بررسی برخی شاخصه‌های خون‌شناسی تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در مواجهه با نونیل فنل

- **شیرین جمشیدی***: موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران
  گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
- **محمدرضا کلباسی‌مسجدشاهی**: گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
- **مجید صادقی‌زاده**: گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- **محمدعلی یزدانی‌ساداتی**: موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۸

چکیده

هدف تحقیق حاضر تاثیر نونیل فنل به‌عنوان مونومر یک ماده آلاینده بر تغییرات شاخص‌های خون‌شناسی تاس‌ماهی ایرانی بود. تزریق تیمارهای متفاوت ۱۰،۱ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل به نمونه ماهیان با وزن متوسط ۲۵۰ گرمی سه تکرار در سه هفته متوالی انجام شد. ۷۲ ساعت پس از تزریق آخر، از ساقه دمی نمونه‌ها خونگیری به‌عمل آمد و برخی شاخص‌های خون‌شناسی شامل تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون، شمارش افتراقی سلول‌های سفید خونی و فاکتورهای ثانویه خون‌شناسی انجام شد. پس از شمارش، پایین بودن میزان هموگلوبولین، هماتوکریت و گلبول قرمز خون نسبت به گروه شاهد، دلیل در استرس بودن جانور ارزیابی شد زیرا که کاسته شدن پروتئین هموگلوبولین، تعداد گلبول‌های قرمزخون و هماتوکریت نشان‌دهنده شرایط کم‌خونی درشرایط مواجهه با ماده آلاینده می‌باشد. تعدادکل گلبول‌های سفید خونی در تیمارها نسبت به شاهد افزایش نشان داد. در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید ائوزونوفیل در تیمارهای ۱۰ و۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل، افزایش معنی‌دار نشان داده و هم‌چنین نوتروفیل در تمامی تیمارها افزایش معنی‌دار نشان می‌دهد، لنفوسیت در تیمارهای ۱۰ و۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل افزایش معنی‌دار داشته است اما تغییر معنی‌داری در تعداد مونوسیت نسبت به گروه شاهد دیده نشد. شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی (MEH، MEV، MEHC) تغییرات معنی‌داری در جهت افزایش داشته‌اند که مطابق با افزایش تعداد سلول‌های سفید خون بوده است.

کلمات کلیدی: نونیل فنل، تاس‌ماهی ایرانی، شاخصه‌های خون‌شناسی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: jamshidi99@yahoo.com

