مقاله تحقیقی

مطالعه اثرات شوینده آنیونی (شامپو) بر پارامترهای خونی بچه تاسماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) پرورشی

فاطمه آرین فر *[۱]، سورنا ابدالی [۱]، مهنازالسادات صادقی [۱]، علی حلاجیان [۲]

۱. دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
۲. موسسه تحقیقات بین المللی تاس ماهیان دریای خزر

***مسئول مکاتبات:** دانشجوی کارشناس ارشد، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، آدرس الکترونیک: ja_ff87@yahoo.com

محل انجام تحقیق: دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۲۱

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۰- شماره ۲- تابستان ۱۳۹۴

چکیده

این تحقیق نیز به بررسی اثرات دترجنت آنیونی (شامپو) بر فاکتورهای خونی ۱۲۰ عدد تاسماهی شیپ پرورشی یک ساله با میانگین وزنی ۵/۲ ± ۳۱/۶ گرم، طی مجاورت کوتاه مدت در غلظت های ۰، ۵ ، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم در لیتر در ۱۲ عدد آکواریوم ۱۰۰ لیتری پرداخته است. اجرای این تحقیق در بهار ۱۳۹۱ در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انجام پذیرفت. جهت تعیین درصد لکوسیت ها، RBC، WBC، هماتوکریت و هموگلوبین از سیاه رگ دمی ماهیان به کمک سرنگ ۲ سی سی در زمان های ۱۲، ۲۴، ۴۸ ، ۷۲ و ۹۶ ساعت خون گیری صورت گرفت. نتایج پارامترهای خونی نشان داد که گلبول های قرمز خون، درصد هماتوکریت، هموگلوبین، نوتروفیل، ائوزینوفیل و مونوسیت با افزایش غلظت و زمان مجاورت با شوینده از ۲۴ ساعت تا ۹۶ ساعت نسبت به شاهد افزایش یافته، ولی گلبول سفید و لنفوسیت نسبت به شاهد کاهش یافته و تیمارها با شاهد اختلاف معنی داری را نشان دادند ($P < ۰/۰۵$). بنابراین ماهیان پس از مواجه با آلاینده ها به علت کاهش اکسیژن محلول آب باعث فعالیت بیشتر ماهی و در نتیجه موجب کمبود اکسیژن در ماهی شده و با افزایش غلظت شوینده و مدت زمان ماندگاری ماهی در محیط با افزایش کلبول قرمز و با کاهش ایمنی ماهی همراه می باشد، بنابراین فاکتورهای خونی ماهیان برای مقابله با آلاینده های وارد شده به محیط زیست شان دستخوش تغییراتی می شوند.

واژه های کلیدی: تاسماهی شیپ، *Acipenser nudiventris* ، شوینده آنیونی (شامپو)، پارامترهای خونی

مقدمه

خون یکی از بافت های حساس به تغییرات ایجاد شده در موجود زنده است و در تحقیقات ماهی شناسی کاربرد وسیعی دارد. تحقیقات نشان می دهد که کیفیت و کمیت فاکتورهای خونی می تواند شاخص خوبی برای تشخیص و تعیین سلامت و یا بیماری های ماهیان باشد استفاده از پارامترهای خون شناسی قادر است اطلاعات گسترده ای در مورد واکنش های فیزیولوژیک ماهی در مقابل با تغییرات محیط خارجی، نظیر بروز استرس و انواع بیماری ها در اختیار محققین قرار دهد (۱۲).

سیستم‌های آبی پیوسته با مشکلات ناشی از آلاینده‌ها مواجه هستند که از منابع مختلف از جمله فاضلاب‌های شهری و صنعتی که اکثراً بدون هیچ تصفیه ای به آب‌ها رها می‌شوند و موجودات آبزی به طور مداوم در معرض خطرات ناشی از این آلودگی های محیط زیستشان قرار دارند. یکی از این مواد آلوده کننده، شوینده آنیونی مانند شامپو است که به میزان زیاد مورد استفاده قرار می گیرد. شامپوها از پاک کننده های سنتزی هستند و ماده اصلی تشکیل دهنده آن شامل عامل پاک کننده مثل سدیم لوریل اتر سولفات و تری اتانول آمین سولفات، عامل تقویت کننده کف مثل بتائین، عامل حالت دهنده مو و عامل نگهدارنده مواد ضدعفونی کننده و میکروب کش، عامل صدفی کننده مثل اتیلن گلیکول و عامل غلیظ کننده مثل نمک طعام و عامل رنگ و بو مثل عصاره گیاهان می باشد (۱۲). این شوینده ها یکی از آلاینده های مهم بوده که توسط فاضلابها به آبهای ساحلی و همچنین به طور مستقیم و یا غیر مستقیم وارد اکوسیستم های آبی میشوند. مواد شوینده در غلظتهای زیاد موجب تغییرات فاکتورهای خونی و بافتی در موجودات آبزی به خصوص ماهیان می شود (۱۲).

ماهیان خاویاری در بین تمامی ماهیان بعنوان فسیل زنده از قدیمی ترین گروه های رده ماهیان استخوانی-غضروفی هستند که در آبهای معتدله نیم کره شمالی در اورپا، آسیا و آمریکای شمالی پراکنده شده اند (۸۰) و دریای خزر منبع اصلی این ماهیان بوده و کشورهای ایران و جماهیر شوروی (روسیه) بزرگترین تولیدکنندگان خاویار جهان به شمار می آیند. به خاطر ازدیاد تقاضا و افزایش مصرف خاویار که نوعی غذای پرکالری و سرشار از ویتامین است و همچنین گوشت لذیذ این ماهیان روز به روز تاسیسات صید تاس ماهیان و تولید خاویار آنها توسعه یافته است. اما نسل این ماهیان در دنیا به خاطر کثرت صید، دیر به بلوغ جنسی رسیدن (مدت زمان رسیدگی جنسی برحسب گونه و جنسیت ماهی متفاوت بوده بطوری‌که ماده تاسماهی شیپ ۱۲ سال و نر آن ۹ سال طول می کشد تا برای اولین بار به بلوغ جنسی برسند (۶). همچنین، نبودن محل های تخم ریزی طبیعی کافی و کارگاه های تکثیر مصنوعی به شدت کاهش یافته است (۱).

تحقیقات صورت گرفته اثرات شوینده ها بر روی ماهیان می توان به شاهسونی و همکاران در سال ۱۳۸۲ در ماهی حوض (*Carassius auratus*)، گلچین راد و همکاران در سال ۱۳۸۷ در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، Adewoye و همکاران در سال ۲۰۱۰ و Ogundiran و همکاران در سال ۲۰۱۰ در گربه ماهی جوان آفریقایی (*Clarias agariepinus*)، Byren و همکاران در سال ۱۹۸۹ در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Salmo gairdneri*)، Garima Srivastava و همکاران در سال ۲۰۱۱ درگربه ماهی آب شیرین (*Hetropneustes fossilis*) اشاره نمود.

با توجه به تحقیقات صورت گرفته اثرات زیانبار شوینده ها توسط محققین بر روی گونه ها مختلف ماهیان ولی تاکنون تحقیقی از اثر شوینده ها بر روی ماهیان خاویاری صورت نگرفته است و با توجه به اهمیت ماهیان خاویاری بعنوان یک ماهی ارزآور برای کشور، لذا این تحقیق با هدف بررسی اثرات شوینده آنیونی (شامپو) بر برخی از پارامترهای هماتولوژی و سرلوژی خون در بچه تاسماهی شیپ پرورشی در شرایط آزمایشگاهی پرداخته است تا از نتایج این تحقیق بتوان به اثرات زیانبار آن پی برد. همچنین نتایج این تحقیق می تواند راهگشایی برای پرورش دهندگان شیلاتی بخش های دولتی و خصوصی باشد.

