



## بررسی تاثیر ماده شوینده آنیونی (شامپو) بر پارامترهای خونی ماهی حوض (*Carassius auratus*)

• داور شاهشونی، • مهرداد مهری و • کوروش نظری، گروه آموزشی علوم درمانگاهی - دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: فروردین ماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۲

### چکیده

موجودات آبی به طور مداوم در معرض خطرات ناشی از آلودگی های محیط زیستشان قرار دارند. یکی از این مواد آلوده کننده، شوینده آنیونی است که به میزان زیاد مورد استفاده قرار می گیرد. به منظور مطالعه اثر این مواد آلوده کننده بر پارامترهای خونی ماهی حوض، ۱۴۰ عدد ماهی حوض (۲۰-۱۸ سانتی متر) به تعداد مساوی در ۴ گروه تقسیم گردیدند. گروه یک به عنوان شاهد و ۳ گروه دیگر به عنوان گروه های آزمایش به ترتیب به مدت ۲۱ روز در معرض مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ ppm ماده شوینده آنیونی (شامپو) قرار گرفتند. در پایان مدت آزمایش از ماهی ها خونگیری به عمل آمد و مقادیر گلبول های قرمز، گلبول های سفید، هموگلوبین نام، هماتوکریت، شمارش تفریقی گلبول های سفید، حجم متوسط گلبولی (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و نیز غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) با روش های مناسب مورد اندازه گیری قرار گرفت. نتایج حاصل با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون چند دامنه ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند. تعداد گلبول های قرمز، هماتوکریت و میزان هموگلوبین نام در گروه ۱ به طور معنی داری از گروه شاهد بیشتر بود ( $p < 0.05$ ). به علاوه تعداد گلبول های سفید در گروه ۲ به طور معنی داری از گروه شاهد کمتر بود ( $p < 0.05$ ).  
کلمات کلیدی: شوینده های آنیونی، هماتولوژی، ماهی حوض

Pajouhes & Sazandegi No 61 pp: 99-103

### A study of effects of anionic detergent (shampoo) on blood parameters of gold fish (*Carassius auratus*)

By: Shahsavani. D., Mohri. M and Nazeri. k Department of Clinical Science Ferdowsi Faculty of Veterinary Medicine, University, Mashhad- Iran.

Water pollution due to various chemicals substance such as anionic detergents cause different disorders in aquatic animals. To study the effects of anionic detergent (shampoo) on haematology of gold fish, 140 fishes (18-20 cm) were divided to four groups. Group one as control and other three groups as tests were exposed for 21 day to 5, 10, 15 ppm of anionic detergent (groups 2,3 and 4 respectively). Sampling was conducted at day 21 and the levels of RBC, WBC, Haematocrit, Total haemoglobin, Differential count of WBC, MCV, MCH and MCHC were determined. ANOVA with multiple range Duncan test were used for data analysis. The amounts of RBC number, haematocrit and haemoglobin were level was significantly higher in group 1 than control ( $p < 0.05$ ). WBC level was significantly lower in group 2 than control ( $p < 0.05$ ).

