

تأثیر پرتو گاما بر رشد و بقا تخم و برخی فاکتورهای خونی لارو ماهی قزل آلائی

رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

- **غلامرضا شاه‌حسینی:** گروه دامپزشکی، علوم دامی و آبزیان، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی، کرج، صندوق پستی: ۱۳۴۶۵-۱۴۹۸
- **امین اوجی فرد*:** گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس بوشهر، برازجان
- **رقیه امیری:** گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس بوشهر، برازجان
- **جمشید امیری مقدم:** پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی، کرج، صندوق پستی: ۱۳۴۶۵-۱۴۹۸

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۳

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پرتو گاما بر رشد و فاکتورهای خونی لارو ماهی قزل‌آلا رنگین کمان بود. در این تحقیق، تخم ماهی قزل‌آلائی رنگین کمان با در معرض دزهای پایین (۱، ۲/۵ و ۵ گری) و بالای (۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ گری) از پرتو گاما قرار گرفتند. پس از ۹۰ روز، رشد و بقا تخم و شاخص‌های خونی لاروها بررسی شد. نتایج نشان‌دهنده تأثیرات منفی پرتو گاما بود، به طوری که افزایش میزان پرتو سبب کاهش معنی‌داری در میزان رشد و بقای تمامی تیمارها شد. تخم‌های در معرض دز ۴۰ گری پرتو گاما، تماماً از بین رفتند. بیش‌ترین میزان رشد و بقا در تیمار شاهد به‌دست آمد و افزایش میزان پرتو سبب کاهش معنی‌دار، شاخص‌های مذکور شد. با افزایش میزان پرتو روند کاهش در شاخص‌های خون مشاهده شد. در کلیه تیمارها، میزان RBC (تعداد گلبول قرمز)، Hct (هماتوکریت) و Hb (هموگلوبین) با افزایش میزان پرتو کاهش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$) در حالی که میزان MCV (میانگین حجم یک گلبول قرمز) و MCH (میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز) تغییری نکرد. هم‌چنین میزان سفید (WBC)، لنفوسیت و مونوسیت کاهش یافت که این کاهش معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). نتایج نشان داد که پرتو گاما عاملی بالقوه در تخریب سلول‌ها بوده و در نتیجه موجب کاهش رشد و بقای تخم و فاکتورهای خونی لارو ماهی قزل‌آلائی رنگین کمان می‌شود.

کلمات کلیدی: بقا، پرتو گاما، رشد، قزل‌آلائی رنگین کمان، هماتولوژی



مقدمه

طریق جریان خون منتقل می‌گردد. هموگلوبین‌ها به‌طور مستقیم در تماس با گلبول‌های قرمزی هستند که دارای اثرات سمی می‌باشند (Ruas و همکاران، ۲۰۰۸) تاثیرات پرتوهای یون ساز بر روی ارگانسیم‌ها، پستانداران و پرندگان به‌طور مفصل مورد بررسی قرار گرفته است اما اطلاعات در ارتباط با اثرات پرتو گاما بر روی ماهی‌ها ناچیز است (Falis و همکاران، ۲۰۰۴؛ Benova و همکاران، ۲۰۰۳؛ Skardova و همکاران، ۱۹۹۴). در مطالعه‌ای که توسط Eldon و Edmundson (۱۹۷۶) انجام شد، ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌وسیله دزهای مختلف پرتو گاما تا ۱۰۰۰ R پرتو دمی شده و سپس در درجه حرارت‌های مختلف به مدت ۴ هفته پرورش یافتند که نتایج حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار شاخص‌های رشد در بین تیمارها بود. در تحقیق دیگری Welander و همکاران (۱۹۴۸) تخم چشم‌زده ماهی آزاد چینیوک (Chinook salmon) را تحت تاثیر پرتو ایکس قرار دادند و مشاهده کردند که در دز ۱۰ گری سرعت هج افزایش می‌یابد اما ۵۰٪ از تخم‌های هج شده ۱۲۵ روز بعد از هج از بین رفتند.

در نتیجه با توجه به صنعتی شدن کشورها و افزایش تاثیر انسان‌ها بر محیط زیست و از طرفی افزایش مواد رادیواکتیو چه به‌صورت طبیعی و چه مصنوعی، بررسی اثر دزهای متفاوت پرتو گاما بر موجودات آبی به‌ویژه ماهی که یکی از منابع مهم غذایی انسان‌ها است ضروری می‌نماید.

مواد و روش‌ها

محل اجرا و روش آزمایش: این تحقیق در تابستان ۱۳۹۲ در مجتمع آزمایشگاهی تحقیقات هسته‌ای آذربایجان در پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای وابسته به پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای کرج انجام گرفت. تعداد ۶۳۰ قطعه تخم چشم‌زده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مراحل نهایی قبل از تفریح (در ۳ تکرار) انتخاب و در معرض دزهای پایین (۱، ۲/۵ و ۵ گری) و بالای (۱۰، ۲۰ و ۴۰ گری) پرتو گاما قرار گرفتند. سپس جهت طی مراحل تکاملی به بخش پرورش لارو مجتمع تحقیقات هسته‌ای آذربایجان بازگردانده شدند و ابتدا درون ترف‌های پرورش آزاد ماهیان و سپس در تانک‌های ۱۰۰ لیتری به تعداد ۳۰ عدد در هر تانک قرار گرفتند. در این پژوهش از ۷ تیمار با ۳ تکرار استفاده شد. هوادهی تانک‌های پرورش ماهی با یک پمپ هواده، ۲۴ ساعته انجام شد و سیفون تانک‌ها و شمارش تلفات لاروها به‌صورت روزانه مورد بررسی قرار می‌گرفت. در