(DOI): 10.22034/aej.2020.115502

مقدمه

تاس‌ماهیان بیش‌تر در نیم‌کره شمالی زمین زیست کرده و آنادروموس هستند یعنی برای تخم‌گذاری وارد رودخانه‌هاشده و سپس به آب لب‌شور یا دریاهای آزاد برمی‌گردند. تنها ۲۸ گونه از تاس‌ماهیان درسراسر جهان یافت می‌شوند که از این بین تنها شش گونه در دریای خزر زیست می‌کنند(Bahmani، ۱۹۹۸).همگی این‌ماهیان‌در فهرست ماهیان در معرض خطر تهدید، آسیب‌پذیر یا در معرض خطر انقراض جای‌می‌گیرند(https://www.iucn.org). تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در دریای خزر و به‌ویژه در قسمت شمالی آن یافت می‌شود، متاسفانه جمعیت‌های این ماهی امروزه به‌خاطر عوامل انسانی چون ساخت سدها،آلودگی آب‌ها و صید بی‌رویه برای‌گوشت و تولید خاویار، تحت کاهش شدید قرار گرفته است (Asadi و همکاران، ۲۰۰۶)، لذا حفظ این‌گونه ارزشمند اندمیک نیازمند درک عوامل تاثیرگذار طبیعی یا انسانی است که با دید دقیق‌تر به محیط زیست جانور و توسط اندازه‌گیری مورفولوژیک، زیست مولکولی و شیمیایی روی محیط زیست جانور و فیزیولوژی آن قابل‌ردیابی است. برخی از مواد شیمیایی موجود در محیط‌زیست که می‌توانندمشکلات شدیدفیزیولوژیک را در ماهیان ایجادنمایند و به‌طور غیرمستقیم باعث کاهش نسل آن‌ها شوند شامل سورفاکتانت‌های غیریونی ازقبیل نونیل‌فنل(مونومر شوینده‌ها)، آلکیل فنل (مونومر مواد نفتی)، بیس فنل (مونومر پلاستیک‌ها)، قارچ کش‌ها،حشره‌کش DDT،فاضلاب‌های‌صنعتی، جیوه و اتیلن استرادیول است. آلکیل فنل‌ها از جمله سورفاکتانت‌های مهم در صنعت پلاستیک سازی است و گزارش شده که آن‌ها از پلاستیک‌های مورد استفاده در صنعت و فرآیند بسته‌بندی آزاد می‌شوند و یکی از مهم‌ترین ترکیبات دررسوبات لجنی‌هستند(Ahel و همکاران،۱۹۹۴؛ Naylor و همکاران، ۱۹۹۲)، این مواد (آلکیل فنل، بیس فنل و نونیل فنل) همگی به‌عنوان مواد شبه استروژن (Xenoestrogen) مطرح می‌باشند. گزارشات حاکی از حضور ماده نونیل فنل در برخی از آب‌های داخلی ایران (Jafari و همکاران، ۲۰۰۹) و هم‌چنین دریای خزر می‌باشد (Mortazavi و همکاران، ۲۰۱۲) و لذا هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی تاثیر این ماده آلوده کننده محیط زیست دریایی روی شرایط خونی تاس‌ماهی ایرانی می‌باشد. وضعیت فیزیولوژیک خون در مواجهه جانور با استرس و آلودگی یکی از اولین و کاربردی‌ترین ابزار برای‌دستیابی به شرایطی است که جانور در آن زیست می‌کند و در تحقیقات آبزیان به‌ویژه تاس‌ماهیان (Alyakrinskyaya و Dolgova، ۱۹۸۴) کاربرد بسیاری دارد، همین‌طور بررسی تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون هم ابزار کمکی است که دید دقیق‌تری از شرایط فیزیولوژیک و سلامت جانور دراختیارانسان‌قرارمی‌دهد(Bahmani، ۱۹۹۹؛ Domezain و همکاران، ۱۹۹۹؛ Pourkazemi و همکاران، ۱۹۹۷). بنابراین تغییرات برخی شاخصه‌های خون‌شناسی در تاس‌ماهی ایرانی به‌عنوان نشانگر مواجهه با یکی از مهم‌ترین آلوده‌کننده‌های آب (نونیل فنل، مونومر مواده شوینده) مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ماهی: در این تحقیق چهار تیمار متفاوت نونیل فنل روی گروه‌های ۶ قطعه‌ای تاس‌ماهی جوان ایرانی یک‌ساله با وزن متوسط ۲۵۰گرم دربخش‌تکثیر و پرورش موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر به‌شرح زیر انجام شد. تغذیه در سه هفته تیمار به جهت تداخل مواد شبه استروژنی موجود در غذا، انجام نشد.

- تیمار نونیل فنل شامل ماهیان تزریق شده با غلظت ۱، ۱۰، ۱۰۰ میلی‌گرم‌برکیلوگرم‌وزن‌ماهی‌نونیل‌فنل(Sigma Aldrich) (سه تیمار)
- کنترل منفی شامل ماهیان تزریق نشده (یک تیمار)

هر تیمار در مخزن مجزای۵۰۰ لیتری با سه تکرار انجام پذیرفت. تزریق‌ها در روز صفر، هفتم و چهاردهم انجام شد و ۷۲ ساعت پس از آخرین تزریق نمونه خون از طریق ورید ساقه دمی و توسط سرنگ با سر سوزن شماره ۲۱ آغشته به هپارین تهیه گردید و آزمایش‌های خون‌شناسی به‌شرح ذیل برروی نمونه‌ها انجام پذیرفت.

شمارش سلول‌های قرمز (RBC) و سلول‌های سفید خونی (WBC) و هماتوکریت: شمارش سلول‌های خونی با استفاده از لام هموسیتومتر نئوبار(براساس میلی‌متر مکعب)وبارقیق‌سازی نمونه‌های خونی در محلول Dace (شامل: Brilliant cresyl blue ۰/۰۵ گرم، سیترات سدیم ۰/۱۹ گرم و فرمالدئید ۳۷ درصد ۰/۱ گرم در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر) به‌صورت دستی انجام شد. رقت انجام شده برای سلول‌های قرمز خون ۱/۲۰۰ و برای سلول‌های سفید۱/۲۰ بود.درصد هماتوکریت(Hct) توسط پرکردن لوله‌های‌مویین‌هماتوکریت و با سانتریفیوژ در دور rpm ۷۰۰۰ به‌مدت پنج دقیقه تعیین شد (Houston، ۱۹۹۰).

