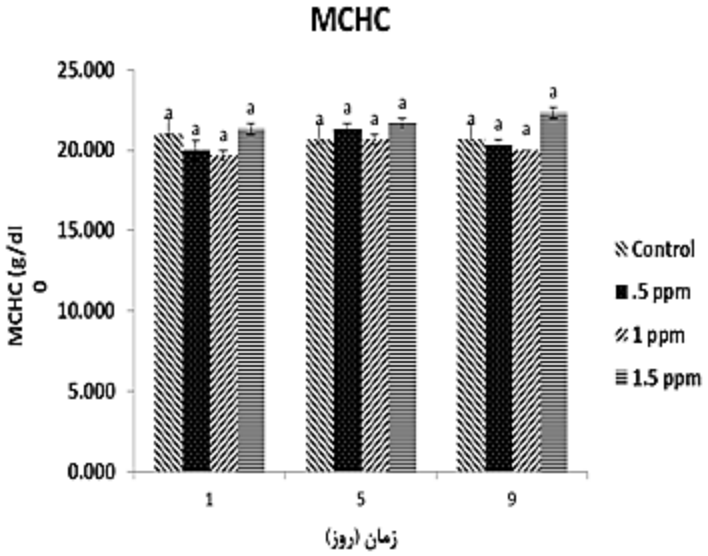
نمودار ۴. میزان هماتوکریت (Hct) ماهی *Capoeta damascina* قرارگرفته در معرض دیازینون و گروه کنترل به مدت ۹ روز. نمودار بر اساس SE mean است.



نمودار ۵. میزان MCV در ماهی *Capoeta damascina* قرارگرفته در معرض دیازینون و گروه کنترل به مدت ۹ روز. نمودار بر اساس SE mean است.

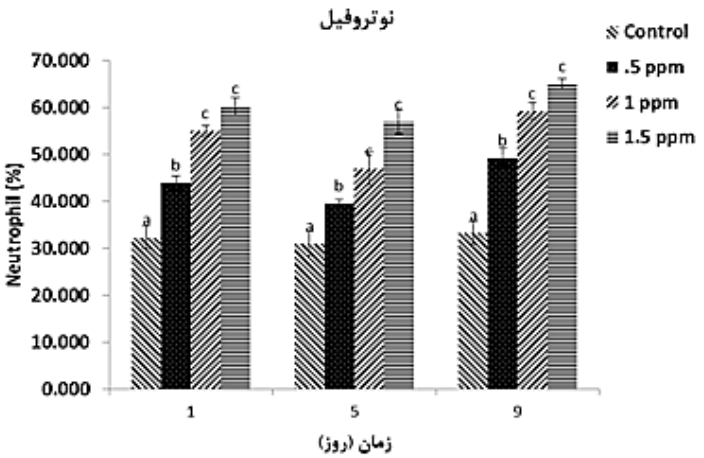


نمودار ۶. میزان MCH در ماهی *Capoeta damascina* قرارگرفته در معرض دیازینون و گروه کنترل به مدت ۹ روز. نمودار بر اساس SE mean است.

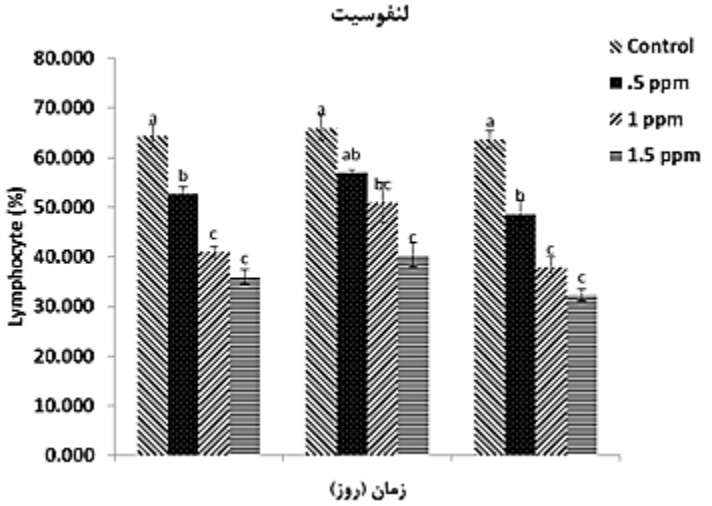


نمودار ۷. میزان MCHC در ماهی *Capoeta damascina* قرارگرفته در معرض دیازینون و گروه کنترل به مدت ۹ روز. نمودار بر اساس SE mean است.