مواد پرتوزا در آب و هوا پراکنده بوده و از طریق زنجیره‌های غذایی بر سلامت انسان تاثیر می‌گذارند. پاسخ موجودات به تابش نه تنها به گونه بلکه به سن، جنس، وضعیت تغذیه و سلامت آن‌ها بستگی دارد. در طبیعت مواد رادیواکتیو هم به‌صورت طبیعی و هم مصنوعی وجود دارد که مواد رادیواکتیویته طبیعی از تشعشعات کیهانی و دیگر منابع طبیعی به‌وجود می‌آید و میزان و آثار سوء آن‌ها، در مقایسه با مواد رادیواکتیو مصنوعی که ناشی از فعالیت‌های انسانی است، ناچیز می‌باشد (Falis و همکاران، ۲۰۰۴). تولید مواد پرتوزا با افزایش تقاضای تولید انرژی و گسترش صنایع هسته‌ای افزایش یافته است (IAEA، ۲۰۰۷). از اوایل دهه ۱۹۶۰، مطالعات متعددی در رابطه با اثرات پرتو گاما بر اکوسیستم انجام شد (Stalter و Kincaid، ۲۰۰۹). پرتوهای یونیزان از جمله پرتو گاما به‌دلیل انرژی بالا، قابلیت یونیزه کردن بافت‌های بدن موجودات را داشته و اثرات تخریبی این پرتوها نیز به‌همین دلیل است (Schmitz و همکاران، ۲۰۰۳؛ Chaubey و همکاران، ۲۰۰۱). در نتیجه افزایش مواد پرتوزا در محیط زیست می‌تواند از طریق زنجیره غذایی منجر به آسیب در موجودات زنده و انسان گردد. هم‌چنین این مواد می‌توانند در محیط‌های آبی ذخیره شده و توسط گونه‌های مختلف ماهی جذب شوند (Jeffrey و همکاران، ۲۰۰۷؛ Brown و همکاران، ۱۹۹۶؛ Dobrovolsky و Lyalko، ۱۹۹۵). موجودات آبی، تشعشعات خارجی را از آب و رسوبات و تشعشعات داخلی را از رادیونوکلیدهای موجود، از طریق پوست و اندام تنفسی جذب می‌کنند (Kilemade و Mothersill، ۲۰۰۱؛ Iger و همکاران، ۱۹۹۴). اثرات قرار گرفتن در معرض پرتو ایکس و گاما در سلول‌های یک ارگانسیم سبب انتقال انرژی از منبع تابش به یک یا چند الکترون مداری در درون سلول‌ها می‌شود. آسیب در سطح سلول‌ها بستگی به تاثیر بافت‌ها، اندام‌ها، سیستم‌های بدن و در نهایت سلامت ارگانسیم دارد مگر این‌که سلول‌ها توانایی ترمیم داشته باشند (Wyffels و همکاران، ۲۰۰۷). پرتو گاما سبب آسیب‌هایی به DNA می‌شود و اثرات مرگبار در آن‌ها بستگی به فرآیندهای بازسازی در DNA دارد (Minouflet و همکاران، ۲۰۰۵). DNA گلبول‌قرمز ماهی، به پرتو گاما حساس بوده و باعث تولید اکسیژن فعال (reactive oxygen species) می‌شود. گلبول‌های قرمز حمل اکسیژن را از طریق هموگلوبین انجام می‌دهند، در نتیجه اگر سموم به وسیله آن‌ها جذب شود از



جدول ۲: مدت زمان پرتودهی در تیمارهای مختلف

مدت پرتودهی (دقیقه)	دزها (گری)
۶	۱
۱۵	۲/۵
۳۰	۵
۶۰	۱۰
۱۲۰	۲۰
۲۴۰	۴۰

اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیکی آب: در طول

مدت آزمایش سنجش خصوصیات فیزیولوژیکی آب از قبیل درجه حرارت (با دماسنج جیوه‌ای)، اکسیژن محلول با (اکسیژن متر) به صورت روزانه و آمونیاک، نیتريت، نیتريت توسط دستگاه فتومترپلین‌تست، pH با (pH متر) و EC توسط دستگاه مولتی شاخص Eutech به صورت ۲ هفته یکبار انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل فاکتورهای رشد: پس از اتمام دوره

پرورش درصد بقا (Survival) ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب رشد ویژه (SGR)، فاکتور وضعیت (CF) و نرخ بازده پروتئین (PER) از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Misra و همکاران، ۲۰۰۶).

درصد بقا	(% Survival)
ضریب تبدیل غذایی	(Feed Conversion Rate)
ضریب رشد ویژه	(Specific Growth Rate)
فاکتور وضعیت	(Condition Factor)
نرخ بازده پروتئین	(Protein Efficiency Rate)

لوله هماتوکریت از خون منعقد نشده پر شد و بعد لوله‌ای هماتوکریت درون دستگاه سانتریفوژ میکروهماتوکریت قرار داده شد و پس از سپری شدن ۳ دقیقه با دور ۱۳۰۰ rpm مقدار هماتوکریت به وسیله صفحه مدرج مخصوص قرائت گردید (Ruas و همکاران، ۲۰۰۸). مقدار هموگلوبین (HB) از روش سیانمت هموگلوبین (Cyanmet hemoglobin) با استفاده از طول موج ۵۴۰ نانومتر سنجیده شد (Blaxhall و Daisley، ۱۹۷۳). تعداد گلبول‌های سفید (WBC) با استفاده از لام نتوبار بعد از رقیق‌سازی خون منعقد نشده با محلول ریس (رقت ۱/۵۰) شمارش شد. از ۴ مربع کناری لام نتوبار برای شمارش گلبول سفید استفاده و عدد به دست آمده در ۵۰ ضرب شد. تعداد

اوایل (بعد از جذب کیسه زرده) غذاهای ۵ بار در روز و بعد از مرحله انگشت‌قندی غذاهای در دو نوبت (۱۰ صبح و ۲ بعد از ظهر) در حد سیری (اشباع) صورت گرفت و با جیره تجاری قزل‌آلا (شرکت ۲۱ بیضاء) تغذیه شدند (جدول ۱). آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به مدت ۹۰ روز انجام شد.

