

**Study effects of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) on haematological parameters in *Onchorhynchus mykiss* juvenile**

M. Mohammad Nejad Shamoushaki<sup>1\*</sup>, R. Jahanshahi<sup>2</sup>,  
M. Rahmati<sup>2</sup>, and H. Shajiee<sup>3</sup>

1. Assistant Professor of Department of Fishery,  
Bandar Gaz Branch, Islamic Azad University,  
Bandar Gaz, Iran

2. Graduated of fishery (BSc), Department of  
Fishery, Bandar Gaz Branch, Islamic Azad  
University, Bandar Gaz, Iran.

3. Assistant Professor of Department of Biology,  
Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan,  
Iran.

**ABSTRACT**

In this study acute toxicity (96h LC<sub>50</sub>) of EDTA has been carried out in laboratory conditions in 2011 fall for rainbow trout. The experiments were conducted for 96h with standard method (O.E.C.D). LC<sub>50</sub> values of EDTA at 96 h were 2231 mg l<sup>-1</sup>, to the rainbow trout. Then, individuals with a body weight of 51 ± 12 g and length 18.5 ± 2.1 cm were selected for six groups (five test group and control group). *Onchorhynchus mykiss* were exposed to 800, 1100, 1400, 1700 and 2100 mg l<sup>-1</sup> of EDTA. Fish were exposed for 96 h. The experiments periods were controlled water physicochemical factors such as: pH, total hardness, dissolved oxygen and temperature. For analysis of all data SPSS software program was used. Haematology results show that exposure to EDTA causes an increase in leucocyte count (WBC), neutrophil, eosinophil, monocyte and a decrease in haemoglobin (Hb), haematocrit (HCT) and lymphocyte (P<0.05). Also, there are no significant effects in erythrocyte count (RBC), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin (MCH) and mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) (P>0.05). The results showed that exposure to low concentrations of EDTA causes changes in some haematological parameters of rainbow trout and may weaken the fish immune system. The results of this research showed that toxic EDTA endangers health of *Onchorhynchus mykiss*.

**Keywords:** Acute toxicity, EDTA, Haematological, *Onchorhynchus mykiss*

**اثر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) بر  
شاخصهای خونی ماهی قزل آلا، رنگین کمان جوان  
(*Onchorhynchus mykiss*)**

مجید محمدنژاد شوشکی<sup>۱\*</sup>، رضا جهانشاهی<sup>۲</sup>، میثم رحمتی<sup>۲</sup> و هومن  
شجیعی<sup>۳</sup>

۱. استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد

بندرگز، گروه شیلات، بندرگز، ایران

۲. دانش آموخته مهندسی منابع طبیعی- شیلات،

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرگز، گروه

شیلات، بندرگز، ایران

۳- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد

دامغان، گروه زیست شناسی، دامغان، ایران

**چکیده**

در این تحقیق ابتدا سمیت حاد (LC50 96h) ماده شیمیایی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) در پاییز سال ۱۳۹۰ برای ماهی قزل آلا، رنگین کمان در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات و به روش استاندارد O.E.C.D در طی ۹۶ ساعت انجام پذیرفت. ابتدا مقدار LC<sub>50</sub> ۹۶ ساعته، EDTA برای ماهی قزل آلا، رنگین کمان برابر ۲۲۳۱ نمونه تعیین گردید. سپس ماهیان با میانگین طولی و وزنی ۱۸/۴±۲/۱ سانتی متر و ۱۲±۵ گرم مدت ۹۶ ساعت بطور تصادفی به ۵ گروه آزمایشی (۸۰۰، ۱۱۰۰، ۱۴۰۰، ۱۷۰۰ و ۲۱۰۰ میلی گرم در لیتر از سم EDTA) و یک گروه شاهد در ۳ تکرار تقسیم شدند. در طول دوره آزمایش پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب نظیر pH، اکسیژن محلول، سختی و درجه حرارت اندازه گیری شدند. داده ها با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج هماتولوژی نشان داد که سم EDTA باعث افزایش تعداد گلبولهای سفید، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت و کاهش هموگلوبین، هماتوکریت، لنفوسیت میگردد و از این لحاظ تفاوت معنی دار آماری بین تیمارهای مورد نظر مشاهده گردید (P<0.05) اما هیچ تفاوت معنی دار آماری در تعداد گلبولهای قرمز، MCV، MCH، MCHC در بین تیمارهای مورد بررسی مشاهده نگردید (P>0.05). نتایج نشان داد که قرار گرفتن در معرض غلظتهای پایین سم EDTA باعث تغییر در پارامترهای خونی ماهی قزل آلا، رنگین کمان و ضعیف شدن سیستم ایمنی بدن ماهی می گردد. نتایج بررسی نشان داد که سم EDTA باعث