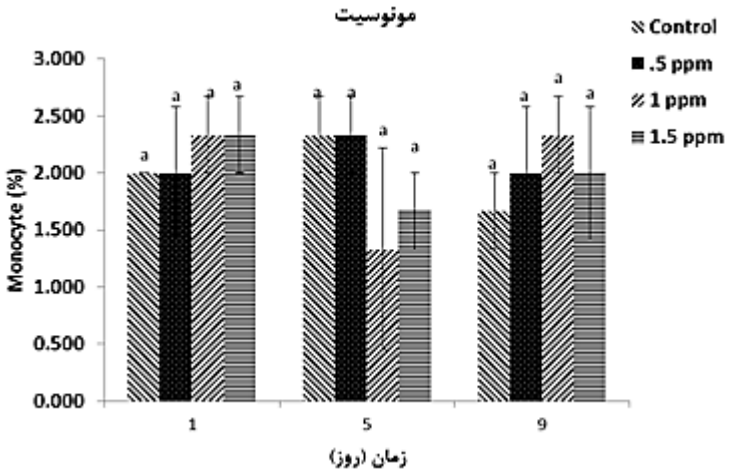
پس از شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون، در هیچ‌کدام از زمان‌ها هیچ تغییر معنی‌داری در تعداد مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها در گروه‌های قرارگرفته در معرض دیازینون نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد، اما تعداد لنفوسیت‌ها در هر بار نمونه‌گیری به صورت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دارای کاهش بود. بدین صورت که با افزایش دز دیازینون تعداد لنفوسیت‌ها کاهش یافت؛ بر خلاف لنفوسیت‌ها، تعداد نوتروفیل‌ها در همهٔ دفعات نمونه‌گیری در گروه‌های در معرض دیازینون نسبت به گروه کنترل دارای افزایش معنی‌دار بود و، با افزایش دز دیازینون، تعداد نوتروفیل‌ها نیز افزایش یافت.



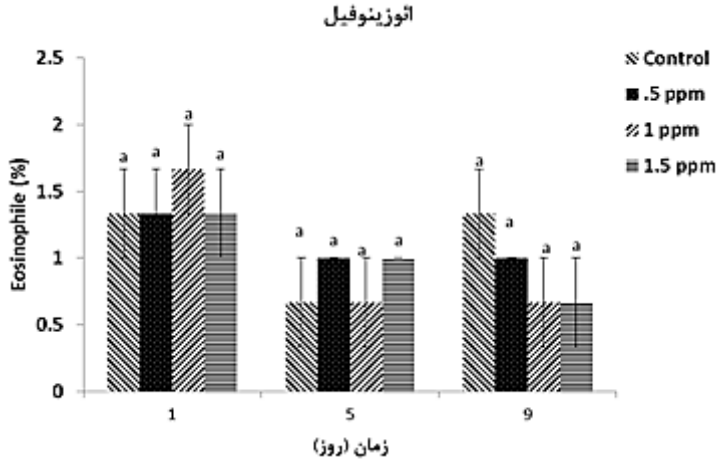
نمودار ۸. درصد نوتروفیل *Capoeta damascina* قرارگرفته در معرض دیازینون و گروه کنترل به مدت ۹ روز. نمودار بر اساس SE mean است.



نمودار ۹. درصد لنفوسیت *Capoeta damascina* قرارگرفته در معرض دیازینون و گروه کنترل به مدت ۹ روز. نمودار بر اساس SE mean است.



نمودار ۱۰. درصد مونوسیت *Capoeta damascina* قرارگرفته در معرض دیازینون و گروه کنترل به مدت ۹ روز. نمودار بر اساس SE mean است.



نمودار ۱۱. درصد ائوزینوفیل *Capoeta damascina* قرارگرفته در معرض دیازینون و گروه کنترل به مدت ۹ روز. نمودار بر اساس SE mean است.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