جدول ۱: تجزیه تقریبی جیره مورد استفاده برای تغذیه لارو

اجزا جیره	درصد
پروتئین	۵۲
چربی	۱۲/۵
فیبر	۱/۵
رطوبت	۱۰
فسفر	۱
انرژی قابل هضم (کیلو کالری بر کیلوگرم)	۴۳۰۰

پرتودهی: پرتودهی توسط دستگاه پرتوده کبالت ۶۰

(Russia Gammacell PX-30-ISSIE, Dose rate: 0.15 Gy/Sec.) از فاصله ۸۰ سانتی‌متری انجام گرفت. تخم‌های چشم‌زده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در معرض دزهای پایین (۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ گری) و بالای (۱۰، ۲۰، ۴۰ گری) پرتو گاما قرار گرفتند. مدت پرتودهی طبق جدول (۲) انجام گرفت.

$$SR (\%) = 100 \times (\text{تعداد ماهی ابتدای دوره} / \text{تعداد ماهی انتهای دوره})$$

$$FCR = \text{افزایش وزن بدن (گرم)} / \text{مقدار غذای خورده شده (گرم)}$$

$$SGR = 100 \times [\text{تعداد روزهای پرورش} / \text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه} - \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی}]$$

$$CF = 100 \times \text{طول} / \text{وزن تر}$$

$$PER = \text{پروتئین مصرفی (گرم)} / \text{وزن تر تولید شده (گرم)}$$

بررسی شاخص‌های خونی: بعد از پایان دوره ۹۰ روزه

پرورش، به منظور سنجش شاخص‌های هماتولوژی، تعداد ۳ عدد ماهی از هر تکرار به طور تصادفی صید گردید. بدین منظور پس از بی‌هوش نمودن ماهی‌ها با ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر پودر گل میخک (Velisek و همکاران، ۲۰۰۵)، خون‌گیری از شریان دمی با قطع ساقه دمی انجام گرفت. سپس برای تعیین شاخص‌های خون‌شناسی، خون به درون میکروتیوب‌های حاوی هیپارین (به عنوان ماده ضد انعقاد) انتقال داده شد. برای اندازه‌گیری فاکتورهای خونی به ترتیب ذیل عمل شد:

برای تعیین مقدار هماتوکریت (HCT) از روش میکروهماتوکریت استفاده شد، ابتدا بیش از دو سوم



خالص و رنگ‌آمیزی با گیمسا شمارش گلبول‌های سفید انجام گرفت. در هر گسترش ۱۰۰ عدد گلبول سفید شمارش شده و تعداد هر نوع گلبول به‌صورت درصد بیان گردید (Houston, ۱۹۹۰).

برای محاسبه اندیس‌های خونی شامل میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (MCH) و میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC)، از روابط زیر استفاده گردید (Klinger و همکاران، ۱۹۹۶):

گلبول‌های سفید در یک میلی‌متر مکعب خون محاسبه گردید (Dorafshan و همکاران، ۲۰۰۷). تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق‌سازی خون منعقد نشده با محلول ریس (رقت ۱/۲۰۰) شمارش شد از مربع میانی (۵ خانه وسط) نئوبار برای شمارش گلبول‌های قرمز استفاده و عدد به‌دست آمده در ۱۰۰۰۰ ضرب شد. تعداد گلبول‌های قرمز در یک میلی‌متر مکعب برای خون محاسبه گردید (Dorafshan و همکاران، ۲۰۰۷).

شمارش افتراقی گلبول‌های سفید: ابتدا از خون منعقد نشده گسترش تهیه شد و پس از فیکس کردن نمونه با متانول

میانگین حجم گلبول قرمز	(Mean Corpuscular Volume)	$MCV(\text{fl}) = \frac{\text{مقدار هماتوکریت}}{\text{تعداد گلبول قرمز (میلیون درمتر مکعب)}}$
میانگین هموگلوبین گلبول قرمز	(Mean Ccorpuscular Hemoglobin)	$MCH(\text{pg/cell}) = \frac{\text{مقدار هموگلوبین}}{\text{تعداد گلبول قرمز (میلیون درمتر مکعب)}}$
میانگین درصد غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز	(Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration)	$MCHC(\text{g/dL}) = \frac{\text{مقدار هموگلوبین}}{\text{مقدار هماتوکریت}}$

نتایج

فاکتورهای آب: جدول ۳ نتایج مربوط به سنجش فاکتورهای آب در طی ۹۰ روز را نشان می‌دهد. در طول آزمایش میزان شاخص‌های مذکور در حد استاندارد نگه داشته شد.

روش آماری و تجزیه و تحلیل داده‌های آماری: طرح

کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی (Completely Randomized Design) برنامه‌ریزی و اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) انجام گردید. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری LSD و دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد استفاده شد. از نرم‌افزار SAS برای آنالیز آماری و از Excel (۲۰۰۳) برای رسم نمودارها استفاده گردید.