## مقدمه

انسان تولید کننده آلاینده های متعدد و متنوعی است که بخش اعظم این مواد بطور مستقیم و غیر مستقیم به محیط های آبی وارد می گردد. بخشی از آلاینده ها مانند اغلب مواد آلی طی فرایندهای زیستی تجزیه می گردد ولی بعضی مواد در مقابل تجزیه مقاوم بوده و مدت زیادی در محیط های آبی باقی می مانند. سیستم های آبی پیوسته مواجه با مشکلات ناشی از آلاینده ها هستند که از منابع مختلف صنعتی، پساب های کشاورزی و فاضلاب های شهری اکثرا بدون هیچگونه تصفیه ای وارد آب می گردند. شوینده ها یکی از آلاینده های مهم بوده و توسط فاضلابها به آبهای ساحلی، رودخانه ها و سایر منابع آبی بطور مستقیم و غیر مستقیم وارد می شوند. امروزه شوینده های مصنوعی

به دلیل مصرف زیادشان بسیار مهم بوده و موجودات آبی را با خطر آلاینده های مواجه می سازند. این شوینده ها ممکن است توسط باکتری ها تجزیه شوند اما در غلظت های بالا ممکن است باکتری نتواند نقش خود را ایفا کند، زیرا غلظت های زیاد شوینده ها مانع عمل آنزیم های باکتری می شود (Shasavani and Movaseghi, 2003). اتیلن دی آمین تتراسیتیک اسید (EDTA) یک ماده شیمیایی است که در ساختار شوینده ها مورد استفاده قرار می گیرد. این ماده در ساختمان خود دارای شش موضع برای ایجاد پیوند است و به نظر می رسد این ترکیب بتواند با برخی از ذرات رسوب کرده و کمپلکس تشکیل دهد. از آنجایی که این ماده در شوینده ها مورد استفاده قرار می گیرد می تواند وارد آب و محیط زیست شود و اثرات مخربی بر جانوران آبی از جمله ماهی

قزل آلاي رنگين کمان که نوعی ماهی سرد آبی است، داشته باشد. با توجه به اینکه برخی اکوسیستم های آبی ایران در معرض ورود آلاینده ها و شوینده های خانگی و صنعتی هستند نیاز مبرم به بررسی تاثیر این آلاینده ها بر روی موجودات آبی احساس می گردد. بطور کلی سمیت یک آلاینده از طریق سنجش زیستی ارزیابی می گردد که بوسیله آن غلظت لازم جهت ایجاد تلفات نیمی از موجودات مورد آزمایش در یک دوره زمانی مشخص (کوتاه مدت و بلند مدت) معلوم می شود. این آزمایشات شاخه ای از علم *Ecotoxicology* بوده و وظیفه آن قضاوت درباره توان بالقوه مواد آلاینده و بررسی تاثیرات زیان بخش این مواد بر اکوسیستم و موجود زنده می باشد (Kardovani, 1994). ماهیها یکی از مهمترین موجودات آبی می باشند که به علت

ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند و به همین دلیل جهت انجام آزمایشهای زیست سنجی در بعد وسیعی از آنها استفاده می گردد (Ola, 1990). حساسیت گونه های مختلف ماهیان به مواد سمی متغیر است از این رو ضروری است آزمایشهای سم شناسی برای ماهیان مختلف صورت گیرد (Finney, 1971).