**Key words:** Anionic detergent, Haematology, *Carassius auratus*

### مقدمه

سیستم های آبی پیوسته مواجه با مشکلات ناشی از آلاینده ها هستند، که از منابع مختلف مانند فاضلابهای صنعتی، پسابهای کشاورزی و فاضلاب شهری، اکثراً بدون هیچ تصفیه ای به آنها می گردند. شوینده ها یکی از آلاینده های مهم بوده و توسط فاضلابها به آبهای ساحلی و هم چنین به طور مستقیم و یا غیر مستقیم به داخل خورها یا اکوسیستم های آبی وارد می شوند. شوینده ها در تبادل اکسیژن لایه های سطحی آب مانع ایجاد کرده و این رویداد به ویژه در محل تخلیه فاضلابهای شهری متداول و رو به افزایش بوده و در نتیجه آن ایجاد اختلال در اکوسیستم های آبی است. امروزه شوینده های مصنوعی به دلیل مصرف زیادشان بسیار مهم بوده و موجودات آبی را با خطر آلودگی مواجه می نمایند. این شوینده ها ممکن است توسط باکتریها تجزیه شوند اما در غلظت های زیاد ممکن است باکتریها نتوانند نقش خود را ایفا نمایند زیرا غلظت زیاد شوینده ها مانع عمل آنزیم های باکتریها می شود، این آنزیم ها برای تجزیه یا کاهش اثر شوینده ها ضروری هستند، از طرفی شوینده ها بیشتر اوقات سبب تشدید سمیت ناشی از آلودگی های نفتی می گردند. مواد شوینده در غلظت های زیاد موجب آسیب های بافتی شدید (آبشش، کبد و کلیه) در موجودات آبی به خصوص ماهیان می شود. بافت آبشش و کلیه دو اندام مهم در تنظیم الکترولیت های بدن محسوب می گردند و از طرفی بافت کلیه به عنوان بافت مهم خونساز در ماهیان مطرح می باشد، آسیب این دو اندام تغییرات شدیدی را در پارامتر های خونی و سرمی ایجاد می کنند. مواد شوینده آنیونی با سایر مواد شیمیایی دیگر سالانه تلفات سنگینی را در موجودات آبی که ناشی از آلودگی محیط های آبی می باشد، ایجاد می کنند. Krish در تحقیقی که اثرات مواد دترجنتی سنتتیک را روی ماهیان بررسی کرد، دریافت تغییرات قابل توجهی در تعداد نوع سلول های خونی ماهیان رخ می دهد. شاهسونی و همکاران در تحقیقی بر روی ماهی قرمز انجام دادند، دریافتند که دوز ۱۵ ppm و ۱۰ ماده شوینده آنیونی موجب نکروز و هیپرپلازی سلول های کلراید در بافت آبشش می گردد. شاهسونی و همکاران در تحقیقی اعلام نمودند که مواد شوینده آنیونی موجب نکروز و خونریزی در بافت کلیه و کبد می گردد بطوریکه برخی از آنزیم های سرمی دچار تغییراتی می شوند (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰).



### مواد و روش کار

در این تحقیق چون ماهی قرمز علاوه بر مقاوم بودن از لحاظ بافت شناسی، آناتومیکی و فیزیولوژیکی بسیار شبیه دیگر گونه های خانواده کپور ماهیان می باشد، لذا به عنوان الگوی آزمایشی انتخاب گردید. جهت بررسی اثرات ماده شوینده (شامپو) بر پارامترهای خونی، یک گروه به عنوان شاهد و ۳ گروه تحت آزمایش در نظر گرفته شده بود. تعداد ۱۴۰ عدد ماهی قرمز (۲۰-۱۸ سانتی متر) انتخاب و با محلول نمک ۰.۳٪ به مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی گردیدند. ماهیان به ۴ گروه ۳۵ تایی در ۴ آکواریوم مختلف تقسیم شدند، به محیط گروه اول ۵ ppm و به گروه دوم ۱۰ ppm و به گروه سوم ۱۵ ppm ماده شوینده اضافه گردید، ماهیان به مدت ۲۱ روز تحت آزمایش قرار گرفتند. دمای آب در طول آزمایش ۲۳ سانتی گراد و اکسیژن محلول ۶-۶/۵ میلیگرم در لیتر و سختی آب ۱۵۰ mg/lit بود. هر ۳ روز یکبار آب آکواریوم تعویض و ماده شوینده با دوز معین مربوط به هر گروه مجدداً به آب آکواریوم اضافه می گردید. در طول دوره آزمایش در هیچ گروهی تلفات مشاهده نگردید. بعد از پایان دوره آزمایش از قلب ماهیان خونگیری به عمل آمد، برای جلوگیری از ایجاد استرس بلافاصله بعد از خارج کردن ماهیان از آکواریوم، بوسیله چکش پلاستیکی ضربه ای به ناحیه سر ماهی وارد کرده و آنها را بیهوش نموده و سپس خونگیری از آنها صورت می گرفت. نمونه های اخذ شده جهت انجام آزمایشات به آزمایشگاه هماتولوژی ارسال می گردید.  $LC_{50}$  ماده شوینده آنیونی (شامپو) در این مطالعه ۳۵ ppm در مدت ۲۴ ساعت ثبت گردید. در این تحقیق دوزهای کمتر از  $LC_{50}$  انتخاب شد تا بررسی بالینی و خونی در ماهی قرمز مورد بررسی قرار گیرد.