تعداد گلبول‌های قرمز خون، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان در معرض آفت‌کش نسبت به گروه شاهد دارای کاهش معنی‌داری بودند که این با نتایج تحقیقاتی مانند Kavitha *et al.* (2010)، که دربارهٔ کپور هندی (*Catla catla*) در معرض آرسنات انجام شد، همچنین Köprücü *et al.* (2006)، که دربارهٔ گربه‌ماهی اروپایی (*Silurus glanis*) در معرض دیازینون انجام شد، مطابقت دارد. مشاهدهٔ کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌تواند ناشی از مرگ آنها در معرض آلاینده باشد (Kudirat-Adeyemo, 2007)؛ البته بر اساس مطالعهٔ Lopez (1995) دربارهٔ *Oreochromis niloticus*، به منظور بررسی تعیین اثر pH در سمیت کادمیوم، بیان شد که رقیق‌شدن خون نیز می‌تواند عاملی برای کاهش تعداد گلبول‌های قرمز خون باشد. همچنین، Coetzee (1996) بیان کرد که استیل کولین استراز می‌تواند از طریق اختلال در استیل کولین باعث تأثیر منفی در ساختار گلبول‌های قرمز شود و ممکن است سبب ازبین‌رفتن آنها شود. البته علل دیگری نیز برای کاهش گلبول‌های قرمز ذکر شده است که از جملهٔ آنها می‌توان به تجمع گلبول‌های قرمز در آبشش ماهیان در معرض استرس ناشی از آلاینده اشاره کرد که سبب کاهش تعداد آنها در خون می‌شود (Narain and Srivastava, 1989). در نتیجه کاهش مشاهده‌شده در این مطالعه می‌تواند در اثر هر کدام از عوامل بالا باشد. کاهش گلبول‌های سفید (لوکوپنیا) در مطالعات فراوانی گزارش شده است (Khoshbavar-Rostami *et al.*, 2006; Köprücü *et al.*, 2006). تعداد گلبول‌های سفید در این مطالعه در گروه‌های در معرض دیازینون نسبت به گروه شاهد در هر سه زمان نمونه‌برداری دارای کاهش معنی‌دار بود که این نتایج مشابه نتایج تحقیقاتی است که Banaee *et al.* (2008) از مطالعهٔ اثر دیازینون در *Cyprinus carpio* و Köprücü *et al.*(2006) از مطالعهٔ اثر دیازینون در *Silurus glanis* به دست آورند. Ololade and Oginni (2010) بیان کردند که، با توجه به اینکه محل ساخت گلبول‌های سفید کلیه است، تأثیر یا تجمع آلاینده در کلیه می‌تواند سبب اختلال در فرآیند ساخت آنها شود؛ بنابراین، یکی از دلایل کاهش گلبول‌های سفید در این تحقیق را احتمالاً

بتوان به تخریب بافت کلیه نسبت داد، اما Remyla *et al.* (2008) افزایش تعداد گلبول‌های سفید را در ماهی قرارگرفته در معرض استرس گزارش و بیان کردند که موجود توانسته است سیستم ایمنی خود را در مواجهه با آلاینده تقویت کند و با شرایط سازگار شود؛ با این حال، Kavitha *et al.* (2010) بیان کردند که کاهش گلبول‌های سفید در ماهی *Catla catla* در معرض آرسنات ممکن است ناشی از بالغ‌نشدن گلبول‌های سفید در بافت‌های خونساز در ارگانیسم در معرض آلاینده باشد. میزان هموگلوبین در این مطالعه در گروه‌های در معرض دیازینون نسبت به گروه شاهد دارای کاهش معنی‌دار بود که این امر با نتیجهٔ تحقیقی که Svoboda *et al.* (2001) دربارهٔ *Cyprinus carpio*، به منظور تعیین شاخص‌های هماتولوژیک در معرض دیازینون، انجام دادند مطابقت دارد. Singh and Srivastava (2010) بیان کردند که کاهش هموگلوبین و هماتوکریت می‌تواند به سبب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز باشد. از آنجا که هموگلوبین در داخل گلبول‌های قرمز است پس اختلالات گلبول‌های قرمز می‌تواند در آن تأثیر بگذارد. برای مثال، کاهش هموگلوبین می‌تواند ناشی از پاره‌شدن گلبول قرمز باشد (Ololade and Oginni, 2010). بنابراین، آسیب گلبول‌های قرمز می‌تواند علت کاهش گلبول‌های قرمز در این مطالعه باشد، چرا که آلاینده می‌تواند از طریق خون خود را به اندام‌های مختلف برساند و ممکن است در آنها تجمع کند (Adeyemo *et al.*, 2011). البته با توجه به کاهش هموگلوبین مشاهده‌شده در مطالعه‌ای که Affonso *et al.* (2002) دربارهٔ *Colossoma macropomum* به منظور بررسی تأثیرات سولفید انجام دادند، استرس ناشی از تغذیه‌نشدن در زمان آزمایش را نیز می‌توان علتی برای تغییر در میزان هموگلوبین بیان کرد. کاهش هموگلوبین تأثیرات منفی در ماهی خواهد گذاشت چرا که منجر به کاهش انرژی تولیدی بافت‌ها به سبب کاهش نرخ متابولیک ناشی از اکسیژن‌رسانی نامناسب می‌شود (Ahmad *et al.*, 1995). هماتوکریت نیز به مانند هموگلوبین، در گروه‌های در معرض دیازینون نسبت به گروه کنترل، دارای کاهش عمده‌ای بود به طوری که Banaee *et al.* (2008) بیان کردند، عواملی که سبب کم‌شدن هماتوکریت می‌شوند همان عواملی‌اند که سبب کاهش اندازه یا تعداد گلبول‌های قرمز می‌شوند و اگر آلاینده‌ای توانایی ایجاد این تأثیرات را در گلبول‌های قرمز ارگانیسمی داشته باشد، هماتوکریت خون آن نیز کاهش می‌یابد و سنجش آن می‌تواند در تشخیص بیماری مؤثر باشد. Gill and Pant (1987) نیز بیان کردند که میزان سلول‌های ساخته‌شدهٔ اندام‌های تولیدکنندهٔ گلبول‌های قرمز، در تعیین میزان هماتوکریت تأثیر مستقیم دارند، پس می‌توان کاهش هماتوکریت در این مطالعه را به کاهش تعداد گلبول‌های قرمز یا انقباض گلبول‌های قرمز نسبت داد (Narain and Srivastava, 1989). کاهش مشاهده‌شده در تعداد لنفوسیت‌ها در این مطالعه با توجه به مطالعهٔ Barnhoorn (1996) می‌تواند به تحریک سیستم دفاعی بدن نسبت داده شود، البته افزایش ترشح کورتیکول در شرایط استرس، که یکی از هورمون‌های استروئیدی است، نیز می‌تواند علت احتمالی دیگری برای این کاهش باشد. Mazon *et al.* (2002) با بررسی پارامترهای هماتولوژیک ماهی *Prochilodus scrofa*، پس از قرارگیری در معرض مس، بیان کردند که کاهش لنفوسیت‌ها نشان‌دهندهٔ تأثیر ثانویهٔ آلاینده‌اند. وظیفهٔ نوتروفیل‌ها فاگوسیتوز عامل خارجی است (Barnhoorn, 1996)، که با توجه به این نکته که آسیب‌های بافتی و در نتیجه افزایش فعالیت آنها در