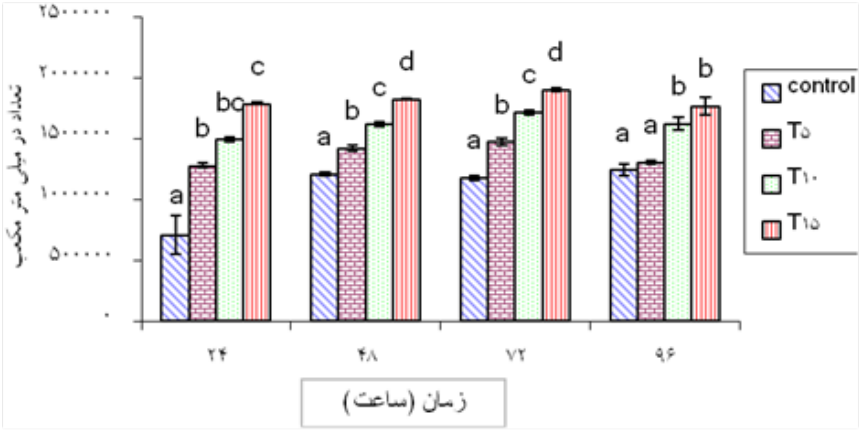
مواد و روش ها

اجرای این تحقیق در بهار ۱۳۹۱ به مدت ۳۰ روز عملی و آزمایشگاهی در بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انجام پذیرفت. تعداد ۱۲۰ عدد بچه ماهی شیپ پرورشی یک ساله با میانگین وزنی۵/۲±۳۱/۶ گرم و طول کل ۳/۵±۲۱/۵ سانتی متر، جهت انجام آزمون به آکواریوم‌های ۱۰۰ لیتری بخش فیزیولوژی و بیوشیمی موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر انتقال یافتند. به منظور سازگار کردن بچه ماهیان با شرایط آزمایشگاهی قبل از شروع آزمون به مدت ۴۸ ساعت در

آکواریوم های با دمای آب ۱/۰۱±۲۰/۱۲ سانی گراد، pH ۰/۳±۷/۱ و اکسیژن محلول ۰/۳±۷/۱ میلی گرم بر لیتر تحت هیچ گونه استرسی نگهداری شدند. آزمایشات در ۱۲ آکواریوم با حجم مفید ۹۰ لیتر آب در ۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار به ترتیب شامل تیمارهای شاهد، ۵، ۱۰ و ۱۵ ppm از دترجنت آنیونی شامپو انجام گرفت. تعداد ۱۰ عدد بچه ماهی وارد هر آکواریوم گردید و آکواریوم ها مرتبا هوادهی می شدند (۱۲). در زمان های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از قرار گرفتن ماهی ها در معرض دترجنت آنیونی، از هر آکواریوم ۳ عدد ماهی به صورت تصادفی توسط ساچوک صید شده، ابتدا بدن آنها با پارچه تنظیف خشک گردید، سپس خون گیری از سیاه رگ دمی با سرنگ ۲ سی سی انجام شد. ابتدا یک قطره از خون را روی لام جهت شمارش افتراقی ریخته با متانول فیکس پس از خشک شدن با گیمسا ۱۰ درصد رنگ آمیزی و به کمک میکروسکوپ نوری درصد سلول های سفید خون سنجیده شد. خون موجود در سرنگ به داخل تیوپ آغشته به هپارین منتقل گردید. جهت مخلوط شدن بهتر هپارین با خون تیوپ را به آرامی تکان داده می شد. از خون موجود هر تیوپ علاوه بر اینکه یاخته های قرمز (RBC) و سفید (WBC) توسط لام هموسیتومتر و لامل، پیپت ملانژور و محلول رنگی رقیق کننده شمارش گردید. هماتوکریت (PCV) به کمک لوله موئینه و سانتریفوژ میکروهماتوکریت به مدت ۵ دقیقه در ۷۰۰۰ دور در دقیقه، هموگلوبین (Hb) به کمک اسپکتروفوتومتر (مدل UV/VIS – ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) با طول موج ۵۴۰ نانومتر، و شاخص های یاخته قرمز (MCV, MCHC, MCH) مورد بررسی قرار گرفت (۱۵). تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و آزمون دانکن و از نرم افزارهای SPSS 16.0 و Excel 2007 استفاده شد.

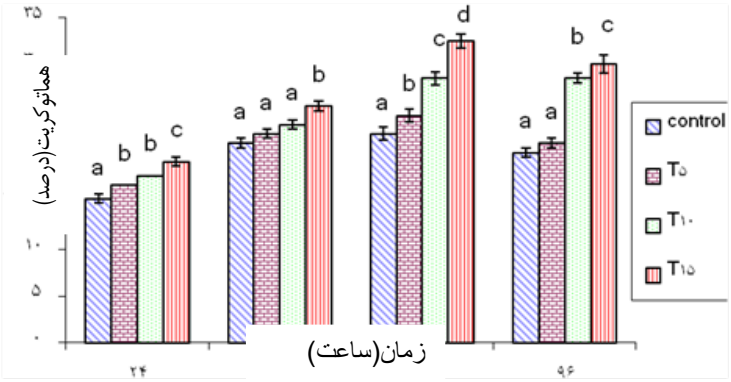
نتایج

نتایج نشان داد که متوسط تعداد اریتروسیت در تیمار شاهد ۱۰۸۶۲۵۰±۸۳۰۸۵,۰۵ عدد در میلیمتر مکعب و در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای غلظت ppm ۵ بترتیب ۱۲۸۰۰۰۰±۲۸۲۸۴,۲۷، ۱۴۲۰۰۰± ۳۵۳۵۵,۳۴ ، ۱۴۷۵۰۰۰±۳۵۳۵۵,۳۴، ۱۳۰۵۰۰۰±۲۱۲۱۳,۲ عدد در میلیمتر مکعب، برای غلظت ۱۰ppm بترتیب ۱۴۹۵۰۰۰±۲۱۲۱۳,۲ ، ۱۶۲۰۰۰۰±۲۸۲۸۴,۲۷، ۱۷۲۰۰۰۰±۲۸۲۸۴,۲۷، ۱۶۲۵۰۰۰±۷۷۷۸۱,۷۵عدد در میلیمتر مکعب و برای غلظت ppm ۱۵ بترتیب ۱۷۹۰۰۰۰±۱۴۱۴۲,۱۴، ۱۸۲۵۰۰۰±۱۰۷۱,۰۶، ۲۱۲۱۳,۲ ± ۱۹۰۵۰۰۰، ۱۷۷۰۰۰۰±۹۸۹۹۴,۹۵ عدد در میلیمتر مکعب بوده است. بر همین اساس مطابق نمودار ۱ تعداد اریتروسیت-های خون ماهی شیپ تیمارهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم در لیتر نسبت به تیمار شاهد تا زمان ۹۶ ساعت بیشتر بود. در ۲۴ ساعت تیمار ۱۵ با تیمارهای شاهد و ۵ و همچنین تیمارهای ۵ و ۱۰ با شاهد اختلاف معنی دار مشاهده شد (P<۰/۰۵)، در صورتی که تیمار ۱۰ با تیمارهای ۵ و ۱۵ اختلاف معنی داری نشان نداد (P>۰/۰۵).