### نتایج

بررسی مقادیر شاخص های خونی در ماهی قرمز در ۳ گروه آزمایش و گروه شاهد به شرح زیر می باشد. نتایج حاصل با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون چند دامنه ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج از این تحقیق بیانگر این نکته است که شاخص های خونی ماهی قرمز در اثر حضور ماده شوینده تحت تاثیر قرار می گیرد. تعداد کل گلبول های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین تمام گروه ۱ آزمایش در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان می دهد ( $p < 0.05$ ). بطوری که میزان ۳ شاخص فوق در گروه ۱ بیشتر از گروه شاهد می باشد. تعداد کل گلبول های سفید، لنفوسیت ها، هتروفیل ها و منوسیت های گروه ۲ و تعداد هتروفیل های گروه ۳ و تعداد منوسیت های گروه ۱ آزمایش در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان می دهد. ( $p < 0.05$ ).

### علائم بالینی

در گروه ۲ و ۳ علائم بالینی در برخی از ماهیان قابل مشاهده بود که عبارتند از: افزایش ترشحات موکوسی در سطح آبشش و بدن، لاغری و آسیب در محوطه شکمی، خونریزی در روی باله پشتی و سینه ای، پوسیدگی باله ها، تجمع ماهیان در اطراف پمپ هوا و یا در نزدیکی سطح آب، زخم های جلدی در ناحیه شکمی و ماهیان میل کمی به غذا داشتند. برخی از ماهیان رفتار عصبی از خود نشان داده و به محرک های خارجی واکنش شدید نشان می دادند. بافت آبشش کم خونی واضحی را نشان می داد.

جدول شماره ۱- پارامترهای خونی در ماهیان قرمز در گروه های مختلف آزمایش

گروه ها پارامترها	گروه شاهد	گروه ۱ ۵ppm	گروه ۲ ۱۰ ppm	گروه ۳ ۱۵ppm
RBC/ (mm <sup>۳</sup> )	۸۵۳۵۰۰ ± ۱۴۲/۵	۱۲۴۰۳۰۰ ± ۲۰۳/۱*	۹۱۶۶۰۰ ± ۳۰۱/۲	۷۵۷۰۰ ± ۳۷/۵
WBC/ (mm <sup>۳</sup> )	۳۴۷۶/۵ ± ۲۵/۶۵	۳۵۵۱/۵ ± ۲۵/۵	۲۶۱۸ ± ۲۰/۰۴*	۱۶۰۵ ± ۱۵/۵۱
PVC (%)	۲۷/۳ ± ۱/۵۴	۳۳/۵۶ ± ۱/۰۳*	۲۸/۴ ± ۱/۶	۲۴/۴ ± ۱/۲۱
Hb (g/dl)	۶/۵۶ ± ۰/۴۲	۱۰/۲۵ ± ۰/۴۷*	۷/۰۸ ± ۰/۳۵	۵/۷۰ ± ۰/۴۴
MCV (fl)	۳۷۴/۶ ± ۱۶/۷۴	۲۷۰/۶۴ ± ۶/۹۱	۳۱۰/۴۰ ± ۲۳/۵۹	۳۴۰/۳ ± ۱۶/۷۴
MCHC (%)	۲۴/۴۷ ± ۰/۸۸	۳۰/۵۴ ± ۱/۳۷	۲۴/۹۴ ± ۱/۳۰	۱۰/۲ ± ۱/۰۸
MCH (pg)	۸۴/۳ ± ۳/۸	۸۲/۶۶ ± ۲/۰۶	۷۷/۲۹ ± ۴/۰۲	۱۷/۵ ± ۴/۶۵
Het/ (mm <sup>۳</sup> )	۴۵۹ ± ۴۹/۰۰	۳۴۷/۵ ± ۳۷/۵۰	۲۷۸ ± ۲۷/۰۰*	۱۹۱/۵ ± ۲۱/۰۰*
/Lym (mm <sup>۳</sup> )	۲۷۱۱ ± ۲۳۱/۵۰	۲۸۵۰/۵۰ ± ۲۲۰/۰۰	۲۰۵۶ ± ۱۶۰/۰۰*	۱۱۸۲ ± ۸۵/۰۰
Eso/ mm <sup>۳</sup>	۳۲/۵۰ ± ۸/۰۰	۱۷ ± ۵/۰۰	۱۷/۵۰ ± ۴/۶۵	۱۶ ± ۳/۸۵
Mon / mm <sup>۳</sup>	۱۷۶/۵۰ ± ۲۱/۵۰	۳۲۹ ± ۳۳/۰۰*	۲۶۵/۵ ± ۲۸*	۲۰۱/۵۰ ± ۲۰/۵۰