جدول ۳: فاکتورهای فیزیکی شیمیایی اندازه‌گیری شده در طول مدت پرورش

پارامتر	دما (درجه سانتی‌گراد)	اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)	نیتریت (میلی‌گرم در لیتر)	نیترات (میلی‌گرم در لیتر)	آمونیاک (میلی‌گرم در لیتر)	EC	pH
میانگین ± انحراف معیار	۱۶/۲۶ ± ۰/۱۹	۸/۱۶ ± ۰/۱۳	۰/۰۲۸ ± ۰/۰۱	۱/۴۳ ± ۰/۱۸	۰/۰۱۷ ± ۰/۰۱	۸۷۲/۴۱ ± ۱۰/۸۷	۷/۶۶ ± ۰/۰۶

بعد از دو ماه از بین رفتند. نتایج نشان داد که افزایش پرتو گاما سبب کاهش شاخص‌های رشد شامل ضریب رشد ویژه، متوسط وزن ثانویه، بقا و افزایش ضریب تبدیل غذایی در لاروهای حاصل از تخم‌های پرتو دیده می‌شود. متوسط وزن ثانویه در دزهای ۱۰ و ۲۰ گری به ترتیب ۴۲/۳۶ و ۵۱ درصد کاهش یافت. هم‌چنین ضریب رشد ویژه و درصد بقا در دزهای ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ گری به ترتیب ۷/۴۸، ۸/۲۱، ۷/۲۹، ۴۲/۱۷، ۱۶/۷۸، ۷/۶۰، ۶/۲۸، ۲/۸۵ و ۱۵/۵۱ درصد کاهش یافت. بهترین نتایج مربوط به شاخص‌های رشد و بقا، در گروه شاهد مشاهده گردید.

علائم ظاهری ماهی: در این مطالعه برجسته‌ترین علائم

بالینی مشاهده شده شامل لاغری، بی‌حالی، بی‌اشتهایی، اگزوفتالمی، کم‌رنگ شدن رنگ بدن، وجود نقاط تیره در تمام قسمت‌های بدن و کاهش تعادل بود.

رشد: به‌منظور بررسی تأثیر پرتو گاما در دزهای مختلف

بر تخم چشم‌زده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شاخص‌های رشد مانند طول نهایی، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، نرخ بازده پروتئین و فاکتور وضعیت در هر یک از تیمارها مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۴). هم‌چنین درصد بازماندگی لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بعد از ۹۰ روز در تیمارهای مختلف ارزیابی شد (شکل ۱) تیمار ۴۰ گری همگی

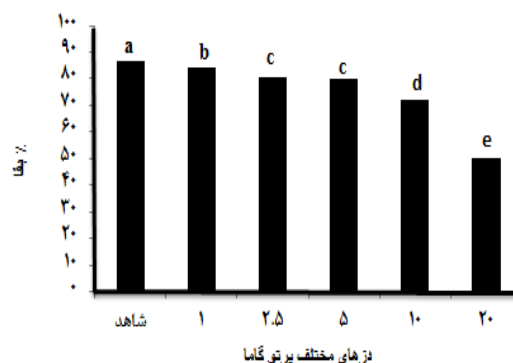


جدول ۴: نتایج شاخص‌های رشد تخم ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرتو دیده در دزهای مختلف

شاخص رشد	تیمار	شاهد	دزهای پایین				
			۲۰	۱۰	۵	۲/۵	۱
متوسط وزن ثانویه (گرم)		۱۰/۴۱±۰/۲۷ ^a	۷/۱۳±۰/۸۳ ^b	۷/۳۵±۰/۵۵ ^b	۷/۴۰±۰/۳۶ ^b	۶/۰۰±۰/۳۰ ^c	۵/۱۰±۰/۶۲ ^c
طول نهایی (سانتی‌متر)		۸/۶۰±۰/۲۶ ^{ab}	۸/۳۰±۰/۲۰ ^{bc}	۸/۸۷±۰/۲۳ ^a	۸/۶۰±۰/۳۰ ^{ab}	۸/۳۶±۰/۱۵ ^{bc}	۸/۱۰±۰/۲۶ ^c
ضریب تبدیل غذایی		۱/۱۷±۰/۰۵ ^a	۱/۳۷±۰/۱۷ ^{ab}	۱/۳۰±۰/۱۱ ^a	۱/۴۴±۰/۱۸ ^{abc}	۱/۷۴±۰/۱۹ ^c	۱/۶۵±۰/۲۵ ^{bc}
نرخ بازده پروتئین (%)		۱/۶۳±۰/۰۷ ^a	۱/۴۱±۰/۱۶ ^{abc}	۱/۴۷±۰/۱۳ ^{ab}	۱/۳۴±۰/۱۸ ^{bcd}	۱/۱۰±۰/۱۲ ^d	۱/۱۷±۰/۱۶ ^{cd}
ضریب رشد ویژه		۵/۴۸±۰/۰۲ ^a	۵/۰۳±۰/۱۳ ^b	۵/۰۷±۰/۰۷ ^b	۵/۰۸±۰/۰۵ ^b	۴/۸۳±۰/۰۵ ^c	۴/۶۳±۰/۱۴ ^d
فاکتور وضعیت		۱/۶۴±۰/۱۲ ^a	۱/۲۴±۰/۱۶ ^b	۱/۰۵±۰/۱۶ ^{bc}	۱/۱۶±۰/۰۹ ^{bc}	۱/۰۲±۰/۰۴ ^{bc}	۰/۹۶±۰/۱۸ ^c

میانگین ± انحراف معیار، ۳ تکرار، نبودن حروف مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (P < ۰/۰۵)

