بررسی اثرات آلودگی‌های نفتی بر پارامترهای هماتولوژیکی ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*)

منصوره احمدی لیوانی[۱]*، حسینعلی خوشباور رستمی[۲]، سعید یلقی[۳] و علی مکرمی رستمی[۴]

[۱] کارشناس آزمایشگاه مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی گرگان، دانشجوی دکتری دانشگاه ارومیه،
[۲] دکتری تخصصی بهداشت و بیماری‌های آبزیان، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات و علوم شیلاتی کشور،
[۳] دکتری تخصصی شیلات، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات و علوم شیلاتی کشور،
[۴] کارشناس آزمایشگاه، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر- ساری

تاریخ دریافت: ۹۷/۱/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۵/۲۸

چکیده

در این پژوهش اثر هیدروکربن‌های آروماتیک (PAHs) بر پارامترهای خونی در شیپ مورد مطالعه قرار گرفت. ۲۰۰۰ قطعه بچه‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*)، با میانگین وزنی ۱۴-۸ از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری استان‌های گلستان، مازندران و گیلان تهیه و به پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انتقال داده شد. مقادیر غلظت LC50 ۹۶ ساعت ۱۳/۹ میلی‌گرم بر لیتر تعیین گردید. با توجه به نتایج حاصله مقادیر شاخص‌های خونی RBC و Hb در گروه آزمون نسبت به گروه شاهد از کاهش معنی‌داری برخوردار بود ولی میزان PCV و MCV در گروه آزمون افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) را نشان داد. نتایج شمارش افتراقی در دو گروه آزمون و شاهد مورد مطالعه از اختلاف معنی‌داری برخوردار بود (P<۰/۰۵). جهت بررسی اثرات سمیت مزمن TPAH بر روی فاکتورهای خونی و سنجش قدرت فاگوسیتوزیس ماده نفتی در سه غلظت ۲، ۳ و ۴ برابر غلظت TPAH در آب حوزه جنوبی دریای آماده گردید و ماهیان به‌مدت ۵۰ روز در این آب با شرایط نیمه ساکن و دمای ثابت (۱± ۲۲) نگهداری شدند. در این آزمایش مشخص شد که میزان گلبول قرمز خون و هماتوکریت بچه‌ماهیان جوان گروه‌های در معرض TPAH در مقایسه با گروه شاهد از کاهش معنی‌داری (P>۰/۰۵) برخوردار بوده است. براساس یافته‌های کلی این پژوهش می‌توان نتیجه‌گیری نمود که حضور و وجود سموم و مواد شیمیایی در اکوسیستم‌های آبی موجب آسیب‌دیدگی و کاهش مقاومت و تضعیف سیستم ایمنی ماهی شیپ شده و بدین‌ترتیب باعث ابتلا به بیماری و مرگ آن‌ها می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آروماتیک (TPAH)، دریای خزر، شیپ (*Acipenser nudiventris*)، فاکتورهای خونی

مقدمه

آزمایش تعیین مسمومیت حاد یکی از معمول‌ترین و رایج‌ترین آزمون‌هایی است که برای ارزیابی اثرات زیست‌محیطی مواد شیمیائی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کسب و جمع آوری اطلاعات پایه و اولیه در زمینه ارزیابی فرآیند خسارت‌زائی هر ماده سمی در محیط آبی از طریق انجام آزمایش کوتاه‌مدت یا مسمومیت حاد میسر می‌گردد. علاوه بر آزمون مسمومیت حاد در مدت ۹۶ ساعت، آزمون‌های دیگری همانند آزمون‌های مزمن یا چرخه حیات، چرخه نسبی حیات، جنینی- لاروی، رفتاری، بیوشیمیائی- فیزیولوژیکی، بافت‌شناختی، هیستو شیمیائی، کشت سلولی و ... جهت ارزیابی خسارت‌های زیست‌محیطی آلاینده‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش‌های خونشناسی از قدیم‌الایام به‌وسیله بیولوژیست‌ها

---

* نویسنده مسئول: ahmadi777@yahoo.com

جهت سنجش سلامت عمومی ماهیان مراکز تکثیر در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد (Edsall، ۱۹۹۹). پاسخ CL می تو‌ند جهت پایش تغییرات سیستم ایمنی ماهی متعاقب قرار گرفتن در معرض مواد آلاینده مورد استفاده قرار گیرد (Elsasser و همکاران، ۱۹۸۶). میزان انفجار تنفسی سلول‌های فاگوسیتوزی را اندازه‌گیری می‌نماید. در این پدیده اکسیژن به محیط اکسیژنی واکنش‌زا تبدیل می‌شود. این محیط می‌تواند موجب فعال شدن لومینول و تهیج و ساطع شدن فوتون شود که مقدار آن را می‌توان از طریق نورسنجی اندازه‌گیری نمود. ثابت شده که پدیده CL با مکانیزم‌های باکتری‌کشی و انفجار تنفسی فاگوسیتوز توام می‌باشد (Allen و همکاران، ۱۹۷۲؛ Welch، ۱۹۸۰). بیگانه‌خواری در ماهی به‌لحاظ شکلی همانند بیگانه‌خواری پستانداران بوده و در بافت‌های خونساز شامل Pronephros تمرکز یافته‌اند (Bielek، ۱۹۸۱؛ Braun-Nesje و همکاران، ۱۹۸۱؛ Ellis، ۱۹٦٦؛ Finn و Nielson، ۱۹۷۱).

طبق پژوهش‌های انجام‌شده هیدروکربن‌های حلقوی معطر به‌عنوان یک عامل سرطان‌زا شناخته شده‌اند البته تمام هیدروکربن‌های معطر، قدرت سرطان‌زایی ندارند و بسیاری از حیوانات آن‌ها را به ترکیبات کم‌ضررتر تبدیل می‌کنند.

هیدروکربن‌های جذب‌شده، بیش‌تر در بافت‌های اعضایی مانند جگر و لوزالمعده، کیسه صفرا و لیپوپروتئین در پلاسما و تمام بافت‌های پوستی و عصبی که ذخیره چربی دارند، متمرکز می‌شوند. این مواد با تأثیر گذاشتن بر مکانیسم سلولی، باعث تغییرات پوستی مانند غده‌ها و فساد نسوج زنده و پیدایش جراحاتی در بیضه‌ها و سیستم عصبی مرکزی، روده‌ها، جگر و طحال ماهی و پستانداران دریایی می‌شود (Straughan و Abbot، ۱۹۷۱).