اندازه‌گیری فاکتورهای هموگلوبولین و درصد لنفوسیت، مونوسیت، ائوزونوفیل و نوتروفیل در سلول‌های سفید خونی: غلظت‌هموگلوبولین با استفاده از روش‌اسپکتروفوتومتری در طول موج ۵۴۰ نانومتر و روش سیان مت‌هموگلوبولین انجام شد (Hb g/dL) (Drabkin و Austin، ۱۹۳۵).درصد سهم سلول‌های خونی (لنفوسیت، مونوسیت،نوتروفیل و ائوزونوفیل)ازروی‌بررسی‌گسترش‌های‌خون‌طبق روش Houston (۱۹۹۶) انجام شد. میانگین هموگلوبولین اریتروسیتی (MEH)، میانگین غلظت‌هموگلوبولین‌اریتروسیتی (MEHC) و میانگین حجم‌متوسط‌سلول قرمز (MEV) هم طبق روابط ۳ تا ۵

(DOI): 10.22034/aej.2020.115502

به‌دست آمد (Dorafshan و همکاران، ۲۰۰۸؛ Houston و همکاران، ۱۹۹۶):

(۳) MEH (Mean erythrocytic hemoglobin):

$(pg/cell) = Hb(g/L)/RBC(10^6mL)$

(۴) MEV (Mean erythrocytic volume):

$(fl/cell) = Hct(\%).10/RBC(10^6mL)$

(۵) MEHC (Mean erythrocytic hemoglobin concentration):

$(g/dl) = Hb(g/dl)/Hct\ (\%)$

آنالیز آماری: انجام آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ انجام شد. در ابتدا برای ارزیابی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کولموگوروف-اسمیرنف استفاده شد. چون داده‌ها نرمال بودند از آنالیز One Way Anova واریانس یک‌طرفه استفاده شد. آزمون Tukey برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد. نتایج با استفاده از میانگین ± انحراف معیار نشان داده شدند.

نتایج

در نتایج آنالیزهای خون‌شناسی نشان داده شد که روند تعدادکل سلول‌های سفید خونی(WBC) در تیمارهای ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل، تغییرات معنی‌دار داشته است و افزایش یافته است ($p<0/05$) و همین‌طور براساس نتایج آماری تعداد سلول‌های قرمز خونی (RBC) اختلاف معنی‌داری در دو تیمار مذکور نشان‌داده‌اند($p<0/05$) و کم‌تر از تیمار شاهد و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی‌نونیل‌فنل بوده است. در این میان چهار نوع سلول سفید خونی (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزونوفیل) در تاس‌ماهی ایرانی شناسایی شد که در تیمارهای۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل، تعداد ائوزونوفیل افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل منفی داشته‌اند. هم‌چنین میزان نوتروفیل در تمامی تیمارهای نونیل فنل افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل منفی از خود نشان داده است ($p<0/05$). علاوه بر این شمارش افتراقی لنفوسیت‌ها نشان داد که تیمارهای ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل نسبت به گروه شاهد افزایش تعداد معنی‌دار نشان می‌دهند اما تعداد لنفوسیت در تیمار ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل معنی‌دار نبوده است ($p>0/05$)، میزان مونوسیت در تیمارهای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نشان نداد ($p>0/05$). میزان هموگلوبولین خون تاس‌ماهی ایرانی تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها نسبت به گروه شاهد از خود نشان داده است ($p<0/05$)، همین‌طور میزان هماتوکریت در تمامی تیمارهای نونیل فنل، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد بوده است. شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی MEH، MEV و MEHC که تحت تاثیر کاهش هموگلوبولین، کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت بوده است، همگی افزایش معنی‌دار داشته‌اند ($p<0/05$).