n = تعداد نمونه برای هر گروه ۳۵ عدد

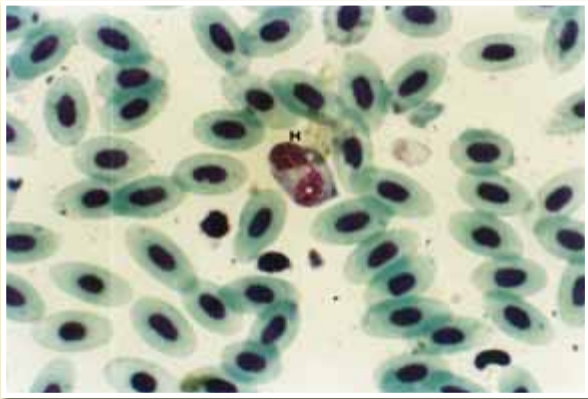
× اختلاف معنی دار

میانگین ± خطای معیار (X ± SE)

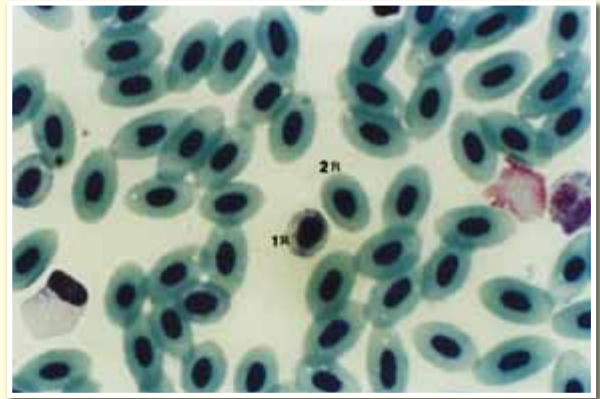
- هورمونی آدرنژیکی ناشی از استرس، موجب انقباض طحال شده که این امر موجب افزایش سه فاکتور (RBC، PCV، Hb) می شود ولی با حذف عامل استرس با گذشت زمان پارامترهای خونی به حالت نرمال بر می گردند. Niimi (۱۲) در تحقیقی که روی خون ماهی کپور انجام داد، دریافت که مواد سمی و آلودگی محیطی، موجب کاهش گلبولهای سفید می شود. Krish (۱۰) در تحقیقی، بررسی اثرات مواد دترجنتی سنتتیک در محیط آبی بر روی ماهیان انجام داد، اعلام نمود که تعداد لنفوسیت ها کاهش ولی تعداد هتروفیل ها افزایش پیدا می کند. Mclay (۱۱) اثر کورتیزول (هورمون استرس) و دگزامتازون را روی خون ماهی گلد فیش و آزاد ماهی مطالعه نمود، دریافت که سبب کاهش تعداد گلبول سفید می گردد. کاهش گلبول سفید در اثر حضور مواد سمی و آلودگی محیطی و وجود هر نوع استرس رخ می دهد. در این تحقیق افزایش تعداد گلبولهای قرمز در گروه آزمایشی ۱ قابل مشاهده است که می تواند ناشی از استرس شیمیایی محیطی و یا بر اثر هیپر پلازی بافت آبشش باشد که برای تامین

### بحث

Casillas و همکاران (۵) در تحقیقی بررسی اثرات استرس بر روی ماهی قزل الای رنگین کمان را مطالعه کرده و اذعان نمودند که استرس به هر دلیلی سبب افزایش هموگلوبین و هماتوکریت و تعداد گلبولهای قرمز می شود. Bansal و همکاران (۴) در بررسی هماتولوژی که بر روی ماهیان استخوانی آب شیرین انجام دادند، دریافتند که، یکسری از مواد شیمیایی مانند آلدین، کلروان، متاسیتوکس، مس، آزون سبب افزایش Hb، PCV و RBC در ماهیان می گردد و دسته دیگر مانند کادمیم، سرب، جیوه، روی، مالاتیون سبب کاهش میزان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبولهای قرمز شده و ایجاد کم خونی در ماهیان می کنند، همین طور اذعان داشتند مواد شیمیایی که سبب افزایش سه پارامتر (Hb، PCV، RBC) می گردند باید به صورت دوز حاد وارد محیط گردند که دوز حاد موجب استرس در ماهیان می گردد. Nilson و همکاران (۱۳) در آزمایشی که روی ماهی کاد (Cod fish) انجام دادند، دریافتند که تحریکات عصبی