اثرات طولانی‌مدت نفت بر اجتماعات ماهی‌ها، عواقب کشنده‌ای مانند تغییر در رفتار، شکل مهاجرت و میزان زاد و ولد آن‌ها دارد. بررسی‌ها در مورد آلودگی آب‌ها بر اثر حادثه نفتکش توری کانیون نشان داده است که حتی اگر ماهی‌های بالغ توانسته باشند از این نواحی آلوده دور شوند، بین ۵۰ تا ۹۰ درصد تخم ماهی‌های دریایی از بین رفته و نوزادان آن‌ها نیز ناپدید شده‌اند. یک سری از مطالعات نشان می‌دهد که تخم ماهی‌ها به‌طور غیرعادی هنگامی که غلظت نفت در آب حدود ۱ تا ۱۰ قسمت در میلیون باشد، رشد می‌کنند (Smith، ۱۹٦۸). آلودگی نفتی کلاً ممکن است که باعث بسته شدن آبشش‌ها و در نتیجه خفگی گردد. ولی به‌هرحال خطر عمده این است که ماهیان بزرگسال و جوانی که در آب‌های کم‌عمق زندگی می‌کنند ممکن است توسط مواد سمی موجود در نفت دچار مخاطره شوند. مطالعات Malins و Hodgins (۱۹۸۱) نشان داد که مواد نفتی موجود در رسوبات در بافت بدن ماهیان ذخیره می گردد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات آلودگی‌های نفتی بر پارامترهای هماتولوژیکی ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) است. قابل ذکر است تاکنون پژوهش‌هایی در زمینه اندازه‌گیری هیدروکربن‌های نفتی در بافت این ماهی خاویاری و تأثیر آن بر سیستم ایمنی این ماهیان در ایران صورت نگرفته است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی آب آلوده به مواد نفتی: جهت آماده‌سازی آب آلوده به مواد نفتی، یک حوضچه بتونی به ظرفیت حدود ۱۸۰۰۰ لیتر آماده و مقدار ۱۵۰۰۰ لیتر آب درون آن ریخته و سپس مقدار ۳۰ لیتر نفت خام به آن اضافه شد. سپس توسط یک دستگاه ایرجت آب درون حوضچه بتونی به گردش درآمده به‌طوری‌که آب به‌شدت با نفت خام مخلوط می‌گردید. علاوه بر

این به‌وسیله یک دستگاه پمپ، آب از کف استخر پمپاژ و مجدداً از بالا وارد حوضچه می‌گردید. اینکار مدت ٤٨ ساعت ادامه یافت. سپس نمونه‌برداری از آب انجام و مقادیر PAHs اندازه‌گیری شد. مشخص گردید که غلظت PAHs حدود ١٠ برابر غلظت آن در آب دریا بود. بدین‌ترتیب آب آلوده به مواد نفتی جهت انجام آزمایش‌های PAHs آماده گردید. جهت انجام آزمایش‌ها، تعداد ١٠ حوضچه ونیرو به ظرفیت ٢٠٠٠ لیتر آماده گردید.

پرورش بچه‌ماهیان شیپ: ماهیان مورد استفاده دراین آزمایش از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی آق‌قلا، شهید رجایی ساری و شهید بهشتی رشت با استفاده از وانت تانکردار مجهز به کپسول اکسیژن به مرکز منتقل گردید. وزن این بچه‌ماهیان در زمان انتقال از ٣ تا ١١ گرم بوده است. جهت تعیین اثرات حاد PAHs، ماهیان به‌مدت دو هفته در آبی که آزمایش‌های اصلی در آن انجام می‌شد نگهداری و به شرایط آزمایش سازگاری داده شدند. تغذیه ماهیان به‌صورت دستی با استفاده از غذای تجاری قزل‌آلا ساخت کارخانه چینه بوده و ٢ روز قبل از انجام آزمایش تغذیه قطع گردید. به‌منظور اجرای آزمایش‌های سمیت مزمن آلودگی‌های نفتی تعداد ٣٠٠ قطعه بچه‌ماهی از ماهیان با میانگین وزنی ١١ گرم از مراکز تکثیر ماهیان خاویاری تهیه و در حوضچه‌های پرورشی واقع در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر با استفاده از غذای ترکیبی شامل (غذای تجاری ماهی قزل‌آلا ٤٠ درصد و کیلکای پخته ٦٠ درصد) تغذیه و تا حدود ١٥٠ گرم پرورش داده شدند.

ماده سمی: در این بررسی از PAHs که به طریق استاندارد متد از نفت خام دریای خزر جداسازی شده است، استفاده گردید که شامل ١٦ ترکیب استاندارد جهانی بوده است. ماهیان پس از انتقال از مراکز تکثیر در شرایط آزمایشگاهی سازگاری داده شد و در طی مدت نگهداری با استفاده از غذای دستی به‌ویژه غذای تجاری قزل‌آلا ساخت کارخانه چینه تغذیه شدند. به‌منظور رعایت و تأمین شرایط لازم جهت انجام آزمایش دو روز قبل غذادهی آن‌ها متوقف گردید.

آزمایش بقاء: نتایج حاصل از آزمایش بقاء با توجه به سه معیار ذیل مورد بررسی و تحلیل قرار گرفت:

الف: اگر نرخ مرگ ومیر ماهیان بیش از ١٠ درصد باشد این ماهیان جهت انجام آمایش مناسب نیستند.

ب: اگر نرخ تلفات بین ٨ تا ١٠ درصد باشد مدت زمان سازگاری را باید دو برابر نمود (یعنی مدت سازگاری به ١٦ ارتقاء می‌یابد).

ج: اگر نرخ تلفات بچه‌ماهیان کم‌تر از ٥ درصد باشد جهت انجام آزمایش مناسب است که در این آزمایش میزان تلفات برای بچه‌ماهیان فیل صفر درصد بود.

تعیین محدوده کشندگی: محدوده کشندگی هیدروکربن‌های نفتی (PAHs) به‌ترتیب شامل بیش‌ترین و کم‌ترین غلظتی از PAHs است که هیچ‌گونه مرگ ومیر به‌همراه ندارد و کم‌ترین غلظتی که باعث ١٠٠ درصد تلفات می‌گردد برای تعیین محدوده کشندگی PAHs گروه‌های ده‌تایی از ماهیان را در آکواریوم‌ها معرفی نموده و شرایط آزمایش همانند شرایط آزمایش بقاء فراهم گردید و سپس غلظت بالایی از سم انتخاب و به آب اولین آکواریوم افزوده شد و در آکواریوم‌های بعدی نیز میزان سم با روش تصاعد هندسی محاسبه و به‌ترتیب اضافه گردید.