جدول۱: تاثیر تیمارهای مختلف تحقیق روی تعداد سلول‌های قرمز و سفید تاس‌ماهی ایرانی

تعداد سلول‌ها (تعداد در مترمکعب)	تزریق ۱۰۰ میلی‌لیتر بر کیلو گرم وزن بدن ماهی نونیل فنل	تزریق ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل	تزریق ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل	کنترل منفی (عدم تزریق)
سلول‌های سفید (WBC)	۱۹۱۰۵±۳۲۶۰^{b}	۲۰۳۲۳±۲۵۶۰۰^{b}	۱۶۶۵۹±۴۷۸۰^{a}	۱۳۲۷۳±۳۳۷۴^{a}
سلول‌های قرمز (RBC)	۶۱۰۵۳۰±۲۳۷۵۰^{b}	۵۲۷۲۸۴±۱۱۵۷۶^{b}	۸۱۵۴۳۲±۲۹۷۸۴^{a}	۷۹۸۴۲۴±۳۰۴۵۶^{a}

*حروف متفاوت انگلیسی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار گلبول سفید خون در تیمارهای مختلف می‌باشد.

جدول۲: تاثیر تیمارهای مختلف تحقیق روی شاخص‌های خون‌شناسی تاس‌ماهی ایرانی

متغیرها	تزریق ۱۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل	تزریق ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل	تزریق۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل	کنترل منفی (عدم تزریق)
هموگلوبولین (Hb) (g/dL)	۳/۶۵±۰/۸۵^{b}	۳/۳۶±۱/۵۳^{b}	۴/۱۵±۰/۳۹^{b}	۵/۹۷±۱/۰۹^{a}
هماتوکریت (PCV)%	۱۳/۲۶±۲/۰۸^{b}	۱۵/۷۹±۳/۶۵^{b}	۱۵/۴۳±۱/۲۸^{b}	۲۰/۶۵±۲/۰۵^{a}
MEH (lg/cell)	۶۰/۲۶±۶/۴^{b}	۵۸/۸۷±۱/۶۵^{b}	۶۲/۸۶±۲/۲۳^{b}	۸۱/۴۸±۲/۶۷^{a}
MEV (nm^3)	۳۰۱/۱۲±۲۲/۳۴^{b}	۲۹۰/۳۱±۱۳/۵۴^{b}	۲۵۵/۴۵±۲۵/۸۲^{b}	۳۹۸/۲۹±۱۲/۱۳^{a}
MEHC (g/dL)	۱۵/۶۹±۱/۹^{b}	۱۷/۶۵±۲/۰۱^{b}	۱۷/۲۳±۲/۳۴^{b}	۲۵/۲۹±۰/۹^{a}
لنفوسیت (٪)	۹۸/۲۵±۱/۹۳^{b}	۱۰۱/۱۲±۱/۸۹^{b}	۷۵/۹۸±۲/۲۳^{a}	۷۰/۰۱±۳/۶۵^{a}
مونوسیت (٪)	۲/۵±۰/۳	۲/۷±۱/۱	۲/۱±۰/۹	۲/۵±۰/۸
نوتروفیل (٪)	۲۲/۰۱±۲/۵^{b}	۱۹/۴۵±۰/۹^{b}	۱۷/۵۶±۳/۲^{b}	۱۰/۳۹±۰/۷۸^{a}
ائوزونوفیل (٪)	۵/۵۶±۱/۲^{b}	۴/۴۷±۰/۳۴^{b}	۱/۷۸±۱/۳^{a}	۱/۲۳±۰/۹۵^{a}

*حروف متفاوت انگلیسی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در تیمارهای مختلف می‌باشد.