نمودار ۱: تعداد گلبولهای قرمز خون در گروههای مورد مطالعه.

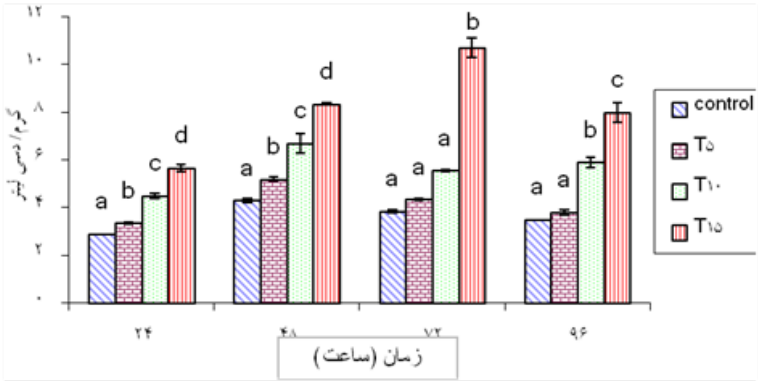
متوسط هماتوکریت خون ماهی در تیمار شاهد ۲۰±۰,۷۰درصدو در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای غلظت ppm ۵ بترتیب ۱۷ ، ۲۲,۵±۷۰ ، ۲۴,۵±۷۰ ، ۲۱,۵±۷۰درصد، برای غلظت ppm ۱۰ بترتیب ۱۸ ، ۲۳,۵±۷۰ ، ۲۸,۵±۷۰ ، ۲۸,۵±۷۰ درصدو برای غلظت ppm ۱۵ بترتیب ۱۹,۵±۷۰ ، ۲۵,۵±۷۰ ، ۲۷±۴,۱۴ ، ۳۰±۱,۴۱ درصد بوده است. بر اساس نمودار۲ میزان درصد هماتوکریت خون در زمانهای متفاوت دارای نوسان کمی بود بطوریکه تمامی تیمار ها در زمان ۷۲ ساعت با هم اختلاف معنی داری را نشان می دهد و در سایر زمانها این اختلاف بین تیمارها کم و یا فاقد اختلاف معنی داری بودند.



نمودار ۲: میانگین درصد هماتوکریت خون در گروههای مختلف مورد مطالعه.

متوسط هموگلوبین خون ماهی در تیمار شاهد ۰,۲۱ ± ۳,۶۳ گرم بر دسی لیترو در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای غلظت ppm ۵ بترتیب ۰,۷۰±۳,۳۵، ۰,۱۴±۵,۲ ، ۰,۷۰ ± ۴,۳۵ ، ۰,۱۴ ± ۳,۸گرم بر دسی لیتر، برای غلظت ppm ۱۰ بترتیب ۰,۱۴±۴,۵، ۰,۵۶ ±۶,۷ ، ۰,۷۰ ± ۵,۵۵ ، ۰,۲۸۲ ± ۵,۹ گرم بر دسی لیترو برای غلظت ppm ۱۵ بترتیب ۰,۲۱ ± ۵,۶۵، ۰,۷۰ ± ۸,۳۵ ، ۳,۳۹ ± ۱۰,۷ ، ۰,۵۶ ± ۸ گرم بر دسی لیتربوده است. بر اساس نمودار ۳ میزان هموگلوبین تیمار ۱۵ نسبت به سایر تیمار ها بیشتر بود. در ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت تمامی تیمارها با همدیگر و با شاهد اختلاف معنی داری را نشان داد ($P<0/05$). در ۷۲ ساعت شاهد با تیمارهای ۵ و ۱۰ اختلاف معنی داری نداشته ($P>/05$) ولی با تیمار ۱۵ اختلاف معنی داری را نشان داد

(P<۰/۰۵). در ۹۶ ساعت تیمارهای شاهد و ۵ با تیمارهای ۱۰ و ۱۵ اختلاف معنی دار مشاهده شد (P<۰/۰۵) ولی تیمار شاهد با تیمار ۵ اختلاف معنی داری نشان نداد(۰/۰۵ <P)، درصورتیکه تیمار ۱۰ با تیمار ۱۵ اختلاف وجود داشت.



نمودار ۳: میانگین تعداد هموگلوبین خون در گروهای مختلف مورد مطالعه.

میانگین حجم متوسط سلولی (MCV) خون ماهی در تیمار شاهد ۱۸,۵۶±۰,۲۹فمتولیتر و در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای غلظت ppm ۵ بترتیب ۱۹,۷±۰,۲۸، ۲۴,۰۵±۱,۶۲، ۱۸,۶±۰,۱۴، ۱۷,۷±۰,۸۴فمتولیتر، برای غلظت ppm ۱۰ بترتیب ۲۵,۱۵±۰,۹۱، ۲۹,۰۲±۲,۶۸، ۱۹,۹، ۱۹,۸۵±۷ فمتولیتر و برای غلظت ppm ۱۵ بترتیب ۲۹/۷۵±۰/۹۱، ۳۳/۳±۰/۱۴، ۱۱/۰۳±۱/۳۳،۹۰/۳±۲۶/۰۵فمتولیتربوده است. میانگین حجم متوسط سلولی در زمانها و تیمارهای مختلف دارای نوسان کمی بود بطوریکه تیمار ۱۵ در زمان های ۲۴ و ۹۶ ساعت با سایر تیمارها اختلاف معنی داری را نشان می دهد (P<۰/۰۵) و در سایر زمانها این اختلاف بین تیمارها کم و یا فاقد اختلاف معنی داری بودند.

متوسط غلظت هموگلوبین ذره ای (MCHC) خون ماهی در تیمار شاهد۳۹,۰۳±۰,۴۰درصد و در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای غلظت ppm۵ بترتیب ۲۶/۷±۰/۲۸، ۳۱/۶۵±۰/۲۱، ۲۹/۷±۱/۴۷، ۲۹/۱۵±۱/۰۶درصد، برای غلظت ppm۱۰ بترتیب ۲۵/۳±۰/۲۸، ۱۳±۹/۸۹، ۲۸/۵±۰/۱۴، ۳۲/۵±۰/۷درصد و برای غلظت ppm۱۵ بترتیب ۲۲/۵±۰/۵۶، ۲۸/۵±۲/۱۲، ۲۶/۵±۰/۵۶، ۳۰/۸±۰/۵۶ درصد بوده است. میانگین تغییرات غلظت هموگلوبین ذره ای در زمان ها و تیمارهای مختلف دارای نوسان بود بطوریکه تمامی تیمارها با شاهد در تمامی زمان های مورد آزمون دارای اختلاف معنی داری بوده است. در زمان ۴۸ ساعت کلیه تیمارها با هم اختلاف معنی داری داشته ولی در زمان ۹۶ ساعت بین تیمارها اختلافی مشاهده نگردید.

متوسط هموگلوبین ذره ای (MCH) خون ماهی در تیمار شاهد۴/۲۵±۱/۷۶گرم بر دسی لیترو در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای غلظت ppm ۵ بترتیب۳/۵±۲/۱۲، ۶ ،۱۰/۵±۰/۷، ۶گرم بر دسی لیتر، برای غلظت ppm ۱۰ بترتیب ۱۱/۵±۲/۱۲، ۱۳±۲/۱۲، ۱۴/۵±۰/۷۰، ۱۴/۵±۳/۵۳گرم بر دسی لیترو برای غلظت ppm ۱۵ بترتیب ۱۸/۵±۰/۵۳، ۲۸/۵±۲/۱۲، ۲۸/۵±۲/۱۲، ۲۱/۵±۲/۱۲ گرم بر دسی لیتر بوده است. میانگین هموگلوبین ذره ای در تیمارهای مختلف دارای نوسان بود بطوریکه تمامی تیمارها با شاهد در زمان های ۴۸ و ۷۲ ساعت دارای اختلاف معنی داری بوده است (P<۰/۰۵). همچنین تیمار های ۱۰ و ۱۵ در تمامی زمان های مورد آزمون با سایر تیمارها اختلاف معنی داری را نشان می دهد. شاهد و تیمار ۵ در زمان های ۲۴ و ۹۶ ساعت اختلافی با همدیگر نداشتند (P>۰/۰۵).