ماهی قزل آلاي رنگين کمان با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* یکی از مهمترین ماهیان پرورشی است که بطور گسترده در تمام دنیا پراکنده شده و اصولاً سازگار به آب شیرین است. پرورش ماهی قزل آلاي رنگين کمان در مناطق کوهستانی و مجاورت رودخانه ها سرد و پر آب صورت می پذیرد که یکی از مکانهای مهم ورود مواد آلاینده و شوینده های خانگی و صنعتی می باشند. ورود این شوینده

با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر اثر سم EDTA بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور و در دنیا گزارش نشده است انجام مطالعه حاضر ضروری به نظر می‌رسید. لذا در این تحقیق ابتدا میزان سمیت حاد (Acute toxicity)، EDTA بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با هدف تعیین غلظت کشنده آن برای ۵۰٪ در ۹۶ ساعت و مشخص نمودن محدوده کشندگی صورت پذیرفته و در ادامه اثر غلظتهای تحت کشنده این سم بر فاکتورهای خونی و سیستم ایمنی بدن مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

##### روش تحقیق

این تحقیق در پاییز سال ۱۳۹۰ و در شرایط آزمایشگاهی انجام پذیرفت. ماده مورد آزمایش EDTA (اتیلن دی آمین تترا

و آلاینده های مختلف به رودخانه های مثل رودخانه هراز در شمال کشور که اصلی ترین نقطه پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور می‌باشد می‌تواند اثرات جالب توجهی بر حیات این ماهی بگذارد.

تغییرات پروفیل شیمیایی خون، در واقع بازتاب تغییر در پروسه متابولیسم و بیوشیمیایی ماهی است که به طور عمده ناشی از تاثیر آلاینده‌ها می‌باشد. آلاینده‌ها می‌توانند در غلظتهایی که کشندگی ندارد باعث سایر اختلالات بیولوژیکی و اکولوژیکی مثل: عقیم کردن، کاهش هم‌آوری و تولید مثل، عدم رشد کافی در موجودات یا بوجود آمدن نسل‌های مریض و ناسالم شوند که از این طریق باعث نابودی نسل‌های جانداران می‌گردند (Pajand, 1999).

استیک اسید) از کمپانی مرک آلمان Merck تهیه شد. ماهیان جوان مورد آزمایش با میانگین طولی و وزنی  $18/4 \pm 2/1$  سانتی متر و  $51 \pm 12$  گرم از مزرعه پرورش ماهی تهیه و در کوتاهترین زمان ممکن در مخزن مجهز به کپسول اکسیژن به محل انجام آزمایشات منتقل شدند. ماهیان پس از ورود به آزمایشگاه برای آداپته شدن با شرایط جدید به مدت ۵ روز در تانک پرورشی نگهداری شدند و سپس به آکواریومهای آماده شده برای انجام آزمایش وارد گردیدند. در آکواریومهای تعیین شده ۲۴ ساعت قبل از آزمایش تا حجم ۳۰ لیتر آبگیری شده و با نصب هواده که شاخه اصلی آن به پمپ مرکزی هوا متصل بود به مدت چند ساعت هوادهی گردیده تا گازهای مضر از آب خارج شده و مواد مضر رسوب نماید.

میزان مرگ و میر ماهی ها (۱۰ عدد ماهی در هر تکرار) و رفتار ماهی های مورد آزمایش در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۷۲ و ۹۶ ساعت به ثبت رسید. ابتدا مقدار  $LC_{50}$  EDTA برای ماهی قزل آلاي رنگین کمان برابر ۲۲۳۱ تعیین گردید. سپس ماهیان بطور تصادفی به ۵ گروه آزمایشی و یک گروه شاهد و در ۳ تکرار تقسیم شدند. ماهیان قزل آلاي رنگین کمان به مدت ۹۶ ساعت در معرض غلظت های ۸۰۰، ۱۱۰۰، ۱۴۰۰، ۱۷۰۰ و ۲۱۰۰ میلی گرم در لیتر (ppm) از سم EDTA قرار گرفتند. در این تحقیق دستورالعملهای ذکر شده (Finney, 1971 و TRC, 1984)<sup>1</sup> اعمال گردید.