(DOI): 10.22034/aej.2020.115502

بحث

شاخص‌های خون‌شناسی در ماهیان ممکن است تحت تاثیر عوامل داخلی مثل جنسیت، مراحل تولیدمثلی، سن و اندازه (Vosylienė، ۱۹۹۹) و عوامل خارجی مثل فصل، دمای آب، غذا، آلودگی‌های محیط زیستی و استرس متغیر و متفاوت باشند (Sharma و Shi، ۱۹۸۵؛ Ishikawa و همکاران، ۲۰۰۷)، بنابراین تحقیقات خون‌شناسی در تشخیص بیماری‌های ماهی، استرس جانور و مسمومیت و یا به‌طورکلی در ارزیابی روند زیستی ماهی و هم‌چنین توسعه کاربردی علم ماهی شناسی اهمیت زیادی یافته است. براساس تحقیقات Alyakrinskyaya و Dolgova (۱۹۸۴) روی شاخص‌های خون‌شناسی تاس‌ماهیان و با توجه به اهمیت مطالعات خون‌شناسی برای ردیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهیان خاویاری در این تحقیق سعی شد تا از برخی از شاخص‌های خونی برای درک بهتر تاثیر مواد آلوده‌کننده ازجمله ماده شبه استروژنی نونیل فنل که مونومر مواد شوینده می‌باشد، بهره گرفته شود. در تحقیق حاضر نشان داده شد که تاثیر ماده شبه استروژنی نونیل فنل برافزایش سلول‌های سفید خون نسبت به گروه کنترل منفی معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$)، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مواجهه تاس‌ماهی جوان ایرانی استرس و تحریک سیستم ایمنی درجهت افزایش تعداد سلول‌های سفید را برای ماهی فراهم آورده باشد اما آرین‌فر و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که تاثیر ماده شوینده آنیونی(شامپو) موجبات کاهش تعداد کل سلول‌های سفید شده است. مطالعات Chen و همکاران (۲۰۰۶) نشان داده است که غلظت حاد مس باعث کاهش سلول‌های سفید شده است که دلیل آن افزایش درگیری سلول‌ها درفرآیندایمنی عنوان شده‌است. Madhu و Pooja (۲۰۱۵) نشان دادند که تمام فاکتورهایی مثل هموگلوبولین، گلبول‌های قرمز خون، هماتوکریت و MEH، MEV وMEHC در مواجهه با نونیل فنل کاهش پیدا کرده است و میزان گلبول‌های سفید خون افزایش یافته است که این نتایج منطبق بر تحقیق حاضر بوده است.

همین‌طور Mishra و Poodar (۲۰۱۳) تاثیر ضایعات فنلی را روی ماهی گربه ماهی *Channa punctatus* و فاکتورهای خون‌شناسی این ماهی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که این ترکیبات موجب افزایش سلول‌های سفید خونی شده‌اند که به‌علت برانگیخته شدن سیستم دفاعی جانور بوده است. Reebs (۲۰۰۹) نشان داد که ماهیانی که در شرایط اکسیژنی پایین‌تر زندگی می‌کنند، گلبول قرمز بیش‌تر، هموگلوبولین و هماتوکریت بالاتر دارند. در تاس‌ماهی ایرانی، Bahmani و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که افزایش سن موجبات افزایش تعداد سلول‌های قرمز خون و سلول‌های سفید را فراهم می‌آورد اما در سنین بالاتر این روند کاهش پیدا کرده و حالت ثابت به خود می‌گیرد اما جوان بودن ماهیان مورد آزمایش در این تحقیق مستثنی از قاعده مذکور بوده است. Gong و همکاران (۲۰۰۹) تاثیر نونیل فنل را در آپوپتوز سلول‌های سرتولی در بیضه موش مشاهده کردند. Mekkawy و همکاران (۲۰۱۱) تاثیر نونیل فنل روی شاخص‌های خون‌شناسی گربه‌ماهی (*Clarias gariepinus*) مورد آزمون قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که این ماده سمیت ژنتیکی در سلول‌ها ایجاد کرده که موجب تغییر شکل و بدشکلی سلول‌های خونی و تعداد آن‌ها شده است. Hager Tarek و همکاران (۲۰۱۶) تاثیر نونیل فنل روی شاخص‌های خون‌شناسی، هورمونی و بیوشیمیایی خون تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) را مورد آزمون قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که این ماده یک ماده آلاینده سمی است که تاثیر مخرب روی سلامتی و تولیدمثل ماهی دارد و اگر در عضله ماهی تجمع پیدا کند ممکن است با مصرف توسط انسان، سلامتی انسان را نیز به خطر اندازد. در تحقیق حاضر افزایش سلول‌های سفید خون به جهت تیمارهای ماده نونیل فنل باعث افزایش کل سلول‌های سفید خون و همین‌طور باعث افزایش نوتروفیل و ائوزونوفیل شده است. دلیل افزایش لکوسیت‌ها را می‌توان به نقش آن‌ها در حذف بقایای سلولی نکروز شده در اثر مواجه شدن موجود با ماده سمی نسبت داد (John، ۲۰۰۷). Singh و همکاران (۲۰۰۱) عنوان کردند که دلیل کاهش میزان کل گلبول سفید خون به‌علت تاثیر ماده شوینده بر قابلیت دوام غشای سلول‌های سفید می‌باشد. اما Stoskopf (۱۹۹۳)، افزایش میزان نوتروفیل و ائوزونوفیل را به جهت ترشح مواد لیزوزیمی مربوط دانسته است که جز فعالیت دفاعی غیراختصاصی ایمنی در ماهی می‌باشد. در این تحقیق نیز ماهی افزایش معنی‌دار نوتروفیل در تمامی تیمارهای ماده مونومر شوینده (نونیل فنل) و افزایش معنی‌دار ائوزونوفیل در تیمارهای دوز بالای ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نونیل فنل را از خود نشان داده است که می‌تواند گویای تقابل شرایط فیزیولوژیک جانور در مواجهه با ماده آلاینده باشد. Swift (۱۹۸۱ و ۲۰۰۷)، Gabriel و همکاران (۲۰۰۴)، تاثیر استرس را بر تغییر هموگلوبولین، هماتوکریت و گلبول قرمز خون در ماهی قزل‌آلا گزارش کردند که علت چنین امری مربوط به حمل اکسیژن بالاتر در شرایط استرس می باشد تا ماهی بتواند شرایط استرس‌زا را تحمل کند، چون هموگلوبولین در اصل پروتئین گلبول خونی است و به‌همراه گلبول خون و تعداد گلبول خونی در هماتوکریت، همگی در حمل اکسیژن در بدن نقش دارند و افزایش آن‌ها در واقع کمک به افزایش حمل اکسیژن خون می‌باشد. در تحقیق حاضر کاهش فاکتورهای هموگلوبولین، هماتوکریت و گلبول قرمز به جهت تاثیر استرس درجهت کم خونی و کاهش سلول‌های حمل کننده استرس بوده است زیرا نونیل فنل چون