آزمایش تعیین سمیت حاد (LC50-96h): در این روش آزمایش‌ها در محیط آبی و بدون تعویض آب انجام شد و میزان مرگ‌ومیر ماهیان در طی ٩٦ ساعت، در فواصل زمانی ٢٤، ٤٨، ٧٢، ٩٦ ساعت ثبت و

میانگین غلظتی از سم که در طول این دوره زمانی، قادر به ایجاد ٥٠ درصد تلفات در گروه‌های مورد آزمایش بوده را محاسبه و به‌عنوان LC50، ٩٦ ساعت بیان شد.

پس از انجام تعیین محدوده کشندگی برای ماهیان مقادیر به‌دست آمده موردنظر به روش تصاعد حسابی به ٥ قسمت تقسیم و آزمایش‌های اصلی و تعیین سمیت حاد با غلظت‌های به‌دست آمده در سه تکرار انجام گرفت. غلظت‌های مورد استفاده در تعیین سمیت حاد در فیل‌ماهی شامل ١٦، ١٧، ١٨، ١٩ تعیین گردید. تعیین میزان حد متوسط غلظت کشندگی LC50 تعیین LC50 ٩٦ ساعت مطابق روش OECD[1] (١٩٨٤، ١٩٨٧، ١٩٩٠، ١٩٩٢) انجام گرفت.

بررسی‌های هماتولوژیکی: برای انجام مطالعات هماتولوژیک از ١٠ قطعه ماهی (پس از ٩٦ ساعت در معرض قرارگیری با PAHs با غلظت (LC50)) و همچنین ١٠ قطعه ماهی گروه شاهد با استفاده از سرنگ ٥ سی‌سی از ناحیه دمی خون‌گیری انجام و در لوله‌های حاوی و فاقد هپارین[2] ذخیره شد و سپس مقادیر گلبول قرمز (RBC)[3]، گلبول سفید (WBC)[4]، هماتوکریت (PCV)[5]، هموگلوبین (Hb)[6]، میانگین حجم گویچه‌ها (MCV)[7]، میانگین هموگلوبین گویچه‌ها (MCH)[8]، میانگین غلظت هموگلبوین گویچه (MCHC)[9]، شمارش افتراقی لمفوسیت[10]، نوتروفیل[11]، مونوسیت[12]، ائوزینوفیل[13] و نوتروفیل‌های نابالغ[14] مطابق روش (Klont، ١٩٩٤) مطالعه قرار گرفت. ریخت‌شناسی و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید با استفاده از لام‌های گسترش خونی تهیه شده مورد مطالعه قرار گرفت. لام‌های تهیه شده نخست در معرض هوا خشک و سپس در اتانول ٩٦ درصد، به‌مدت ٣٠ دقیقه تثبیت و در نهایت ٣٠ دقیقه پس از رنگ‌آمیزی با گیمسا با میکروسکوپ نوری با درشت نمایی ٦٠٠ مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. جهت شمارش تعداد اریتروسیت، لکوسیت و تعیین میزان هماتوکریت، هموگلوبین، میانگین حجم گلبول قرمز، میانگین هموگلوبین گویچه و میانگین غلظت هموگلوبین گویچه در هر دو گروه از ماده ضدانعقادی هپارین به‌میزان ٥٠ واحد بین‌المللی (IU)[15] به‌ازای هر میلی‌لیتر خون مورد مصرف قرار گرفت.

تعیین اثرات سمیت مزمن هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی (PAHs)

ماهی: به‌منظور انجام آزمایش تعداد ٢٠٠ قطعه ماهی با میانگین وزنی ١٢٠±٣٠ گرم انتخاب و در داخل ٨ عدد تانک ٢٠٠٠ لیتری تحت شرایط آزمایشگاهی و کنترل شده قرار داده شدند.

کیفیت آب: فاکتورهایی مانند دما، اکسیژن محلول و pH آب روزانه اندازه‌گیری و ثبت گردید. به‌طوری‌که مقادیر متغیرهای فوق به‌ترتیب ٢٢±١ درجه سانتی‌گراد، ٨±١ میلی‌گرم بر لیتر و ٧/٥ بود. آب حوضچه‌های آزمایشی از منبع آبی که بدین‌منظور تهیه شده بودند تامین گردیدند (برای جبران آب تعویضی

---

[1] Organization Economic cooperation and Development
[2] Heparin
[3] Red Blood Cell
[4] Wight Blood Cell
[5] Haemathocrite
[6] Hemoglobin
[7] Mean Corpuscular Volume
[8] Mean Corpuscular Hemoglobin
[9] Mean Corpuscular Hemoglobin concentration
[10] Lymphocyte
[11] Neutrophil
[12] Monocyte
[13] Eosinophil
[14] Immature Neutrophil
[15] International Unit

از آبی که در شرایط هم‌دمائی قرار داشتند، استفاده گردید).

عرضه PAHs: ماهیان پس از بیومتری درغالب چهار تیمار ۱- گروه شاهد ۲- گروه سمی دو برابر غلظت آب دریا ۳- گروه سمی سه برابر غلظت آب دریا ٤- گروه سمی چهار برابر غلظت آب دریا، قرار گرفتند سپس محلول سمی تهیه شده از آلودگی نفتی توسط پمپ برقی به داخل هر یک از وینروها وارد گردید و آب وینروها تحت شرایط ثابت (بدون تعویض آب) و هوادهی مناسب بوده و تا پایان دوره هر ٢٤ ساعت یکبار با غلظت‌های ثابت در نظر گرفته مورد تعویض قرار گرفت.

خونگیری از ماهیان مورد آزمایش: با استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتر از سیاهرگ ناحیه ساقه دمی در روزهای اول، هشتم، پانزدهم و بیست و دوم، بیست و نهم، سی و ششم، چهل و سوم، پنجاهم خونگیری به‌عمل آمد.

جهت مطالعات هماتولوژی یک میلی‌لیتر خون در لوله اپندرف محتوی هپارین افزوده شد. برای اندازه‌گیری فعالیت‌های فاگوسیتوزی با دستگاه لومینومتر نیز یک میلی‌لیتر خون هپارینه مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی هماتولوژیکی: در این مرحله تعداد گلبول قرمز (RBC)، گلبول سفید (WBC) و میزان هماتوکریت (HCT)، هموگلوبین (Hb)، میانگین حجم گویچه‌ها (MCV)، میانگین هموگلوبین گویچه‌ها (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین گویچه (MCHC)، شمارش افتراقی لمفوسیت، نوتروفیل، مونوسیت، ائوزینوفیل و نوتروفیل‌های نابالغ مطابق روش Klont (١٩٩٤) مورد مطالعه قرار گرفت.