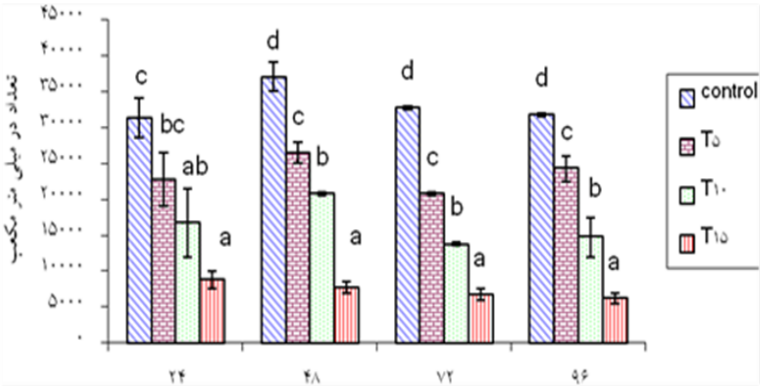
همچنین نتایج نشان داد که متوسط تعداد لکوسیت‌ها در تیمار شاهد ۱۸۵۶,۱۵ ± ۳۳۱۸۷ میلی متر مکعب و در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای غلظت ppm ۵ بترتیب۵۳۰۳,۳۱ ± ۲۲۷۵۰ ، ۲۶۵۰۰±۲۱۲۱,۳۲،

۲۰۷۵۰±۳۵۳,۵۵ ، ۲۴۲۵۰±۲۴۷۴,۸۷ میلی متر مکعب، برای غلظت ۱۰ppm بترتیب ۱۶۷۵۰±۶۷۱۷,۵۱ ، ۲۰۷۵۰±۳۵۳,۵۵، ۱۳۷۵۰±۳۵۳,۵۵، ۱۴۷۵۰±۳۸۸۹,۰۸ میلی متر مکعب و برای غلظت ppm ۱۵ بترتیب ۸۷۵۰±۱۷۶۷,۷۶ ، ۷۷۵۰±۱۰۶۰,۶۶ ، ۶۷۵۰±۱۰۶۰,۶۶ ، ۶۲۵۰±۱۰۶۰,۶۶ میلی متر مکعب بوده است. بر اساس نمودار۴ تعداد گلبولهای سفید خون ماهی شیپ تیمارهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم در لیتر نسبت به تیمار شاهد تا زمان ۹۶ ساعت کمتر بود. در ۲۴ ساعت تیمار ۱۵ با تیمارهای شاهد و ۵ و همچنین تیمار ۱۰ با شاهد اختلاف معنی دار مشاهده شد ($P<0/05$) در صورتیکه تیمار ۱۰ با تیمارهای ۵ و ۱۵ همچنین تیمار ۵ با شاهد اختلاف معنی داری نشان نداد ($P> 0/05$).

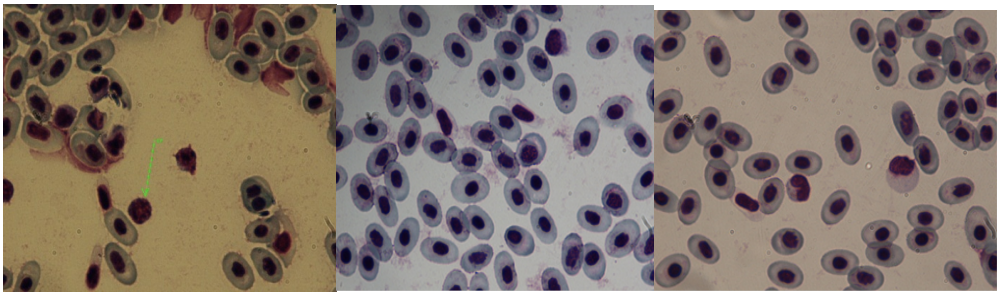
در شمارش افتراقی تاسماهی شیپ پرورشی شاهد، بیشترین مقدار مربوط به لنفوسیت ها وکمترین درصد مربوط به مونوسیت ها بوده است. نمودار۵ نمایی از لکوسیت های خون را نشان می دهد. بر همین اساس متوسط لنفوسیت خون ماهی در تیمار شاهد۲/۱۱ ± ۸۴/۷۵ درصد و در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای غلظت ppm ۵ بترتیب ۸۴/۵±۰/۷۰، ۷۵/۵±۲/۷۹،۱۲/۵±۰/۷۰ ،۷۴/۵±۰/۷۰درصد ،برای غلظت ppm ۱۰ بترتیب۶۹/۵±۰/۷۰، ۵۴/۵±۱۶/۲۶، ۵۸±۲/۸۲، ۵۸±۰/۶۵درصد و برای غلظت ppm ۱۵ بترتیب ۶۲±۳/۵۳، ۳۴ ، ۳۰±۲/۸۲، ۳۴±۵/۶۵درصد بوده است.

متوسط مونوسیت خون ماهی در تیمار شاهد۳/۳۵± ۱/۵ درصد و در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای غلظت ppm ۵ بترتیب ۱±۱/۴۱، ۷ ، ۶ ، ۶±۲/۸۲ درصد ، برای غلظت ppm ۱۰ بترتیب ۵/۵±۳/۵۳، ۶/۵±۳/۵۳، ۹/۵±۰/۷۰، ۱۰/۵±۰/۷۰درصد و برای غلظت ppm ۱۵ بترتیب ۵/۵±۴/۹، ۸/۵±۰/۷۰، ۱۱/۵±۰/۷۰، ۱۰/۵±۲/۱۲درصد بوده است.

متوسط نوتروفیل خون ماهی در تیمار شاهد ۰/۸۷± ۶/۶۲ درصد و در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای غلظت ppm ۵ بترتیب۱۱/۵±۴/۹۴، ۷/۵±۰/۷۰، ۸±۲/۸۲ ، ۱۳/۵±۳/۵۳ درصد ، برای غلظت ppm۱۰ بترتیب ۱۳/۵±۲/۱۲، ۲۶±۹/۸۹، ۱۸±۱/۴۱، ۱۷±۲/۸۲درصد و برای غلظت ppm۱۵ بترتیب ۱۳/۵±۴/۹۴، ۲۹±۲/۸۲، ۳۰±۴/۲۴، ۳۴±۱/۴۱ درصد بوده است.