(DOI): 10.22034/aej.2020.115502

دترجنت می‌باشد می‌تواند اثر تخریبی بر سلول‌های قرمز و مولکول هموگلوبین گذاشته و موجبات تخریب آن‌ها را فراهم آورد.

در تحقیق حاضر اثر آلایندگی مونومر شوینده‌ها (نونیل فنل) بر روی شاخص‌های خون‌شناسی بررسی شد و نتایج مبنی بر اثر این ماده بر روی کاهش فاکتورهای خونی هم‌چون گلبول قرمز، هموگلوبولین، هماتوکریت و شاخص های ثانویه MEH، MEV وMEHC بوده است و این کاهش نشان داد که نونیل فنل شرایط کم خونی را برای تاس‌ماهی ایرانی حتی در مدت زمان کوتاه در معرض بودن (سه هفته) داشته است. هم‌چنین افزایش گلبول‌های سفید خون نشان‌دهنده قرار گیری جانور در شرایط استرسی می‌باشد که منجر به واکنش ایمنی و تولید گلبول سفید شده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تغییرات شاخص‌های خون‌شناسی می‌تواند نشانگر مناسبی در زمان مواجهه با آلاینده باشد و در تاس‌ماهی ایرانی قابلیت استفاده برای بررسی تاثیر آلاینده را دارد.

تشکر و قدردانی

از بخش تکثیر و پرورش موسسه بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر به جهت همکاری در دوره پرورش تاس‌ماهی ایرانی و آزمایشگاه شیلات دانشکده علوم دریایی نور و آزمایشگاه ژنتیک دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس به جهت همکاری در انجام کار و بررسی لام‌ها تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

۱. **آرین‌فر، ف.؛ ابدالی، س.؛ سادات‌صادقی، م. و حلاجیان، ع.، ۱۳۹۲.** مطالعه اثرات شوینده آنیونی (شامپو) بر پارامترهای خونی بچه تاس‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) پرورشی. فصلنامه علمی پژوهشی اکوبیولوژی تالاب، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. سال ۵، شماره ۱۸، صفحات ۳۳ تا ۴۴.

۲. **سوری‌نژاد، ا.؛ کلباسی، م.ر. و سلطان‌کریمی، س.، ۱۳۸۶.** بررسی تاثیر القا تریپلوئیدی بر تغییرات برخی شاخص‌های خون شناسی ماهیان تمام ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در فصل زمستان. مجله ژنتیک نوین. دوره ۲، شماره ۲، صفحات ۵۱ تا ۵۸.

۳. **Ahel, M.; Giger, W. and Koch, M., 1994.** Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-I. Occurrence and transformation in sewage treatment. Water Research. Vol. 28, No. 5, pp: 1131-1142.

۴. **Alyakrinskyaya, I. and Dolgova, S., 1984.** Hematological features of young sturgeons. Vopr Ikhtiol. Vol. 4, pp: 135-139.

۵. **Asadi, F.; Masoudifard, M.; Vajhi, A.; Lee, K.; Pourkabir, M. and Khazraeinia, P., 2006.** Serum biochemical parameters of Acipenser persicus. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 32, No. 1, pp: 43-47.