اندازه‌گیری قدرت میزان انفجار تنفسی: میزان فعالیت بیگانه‌خواری خون مطابق روش توصیف شده توسط Scott و Kelesius (۱۹۸۱) مورد سنجش قرار گرفت. در این روش از سیستم اتوماسیون (Lumiscan Ascent T392, finland) همراه با اندکی تغییرات برای تجزیه و تحلیل قدرت فاگوسیتوزیس لکوسیت‌های خون استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: در سمیت حاد، پس از ثبت میزان تلفات بچه‌ماهیان، درصد تغییرات نسبت به شاهد و لگاریتم غلظت، مقادیر عددی از جدول مخصوص Probit value استخراج وسپس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS پردازش شد وبا استفاده از معادله خط رگرسیون (Y=a+bX) مقادیر LC5[1] و LC50 در مدت زمان ٢٤، ٤٨، ٧٢ تا ٩٦ ساعت پس از قرار گرفتن در معرض سم محاسبه گردید. در معادله مذکور a عدد ثابت و b شیب خط، Y مقدار Probit نرخ رشد (مقدار LC) و X متغیر (که همان غلظت مورد نظر است) می‌باشد. داده‌های حاصله از مطالعات خونشناسی با استفاده از نرم‌افزار SPSS ،Ver 10 و روش آماری ANOVA-Oneway و تست Duncan مورد پردازش قرار گرفت. داده‌های حاصله در سمیت مزمن، با استفاده از روش ANOVA در سطح P<۰/۰۵ تحت برنامه آماری SPSS, ver10 تجزیه و تحلیل شد.

نتایج

آزمایش بقا: همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد درصد بقاء در بچه‌ماهی خاویاری شیپ در طی ٩٦ ساعت اول آزمایش ۱۰۰ درصد بوده است و می‌توان گفت که تقریباً هیچ عامل خارجی در تلفات آن‌ها دخیل نبوده و مناسب آزمایش سمیت حاد (LC50 96h) بوده‌اند.

---

[1] Five percentage (5%) Lethal Concentration

جدول ۱- نتایج آزمایش بقاء شیپ در طی ۸ روز

مدت آزمایش (ساعت) / تکرار	۲٤ h	٤۸ h	۷۲ h	۹٦ h	۱۲۰ h	۱٤٤ h	۱٦۸ h	۱۹۲ h
	درصد بقاء							
۱	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰
۲	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۰	۷۸	۷۸
۳	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۰	۹۰
میانگین بقاء سه تکرار (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۷	۹۳	۸٦	۸٦

آزمایش تعیین محدوده کشندگی هیدروکربن‌های معطر حلقوی PAHs: نتایج حاصله از آزمایش تعیین محدوده کشندگی PAHs نشان داد که محدوده کشندگی در شیپ بین ۱۳ تا ۱۷ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه گردید.

نتایج ۵۰ درصد غلظت کشندگی

آزمایش تعیین غلظت LC50 در ماهی شیپ: مقادیر LC5 و TPAH LC50 برای بچه‌ماهیان شیپ در زمان‌های ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت به‌ترتیب ۰/۰، ۱۵/۲، ۱۲/۳ و ۱۲/۱ میلی‌گرم بر لیتر و ۰/۰، ۱۷/۳، ۱٦/٦ و ۱۳/۹ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه گردید.

بررسی شاخص‌های خونی در سمیت حاد: با توجه به نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری فاکتورهای هماتولوژی در دو تیمار شاهد و آزمون مقادیر RBC، هموگلوبین و MCHC در تیمار آزمون نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) داشته است برعکس مقادیر MCV و هماتوکریت در تیمار آزمون نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) یافته است. شمارش افتراقی لکوسیت در دو تیمار شاهد و آزمون نشان داد که میزان لکوسیت، لمفوسیت و ائوزینوفیل در تیمار آزمون نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) یافته است در مقابل مقدار نوتروفیل در گروه آزمون نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) داشته است.

نتایج بررسی سمیت مزمن هیدروکربن‌های نفتی

گلبول قرمز (Red Blood Cell): نتایج حاصل از شمارش گلبول قرمز در ماهیان شیپ به‌شرح زیر در جدول ۲ آمده است. تعداد گلبول قرمز خون در ماهیان تیمار B تا روز هشتم در معرض قرارگیری افزایش داشته و بعد از آن تا روز پنجاهم کاهش یافته است و همان‌طور که مشاهده می‌گردد براساس تست دانکن از روز سی‌وششم کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد داشته است (P<۰/۰۵). همچنین در تیمارهای C و D نیز میزان RBC در روز هشتم افزایش معنی‌دار و از روز پانزدهم تا روز پنجاهم کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به شاهد مشاهده گردید.

جدول ٢- میانگین و انحراف معیار میزان گلبول قرمز (RBC) ماهی شیپ در معرض غلظت‌های مختلف آلودگی نفتی در ٤ تیمار A، B، C و D در طی ٥٠ روز

زمان (روز) تیمار	١	٨	١٥	٢٢	٣٦	٥٠
A	١١٨/٤ ± ١٢/٧	١٢٢/٢ ± ١٠/٠	١١٨/٠ ± ٥/٧	١١٦/٦ ± ١٢/٤	١١٦/٠ ± ٩/٣	١١٩/٦ ± ٨/٣
B	١١٦/٠ ± ٧/٤	١٤١/٠ ± ١١/٨	١٠٦/٤ ± ٧/٢	١٠٩/٤ ± ١٠/٥	٧٥/٨ ± ٤/٥*	١٠٢/٦ ± ٨/٦*
C	١١٢/٦ ± ٩/٩	١٧٠/٨ ± ٢١/٩*	٩٥/٦ ± ١٠/٥*	١١٢/٠ ± ٦/٩	٨٢/٠ ± ١٠/٠*	٦١/٠ ± ٤/٣*
D	١١٧/٠ ± ١٠/٣	١٦٦/٨ ± ١٠/٨*	١٠١/٦ ± ١٣/٠*	٧٧/٤ ± ٨/٠*	٧٩/٢ ± ٨/٩*	٦٣/٠ ± ٩/٢*

A= گروه شاهد – B= ماهیان در معرض قرار گرفته با ٢ برابر غلظت آلودگی نفتی آب دریا – C= ماهیان در معرض قرار گرفته با ٣ برابر غلظت آلودگی نفتی آب دریا – D= ماهیان در معرض قرار گرفته با ٤ برابر غلظت آلودگی نفتی آب دریا

* اختلاف معنی‌دار بین تیمار موردنظر و تیمار شاهد براساس تست دانکن

هماتوکریت (Hematocrit): همان‌طور که نتایج نشان داد، میزان هماتوکریت در گروه‌های آزمایشی در چند روز اول در معرض قرارگیری با آلودگی نفتی افزایش و بعد از آن کاهش داشته است. براساس تست دانکن میزان هماتوکریت در تیمارهای C و D در روز هشتم افزایش معنی‌دار (P<٠/٠٥) داشته است و سپس در همه تیمارهای آزمایشی از روز پانزدهم تا روز پنجاهم در معرض قرارگیری با آلودگی نفتی کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) نسبت به شاهد داشته‌اند.