شاخص‌های خون: جدول ۵ نتایج سنجش شاخص‌های خونی لاروهای حاصل از تخم‌های چشم‌زده ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرتو دیده در دزهای مختلف را بعد از ۹۰ روز نشان می‌دهد. بررسی شاخص‌های هماتولوژی نشان داد که افزایش میزان پرتوها سبب کاهش معنی‌دار مقادیر RBC، HCT، Hb می‌شود و این کاهش در دزهای بالاتر مشخص‌تر بود، با این حال اختلاف معنی‌داری در مقادیر مونوسیت، لنفوسیت، نوتروفیل، WBC، MCH، MCV مشاهده نشد (P > ۰/۰۵). RBC در دزهای ۱۰ و ۲۰ گری به ترتیب ۴/۵۱ و ۱۰/۱۶ درصد و مقدار HCT و Hb در دزهای ۱۰ و ۲۰ گری به ترتیب ۹/۳۴ و ۹/۳۴ و ۳/۶۴ و ۴/۰۵ درصد کاهش یافت.



شکل ۱: مقایسه درصد بقا در دزهای مختلف تخم‌های چشم‌زده پرتو دیده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

جدول ۵: نتایج شاخص‌های خونی لارو ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان حاصل از تخم‌های پرتو دیده در تیمارهای مختلف

شاخص خون‌شناسی	تیمار					
	۲۰	۱۰	۵	۲/۵	۱	شاهد
تعداد گلبول قرمز (×10 ⁶ /mm ³)	۱/۵۹±۰/۰۴ ^b	۱/۶۹±۰/۰۶ ^a	۱/۷۱±۰/۰۸ ^a	۱/۷۳±۰/۰۵ ^a	۱/۷۳±۰/۰۶ ^a	۱/۷۷±۰/۰۵ ^a
هماتوکریت (درصد)	۴۲/۳۳±۱/۲۱ ^b	۴۲/۳۳±۱/۲۱ ^b	۴۵/۵۰±۱/۰۴ ^a	۴۶/۰۰±۱/۲۶ ^a	۴۶/۳۳±۱/۳۶ ^a	۴۶/۶۶±۱/۲۱ ^a
هموگلوبین (g/dL)	۱۱/۸۳±۰/۴۱ ^b	۱۱/۸۸±۰/۳۶ ^b	۱۲/۱۸±۰/۳۳ ^{ab}	۱۲/۲۶±۰/۲۱ ^{ab}	۱۲/۲۳±۰/۴۱ ^{ab}	۱۲/۳۳±۰/۲۶ ^a
MCV (fL)	۲۶۵/۶۴±۱۰/۶۴	۲۴۹/۶۹±۸/۶۰	۲۶۵/۴۶±۱۱/۶۳	۲۶۵/۰۸±۱۰/۸۴	۲۶۷/۸۸±۱۲/۳۹	۲۶۳/۸۵±۱۰/۰۳
MCH (pg)	۷۴/۲۵±۳/۵۹	۷۰/۰۸±۲/۴۷	۷۱/۰۸±۳/۳۶	۷۰/۶۹±۲/۶۰	۷۰/۷۳±۳/۷۷	۶۹/۷۶±۳/۲۸
MCHC (%)	۲۷/۹۶±۱/۲۰ ^{ab}	۲۸/۰۸±۰/۸۵ ^a	۲۶/۷۸±۰/۷۹ ^{abc}	۲۶/۶۹±۱/۱۷ ^{bc}	۲۶/۴۲±۱/۲۶ ^c	۲۶/۴۴±۱/۰۰ ^c
تعداد گلبول سفید (cell/mL)	۲۱/۸۲±۳/۸۸	۲۳/۱۴±۴/۶۸	۲۴/۶۵±۳/۰۵	۲۴/۷۵±۴/۳۵	۲۴/۵۷±۳/۹۰	۲۵/۷۸±۳/۰۱
مونوسیت	۳/۶۶±۱/۲۱	۳/۸۳±۱/۱۶	۳/۶۶±۱/۲۱	۳/۵۰±۱/۲۲	۳/۸۳±۱/۳۲	۳/۶۶±۱/۵۰
لنفوسیت	۶۶/۶۶±۴/۸۴	۶۸/۱۶±۷/۱۳	۶۸/۸۳±۶/۴۹	۷۰/۶۶±۶/۳۷	۷۲/۳۳±۶/۸۸	۷۳/۱۶±۴/۷۹
نوتروفیل	۲۲/۶۶±۱/۳۶	۲۲/۵۰±۱/۰۴	۲۳/۰۰±۱/۰۹	۲۲/۸۳±۱/۴۷	۲۲/۶۶±۱/۳۶	۲۳/۱۶±۱/۱۶

میانگین ± انحراف معیار، ۳ تکرار، نبود حروف در هر ردیف نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار است (P > ۰/۰۵).