تصویر ۳: هتروفیل بالغ (H) بزرگ نمایی (X ۱۶۰۰)



تصویر ۱: گلبول قرمز نابالغ (R.۱) - گلبول قرمز بالغ (R.۲) بزرگ نمایی (X ۱۶۰۰)

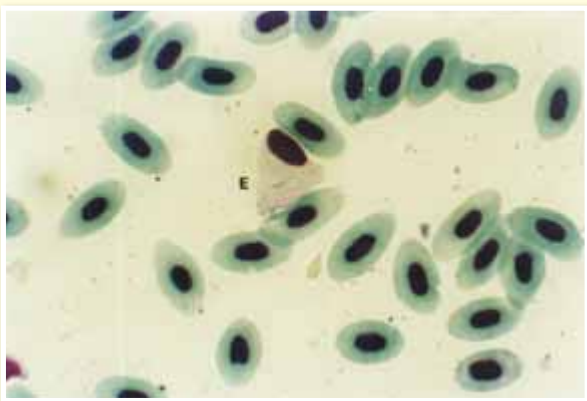
آسیب شناسی اثرات ماده شوینده آنیونی بر آبشش ماهی حوض. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۸.  
 ۲- شاهسونی، داور، موثقی، احمد رضا. ۱۳۸۲. بررسی آسیب شناسی کبدی - کلیوی ناشی از ماده شوینده آنیونی در ماهی قرمز، مجله پژوهش و سازندگی شماره ۵۹.

- 3- Alan, G.H. 1987. Water pollution and fish physiology. CRC press. 1ed, pp:225-227
- 4- Bansal, S.K., Dalela, R.C. 1997. Physiology dysfunction of the haemopoietic system in a fresh water teleost. Bull. Enviro. Contam. Toxicol. Vol 22 .No 3, pp: 18-20
- 5- Casillas, E., Smith, L.S. 1974. Effects of stress on blood coagulation and haematology in rainbow trout exposed to hypoxia, J. Fish Biol. Vol 6. No 5, pp:379-380

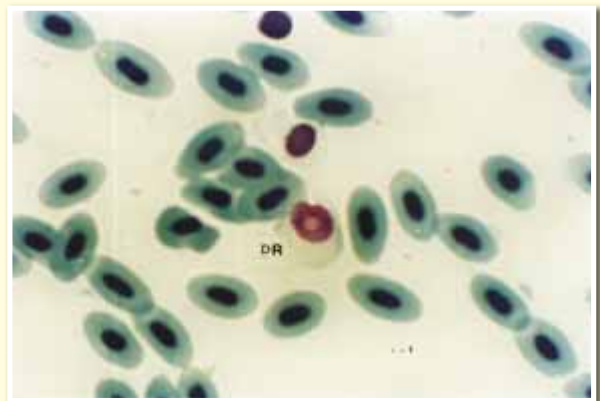
اکسیژن مورد نیاز، میزان گلبول‌های قرمز خون افزایش معنی داری را نشان می‌دهد، که با افزایش دوز ماده شوینده در گروه ۳ کاهش در تعداد گلبول‌های قرمز رخ داده است که می‌تواند بر اثر لیز شدن گلبول‌های قرمز و یا بر اثر تخریب بافت آبشش (ورود آب از محیط به بدن) و کلیه (عدم توانایی در دفع اضافه آب از بدن) اتفاق افتاده باشد و با توجه به این که در علائم بالینی در برخی از ماهیان آسیت در محوطه بطنی ثبت گردیده بود. انتظار می‌رود که شرایط استرس سبب کاهش گلبول سفید گردد، به طوری که در گروه‌های ۲ و ۳ آزمایش با افزایش دوز ماده شوینده تعداد گلبول‌های سفید کاهش را نشان می‌دهند. نتایج حاصل در این تحقیق نشان می‌دهد که با نتایج آزمایشات دیگر محققین مطابقت دارد (۴، ۵، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳).