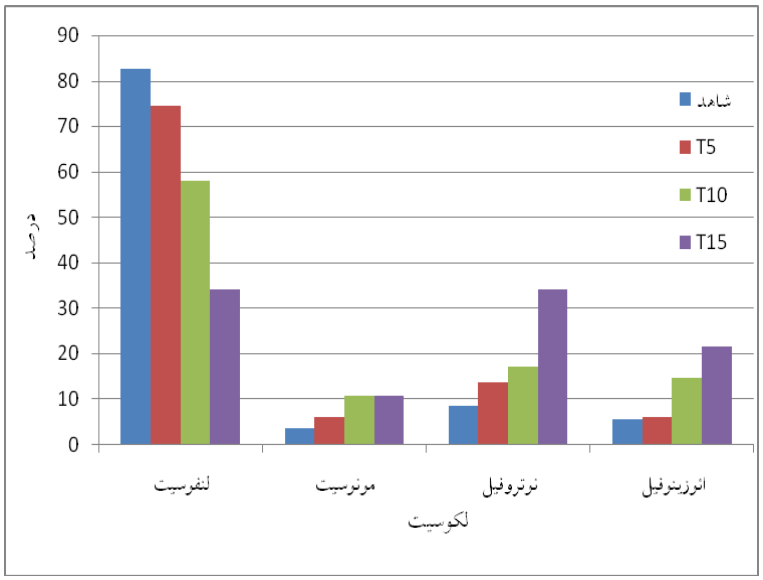


نمودار ۴: تغییرات تعداد گلبولهای سفید خون در گروه های مختلف مورد مطالعه.



تصویر ۱ – گلبول های سفید.

متوسط ائوزینوفیل خون ماهی در تیمار شاهد ۲/۱۱± ۴/۲۵ درصد و در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای غلظت ppm ۵ بترتیب ۲/۱۲±۳/۵، ۶، ۰/۷۰±۱۰/۵، ۶ درصد برای غلظت ppm ۱۰ بترتیب ۲/۱۲±۵۳/۵،۳/۱۱±۱۳/۵، ۰/۷۰±۱۴/۵، ۳/۵۳±۱۴/۵ درصد و برای غلظت ppm ۱۵ بترتیب۳/۵۳±۱۸/۵، ۱۲±۲۸/۵، ۹/۲۸±۲۸/۵، ۲/۱۲±۲۱/۵ درصد بوده است. نمودار ۶ مقایسه لکوسیت های خونی ماهیان شاهد و مورد آزمون را در دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ ppm را نشان می دهد.



زمان(ساعت)

نمودار۶: مقایسه درصد لکوسیت های خون تاسماسی سیپ پرورسی سرار گرفتن در ماده شوینده شامپو پس از ۹۶ ساعت.

بحث

محیط زیست ماهیان و شرایط حاکم بر آن نظیر درجه حرارت، مواد غذایی، آلودگی و صید بر مقادیر متابولیت‌ها و سلول‌های خونی تاثیر می‌گذارد و عوامل خونی بعنوان بهترین فاکتور جهت بررسی وضعیت تعادل موجود زنده با محیط پیرامون خود است که برای دستیابی به وضعیت خونی ماهیان در شرایط خاص زندگی، به تصویر کشیدن تنوع سلول‌های خونی (گلبول-های سفید و قرمز) به تناسب گونه، سن، فصول سال و تغییر شاخص‌های خونی به هنگام بیماری امری ضروری بوده به همین دلیل سنجش پارامترهای خون شاخص مهمی جهت ارزیابی وضعیت سلامت و فیزیولوژیکی اندامهای ماهیان و تجزیه و تحلیل نشانه های خونی

راهنمای با ارزشی در ارزیابی وضعیت زیستی آبزیان می-باشد (۶).

اریتروسیت ها نقش مهمی در انتقال اکسیژن ایفا می‌کند و از آنجایی که میزان اکسیژن آب رابطه عکس با تعداد اریتروسیت ها دارد، ماده دترجنت آنیونی باعث پایین آمدن اکسیژن محلول آب شده و شرایطی مانند هیپوکسی (کاهش اکسیژن) باعث افزایش قابل توجهی از اریتروسیت ها می گردد. افزایش تعداد یاخته های قرمز خون و هموگلوبین بیانگر تقاضای بالای نیاز اکسیژن برای دست یابی به اکسیژن بیشتر جهت سوخت و ساز بالاتر می باشد (۳۲). بنابراین ماهیانی که در شرایط اکسیژن پایین زندگی می کنند ممکن است هموگلوبین بیشتری در گلبول قرمز و تعداد گلبول قرمز بیشتری برای حمل اکسیژن در خون شان داشته باشند (۵۴).

شاهسونی و همکاران در سال ۱۳۸۲ با بررسی تاثیر ماده شوینده آنیونی (شامپو) بر پارامترهای خونی ماهی حوض، افزایش معنی دار در تعداد کل گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین گزارش نمودند. Casillas و همکاران در سال ۱۹۷۴ همچنین Gabriel و همکاران در سال ۲۰۰۷، در تحقیقات خود اثرات استرس بر ماهی قزل آلای رنگین کمان را مطالعه کرده و گزارش نمودند که استرس به هر دلیلی سبب افزایش هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول های قرمز می شود. استرس ناشی از هر عامل (مانند دترجنت آنیونی) باعث آزاد سازی کالامین ها، تحریک و بسیج یاخته های قرمز خون از طحال که معمولا با تاخیر صورت می گیرد و در نتیجه متورم شدن یاخته ها و قرمز شدن آنها می گردد (Bia *et al.*,2005). Bansal و همکاران در سال ۱۹۷۷ در بررسی هماتولوژی که بر روی ماهیان استخوانی آب شیرین انجام دادند، دریافتند که دسته ای از مواد شیمیایی سبب افزایش برخی از پارامترهای خونی از جمله اریتروسیت ها و هماتوکریت و هموگلوبین در ماهیان می گردد.

افزایش هماتوکریت و میزان هموگلوبین ماهیان مختلف، علل مختلف داشته و از پاسخ های ابتدایی ماهیان است و در واقع به آن ها این امکان را می دهد که از اکسیژن موجود در محیط حداکثر استفاده را داشته باشند(۷۱). افزایش هماتوکریت در لای ماهی (*Tinca tinca*) تنها به دلیل تورم گلبول های قرمز می باشد اما در ماهی قزل آلای رنگین کمان به علت آزاد شدن گلبول قرمز از طحال و هم به علت تورم گلبول های قرمز رخ می دهد(۷۱). افزایش هماتوکریت اگر با افزایش هموگلوبین همراه نباشد و تنها با افزایش MCV همراه باشد، ناشی از تورم گلبول قرمز است (بهرامی نژاد، ۱۳۸۸). افزایش همزمان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز در ماهیان مقاوم به کمبود اکسیژن مانند کپور دریایی (*Diplodus annularis*) و سوف صخره ای (*Scorpaean porcus*) نشان دهنده ی آزاد شدن گلبول قرمز از اندام های ذخیره می باشد (۶۳). در تحقیق حاضر نیز همسو با تحقیقات صورت گرفته توسط محققین است (۱۲،۶۳،۸۰). با افزایش غلظت شوینده از یک طرف ماهیان بعلت نیاز اکسیژنی و از طرف دیگر کاهش اکسیژن محلول بعلت جذب اکسیژن توسط شوینده ها، تیمارها نسبت به گروه شاهد علاوه بر اینکه میزان گلبول قرمز خون ماهیان (نمودار ۱) افزایش یافته است، با افزایش هموگلوبین، هماتوکریت، MCV و MCH نیز همراه بوده است.