هموگلوبین (Hemogelobin): همان‌طور که در جدول ٣ مشاهده می‌گردد میزان هموگلوبین خون ماهیان شیپ در تیمارهای آزمایشی از روز اول رو به کاهش نهاده است، میزان هموگلوبین تیمار B از روز اول در معرض قرارگیری کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) نسبت به شاهد داشته است. میزان هموگلوبین تیمار C نیز در همه نمونه‌برداری‌ها کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) نسبت به هموگلوبین تیمار شاهد داشته است. همچنین میزان هموگلوبین در تیمار D در روزهای اول و پانزدهم تا انتهای دوره آزمایش و نمونه‌برداری کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) نسبت به تیمار شاهد نشان داده است.

جدول ٣- میانگین و انحراف معیار میزان هموگلوبین (Hb) ماهی شیپ در معرض غلظت‌های مختلف آلودگی نفتی در ٤ تیمار A، B، C و D در طی ٥٠ روز

زمان (روز) تیمار	١	٨	١٥	٢٢	٣٦	٥٠
A	٧/٨ ± ٠/٨	٧/٣ ± ٠/٧	٧/٢ ± ٠/٣	٧/٤ ± ٠/٣	٧/٤ ± ٠/١	٧/٤ ± ٠/٥
B	٦/٨ ± ٠/٩*	٥/٦ ± ٠/٦*	٥/٢ ± ٠/٦*	٤/٧ ± ٠/٤*	٣/١ ± ٠/٦*	٥/٤ ± ٠/٣*
C	٥/٧ ± ٠/٦*	٨/١ ± ٠/٣*	٤/٩ ± ٠/٧*	٥/٠ ± ٠/٥*	٣/٦ ± ٠/٦*	٣/٨ ± ٠/٧*
D	٦/٦ ± ٠/٥*	٧/١ ± ٠/٥	٤/٩ ± ٠/٤*	٤/١ ± ٠/٥*	٣/٤ ± ٠/٧*	٣/١ ± ٠/٥*

* اختلاف معنی‌دار بین تیمار موردنظر و تیمار شاهد براساس تست دانکن

گلبول سفید (White Blood Cell): با توجه به نتایج به‌دست آمده در جدول ٤ تعداد گلبول‌های سفید در همه تیمارهای آزمایشی در معرض غلظت‌های مختلف آلودگی نفتی نسبت به تیمار شاهد تغییر داشته و میزان گلبول سفید تیمار B در روز اول نمونه‌برداری افزایش معنی‌دار و در روز پانزدهم کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) نسبت به شاهد داشته است و همچنین تغییرات گلبول سفید تیمار C نسبت به تیمار شاهد شامل افزایش معنی‌دار در روز اول و کاهش معنی دار (P<٠/٠٥) در روز پنجاهم می‌باشد و تعداد گلبول سفید در تیمار D در روز اول افزایش معنی‌دار و در روزهای هشتم، پانزدهم و پنجاهم در معرض قرارگیری کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) نسبت به شاهد داشته است.

جدول ٤- میانگین و انحراف معیار میزان گلبول سفید (WBC) ماهی شیپ در معرض غلظت‌های مختلف آلودگی نفتی در ٤ تیمار A، B، C و D در طی ٥٠ روز

زمان (روز) تیمار	١	٨	١٥	٢٢	٣٦	٥٠
A	٣١/٦ ± ٢/٩	٣٢/٤ ± ٢/٧	٣٢/٥ ± ٢/٧	٣٣/٨ ± ٢/٩	٣٧/٢ ± ٧/٦	٣٤/٠ ± ٢/٥
B	*٤٢/٨ ± ٤/٤	٣٠/٠ ± ٤/٤	*٢٥/٠ ± ٣/٩	٣٠/٢ ± ٣/٧	٣٤/٢ ± ٤/٨	٣٠/٨ ± ٣/٨
C	*٤٢/٤ ± ٥/٢	٣٢/٦ ± ٤/٧	٢٧/٨ ± ٥/٩	٢٨/٤ ± ٣/٥	٣٤/٤ ± ٥/٠	*٢٥/٢ ± ٤/٩
D	*٤٣/٨ ± ٦/٢	*٢٣/٠ ± ٤/٥	*٢٣/٠ ± ٣/٣	٣١/٨ ± ٥/٠	٣٨/٦ ± ٤/٢	*٢٧/٢ ± ٣/٤

* اختلاف معنی‌دار بین تیمار موردنظر و تیمار شاهد براساس تست دانکن

میانگین حجم گویچه‌ها (MCV): با توجه به نتایج به‌دست آمده میزان MCV خون در ماهیان شیپ در معرض آلودگی نفتی نسبت به مقدار آن در تیمار شاهد دچار تغییر شده است و به‌ترتیب میزان آن در تیمار B در روزهای پانزدهم و بیست و دوم در معرض قرارگیری کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) نسبت به تیمار شاهد داشته است میزان MCV در تیمار C نیز در روزهای پانزدهم، بیست و دوم و سی و ششم نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد همچنین در تیمار D که در معرض غلظت بالای آلودگی نفتی قرار گرفته بود، میزان MCV در روزهای پانزدهم و سی و ششم در معرض قرارگیری نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) داشته است.

میانگین هموگلوبین گویچه‌ها (MCH): نتایج نشان داد که میزان MCH ماهیان شیپ در تیمارهای آزمایشی از روز اول در معرض قرارگیری با آلودگی نفتی کاهش یافته است. میزان MCH در تیمار B از روز هشتم در معرض قرارگیری تا روز سی و ششم کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) نسبت به شاهد داشته است. همچنین مقدار MCH در تیمار C از روز اول تا روز سی و ششم نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) داشته است. میزان MCH در تیمار D از روز اول تا پایان دوره کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) نسبت به شاهد داشته است.