#### پارامترهای کیفی آب

در تمام مدت آزمایش فاکتورهای فیزیکی و

concentration<sup>1</sup>. Toxicology Research

گلبولهای سفید یا لکوسیتها از روش توصیه شده توسط (Simmons, 1997) و برای اندازه‌گیری هموگلوبین از روش سیان مت هموگلوبین استفاده گردید (Ameri, 1999). همچنین فاکتورهای هماتوکریت و شاخص‌های گلبول قرمز نیز از طریق فرمولهای زیر بدست آمد:

حجم متوسط گلبول قرمز برحسب فمتولیترا (fl)

$$M.C.V = \frac{HCT(\%) \times 10}{RBC / \text{million}}$$

غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی برحسب پیکوگرم (pg)

$$M.C.H = \frac{Hb(\text{gr}\%) \times 10}{RBC / \text{million}}$$

غلظت متوسط هموگلوبین گلبولهای قرمز بر حسب درصد

$$M.C.H.C = \frac{Hb \times 100}{HCT}$$

برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید پس از تهیه گسترش مناسب از خون، گسترش‌ها با روش گیمسا رنگ آمیزی شد.

#### آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل کلیه

داده‌ها از نرم‌افزار SPSS

شیمیایی آب مورد بررسی قرار گرفتند، بطوریکه در ۹۶ ساعت دمای آب ۱۵ درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول در حد اشباع، سختی آب ۲۷۳ میلی‌گرم در لیتر، pH برابر ۸ و دوره روشنایی ۱۴ ساعت و تاریکی ۱۰ ساعت بود. ضمن اینکه در طول دوره آزمایش غذایی قطع گردید.

#### اندازه‌گیری فاکتورهای خونی

بعد از طی دوره تحت تاثیر قرار دادن ماهیان در معرض سم ماهیان با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک بیهوش شده سپس بیومتری ماهیان انجام پذیرفت. سپس از قطع ورید ساقه دمی خونگیری انجام گرفته و در ادامه فاکتورهای خونی توسط دستگاههای مختلف در آزمایشگاه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای شمارش گلبول‌های قرمز،

در ۹۶ ساعت برابر ۲۲۳۱ میلی گرم در لیتر (جدول ۱)، حداکثر غلظت مجاز آن<sup>۱</sup> (MATC value) برابر ppm ۲۲۳۰.۱ و مقدار حداقل غلظت مؤثر این سم<sup>۲</sup> ((LOEC) ppm ۲۰۰۰ برای ماهی قزل آلاهی رنگین کمان محاسبه گردید. نتایج بدست آمده برای مقدار LC<sub>50</sub> در ۹۶ ساعت نشان می دهد که میزان LC<sub>50</sub> با افزایش ساعات آزمایش کاهش یافته است بعبارت دیگر هر چقدر ساعات آزمایش افزایش می یابد غلظت کمتری از EDTA لازم است تا ۵۰ درصد از جمعیت ماهی قزل آلاهی رنگین کمان تلف شوند و مقدار LC<sub>50</sub> در ساعات اولیه آزمایش همواره بیشتر از LC<sub>50</sub> در پایان ۹۶ ساعت می باشد.

13 و برای رسم نمودارها از برنامه Excel 2003 استفاده گردید. داده ها ابتدا جهت اطمینان از نرمال بودن با آزمون Shapiro-wilk بررسی شدند. سپس در صورت نرمال بودن توزیع داده های مورد بررسی با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ ابتدا اختلاف کلی بین میانگین ها مشخص و سپس با آزمون دانکن (Duncan) گروه ها از یکدیگر تفکیک گردیدند و در مواقعی که داده ها نرمال نبودند، از آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس (Kruskal-Wallis) جهت مقایسه تیمارها، و از آزمون من-ویتنی (Mann-Whitney) برای مقایسه جفتی بین تیمارها استفاده شد.

## نتایج

براساس نتایج بدست

آمده مقدار LC<sub>50</sub> سم EDTA

<sup>1</sup>. Maximum Allowable Effect Concentration.