بدن می‌تواند علت افزایش آنها قلمداد شود (Mazon *et al.*, 2002) می‌توان گفت که علت افزایش نوتروفیل‌ها (نوتروفیلیا) در این مطالعه احتمالاً ناشی از آسیب بافتی است.

References

[1]. Abdoli, A., 2000. The Inland Water Fishes of Iran. Nature and Wildlife Meusume of Iran, Tehran. 376 p.

[2]. 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.

[3]. Adeyemo, O.K., Adedeji, O.B., Offor, C.C., 2011. Blood lead level as biomarker of environmental lead pollution in feral and cultured African catfish (*Clarias gariepinus*). Nigerian Veterinary Journal 31, 139-147.

[4]. 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.

[5]. Affonso, E.G., V.L.P Polezb, C.F Corrêab, A.F Mazonc, M.R.R Araújoc, G Moraesb ,Rantinc, F.T., 2002. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology 133, 375-382.

[6]. Agrahari, S., Pandey, K.C., Gopal, K., 2007 .Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch), Pesticide Biochemistry and Physiology 88, 268-272.

[7]. Ahmad, F., Ali, S.S., Shakoori, A.R., 1995. Sublethal effects of danitol (Fenpropathrin), a synthetic pyrethroid, on Chinese grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. Folia Biological-Krakow 43, 151-160.

[8]. Arjmandi, R., Tavakol, M., Shayeghi, M., 2010. Determination of organophosphorus insecticide residues in the rice paddies. International Environmental science and Technology 7, 175-82.

[9]. Arnold, J.E., 2005. Hematology of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs. Veterinary Clinical Pathology 34, 115-123.

[10]. Asadollah, S., Soofiani, N.M,. Keivany, Y., Shadkhast, M., 2011. Reproduction of *Capoeta damascina* (Valenciennes, 1842), a cyprinid fish, in Zayandeh-Roud River, Iran. Journal of Applied Ichthyology 27, 1061-1066.

[11]. Bahmani, M., Kazemi, R., Donskaya, P., 2001. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). Fish Physiology and Biochemistry 24, 135-140.

[12]. 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.

[13]. Barnhoorn, I.E.J., 1996. Effects of manganese on the haematology of *Oreochromis mossambicus* and the bioaccumulation of metals in *Labeo umbratus*. 68 p.

[14]. Coetzee, L., 1996. Bioaccumulation of metals in selected fish species and the effect of pH on aluminium toxicity in a cichlid *Oreochromis mossambicus*. 54p.

[15]. 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.

[16]. 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.