میانگین غلظت هموگلوبین گویچه‌ها (MCHC): با توجه به نتایج به‌دست آمده میزان MCHC خون ماهیان شیپ در گروه‌های آزمایشی نسبت به شاهد تغییر داشته است. در تیمار B در روز اول، هشتم، بیست و دوم، سی و ششم و پنجاهم در معرض قرارگیری مقدار آن کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) نسبت به شاهد دارد و همچنین در تیمار C نیز در روز اول در معرض قرارگیری مقدار آن نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) دارد. میزان MCHC در تیمار D در روزهای هشتم و پنجاهم در معرض قرارگیری

نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) را نشان می‌دهد.

لمفوسیت (Lymphocyte): نتایج حاصل از شمارش افتراقی لکوسیت‌های خون ماهیان شیپ در معرض آلودگی نفتی در جدول ۵ نشان داد که میزان آن در هر سه تیمار B، C و D از روز اول در معرض قرارگیری تا انتهای دوره که ۵۰ روز بوده است، نسبت به میزان لمفوسیت تیمار شاهد کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) را نشان داده است. همان‌طور که در جدول مشخص می‌باشد با افزایش غلظت آلودگی نفتی، میزان لمفوسیت کاهش بیش‌تری داشته است.

جدول ۵- میانگین و انحراف معیار میزان لمفوسیت (Lym) ماهی شیپ در معرض غلظت‌های مختلف آلودگی نفتی در ٤ تیمار A، B، C و D در طی ۵۰ روز

زمان (روز) تیمار	١	٨	١٥	٢٢	٣٦	٥٠
A	٨١/٦ ± ٣/٨	٨١/٤ ± ٤/٢	٨٢/٤ ± ٢/٣	٨٢/٤ ± ٣/٤	٨١/٨ ± ٣/٣	٨٢/٦ ± ٢/٣
B	٧٠/٤ ± ٢/٧*	٧٢/٤ ± ٣/٦*	٧٣/٢ ± ٢/٣*	٦٦/٢ ± ٢/٠*	٧٢/٤ ± ٢/١*	٧٣/٤ ± ٢/٨*
C	٦٨/٠ ± ٢/٨*	٧٠/٢ ± ٢/٦*	٦٨/٠ ± ٢/٠*	٦٤/٠ ± ١/٦*	٤٧/٢ ± ٤/٦*	٧٣/٢ ± ٢/٤*
D	٦٤/٤ ± ٥/٤*	٦٧/٢ ± ١/٩*	٦٥/٤ ± ١/٨*	٦٣/٨ ± ٣/٢*	٧٤/٦ ± ١/٨*	٧٣/٢ ± ٣/١*

* اختلاف معنی‌دار بین تیمار موردنظر و تیمار شاهد براساس تست دانکن

نوتروفیل (Neutrophil): با توجه به نتایج به‌دست آمده میزان نوتروفیل ماهیان شیپ در تیمارهایی که در معرض آلودگی نفتی قرار گرفته‌اند افزایش داشته است و در هر سه تیمار B، C و D از روز اول در معرض قرارگیری تا روز پنجاهم نسبت به شاهد دارای افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) می‌باشند.

مونوسیت (Monocyte): نتایج نشان داد که میزان مونوسیت موجود در خون ماهیان شیپ در گروه‌های آزمایشی که در معرض آلودگی نفتی قرار گرفته‌اند نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری (P>۰/۰۵) نداشته‌اند.

ائوزینوفیل (Eosinophil): بر اساس نتایج مقدار ائوزینوفیل در تیمارهایی که در معرض آلودگی نفتی قرار گرفته‌اند افزایش یافته است و با افزایش غلظت میزان افزایش ائوزینوفیل بیش‌تر می‌باشد و براساس تست دانکن در تیمار B میزان آن در روز بیست و دوم نمونه‌برداری نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) دارد. در تیمار C در روز اول در معرض قرارگیری با الودگی نفتی میزان ائوزینوفیل نسبت به شاهد دارای افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشد. همچنین میزان ائوزینوفیل تیمار D در روز پانزدهم نمونه‌برداری نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار دارد.

بحث

در این پژوهش LC50 ۹٦ ساعت هیدروکربن‌های آروماتیک (PAHs) در ماهی شیپ ۱۳/۹ میلی‌گرم بر لیتر تعیین گردید. در مطالعه‌ای که توسط Swartz و همکاران (۱۹۹۵) انجام گرفت اثرات کشندگی PAHs بر روی برخی از موجودات بنتیک بررسی گردید، در این بررسی میزان LC50 ۱۰ روزه فلورانتن در دو گونه *Rhepoxynius abronius* و *Corophium spinicorne* به‌ترتیب ۲۳/۸ و ۳۷/۹ میکروگرم بر لیتر محاسبه گردید. نتایج به‌دست آمده از پژوهش‌های بیش‌تر دانشمندان بیانگر دامنه زیاد سمیت هیدروکربن‌های نفتی بر روی اکثر آبزیان دارد و همان‌طور که در بالا ذکر گردید از چند دهم

میلی‌گرم بر لیتر تا چندین میلی‌گرم بر لیتر متغیر می‌باشد. از نتایج فوق چنین برمی‌آید که سمیت هیدروکربن‌های نفتی بستگی به نوع موجود زنده، شرایط در معرض قرارگیری و نوع هیدروکربن حلقوی در معرض قرار گرفته دارد. Eisler (۱۹۸۷) ذکر کرد که ترکیبات PAH دارای وزن مولکولی پایین شامل دو یا سه حلقه‌ای مثل نفتالن، فلورین، فنانترن و آنتراسن ایجاد سمیت حاد در بعضی از موجودات می‌نمایند، در حالی‌که در ترکیبات با وزن مولکولی بالا شامل ٤ تا ۷ حلقه آروماتیکی این‌طور نیست. به‌هرحال مولکول‌های سنگین نیز در موارد بی‌شماری باعث سرطانزائی و موتاسیون می‌شوند (Brooks، ۱۹۹۷). پاسخ‌های اصلی خونی ماهی شیپ به PAHs در غلظت LC50 ۹٦ ساعت را شامل کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) تعداد گلبول قرمز و هموگلوبین و افزایش معنی‌دار در هماتوکریت در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد. دیگر تغییرات فاکتورهای خونی در برابر سمیت حاد PAHs افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) میانگین حجم گویچه‌ها (MCV) و کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) میانگین هموگلوبین گویچه‌ها (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین گویچه‌ها (MCHC) بوده است.