Niimi در سال ۱۹۹۷ اظهار نموده است که مواد سمی و آلودگی محیطی باعث کاهش گلبول های سفید خون ماهی کپور شده است. Kirish در سال ۱۹۸۳ در مطالعه ای مشابه دریافت که مواد دترجنتی سنتتیک در محیط آبی نیز موجب کاهش گلبول های سفید خون ماهیان می شود. نتایج این مطالعه با سایر پژوهش های مشابه افزایش غلظت شوینده باعث کاهش شدید تعداد گلبولهای سفید خون ماهیان در تیمارها نسبت به گروه شاهد گردیده است. دلیل احتمالی کاهش تعداد گلبول سفید در برابر سموم و آلاینده ها بخاطر اثرات مضر آنها بر قابلیت دوام غشای سلول ها می باشد (۷۹). کاهش تعداد لکوسیت ها در کاهش توان ایمنی ماهیان جهت مبارزه با عوامل پاتوژن ثانویه بسیار موثر می باشد. حضور سموم و آلاینده ها بر سیستم ایمنی ماهیان تاثیر منفی داشته و تولید آنزیم ها و سلول های دخیل در سیستم ایمنی را از اندام های تیموس، طحال، بافت کلیوی و روده کاهش می دهند. فراوانی لنفوسیت ها به شدت تحت تاثیر مواد

آلاینده محیطی می باشد. به طوری که با وجود مواد سمی و دارویی به شدت کاهش می یابد (۴۰).

گرانول های نوتروفیل ها و ائوزینوفیل ها حاوی مواد آنزیمی از جمله لیزوزوم ها و مواد آنزیمی مانند پروتئین های کاتیونی می باشند و افزایش در تعداد آنها یک واکنش دفاعی غیر اختصاصی در ماهیان است (۶۶).

شریف پور و همکاران در سال ۱۳۸۲ با مطالعه ای اعلام نمودند که یکی از عوامل تاثیر گذار در مسمومیت آبزیان عامل زمان است. به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می رود و هم آلاینده فرصت بیشتری برای تاثیر گذاری روی ماهی دارد که این نتیجه در مطالعه حاضر به اثبات رسیده است و ماهی شیپ توانایی بیشتر نوتروفیل-های بیگانه خوار در تمام غلظت های ماده ی دترجنت آنیونی مورد بررسی و در نتیجه توان مقابله با آلاینده را دارد.

تعداد زیادی از محققین لنفوپنی (کاهش لنفوسیت ها) و گرانولوسیتوز (افزایش نوتروفیل ها و ائوزینوفیل ها) را از عوارض قرار گرفتن در معرض بسیاری از مواد آلاینده دانستند (۷۵،۷۳،۶۹). مونوسیت ها عمل ماکروفاژی ایفا می کنند و به عنوان سلول های خنثی کننده آنتی ژن عمل می کنند (۵). مطالعات زیادی که توسط محققان مختلف صورت گرفته نشان داد که افزایش تعداد کل نوتروفیل ها و ائوزینوفیل نشان دهنده شرایط نامناسب زیست محیطی می باشد(۸،۱۰، ۳۷، ۶۳). همچنین شاهسونی و همکاران در سال ۱۳۸۲ با بررسی تاثیر ماده شوینده آنیونی (شامپو) بر پارامترهای خونی ماهی حوض در غلظت های ۵،۱۰ppm، ۱۵، گزارش نمودند که تعداد لنفوسیت ها، نوتروفیل ها و منوسیت های گروه ۲ و تعداد نوتروفیل های گروه ۳ و تعداد منوسیت های گروه ۱ آزمایش در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان می دهد. سطح لکوسیت های خون ماهیان در تیمارهای مورد آزمون با افزایش غلظت و زمان مجاورت با شوینده از ۲۴ساعت تا ۹۶ ساعت نسبت به تیمارهای با غلظت پایین و شاهد افزایش یافت و تنها درصد لنفوسیت ها با افزایش غلظت در طول آزمایش، کاهش یافت است. تحقیق حاضر مشابه با گزارشات صورت گرفته توسط سایر محققین (۱۲)، خوشباور رستمی و همکاران در سال ۱۳۸۴، شاملو و همکاران در سال ۱۳۸۵و همچنین با افزایش غلظت شوینده در تیمارها نسبت به شاهد با افزایش لکوسیت های خونی همراه بوده و در بین لکوسیت ها با کاهش لنفوسیت ها و افزایش گرانولوسیت ها (نوتروفیل و ائوزینوفیل) در ماهیانی که در معرض سمیت حاد شوینده قرار گرفته بودند همراه بوده است (۲۰ ، ۲۵ ، ۳۷ ، ۵۷ ، ۶۲ ، ۶۸ ، ۶۹ ، ۷۱).

بنابراین ماهیانی که در معرض دترجنت های آنیونی قرار می گیرند بعلت جذب اکسیژن توسط این دترجنت ها و به دنبال آن کاهش اکسیژن محلول آب باعث ایجاد استرس و کمبود اکسیژن در ماهی شده که این عوامل در فاکتورهای خونی ماهیان برای مقابله با آلاینده های وارد شده به محیط زیست شان دستخوش تغییراتی می شوند. بطوریکه با افزایش دوز شوینده و مدت زمان ماندگاری در محیط آلاینده با افزایش RBC در ماهی همراه می باشد.

منابع مورد استفاده

۱. آذری تاکامی. ق ؛ ۱۳۸۸. ماهیان خاویاری ؛ موسسه انتشارات دانشگاه تهران؛ ص ۴۰۱.

۲. بهرامی نژاد جونقانی، ز،۱۳۸۸ ، مطالعه تغییرات خونی هنگام مقابله با کمبود اکسیژن در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) ، پایان نامه کارشناسی ارشد ، گروه بیولوژی دریا دانشگاه گیلان، ص ۷۲.

۳. بهمنی،م.، ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر بر محورهای HPG ، HPI ، سیستم ایمنی و فرآیند تولید مثل در تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus* . رساله دکتری تخصصی (ph.D.). دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، ص ۲۷۴.

۴. بهمنی،م. کاظمی، ر.،۱۳۸۲. مطالعه برخی عوامل بیوشیمیایی و خونی در تاسماهیان پرورشی قره برون و فیل ماهی. مجله علمی شیلات ایران، سال دوازدهم، شماره ۳، ص ۳۵-۲۹.

۵. تاکاشیما، اف. و هی بی یا، تی. ترجمه پوستی، ا . صدیق مروستی، ع.، ۱۳۷۸. اطلس بافت شناسی ماهی: اشکال طبیعی و آسیب شناسی. انتشارات دانشگاه تهران، ص ۳۲۸.

۶. حلاجیان ،ع.، کاظمی، ر.، محسنی، م.، بهمنی، م.، یوسفی،ا.، ۱۳۸۶. تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی در تاسماهی شیپ پرورشی (*Acipenser nudiventris*) با استفاده از روش تکه برداری از گناد، مجله علمی شیلات ایران. سال شانزدهم. شماره ۳. ص ۷۲-۶۵.

۷. خوشباور رستمی، ح. سلطانی، م.،۱۳۸۴. بررسی تاثیر سمیت حاد دیازینون بر روی شاخص های خونی ماهی شیپ *Acipenser nudiventris* و تعیین میزان hLC_{50} ۹۶، مجله علمی شیلات ایران، سال چهارم، شماره ۳، ص ۵۹-۴۹.

۸. ستاری ،م. ۱۳۸۱. ماهی شناسی (۱)، تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر با همکاری دانشگاه گیلان، ص ۶۵۹.

۹. شاملوفر، م. کمالی، ا.؛پیری، م.؛ یغمایی، ف. مختومی، ن.۱۳۸۵. تعیین میزان hLC_{50} ۹۶ سم دیازینون و غلظت تحت کشنده آن بر عوامل خونی بچه فیل ماهی Huso huso . مجله علمی شیلات ایران، سال پانزدهم، شماره ۴، ص ۷۸-۶۹.