<sup>2</sup>. Lowest observed effect concentration .

جدول ۱. غلظت‌های کشنده سم EDTA بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

نام سم	غلظت (mg/l)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
EDTA	LC10	۱۹۲۰	۱۸۴۷	۱۸۰۳	۱۷۷۸
	LC50	۲۵۳۹	۲۳۳۳	۲۲۷۱	۲۲۳۱
	LC90	۳۱۵۹	۲۹۱۹	۲۷۱۸	۲۶۴۸

ماهیان مورد آزمایش نشان داد که در بین تیمارهای مختلف هیچگونه اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نمی‌گردد ( $p > 0.05$ ) (جدول ۲). نتایج هماتولوژی نشان داد که سم EDTA باعث افزایش تعداد گلبولهای سفید، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت و هموگلوبین، کاهش هماتوکریت، لنفوسیت می‌گردد، اما هیچ تاثیری در تعداد گلبولهای قرمز، MCV، MCH، MCHC خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ندارد.

نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای خونی ماهیان قزل‌آلای مورد آزمایش نشان داد که در میزان تعداد گلبولهای سفید (WBC)، لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت، موگلوبین (Hb) و هماتوکریت (HCT)، خون ماهیان در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده می‌گردد ( $p < 0.05$ ). اما نتایج حاصل از شمارش تعداد گلبولهای قرمز (RBC)، MCV، MCH، MCHC خون



جدول ۲. مقدار متوسط فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف

شاهد	۲۱۰۰	۱۷۰۰	۱۴۰۰	۱۱۰۰	۸۰۰	فاکتورهای خونی/تیمار (ppm)
$\pm 0.0484^a$ ۰/۸۰۱۷	$/6742 \pm 0.0032^a$ .	$\pm 0.0399^a$ ۰/۶۷۵۹	$\pm 0.4455^a$ ۰/۹۱۷۳	$\pm 0.0245^a$ ۰/۶۷۸۶	$\pm 0.0479^a$ ۰/۷۰۳۲	گلبول قرمز ( $mm^3$ ) ( $10^6$ )
$\pm 0.048$ ۸/۱۲	$\pm 0.012$ ۶/۷۳	$\pm 0.046$ ۷/۲	$\pm 0.022$ ۷/۰۶	$\pm 0.025$ ۶/۸۲	$\pm 0.055$ ۷/۰۴	هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)
$d$ /۲۸±۰/۲۳ ۲۴	$\pm 0.017$ ۱۸/۸	$\pm 0.049$ ۱۹/۲۷	$\pm 0.062$ ۱۹/۸۲	$\pm 1/28$ ۲۰/۷	$\pm 0.046^c$ ۲۲/۷۶	هماتوکریت (درصد)
$a$ /۵۹±۸/۵ ۲۹۰	$280/22 \pm 1/48$ $a$	$4/34$ $a$ ۲۸۶/۰۱±	$8/42$ $a$ ۲۸۹/۹۹±	$\pm 9/94^a$ ۲۹۲/۱۶	$0.9 \pm 14/91^a$ ۲۸۸/	MCV (فمتولیترا)
$/47 \pm 0/66^a$ ۱۰۱	$100/94 \pm 0/35$ $a$	$\pm 0/25$ $a$ ۱۰۱/۴۲	$a$ /۱۸±۰/۳۲ ۱۰۱	$\pm 0/89$ $a$ ۱۰۰/۴۹	$0.04 \pm 1/24^a$ ۱۰۰/	MCH (پیکوگرم)
$0/84^a$ ۳۴/۸۷±	$\pm 0/075$ $a$ ۳۶/۰۲	$\pm 0/45$ $a$ ۳۵/۴۷	$\pm 1/1$ $a$ ۳۴/۹۱	$a$ ۳۴/۴۳±۱/۱۴	$a$ /۱۳±۱/۵۷ ۳۴	MCHC (درصد)
$\pm 83/67^a$ ۵۳۲۰	$/23 \pm 680/69^d$ ۱۲۷۳۳	$458/26$ $c$ ۸۸۰۰±	$506/95^b$ $b$ ۷۴۲۰±	$\pm 389/87^b$ $b$ ۷۸۰۰	$\pm 336/16^b$ $b$ ۷۵۶۰	گلبول سفید ( $mm^3$ )
$\pm 0/84$ $c$ ۹۲/۸	$\pm 0/58$ $a$ ۸۸/۳۳	$89 \pm 0$ $ab$	$\pm 0/71$ $b$ ۹۰	$\pm 1/41$ $b$ ۹۰	$\pm 0/84$ $b$ ۸۹/۸	لنفوسیت (درصد)
$\pm 0/84$ $a$ ۷/۲	$\pm 1/16$ $b$ ۱۰/۳۳	$\pm 0/58$ $b$ /۳۳	$\pm 0/55$ $b$ ۹/۴	$\pm 1/17$ $b$ ۹/۸۳	$\pm 1/1$ $b$ ۹/۸	نوتروفیل (درصد)
$0 \pm 0$ $a$	$1 \pm 0$ $c$	$\pm 0/58$ $bc$ ۰/۶۷	$\pm 0/55$ $bc$ ۰/۶	$\pm 0/41$ $ab$ ۰/۱۷	$0/55$ $abc$ ۰/۴ ±	ائوزینوفیل (درصد)
$0 \pm 0$ $b$	$\pm 0/58$ $a$ ۰/۳۳	$0 \pm 0$ $a$	$0 \pm 0$ $a$	$0 \pm 0$ $a$	$0 \pm 0$ $a$	مونوسیت (درصد)