### منابع مورد استفاده

۱- شاهسونی، داور، موثقی، احمد رضا، مقصدلو، علی. ۱۳۸۲. بررسی بالینی و

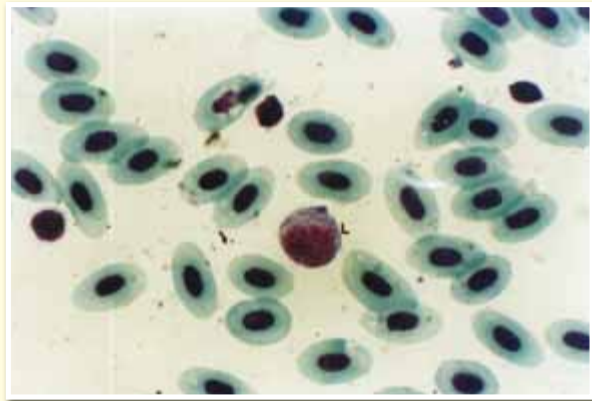


تصویر ۴: ائوزینوفیل (E) بزرگ نمایی (X ۱۶۰۰)



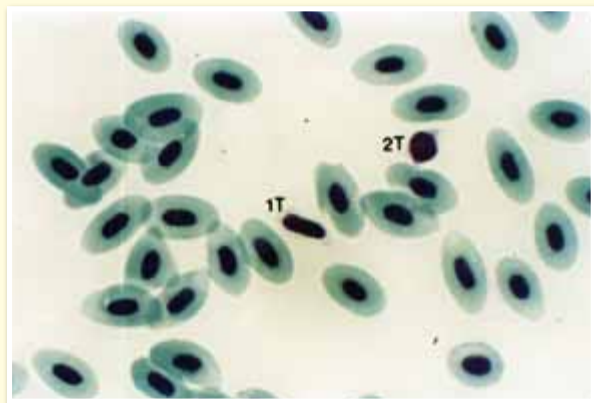
تصویر ۲: گلبول قرمز در حال تخریب (D.R) بزرگ نمایی (X ۱۶۰۰)

environmental contaminations in fish. Canadian Journal of fisheries and aquatic Science. Vol 40 .pp:306-312  
13- Nilsson, S., Grove, D.J. 1984. Adrenergic and cholinergic innervation of the spleen of the cod (*Gadus morhua*). Eur. J. Pharmacol. Vol 28. pp:135-137.

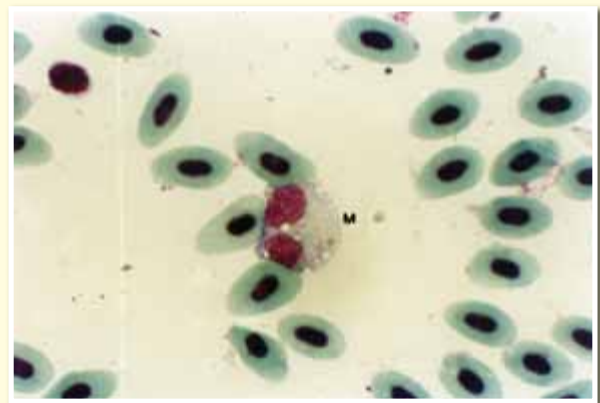


تصویر ۶: لنفوسیت نابالغ (L) بزرگ نمایی (X۱۶۰۰)

- 6- Chattopadhyay, D.N., Konar, S.K. 1985. Acute and chronic of alkyl benzene sulfonate on fish ,plankton and worm. Environ. Ecol. Vol 3, No. 20 pp: 258-267
- 7- Chattopadhyay, D.N., Konar, S.K. 1985. Chronic effects of linear alkyl benzen sulfonate on aquatic ecosystem. Environ. Ecol. Vol 3, No 3. pp: 428-433
- 8- Dakay, M.F., Kikode Musz, I. 1981. Effect of synthetic detergents on the for mazan of various enviromental bacteria. J. Microbiol. Vol 174, pp: 121-124
- 9- Ghatak, D.B. Konar, S.K. 1993. Chronic sublethal effects of heavy methal cadmium detergent, pannel-jand, petroleum product n-heptane on fish. Environ .Ecol. Vol 11(4). PP: 775-783
- 10- Krish, C.R. 1983. Comprative studies on ectotoxicology of synthetic detergents. Ecotoxicol. Environ. Vol 7. pp: 538-545
- 11- Mcleay, D.j. 1983. Effects of cortisol and Dexamethasone in gold fish and salmon. Gen. Comp. Endoctinaol. Vol 21. pp: 441-450
- 12- Niimi, A.J. 1997. Biological and toxicological effects of



تصویر ۷: ترومبوسیت نابالغ (T.۱) - ترومبوسیت بالغ (T.۲) بزرگ نمایی (X ۱۶)



تصویر ۵: منوسیت (M) بزرگ نمایی (X ۱۶۰۰)