۱۰. شاهسونی، د.، موثقی، ا. ر.، مقصودلو، ع. ۱۳۸۲. بررسی بالینی و آسیب شناسی اثرات ماده شوینده آنیونی بر آبشش ماهی حوض. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۸.

۱۱. شاهسونی، د.، موثقی، ا.ر. ۱۳۸۲. بررسی آسیب شناسی کبدی کلیوی ناشی از ماده شوینده آنیونی در ماهی قرمز، مجله پژوهش و سازندگی شماره ۵۹.

۱۲. شاهسونی، د.، مهری، م. نظری، ک.، ۱۳۸۲. بررسی تاثیر ماده شوینده آنیونی (شامپو) بر پارامترهای خونی ماهی حوض (*Carassius auratus*). فصلنامه پژوهش و سازندگی، شماره ۶۱.

۱۳. شاهسونی، د.؛ وثوقی، غ. خضرایی نیا، پ.،۱۳۸۰. تعیین برخی شاخص های خونی ماهیان خاویاری انگشت قد (قره برون و ازون برون) در استان گیلان. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۵۰،ص ۱۸-۱۴.

۱۴. کاظمی، ر. ا، پوردهقانی، م.، یوسفی جوردهی، ا.، یارمحمدی، م. نصری تجن، م.، ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. ص ۱۹۴ .

۱۵. گلچین راد، ع.، عسکری حصنی، م.، ناصرعلوی، م .ق.، عتباتی، آ.، ۱۳۸۷. تاثیر مواد شوینده آنیونی بر گلیکوژن کبد و گلوکز خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران. ۱۷(۳):۱۶۱-۱۶۴.

۱۶. نوری، ج.، شهریاری افشار، ع.، ۱۳۸۹. بررسی نقش دترجنتهای آنیونی در آلودگی محیطزیست. دانشگاه آزاد اسلامی شاهرود.

17. Abel, P. D., 1974. Toxicity of synthetic detergents to fish and aquatic invertebrates. Journal of fish Bio 6(3): 279 –298.
18. Adewoye, S. O., 2010. A comparative study on the behavioral responses of *Clarias gariepinus* on exposure to soap and detergent effluents.
19. Ajani, F., 2008. Hormonal and hematological responses of Clarias gariepinus to ammonia toxicity. African Journal of Biotechnology 7: 3466-3471.
20. Ajit, D. D., 1986. Changes in carbohydrate metabolism in tilapia, *Oreochromis (sarotherodon) mossambicus*, during short term exposure to different types of pollutants, Environment Pollution Services A. Eco. Bio 41(2): 165-177.
21. Allen, E. J., Nelson, E. W., 1910. On the artificial culture of marine planktonic organisms. J Mar Bioi Assn UK 18: 421.
22. Bansal, S. K., Dalela, R. C., 1997. Physiology disfunction of the haemopoietic system in a fresh water teleost. Bull Enviro Contam Toxicol 22(3): 18-20.
23. Bayren, B. L., 1976. A cytochemical and biochemical index of stress in *Mytilus edulis.* Mar Poll Bull 7: 221-224.
24. Benarji, G., Rajendranath, T., 1990. Haematological changes induced by an organophosphorous insecticide in a freshwater fish Clarias batrachus (Linnaeus). Tropical Freshwater Biology 2(1): 197-202.
25. Beyea, M. M., Benfey, T. J., Kieffer, J. D., 2005. Hematology and stress physiology of diploid and triploid juvenile shortnose sturgeon (Acipenser brevirostrum). Fish Physiology and Biochemistre 31: 303-313.

26. Bielinska, I., 1987. Dielectric, haematological and biochemical studies of detergent toxicity in fish blood. Phy Med Biol 32(5): 623-635.
27. Bijoy C., Eamesh M., Ramanujam, R. M., 1999. Lethal and sublethal effects of a synthetic detergent on glucose-6-phosphate-dehydrogenase (G-6-P.D.H) enzyme activity in blood of a fresh water teleost *Labeo rohita.*
28. Boutilier, R. G., Dobson, G., Hoeger, U., Randall, J., 1987. Acute exposure to graded levels of hypoxia in rainbow trout (Salmo gairdneri): metabolic and respiratory adaptations. Resp Physiol 71: 69-82.
29. Byrne, P., Speare, O., Ferguson, H. W., 1989. Effects of a cationic detergent on the gills and blood chemistry of rainbow trout. Dis Aquat Org 6: 185-196.
30. Casillas, E., Smith, L. S., 1974. Effects of stress on blood coagulation and haematology in rianbow trout exposed to hypoxia. J Fish Biol 6(5): 379-380.
31. Forster, M. E., Davison, W., Axelsson, M., Farrel, A. P. P., 1992. Cardiovascular response to hypoxia in the hagfish, Eptatretus cirrhatus. Resp Physiol 3: 373-386.
32. Gabriel, U. U., Ezeri, G. N. O., Opabunmi, O. O., 2007. Influence of sex, source, health status and acclimation on the haematology of Clarias gariepinus. African Journal of Biotechnology 3: 463-467.
33. Garg, T. K., Mittal, A. K., 1993. Observations on the functions of mucus cells in the epidermis of the cat fish *Clarias batrachus* exposed to sodium dodecyl suifate. Biomed Environ Sci 6(2): 119-133.
34. Garima, S., Srivastava, A. K., 2011. Toxicological effects of selenium on the haematological parameters of afreshwater catfish. Heteropneustes fossilis.
35. Ghatak, D. B., Konar, S. K., 1993. Chronic sublethal effects of heavy methal cadmium detergent, parnel jand, petroleum product n-heptane on fish. Environ Ecol 11(4): 775-783.
36. Ghosh, K., Banerjee, V., 1993. Alteration in blood parameters in the fish Heteropneustes fossilis exposed to dimethoate. Environmental Ecology 11(4): 979-981.
37. Kicenuik, J. W., Penrose, W. R., Squires, W. R., 1978. Oil spill dispersants cause bradycardia in a marine fish. Mar Poll Bull 9(2):??????????????
38. Konar, S. K., Chattopadhyay, O. N., 1985. Acute and chronic effects of linear alkyl benzene sulfonate on fish, plankton and worm. Environ Ecol 3: 258-262.
39. Koprucu, S. S., Koprusu, K., Ural, M. S., Ispir, U., Pala, M., 2006. Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behaviour and some haematological parameters of fingerling European catfish Silurus glanis. Pesticide Biochemistry and Physiology 86(2): 99-105.
40. Krish, C. R., 1983. Comparative studies on ectoxicology of synthetic detergents. Ecotoxicol Environ 7: 538-545.
41. Lwaman, G. K., Afonso, L., Vijayan, M., 2004. Aqua Net Wokshop on Fish Welfare. Campbell River, B. C. Canada.
42. Maki, A. W., 1979. Respiratory activity of fish as a predictor of chronic fish toxicity values for surfactants. Special Technical Publ 667, ASTM, Philadelphia, pp. 77-95.
43. Maruthanayagam, C., Sharmila, G., 2004. Haemato-biochemical variations induced by the pesticides monocrotophos in Cyprinus carpio during the exposure and recovery periods. Nature Environmental Pollution Technology 3(4): 491-494.
44. Mccarthy, D. H., Stevenson, J. P., Roberts, M. S., 1973. Some blood parameters of rainbow trout. Salmo gairdneri. Journal of Fish Biology 5: 1-8.
45. Mcleay, D. J., 1983. Effects of cortisol and dexamethasone in gold fish and salmon. Gen Comp Endoctinaol 21: 441-450.
46. Michael, R. D., Srinivas, S. D., Sailendri, K., Muthuk K., 1994. A rapid method for repetitive bleeding in fish. Indian J Exp Biol: 838-839.
47. Murad, A., Houston, A. H., 1988. Leucocytes and leucopoietic capacity in goldfish Carassius auratus, exposed to sublethal levels of cadmium. Aquatic Toxicology 13(2): 141-154.
48. Niimi, A. J., 1997. Biological and toxicological effects of environmental contaminations in fish. Canadian Jounal of Fisheries and Aquatic Science 40: 306-312.
49. Nikinmaa, M., Salama, A., 1998. Oxygen transport in fish. Fish physiology vol. 17, Fish Respiration. Academic press, san Diego., 17: 141-184.
50. Nilsson, S., Grove, D. J., 1984. Adrenergic and cholinergic innervation of the spleen of the cod (*Gadusmorhua*). Eur J Pharmacol 28: 135-137.
51. Ogundiran, M. A., Fawole, O. O., Adewoye, S. O., Ayandiran, T. A., 2010. Toxicological impact of detergent effluent on juvenile of African Catfish *(Clarias gariepinus)????????????*
52. Oh, H. S., Lee, S. K., Kim, Y. H., Roh, J. K., 1991. Mechanism of selective toxicity of diazinon to killifish Oryzias latipes and loach Misgurnus anguillicaudatus. Aquatic