حروف لاتین غیر مشترک نشان‌دهنده معنی دار بودن بین تیمارها می باشد ( $P < 0.05$ ).

## بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که سم EDTA در غلظتهای غیر کشنده، تغییراتی بر روی فاکتورهای ایمونوفیزیولوژیک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گذارد، بطوریکه بر اساس نتایج هماتولوژی بدست آمده مشخص گردید که افزایش غلظت سم EDTA باعث افزایش تعداد گلبولهای سفید، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت و کاهش هماتوکریت، لنفوسیت می‌گردد اما هیچ تاثیر معنی‌دار آماری در تعداد گلبولهای قرمز، MCV، MCH، MCHC، خون ماهی قزل‌آلای نمی‌گذارد. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد هر چقدر مقدار غلظت سم EDTA افزایش می‌یابد اثرات سم بر فاکتورهای خونی ماهی نیز تشدید می‌گردد به طوریکه با

افزایش میزان غلظت سم کاهش هموگلوبین، هماتوکریت و لنفوسیت خون ماهی قزل‌آلای در تیمار ۲۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بسیار بیشتر از ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. همچنین افزایش تعداد گلبولهای سفید خون با افزایش غلظت سم نیز افزایش می‌یابد. در خصوص مطالعات صورت‌گرفته ناشی از اثر سم EDTA بر روی فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای تاکنون هیچ مطالعه‌ای در ایران و در دنیا یافت نشده است. اما در سایر تحقیقات صورت‌گرفته توسط محققین اثرات سموم و آلاینده‌های مختلف بر تغییرات فاکتورهای خونی و ضعیف شدن سیستم ایمنی بدن ماهیان مختلف به اثبات رسیده است که به عنوان مثال می‌توان به اثر سم دیازینون که از سموم متداول کشاورزی مورد

گرچه ماهی اروپایی ( Sibel et al., 2006 )، گرچه ماهی آفریقایی (Adedeji et al., 2009) به صورت کاهش میزان گلبولهای قرمز، گلبولهای سفید، هماتوکریت، MCH، MCV، MCHC، لنفوسیت گزارش گردید که فقط در مورد کاهش هموگلوبین، هماتوکریت و لنفوسیت نتایج مشابهی گزارش گردید. همچنین در ماهی چالباش (Sotani and Khoshbavar-Rostami, 2002) و گرچه ماهی آفریقایی (Adedeji et al., 2009) افزایش مونوسیت گزارش گردید که با تحقیق حاضر همسویی داشت.