بحث

تولید بیش از حد مخاط، خونریزی در چشم و کاهش تعادل در ماهیان می‌شود. در تحقیق دیگری Stalin و همکاران (۲۰۱۳a) با اثر پرتو گاما (۳، ۳۰، ۳۰۰، ۳۰۰۰ میلی‌گری) بر رفتار میگوی آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) تغییرات رفتاری مانند غیرعادی بودن، تعادل کم‌تر، کاهش میزان شنا و کاهش اشتها را مشاهده کردند که نتایج این مطالعات با تحقیق حاضر مطابقت دارد. هم‌چنین در تحقیق حاضر بعد از ۹۰ روز، مقادیر RBC، HCT و Hb در لارو حاصله از تخم پرتو دیده با دزهای بالای پرتو گاما کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد داشت ($p < 0.05$) و گلبول‌های سفید نیز کاهش یافت که معنی‌دار نبود. در ارتباط با تاثیر پرتوها بر فاکتورهای خونی، نتایج متناقضی وجود دارد که در برخی از تحقیقات با افزایش میزان گلبول‌های قرمز و سفید و در برخی دیگر با کاهش گلبول‌های قرمز و سفید مواجه شده‌اند. Wyffels و همکاران (۲۰۰۷) در ارتباط با تاثیر پرتو ایکس (۷۵-۰ گری) بر ماهی *Raja eglanteria* گزارش کردند که گلبول‌های سفید خون کاهش یافتند. Markkula و همکاران (۲۰۰۶) تاثیر پرتو UVB را بر سیستم ایمنی ماهی کپور معمولی و قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کردند. قرار گرفتن در معرض UVB باعث کاهش لنفوسیت‌ها و افزایش گرانولوسیت در خون ماهی کپور شد، درحالی‌که انواع سلول‌های دیگر و نیز هماتوکریت، تحت تاثیر قرار نگرفت. Jokinen و همکاران (۲۰۰۰) با تاثیر نور ماوراءبنفش بر سیستم ایمنی ماهی سفید گزارش کردند که در دز UVB ۰/۴، لنفوسیت بیش‌ترین کاهش و گرانولوسیت بیش‌ترین افزایش را دارد و دز UVB ۳/۶ و نور مرئی تاثیر در تغییرات لنفوسیت و گرانولوسیت‌ها ایجاد نمی‌کند. هم‌چنین در برخی از تحقیقات بر روی پستانداران که به دلیل کمبود منابع بر روی ماهیان در زیر اشاره شده نتایج حاکی از کاهش تعداد گلبول‌ها بود. Abramsson-Zetterberg و همکاران (۱۹۹۹) با بررسی تاثیر پرتو یونیزان بر موش‌ها، کاهش گلبول‌های قرمز را مشاهده کردند. مطالعات Bao و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان داد که در دز ۲ گری در ۱۰ روز پس از تابش، تعداد سلول‌های سفید خون و گلبول‌های قرمز در موش‌های تحت تابش به‌طور قابل توجهی نسبت به گروه شاهد کاهش می‌یابد. کاهش گلبول‌های قرمز و هموگلوبین می‌تواند نشان‌دهنده کم‌خونی یا خونریزی شدید باشد (Hisa و Connie، ۱۹۹۸) و قرار گرفتن در معرض پرتوها می‌تواند به‌طور مستقیم به سلول‌های بنیادی خون‌ساز صدمه بزند (Dainiak، ۲۰۰۳). هم‌چنین تاثیر مضر پرتوها در تخریب بافت‌های خون‌ساز بدن به اثبات رسیده است.

قرار گرفتن در معرض پرتوهای یونیزان در مراحل جنینی ممکن است موجب ابتلا به بیماری‌های مرگبار و ناهنجاری‌های فراوانی شود (Misra و همکاران، ۲۰۰۶). بررسی‌های اخیر نشان داده است که حتی دزهای پایین ۵-۲ میلی‌گری در روز می‌تواند تاثیر منفی در تولیدمثل ماهی‌ها داشته باشد (Sazykina و Kryshev، ۲۰۰۳). در مقایسه با پستانداران، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در برابر تشعشعات بسیار مقاوم‌تر است. در تحقیقی که بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تاثیر پرتو گاما و ایکس با دزهای ۱۰-۲ گری قرار گرفته بودند هیچ اثر قابل توجهی از مرگ و میر و تغییرات بافت‌شناسی مشخص نگردید اما در دزهای بالاتر پرتو گاما، آسیب‌های بافت‌شناسی مشاهده شد. هم‌چنین ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به بچه‌ماهیان نوجوان مقاوم‌تر بودند. این محققان بیان داشتند که احتمال این‌که دزهای پایین‌تر بتواند پس از چندماه (در طولانی مدت) سبب مرگ و میر ماهیان شود، وجود دارد (Chilmonczyk، ۱۹۸۲؛ ۱۹۸۵). در تحقیق حاضر پرتوی گاما در دزهای ۱۰ و ۲۰ گری باعث ایجاد مشکلات حاد در همان مراحل اولیه لاروی شد که با مرگ و میر شدید همراه بود به‌طوری‌که در دز ۴۰ گری، تمامی لاروها از بین رفتند (شکل ۱). Kobayashi و Hirata (۱۹۵۷) مشاهده کردند که با پرتو دهی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با دز ۱۲-۳ گری پرتو ایکس، میزان مرگ و میر به‌طور قابل توجهی بعد از ۳ ماه نسبت به گروه شاهد افزایش یافت که با داده‌های این تحقیق مطابقت دارد. Simon و همکاران (۲۰۱۱) نیز تاثیر پرتو گاما (۱۰۰۰-۱ میلی‌گری در روز) را بر تخم و لارو ماهی *zebrafish* مورد بررسی قرار دادند. نتایج در لاروها بیان‌گر کاهش زمان تفریح تخم‌ها در تمام دزها بود. هم‌چنین پرتو گاما با دز ۱ میلی‌گرم در روز منجر به افزایش آسیب تخم‌ها شد. در تحقیق Welander و همکاران (۱۹۷۱) مشخص شد که پرتو دهی تخم چشم‌زده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تا ۲/۰۳ گری پرتو ایکس، هیچ تاثیر منفی در بقای جنین‌ها ندارد که البته تفاوت در نوع پرتو و میزان دزها و حتی نوع گونه می‌تواند باعث ایجاد تفاوت شود. در این تحقیق برجسته‌ترین علائم بالینی مشاهده شده شامل لاغری، بی‌حالی، بی‌اشتهایی، اگزوفتالمی، کم‌رنگ شدن رنگ بدن، وجود نقاط تیره در سطح‌های مختلف بدن و کاهش تعادل بود. مطالعات Anbumani و Mohankumar (۲۰۱۲) روی ماهی *Catla catla* نشان داد که پرتو گاما با دز ۵ گری باعث مسمومیت،