Toxicology and Risk Assesment 14(1): 343-353.
53. Reebs, S. G., 2009. Oxygen and fish behavior, Universite de Moncton, Canada, www.howfishbehave.ca.
54. Robinson, D. S., 1990. Plasma triglyceride metabolism. Journal of Clinical Pathology 5: 5-10.
55. Rosas, C., Espina, S., Diaz, F., Curts, J., Rosas, I., 1988. Effect of sub lethal detergent concentrations upon the gill permeability of *Ctenopharyngodon idella* (Pisces, Cyprinidae). Wat Air Soil Poll 42: 253-258.
56. Schwalger, J., Hoffmann, R., Negele, R. D., 1993. Haematology in evaluation of experimental Hydrobiology Vodnany, Cech Republic. Litomys 1: 155-160.
57. Shamberger, R. J., Andereone, T. L., Willis, C. E., 1974. Antioxidants and cancerinitiating activity of malondialdehyde as a carcinogen. J Natl Cancer Inst 53: 1771.
58. Shimp, R. J., Schwab, B. S., 1991. Use of a flow-through *in situ* environmental chamber to study microbial adaptation processes in riverine sediments and periphyton. Environ Toxicol Chem 10: 159-167.
59. Singer, M. M., Tjeerdema, R. S., 1993. Fate and effects of the surfactant sodium dodecyl sulfate. Rev Environ Toxicol 133: 95-149.
60. Singh, N. N., Srivastava, A. K., 1994. Formothion induced hematological changes in the freshwater Indian catfish Heteropenenustes fossilis. Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring 4(1): 137-140.
61. Siwicki, A. K., Cossarini-Dunier, M., Studnicka, M., Demael, A., 1990. In vivo effect of the organophosphorus insecticide trichlorphon on immune response of carp Cyprinus carpio. Effect of high doses of trichlorphon on nonspecific immune response. Ecotoxiclogy and Environmental Safety 19(1): 99-105.
62. Silikin S., 2004. Effect of hypoxia on physiological-biochemical blood parameters in some marine fish. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology 10: 527-532.
63. Stoskopf, M. K., 1987. Basic Physiology In: Workshop on Marine Tropical fish (Stoskopf, M.K. and Citino, S. eds) Aquatic Diagnostic press, Baltimore, Maryland, Pp: 13-19.
64. Stoskopf, M. K., 1988. Avian and Piscean hematology and serology proceeding of the fifth Annual veterinary Medical forum. Am Coll Vet Intern Med 5: 608-611.
65. Stoskopf, M. K., 1993. Fish Medicine. By W.B. Saunders Co. 128-131. 232-238. 327-331. 450-452. 498-504. 543. 614-617. 685-687. 754-758.
66. Sutterlin, A., Rand, S., 1971. The influence of synthetic surfactants on the functional properties of the olfactory epithelium of Atlantic salmon. Fish Res Bd Can Tech Rep 287: 1-8.
67. Svoboda, M., Luscova, V., Drastichova, J., Habek, V., 2001. The effect of diazinon on haematological indices of common carp Cyprinus carpio. Acta Veterinaria Brno 70(1): 457-465.
68. Svobodova, Z., Luscova, V., Drastichova, J., Svoboda, M., Zlabek, V., 2003. Effect of deltamethrin on haematological indices of common carp Cyprinus carpio. Acta Veterinaria Brno 72(1): 79-85.
69. Swedmark, M., Braaten, B., Emanuelsson, E., Granmo, A., 1971. Biological effects of surface active agents on marine animals. Mar Biol 9: 183-201.
70. Swift, D. J., 1982. Changes in selected blood component concentrations of rainbow trout, Salma gairdneri, following the blocking of the cortisol stress response with betamethasone and subsequent exposure to phenol or hypoxia. J Fish Biol 21: 269-277.
71. Swisher, R. D., 1987. Surfactant biodegradation. 2nd ed., Marcel Dekker, New York. Tabata M, Kobayashi Y, Nakajima A and S Suzuki 1990. Evaluation of pollutant toxicity by assay of enzymes released from lysosomes. Bull Environ Contam Toxicol 45: 31-38.
72. Watson, T. J., Jackson, L. L., 1983. The heamatology of gold fish (Carassius auratus). Cytologia 28: 118-130.
73. Wedemeyer, G. A., Barton, B. A., Mcleay, D. J., 1990. Stress and acclimation. In: Shreck, C.B., Moyler, P.B., methods for fish biology. American fisheries society. U.S.A., pp: 451-477.
74. Wlasow, T., 1985. The leukocyte system in rainbow trout. Salmo gairdneri Rich, affected by prolonged subacute phenol intoxication. Acta Ichthyologyca 15(1): 83-94.
75. Wilson, J. A., 1982. Principles of animal physiology, 2nd ed. Collier Macmillan Canada, Ltd, pp. 173-174.
76. Wolf, M. F., Schwartz, G. J. B., Singaram, S., Mielbrecht, E. E., Tjeerdema, S. S., Sowby, M. L., 1998. Influence of dispersants on the bioavailability of naphthalene from the water-accomated fraction crude oil to the golden brown algae, *Isochrysis galbana.* Arch Environ Contam Toxicol 35(2): 274 280.

77. Wood, C. M., 1988. The physiological problems of fish acidic waters. In: Morris, R., Brown, D. J. A., Taylor. E. Brown, J. A. (eds.) Acid toxicity and aquatic animals, Society for experimental biology seminar series. Cam-Bridge University Press, Cambridge, pp. 125-152.
78. Yamada, Y., Kuboi Rand Komasawa, I., 1993. Increased activity of *Chromobacterium viscosum* lipase in aerosol of reverse micelles in presence of non ionic surfactants. Biotechnol Prog 9: 468-472.
79. Birstein, V. J., 1993. Sturgeons and paddlefishes: threatened fishes in need of conservation 7: 773-787.
80. Memis, D., Ercan, E., Celikkale, M. S., Timur, M., Zarkua, Z., 2009. Growth and survival rate of russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) larvae from fertilized eggs to artificial feeding. Turk J Fish Aqua Sci 9: 47-52.