کاهش گلبولهای قرمز و هموگلوبین نشان دهنده کم خونی یا خونریزی شدید است. هموگلوبین پایین در حیوانات عموماً به معنی کم خونی است (Hisa and Connie, 1998)، که در تحقیق جاری نیز کاهش هموگلوبین

استفاده در استانهای شمالی کشور می باشد بر روی کپور ماهیان به صورت کاهش میزان هموگلوبین، هماتوکریت و لنفوسیت در ماهی کپور علفخوار ۸۵۰ گرمی (Porgholam et al., 2001)، ماهی کپور علفخوار ۵ گرمی (Porgholam et al., 2006) و در ماهی کپور معمولی (Hamm Sastry and Sharma, 1980; Goodman et al., et al., 1998; 1979; اشاره کرد که با تحقیق حاضر همسو بود. در سایر تحقیقات صورت گرفته بر روی سایر ماهیان نیز نتایج متفاوتی از تحقیق حاضر در اثر سم دیازینون در ماهی چالباش (Sotani and Khoshbavar-Rostami, 2002) ماهی شیپ (Khoshbavar-Rostami and Sotani, 2005) ماهی ازون برون جوان (Khoshbavar-Rostami et al., 2004)، فیل ماهی (Khoshbavar-Rostami et al., 2005)، ماهی انگشت قد

تواند نشانه کم خونی و نقص در سیستم ایمنی بدن باشد. مواد سمی می‌توانند باعث کاهش لنفوسیت‌ها در بدن شوند (Bannaee et al., 2008)، که در تحقیق جاری نیز این کاهش در خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در اثر مجاورت با سم مشاهده گردید. کم خونی می‌تواند بوسیله آسیب‌های کبد، کلیه و طحال باشد (Bannaee et al., 2008). تغییرات در تعداد گلبولهای قرمز و سفید بعد از مجاورت با سم EDTA می‌تواند به دلیل از بین رفتن بافتهای خون ساز کلیه باشد که باعث کاهش ایمنی غیر اختصاصی در ماهی می‌شود (Svoboda et al., 2001). در نتیجه با توجه به نتایج این تحقیق و تحقیقات صورت گرفته توسط محققین دیگر بر روی کپور ماهیان و نیز سایر ماهیان می‌توان گفت که سم EDTA باعث کم خونی،

در خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از مجاورت با سم EDTA مشاهده گردید. افزایش تعداد گلبولهای سفید در ابتدا به معنی قرار گرفتن بدن در معرض عفونت است (Bannaee et al., 2008)، که به نظر می‌رسد با توجه به دوره کم و ۹۶ ساعته در معرض قرار گرفتن ماهی در مجاورت سم مورد آزمایش، افزایش تعداد گلبولهای سفید مشاهده شده در تحقیق جاری ناشی از همین مسئله باشد. ۵ نوع سلول سفید (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و بازوفیل) در بدن وجود دارد که هر کدام نقش متفاوتی را در مقابله با ارگانیزمهای خارجی بازی می‌کنند. کاهش تعداد لنفوسیت به دلیل نقص در سیستم ایمنی بدن می‌باشد (Bannaee et al., 2008). تغییرات در سطوح گلبولهای سفید و قرمز می

### سپاسگزاری

از جناب آقای مهندس فرشاد ماهی‌صفت که در تجزیه تحلیل آماری کار به ما یاری رساندند، نهایت سپاسگزاری و تشکر را داریم.

کاهش میزان فاکتورهای خونی و ضعیف شدن سیستم ایمنی بدن ماهی قرل آلی رنگین کمان می‌گردد که این تغییرات می‌تواند به دلیل از بین رفتن بافتهای خون ساز از قبیل کلیه، طحال و کبد باشد.