۶. **Bahmani, M., 1998.** Phylogenic and systematic study on sturgeons. Iranian scientific fisheries journal. Vol. 7, No. 2, pp: 9-30.

۷. **Bahmani, M.; Kazemi, R. and Donskaya, P., 2001.** A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 24, No. 2, pp: 135-140.

۸. **Bahmani, M.; Oryan, S.; Pourkazemi, M. and Vosoughi, G., 1999.** Effects of ecophysiological stress on cellular immunity system of Persian sturgeon *Acipenser persicus*, 14th Iranian Congress of Physiology and Pharmacology. pp: 16-20.

۹. **Chen, Z.; Meng, H.; Xing, G.; Chen, C.; Zhao, Y.; Jia, G.; Wang, T.; Yuan, H.; Ye, C. and Zhao, F., 2006.** Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. Toxicology letters. Vol. 163, No. 2, pp: 109-120.

۱۰. **Domezain, A.; García-Gallego, M.; Domezain, J. and Sanz, A., 1999.** Evolution during growth of the biometry and the blood constants of Adriatic sturgeon, *Acipenser naccarii*. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 15, No. 4-5, pp: 337-338.

۱۱. **Dorafshan, S.; Kalbassi, M.R.; Pourkazemi, M. and Mojazi Amiri, B., 2008.** Effects of triploidy on the Caspian salmon, ***Salmo trutta caspius*** haematology. Fish Physiol Biochem. Vol. 34, pp: 195-200.

۱۲. **Drabkin, D.L. and Austin, J.H., 1935.** Spectrophotometric studies II. Preparations from washed blood cells; nitric oxide hemoglobin and sulfhemoglobin. Journal of Biological Chemistry. Vol. 112, No. 1, pp: 51-65.

۱۳. **Gabriel, U.; Ezeri, G. and Opabunmi, O., 2004.** Influence of sex, source, health status and acclimation on the haematology of *Clarias gariepinus* (Burch, 1822). African Journal of Biotechnology. Vol. 3, No. 9, pp: 463-467.

۱۴. **Gong, Y. and Han, X.D., 2006.** Nonylphenol-induced oxidative stress and cytotoxicity in testicular Sertoli cells. Reprod Toxicol. Vol. 22, pp: 623-630.

۱۵. **Hager, T.; Ismail1, H.; Heba, H. and Mahboub, H., 2016.** Effect of acute exposure to nonylphenol on biochemical, hormonal, and hematological parameters and muscle tissues residues of Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*. Vet World. Vol. 9, No. 6, pp: 616-625.

۱۶. **Houston, A.; Dobric, N. and Kahurananga, R., 1996.** The nature of hematological response in fish. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 15, No. 4, pp: 339-347.

۱۷. **Ishikawa, N.M.; Ranzani-Paiva, M.J.T.; Lombardi, J.V. and Ferreira, C.M., 2007.** Hematological parameters in Nile Tilápia, *Oreochromis niloticus* exposed to sub-letal concentrations of mercury. Brazilian archives of biology and technology. Vol. 50, No. 4, pp: 619-626.

۱۸. **Jafari, A.; Abasabad, R. and Salehzadeh, A., 2009.** Endocrine disrupting contaminants in water resources and sewage in Hamadan City of Iran. Journal of Environmental Health Science & Engineering. Vol. 6, No. 2, pp: 89-96.

۱۹. **John, P.J., 2007.** Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to Metasystox and Sevin. Fish Physiol. Biochem. Vol. 33, pp: 15-20.

۲۰. **Luskova, V., 1995.** Determination of normal values in fish hematology. Acta-Universitatis Carolinae Biologica. Vol. 39, pp: 191-200.

(DOI): 10.22034/aej.2020.115502

۲۱. **Madhu, S. and Pooja, C., 2015.** Acute toxicity of 4-nonylphenol on haemotological profile of fresh water fish *Channa punctatus*. Research Journal of Recent Sciences. Vol. 2277, pp: 2502.

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

۲۳. **Mishra, A. and Poddar, A., 2013.** Haematology of freshwater Murrel (*Channa punctatus* Bloch), exposed to phenolic industrial wastes of the Bhilai steel plant (Chhattisgarh, India). Int. J. Sci. Eng. Res. Vol. 4, pp: 1866-1883.