[17]. De Blaquière, G.E., Waters, L., Blain, P.G., Williams, F.M., 2000. Electrophysiological and biochemical effects of single and multiple doses of the organophosphate diazinon in the mouse. Toxicology and Applied Pharmacology 166, 81-91.

[18]. 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.

[19]. Drabkin, D.L., 1946. Spectrophotometric studies XIV. The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species. Journal of Biological Chemistry 164, 703-723.

[20]. 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.

[21]. Fisher, S.W., 1991. Changes in the toxicity of three pesticides as a function of environmental pH and temperature. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 46, 197-202.

[22]. Girón-Pérez, M.I., Santerre, A., Gonzalez-Jaime, F., Casas-Solis, J., Hernández-Coronadoa, M., Peregrina-Sandoval, J., Takemura, A., Zaitseva, G., 2007. Immunotoxicity and hepatic function evaluation in Nile tilapia *(Oreochromis niloticus)* exposed to diazinon. Fish and Shellfish Immunology 23, 760-769.

[23]. 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.

[24]. Hrubec, T.C., Cardinale, J.L., Smith, S.A., 2008. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). Veterinary Clinical Pathology 29, 7-12.

[25]. Kanazawa, J., 1978 .Bioconcentration ratio of diazinon by freshwater fish and snail. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 20, 613-617.

[26]. Kavitha, C., Malarvizhi, A., Senthil Kumaran, S., Ramesh, M., 2010. Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. Food and Chemical Toxicology 48, 2848-2854.

[27]. 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.

[28]. Köprücü, S.Ş., Köprücü, K., Ural, M.Ş., Ispir, Ü., Pala, M., 2006. Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis L.*). Pesticide Biochemistry and Physiology 86, 99-105.

[29]. Kudirat Adeyemo, O., 2007. Haematological profile of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) exposed to lead. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 7, 163-169.

[30]. Lopez, N.C., 1995. Changes in the hematological characteristics of *Oreochromis niloticus* exposed to sublethal levels of cadmium. Science Diliman 7, 22-29.

[31]. Mazon, A.F., Monteiro, E.A.S., Pinheiro, G.H.D., Fernadez, M.N., 2002. Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. Brazilian Journal of Biology 62, 621-631.

[32]. 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.

[33]. Oliveira Ribeiro, C.A., Filipak Neto, F., Mela, M., Silva, P.H., Randi, M.A.F., Rabitto, I.S., Alves Costa, J.R.M ,.Pelletier, E., 2006. Hematological findings in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead, and tributyltin chloride. Environmental Research 101, 74-80.

[34]. Ololade, I.A., Oginni, O., 2010 .Toxic stress and hematological effects of nickel on African catfish, *Clarias gariepinus*, fingerlings. Journal of Environmental and Chemical. Ecotoxiccol 22, 14-19.

[35]. Oruç, E., Usta, D., 2007. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. Environmental Toxicology and Pharmacology 23, 48-55.

[36]. Pan, G., Dutta, H.M., 1998. The Inhibition of Brain Acetylcholinesterase Activity of Juvenile Large mouth Bass *Micropterus salmoidesby* exposed to Sublethal Concentrations of Diazinon. Environmental Research 79, 133-137.

[37]. Pimpão, C.T., Zampronio, A.R., Silva de Assis, H.C., 2007. Effects of deltamethrin on hematological parameters and enzymatic activity in *Ancistrus multispinis* (Pisces, Teleostei). Pesticide Biochemistry and Physiology 88, 122-127.

[38]. Rao, J.V., 2006. Biochemical alterations in euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus* exposed to sub-lethal concentrations of an organophosphorus insecticide, monocrotophos. Chemosphere 65, 1814-1820.

[39]. 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.

[40]. Roche, H., Bogé, G., 2000. In vivo effects of phenolic compounds on blood parameters of a marine fish (*Dicentrarchus labrax*). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology 125, 345-353.

[41]. Sancho, E., Cerón, J.J., Ferrando, M.D., 2000. Cholinesterase Activity and Hematological Parameters as Biomarkers of Sublethal Molinate Exposure in *Anguilla anguilla*. Ecotoxicology and Environmental Safety 46, 81-86.

[42]. Singh, N.N., Srivastava, A.K., 2010. Haematological parameters as bioindicators of insecticide exposure in teleosts. Ecotoxicology 19, 838-854.

[43]. Svoboda, M., Luskova, V., Drastichova, J., Å½labek, V., 2001. The effect of diazinon on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio L.*). Acta Veterinaria Brno 70, 457–465

[44]. Vosylienė, M.Z., 1999. The effect of heavy metals on haematological indices of fish (survey). Acta Zoologica Lituanica 9, 76-82.