Natarajan (۱۹۸۹) تغییرات خونی را به‌طورکلی به شرایط کم اکسیژن ناشی از آسیب‌دیدگی آبشش نسبت داد، گرچه شواهد مستقیمی جهت تأیید این فرضیه وجود ندارد. این نتایج در تقابل شدید با یافته‌های Srivastava و Mishra در خصوص سم مالاتیون دارد که موجب کاهش شدید تعداد اریتروسیت در گربه‌ماهی شده بود (Heath، ۱۹۹۰). Dhembare و Pondha (۲۰۰۰) تعدادی ماهی *Punctius sophore* را به‌مدت ۷ روز در معرض انواع سموم حشره‌کش قرار داد. نتایج حاصله نشانگر کاهش عمومی در مقادیر فاکتورهای خونی از جمله کاهش معنی‌دار PCV، Hb، WBC و RBC و افزایش معنی‌دار MCV بود.

اثرات مزمن TPH بر روی فاکتورهای خونی در ماهی شیپ در معرض غلظت‌های تحت کشندگی شامل کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین تیمارهای در معرض TPH (B، C و D) نسبت به گروه شاهد (A) می‌باشد. از روند این تغییرات نتیجه‌گیری می‌شود که با افزایش غلظت آلودگی، میزان کاهش در گلبول قرمز و هموگلوبین خون شدت می‌یابد. اما مقادیر PVC، MCV و MCH در ماهیانی که در معرض غلظت‌های مختلف آلودگی نفتی قرار گرفته‌اند افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) با تیمار شاهد داشته‌اند. افزایش میزان MCV مربوط به افزایش حجم اریتروسیت بوده که این پدیده نیز ناشی از شرایط کم اکسیژنی حاکم بر محیط سلولی است، در واقع آلاینده‌ای که موجب آسیب‌دیدگی آبشش گردد باعث بروز شرایط کم اکسیژنی داخل سلولی[1] می‌گردد که این پدیده منجر به افزایش حجم سلولی می‌گردد (Heath، ۱۹۹۰).

در مطالعه اثر سمیت حاد PAHs بر شیپ در شمارش افتراقی لکوسیت‌ها، جمعیت‌های لنفوسیت، ائوزینوفیل کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) مشاهده گردید. در حالی‌که جمعیت نوتروفیل نسبت به شاهد از افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) برخوردار بوده است. کاهش لمفوسیت و افزایش گرانولوسیت خون ماهیانی که در معرض سمیت حداکثر آلاینده‌ها قرار گرفته بودند، توسط پژوهشگران گزارش شده است (Svoboda و همکاران، ۲۰۰۱). در ماهی شیپ مقادیر WBC و لمفوسیت متعاقب قرار گرفتن در معرض TPH با غلظت‌های با گروه شاهد (A) در سطح (P<۰/۰۵) دارای کاهش معنی‌داری بودند. در این بررسی مشاهده شد که مقدار نوتروفیل خون گروه‌های در معرض سم در مقایسه با گروه شاهد (A) دارای افزایش معنی‌داری بوده و همچنین مقادیر

---

[1] Hypoxcia

ائوزینوفیل و نوتروفیل‌های نابالغ اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) با گروه شاهد (A) داشتند. نتایج به‌دست آمده از شمارش افتراقی لکوسیت در تیمارهای سمی نشان داد که کاهش مقادیر گلبول سفید و لمفوسیت با افزایش غلظت TPH شدت می‌یابد و همچنین مقادیر نوتروفیل در تیمارهای سمی با غلظت‌های ۲، ۳ و ٤ آلودگی دریا با افزایش غلظت TPH افزایش یافته است. تغییرات ایجاد شده در روند تغییر لکوسیت‌ها بیانگر افزایش مسمومیت TPH، با افزایش غلظت آن می‌باشد. لمفوسیت عمده‌ترین گروه سلولی گلبول‌های سفید است که بعد از آن ترومبوسیت، نوتروفیل و مونوسیت دارای بیش‌ترین تعداد هستند. تعداد لکوسیت در ماهیانی که تحت‌تأثیر عوامل زیست‌محیطی دچار استرس شده‌اند در مقایسه با گروه کنترل دچار کاهش گردیدند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان کمولومینوسنس[1] سلول‌های فاگوسیتوزیس نشان داد که بعد از در معرض قرارگیری با آلودگی نفتی در تیمارهای حاوی نفت نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) داشته است. در این بررسی اندازه‌گیری میزان انفجار تنفسی سلول‌های فاگوسیتوزی خون در ماهیانی که در معرض غلظت‌های ۲، ۳ و ٤ آلودگی نفتی دریای خزر قرار گرفتند نشان داد در همه این تیمارها از روز اول نمونه‌برداری میزان انفجار تنفسی کاهش یافته است که با افزایش غلظت سم کاهش آن شدیدتر می‌باشد. همچنین Kelly و Weeks (۱٤) مشاهده کردند که پاسخ‌های کمولومینوسنس Toadfish در رودخانه‌های آلوده به PAHs در مقایسه با ماهیانی که در رودخانه‌های با آب سالم زندگی می‌کنند، کاهش داشته است. در حالی‌که بعضی از گزارش‌ها نشان داده که در معرض قرارگیری با سموم باعث افزایش بیگانه‌خواری می‌گردد، این امر باید مورد توجه باشد که تحریک پاسخ‌های ایمنی به خودی خود پیامدهای سودمندی ندارد. افزایش تولید مولکول‌های سیتوتوکسیک مانند آنزیم‌ها که عموماً با بیگانه‌خواری همراه است باعث‌خسارت بافتی و بیماری خود ایمنی می‌گردد (Anderson، ۱۹۹۲). Adams و Hamilton (۱۹۸٤) نتیجه گرفتند که حضور لمفوکائین‌ها[2] در سیستم ایمنی ماهی با توجه به حساسیت‌زائی آب‌های آلوده، ممکن باعث فعالیت ماکروفاژها در بافت‌های طبیعی[3] گردد.

براساس یافته‌های کلی این پژوهش می‌توان نتیجه‌گیری نمود که حضور و وجود سموم و مواد شیمیایی در اکوسیستم‌های آبی موجب آسیب‌دیدگی و کاهش مقاومت و تضعیف سیستم ایمنی ماهیان شیپ شده و بدین‌ترتیب باعث ابتلا به بیماری و مرگ آن‌ها می‌شود.

منابع

Adams, D.O., and Hamilton, T.A., 1984. The cell biology of macrophage activation. Annu. Rev. Immunol. 2: 283-318.

Allen, R.C., Siernhoim, R.L., and Steele, R.H., 1972. Evidence for generation of an electronic excitation state(s) in human polymorphonuclear leukocytes and its participation in bactericidal activity. Biochem. Biophys. Res. Commun. 47, 679-684.