۲۴. **Mortazavi, S.; Bakhtiari, A.R.; Sari, A.E.; Bahramifar, N. and Rahbarizade, F., 2012.** Phenolic endocrine disrupting chemicals (EDCs) in Anzali Wetland, Iran: Elevated concentrations of 4-nonylphenol, octhylphenol and bisphenol A. Marine Pollution Bulletin. Vol. 64, No. 5, pp: 1067-1073.

۲۵. **Naylor, C.G.; Mieure, J.P.; Adams, W.J.; Weeks, J.A.; Castaldi, F.J.; Ogle, L.D. and Romano, R.R., 1992.** Alkylphenol ethoxylates in the environment. Journal of the American Oil Chemists' Society. Vol. 69, No. 7, pp: 695-703.

۲۶. **Pourkazemi, M.; Bahmani, M.; Parvaneh, A.; Yusefiyan, M.; Amini, K.; Vahabi, Y.; Geraskin, P.; Metalov, G.; Romanov, A. and Aksiuinov, V., 1997.** Report on the study on physiological principles in the selection of broodfish for restocking stellate sturgeon, *A. stellatus*. International Sturgeon Research Institute (in Persian), Rasht, Iran. pp. 695-703.

۲۷. **Reebs, S.G., 2009.** Oxygen and fish behaviour. Universite de Moncton. Canada. 320 p.

۲۸. **Sharma, T.J. and Shi, B.D., 1985.** Effects of asphyxiation on some hematologic values of *Noemacheilus cupicula*. International Journal of Academic of Ichthyology. Vol. 6, pp: 1-2.

۲۹. **Singh, N. and Srivastava, A., 1994.** Formothion induced haematological changes in the freshwater Indian catfish *Heteropneustes fossilis*. Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring. Vol. 4, No. 2, pp: 137-140.

۳۰. **Stoskopf, M., 1993.** Clinical physiology, Philadelphia: WB Saunders Co. pp: 48-57.

۳۱. **Swift, D., 1981.** Changes in selected blood component concentrations of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, exposed to hypoxia or sublethal concentrations of phenol or ammonia. Journal of Fish Biology. Vol. 19, No. 1, pp: 45-61.

۳۲. **Vosylienė, M.Z., 1999.** The effect of heavy metals on haematological indices of fish (survey). Acta Zoologica Lituanica. Vol. 9, No. 2, pp: 76-82.

(DOI): 10.22034/aej.2020.115502

Scientific Research Journal of Animal Environment Vol. 12, No. 3, Autumn 2020

Investigation some haematological indices of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) exposed with nonylphenol

- **Shirin Jamshidi*:** International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
  Department of Aquaculture, Marine Science Faculty, Tarbiat Modares University, Mazandaran, Noor, Iran
- **Mohammad Reza Kalbasi Masjedshahi:** Department of Aquaculture, Marine Science Faculty, Tarbiat Modares University, Mazandaran, Noor, Iran
- **Majid Sadeghizadeh:** Department of Genetics, Faculty of Bio Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
- **Mohammad Ali Yazdani Sadati:** International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

Received: July 2019 Accepted: October 2019

Keyword: Nonylphenol, Persian sturgeon, Hematological parameters

Abstract

The purpose of the present study was to investigate the effect of nonylphenol as a monomer of a pollutant on Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) hematological parameters changes. Injections of different treatments of 1.10 and 100 mg/kg body weight of fish nonylphenol were carried out in sample fish with a mean weight of 250 grams and injections repeated three times in three consecutive weeks. After 72 hours of the last injection, taking blood samples, some hematological indices including white and red blood cells, differential white blood cell count, and secondary hematologic factors were analyzed. After counting, the low levels of hemoglobin, hematocrit and red blood cells in the treated group compared to the control group were considered the reason for exposing the animal to the stress, because diminished hemoglobin protein, red blood cell count and hematocrit indicate the condition of anemia under conditions of exposure to the contaminating substance. The total number of white blood cells in the treatments increased compared with the control. The differential count of eosinophil white blood cells in the treatments of 10 and 100 mg nonylphenol per kg body weight of fish showed a significant increase and also neutrophil significantly increased in all treatments. Lymphocyte significantly increased in treatments of 10 and 100 mg nonylphenol per kg body weight of fish, but there was no significant change in monocyte count compared to the control group. Secondary hematologic indices (MEH, MEV and MEHC) have significant changes in direction were observed, consistent with an increase in white blood cells numbers.

* Corresponding Author's email: jamshidi99@yahoo.com