- Enzymes in Chickens and Rats. J. of Acta Vet Brno. Vol. 72, pp: 201-205.
7. **Blaxhall, P. and Daisley, K., 1973.** Routine haematological methods for use with fish blood. J. of Fish biology. Vol. 5, pp: 771-781.
 8. **Brown, P.; Jeffree, R. and Markich, S., 1996.** Kinetics of Ca-45, Co-60, Pb-210, Mn-54 and Cd-109 in the tissue of the freshwater bivalve *Velesunioangasi*: further development of a predictive and mechanistic model of metal bioaccumulation. J. of Sci Total Environ. Vol. 188, pp: 139-66.
 9. **Carlson, E. and Desnick, R., 1979.** Mutational mosaicism and genetic counseling in retinoblastoma. J. of Am. J. Med. Genet. Vol. 4, pp: 365-381.
 10. **Chaubey, R.; Bhilwade, H.; Rajagopalan, R. and Bannur, S., 2001.** Gamma ray induced DNA damage in human and mouse leucocytes by measured by SCGE por: a software developed for automated image analysis and data processing for comet assay mutation Research. J. of Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. Vol. 490, pp: 187-197.
 11. **Chilmonczyk, S., 1982.** Rainbow trout lymphoid organ: cellular effects of corticosteroids and anti-thymocyte serum. Dev. Comp. Immunol. Vol. 6, pp: 271-280.
 12. **Chilmonczyk, S., 1985.** Evolution of the thymus in Rainbow trout. J. of Fish Immunology. pp: 285-292.
 13. **Dainiak, N., 2002.** Hematologic consequences of exposure to ionizing radiation. J. of Experimental Hematology. Vol. 30, pp: 513-528.
 14. **Dobrovolsky, E. and Lyalko, V., 1995.** Acidification of soils and radioactive hot particles behaviour: a macrokinetic approach. J. of Water Air Soil Pollution. Vol. 85, pp: 767-72.
 15. **Dorafshan, S.; Kalbassi, M.; Pourkazemi, M.; MojaziAmiri, B. and SoltanKarimi, S., 2007.** Effects of triploidy on the Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*) haematology. J. of Fish Physiol Biochem, in press.
 16. **Eldon, H. and Edmundson, J., 1976.** Effects of Gamma Radiation and Temperature on Growth of Juvenile Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). J. of Environmental Protection Agency Boise. Idaho 83702.
 17. **Falis, M.; Benova, k.; Tropila, M.; Sesztakova, E. and Legath, J., 2004.** Change in the activity of selected adaptive enzymes in chicken liver after single gamma irradiation, Bulletin of the Veterinary. Vol. 48, pp: 503-506.
- Almasiova و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی پرتو گاما (۲۰ گری) در ماهی گویی، تخریب در بافت بینابینی کلیه و در قسمت‌های بافت خون‌ساز را مشاهده کردند. در این تحقیق نیز کاهش معنی‌دار گلبول‌های قرمز را می‌توان به تخریب بافت خون‌ساز موجود در این ماهی مربوط دانست که در این مورد بررسی بافت‌شناسی و مطالعات تکمیلی توصیه می‌شود. در این مطالعه با افزایش دزهای پرتو گاما شاخص‌های رشد، بقا و هماتولوژی کاهش معنی‌داری یافت. اگرچه در دزهای پایین ۱، ۲/۵ و ۵ گری تاثیر پرتو کم‌تر بود اما این میزان پرتو گاما ممکن است باعث ایجاد مشکلات مزمن در زندگی ماهی‌ها شده و اختلالات تولیدمثلی را در مراحل بعدی زندگی آن‌ها موجب گردد. در نتیجه بررسی‌های بافت‌شناسی و مطالعات تکمیلی مانند پرورش طولانی مدت لاروها و بررسی تاثیر پرتو بر روی تولیدمثل آن‌ها در این زمینه ضروری می‌نماید.

منابع

1. **Abramsson-Zetterberg, L.; Grawe, J. and Zetterberg, G., 1999.** The micronucleus test in rat erythrocytes from bone marrow, spleen and peripheral blood: the response to low doses of ionizing radiation, cyclophosphamide and vincristine determined by flow cytometry. J. of Mutation Research. Vol. 423, pp: 113-124.
2. **Almasiova, F.; Rencko, A.; Holovska, C. and Spalkova, M., 2012.** Histological changes in poecilia reticulata after interaction of ionizing radiation and zinc sulfide. Potravinarstvo. Vol. 6, pp: 1-4.
3. **Anbumani, S. and Mohankumar, M., 2012.** Gamma radiation induced micronuclei and erythrocyte cellular abnormalities in the fish *Catla catla*. J. of Aquatic Toxicology. Vol. 122-123, pp: 125-132.
4. **Bai, S., 2001.** Requirements of L-ascorbic acid in a viviparous marine teleost, Korean rock fish (*Sebaster Schlegeli*). J. of aquatic organism. pp: 69-85.
5. **Bao, Y.; Chen, H.; Hu, Y.; Bai, Y.; Zhou, M.; Xu, A. and Shao, C.H., 2012.** Combination effects of chronic cadmium exposure and gamma-irradiation on the genotoxicity and cytotoxicity of peripheral blood lymphocytes and bone marrow cells in rats. J. of Mutation Research. Vol. 743, pp: 67-74.
6. **Benova, K.; Toropila, M.; Falis, M. and Dvorak, P., 2003.** Influence of Ionising Radiation on the Activity of Selected Adaptive