Anderson, D.P., 1992. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. Ann. Rev. Fish Dis. 2, 281-307.

Bielek, E., 1981. Developmental stages and localization of peroxidatic activity in the leucoeytes of three teleost species (*Cyprinus carpio* L.; *Tinea linea* L; *Salmo gairdneri* Richardson). Cell Tissue Res. 220, 163-180.

---

[1] Chemilumineseense

[2] Lymphokines

[3] Normal

Braun-Nesje, R., Bertheussen, K., Kaplan, G., and Scljelid, R., 1981. Salmonid macrophages: separation, in vitro culture- and characterization. J. Fish Dis. 4, 141-151.

Brooks, K.M., 1997. Literature Review, Computer model and assessment of the potential environmental risks associated with Creosote treated wood products used in aquatic environments, Aquatic Environmental Sciences.

Dhembare, A.J., and Pondha, G.M., 2000. Hematological changes in fish Punctius sophore exposed to some insecticides. (Dept Zoo, PVP Coll, Pravaranagar 413713, Ahmedabad). J. Exp. Zoo India. 3 (91), 41-44.

Edsall, C.C., 1999. A blood chemistry profile for lake trout. J. Aq. Animal Health. 11, 81-86.

Eisler, R., 1987. Polycyclic aromatic hydrocarbon hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review. Final ed. Patuxent Wildlife Research Center, Laurel, MD 20708: U.S. Department of the Interior; Contaminant Hazard Reviews, Report No. 11.81.

Ellis, A.E., 1966. The leuocytes of fish a review. J. Fish Biol. 11, 453-491.

Elsasser, M.S., Roberson, B.S., and Hetrick, F.M., 1986. Effects of metals on the chemiluminescent response of rainbow trout (*Salmogairdneri*) phagocytes. Vet. Immunol. Immunopathol. 12, 243-250.

Finn, J.P., and Nielson, N.O., 1971. The inflammatory response of rainbow trout. J. Fish Biol. 3, 463-478.

Heath, A.G., 1990. Water pollution and fish physiology. CRC press. pp. 51-58.

Kelly, K., and Weeks, B.A., 1994. Determination of the macrophage chemiluminescent response in *Fundulus heteroclitus* as a function of pollution stress. Fish and Shellfish Immunology. 4, 95-105.

Klont, G.W., 1994. Fish hematology. In: Stelon, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C, Kaattari, S.L. & Smith, S.A. (eds) Techniques in Fish Immunology, Vol. 3, SOS Pub. pp. 121-132.

Malins, D.C., and Hodgins, H.O., 1981. Petroleum and marine fishes: a review of uptake, disposition and effects. Environ. Sci. Tech. 15 (11), 1272-1280.

Natarajan, G.M., 1989. Changes in the carbohydrate metabolites during acute and chronic exposure of air-breathing fish *Channa striatus* to oxydemeton methyl (metasystox). Comp. Physiol. Ecol. 14, 181-184.

OECD. (1984, 1987, 1990, 1992). Guidelines for testing chemicals. No. 203 and 204. OECD, Paris.

Scott, A.L., and Klesius, P.H., 1981. Chemiluminescence: A novel analysis of phagocytosis in fish. In *Developments* in *Biological Standardization Vol* 49 *Fish Biologics: Serodiagnostics and Vaccines. (D.P.* Anderson & W. Hennessen, eds.) pp. 243-256. Basel: Krager.

Smith, J.E., (Ed.). 1968. "Torrey Canyon" Pollution Marine Life, Cambridge University Press. 169p.

Straughan, D., and Abbot, B.C., 1971. The Santa Barana oil spill: ecological changes and natural oil leaks. In: Hepple (ed). Water Pollution by Oil. Institute of Petroleum, London. pp. 257-262.

Svoboda, M., Luskova, V., Drastichova, J., and Zlabek, V., 2001. The effect of Diazinon on hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta Vet. Brno. 70, 457-465.

Swartz, R.C., Schults, D.W., Ozretich, R.J., Lamberson, J.O., Cole, F.A., DeWitt, T.H., Redmond, M.S., and Ferraro, S.P., 1995. ΣPAH: A model to predict the toxicity of polynuclear aromatic hydrocarbon mixtures in field-collected sediments. Environmental Toxicology and Chemistry. 14 (11), 1977-1987.

Welch, W.D., 1980. Correlation between measurements of the luminol-dependent chemiluminescence response and bacterial susceptibility to phagocytosis. Infec. Immun. 30, 370-374.

New Technologies in Aquaculture Development, Islamic Azad University, Azadshahr Branch
Vol. 12, No. 4, Winter 2019

The evaluation the effect of oil contamination on hematological factors of *Acipenser nudiventris*

***M. Ahmadi Livani[1], H.A. Khoshbavar Rostami[2], S. Yelghi[3]**
and A. Mokarami Rostami[4]

[1]Expert Laboratory of Aquatic Resources Research Center Gorgan inland waters, Urmia University PhD Student, [2]PhD, Aquatic Animal Health Specialist, A Member of the Scientific Research Institute of Fisheries Science Country, [3]PhD, Fisheries, A Member of the Scientific Research Institute of Fisheries Science Country, [4]Expert Laboratory of Caspian Sea Ecology Research Center Sari

Abstract

In this research, the effect of Polyaromatic hydrocarbons (PAHs) on blood parameters of *Acipenser nudiventris* was studied. Number of 2000 fingerling from *Acipenser nudiventris* was applied with weighing 11±3 g which was collected sturgeon farms in Golestan, Gilan and mazandaran states. All fish samples were transported to the Caspan Sea Ecology Research Center. The LC50 (96 hr) was obtained 13.9 mg/l for *Acipenser nudiventris*.Results showed that RBC and HB were significantly lower in test groups than the control fish. However, level of MCV and PCV in test groups was higher than control groups ($P<0.05$). The chronic effect of PAHs was assessed. Chronic exposure was 2, 3 and 4 folds PAHs concentration in water sample in the southern of Caspian Sea. Fish samples were treated under stable condition during 50 days at 22±1 ºC. The results showed that the Red blood cell and hematocrit levels of young fish exposed to TPAH were significantly decreased ($P>0.05$) compared to the control group.In a conclusion, the presence of poisons and chemicals in water cause injury and weaken the immune system of sturgeons and thus cause disease and finally bring about death.

Keywords: *Acipenser nudiventris*; Blood factors; Caspian Sea; PAHs

---

* Corresponding author; ahmadi777@yahoo.com