### REFERENCES:

- Adedeji OB, Adeyemo OK and Agbede SA (2009) Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarias gariepinus*), African Journal of Biotechnology.; 8 (16): 3940-3946.
- Ameri Mahabadi M (1999) Methods of Veterinary Hematology, Institute of Tehran University Publishing and Printing.; 126 pages.
- Bannae M, Mirvagefi AR, Rafei GR and Majazi Amiri B (2008) Effect of sub-lethal diazinon concentration on blood plasma biochemistry. Int. J. Environ. Res.; 2(2): 189-198.
- Finney D (1971) Probit analysis. Cambridge university: 1-33.chem.; 465-489.
- Goodman LR, Hanson DJ, Coppage DL, Moore JC and Matchewes E (1979) Diazinon: chronic toxicity and brain acetylcholinesterase inhibition in the Sheepshead minnow, *Cyprinodon variegates*. Trans. Am. Fish. Soc.; 108: 479-488.
- Kardovani P (1994) Natural ecosystems (Volume II) aquatic ecosystems. Paliz Press.; 155-157.
- Khoshbavar-Rostami, H., Soltani, M. and Hassan, H. M. D., 2004. Changes in some hematological and serum biochemical parameters of beluga (*Huso huso*) following long-term exposure to diazinon. Iranian Journal of Fisheries.; 5(2): 53-66.
- Khoshbavar-Rostami, H., Soltani, M. and Yelghi, S., 2005. Effects of diazinon on the hematological profiles of *Acipenser stelletus* and determination of LC50. J. Agric. Sci. Nature. Resure, Iran.; 12(5): 100-108.
- Khoshbavar-Rostami HA and Soltani M (2005) Effect of acute toxicity of diazinon on hematological parameters in ship (*Acipenser nudiventris*) and determine LC50. Iranian Journal of Fisheries.; 14(3)49-60.
- Hamm JT, Wilson BW and Hinton DE (1998) Organophosphate-induced acetylcholine-sterase inhibition and embryonic retinal cell necrosis in vivo in the teleost (*Oryzias latipes*). Neurotoxicology.; 19: 853-870.
- Hisa M and Connie CW (1998) Respiratory function of hemoglobin. New England J. Med.; 338: 239-247.
- Ola Y (1990) Pollution from household waste, municipal, agricultural, industrial and natural, the structure and role of the Anzali Lagoon in

- front of them. Documents Fisheries Research Centre of Gilan Province, Iran.; No. 2, pp. 38.
- Pajand Z (1999) Determine the lethal concentration (LC50) pesticide diazinon and the herbicides Butacolor on two species of sturgeon fish, *Acipenser persicus* and *Acipenser stellatus*. MSc thesis Fisheries, Islamic Azad University Branch Lahijan, Iran.; pp. 12 -16.
- Porgholam R, Esmaily F, Farhomand H, Soltani M, Yosefi P and Mehdad H (2001) Study of blood parameters of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) after exposure to organophosphate diazinon. Journal of Fisheries.; 3 (2): 1-18.
- Porgholam R, Soltani M, Haji Mahi Aldit DH, Porgholam H, Ghoroghi A and Nahavandi R (2006) Determine the median lethal concentration (LC50) of diazinon and its effects sublethal concentrations on some hematological and biochemical parameters grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Iranian Journal of Fisheries.; 5 (2): 67-82.
- Sastry KV and Sharma K (1980) Diazinon effect of the activities of brain enzymes from *Opiocephalus punctatus* (Channa). Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 24: 326-332.
- Sibel OK, Kenan K, Mevlüt S, Ener UI and Murat P (2006) Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis*), Pesticide Biochemistry and Physiology.; 86: 99-105.
- Simmons A (1997) Hematology, Simmons, Butterworth- Heinemann: 507.
- Shahsavani D and Movaseghi AR (2003) Pathology of the liver - kidney in anionic detergent goldfish. Journal of Research and Development.; 16 (2): 100-103.
- Soltani, M. and Khoshbavar-Rostami, H., 2002. The study effects of diazinon on the some hematological and biochemical changes of *Acipenser guldenstadti*. Journal of Marine Sciences and Tecgnology.; 4 (1): 65-75.
- Svoboda M, Lusova V, Drastichova J and Zlabek V (2001) The effect of diazinon on hematological indices of Common carp (*Cyprinus carpio*). Acta vet. Brno.; 10: 457-465.
- TRC (1984) O. E. C. D. Guidelines for testing of chemicals. Section 2. Effects on biotic systems.; 1-39.