- rohita* fingerlings. J. of Aquaculture. Vol. 255, pp: 82-94.
30. **Rehulka, J., 2000.** Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. of Aquaculture. Vol. 190, pp: 27-47.
 31. **Ruas, C.; Carvalho, S.; De Araujo, H.; Espindola, E. and Fernandes, M., 2008.** Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species from a metal-contaminated river. J. of Ecotoxicology and Environment Safety. Vol. 71, pp: 86-93.
 32. **Sazykina, T. and Kryshev, A., 2003.** EPIC database on the effects of chronic radiation in fish: Russian data. J. of Environmental Radioactivity. Vol. 68, pp: 65-87.
 33. **Schmitz, A.; Bayer, J.; Dechamps, N. and Thomas, G., 2003.** Intrinsic susceptibility to radiation-induced apoptosis of human lymphocyte sub populations. I.J. of Radiation Oncology Biology Physics. Vol. 57, pp: 769-778.
 34. **Simon, O.; Massarin, S.; Coppin, F.; Hinton, T.G. and Gilbin, R., 2011.** Investigating the embryo/larval toxic and genotoxic effects of g irradiation on zebrafish eggs. J. of Environmental Radioactivity. Vol. 102, pp: 1039-1044.
 35. **Skardova, I.; Ojeda, F.; Prosova, M. and Rosival, I., 1994.** Radiation induced disorders of hematopoiesis in chicken (Apoptosis). J. of Folia Vet. Vol. 38, pp: 81-84.
 36. **Stalin, A.; Broos, K.; Sadiq Bukhari, A.; Syed Mohamed, H.; Singhal, R. and Venubabu, P., 2013a.** Effects of ⁶⁰Co gamma irradiation on behavior and gill histoarchitecture of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (DE MAN). J. of Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 92, pp: 155-160.
 37. **Stalter, R. and Kincaid, D., 2009.** Community development following gamma radiation at a pine-oak forest. J. of Botany. Vol. 96, pp: 2206-2213.
 38. **Velisek, J.; Svobodova, Z. and Piaakova, V., 2005.** Effects of Clove Oil Anaesthesia on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. of Acta Vet Brno. Vol. 74, pp: 139-146.
 39. **Welander, A.; Donaldson, L.; Foster, R.; Bonham, K. and Seymour, A., 1948.** The effects of roentgen rays on the embryos and larvae of the Chinook salmon. J. of Growth. Vol. 12, pp: 203-242.
 40. **Welander, A.; Wadley, G. and Dysart, D., 1971.** Growth and fecundity of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to single sublethal doses of X-rays during the eyed embryo stage. J. of Fish. Board Can. Vol. 28, pp: 1181-1184.
 18. **Hisa, M. and Connie, C., 1998.** Respiratory function of hemoglobin. J. of Medical. Vol. 338, pp: 239-247.
 19. **Houston, A., 1990.** Blood and circulation. J. of Fish biology. pp: 273-335.
 20. **IAEA. 2007.** Energy, electricity and nuclear power: developments and projections. Scientific and technical publications. 351 p.
 21. **Iger, Y.; Jenner, H.A. and Wendelaar Bonga, S.E., 1994.** Cellular responses in the skin of rainbow trout exposed to Rhine water. J. of Fish biology. Vol. 45, pp: 1119-1132.
 22. **Jeffree, R.; Oberhansli, F. and Teysse, J., 2007.** Accumulation and transport behaviour of (241) mercurium, (60) cobalt and (134) cesium by eggs of the spotted dogfish *Scyliorhinus canicula*. J. of Mar Pollut Bull. Vol. 54, pp: 912-920.
 23. **Jokinen, E.; Salo, H.; Markkula, S.; Aaltonen, M. and Immonen, K., 2000.** Effects of ultraviolet light on immune parameters of the roach. J. of Toxicology. Vol. 112-113, pp: 303-310.
 24. **Kilemade, M. and Mothersill, C., 2001.** Heat shock protein70 levels in rainbow trout primary epidermal cultures in response to 2, 4 dichloro aniline exposure: a novel in vitro aquatic toxicity marker. J. of Environment Toxicology. Vol. 16, pp: 253-259.
 25. **Klinger, R.; Blear, V. and Echevarria, C., 1996.** Effect of dietary lipid on the haematology of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). J. of Aquaculture. Vol. 147, pp: 225-233.
 26. **Kobayashi, S. and Hirata, H., 1957.** Effects of X-radiation upon rainbow trout (*Salmo irideus*). Bull. Fac. Fish. Vol. 8, pp: 23-35.
 27. **Markkula, S.; Salo, H.; Rikalainen, A. and Jokinen, E., 2006.** Different sensitivity of carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to the immunomodulatory effects of UVB irradiation. J. of Fish and Shellfish Immunology. Vol. 21, pp: 70-79.
 28. **Minouflet, M.; Ayrault, S.; Badot, P.; Cotellet, S. and Ferard, J., 2005.** Assessment of the genotoxicity of 137 Cs radiation using Vicia micronucleus, Tradescantia micronucleus and Tradescantia-stamen-hair mutation bioassays. J. of Environmental Radioactivity. Vol. 81, pp: 143-153.
 29. **Misra, C.; Kumar, D.; Mukherjee, S. and Pattnaik, P., 2006.** Effect of long term administration of dietary α -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo*

