

تأثیر غلظت‌های تحت حاد علف‌کش کلتودیم بر برخی شاخص‌های خونی و بافت‌های سیاه‌ماهی قنات (*Capoeta fusca*)

زهرا قادری نوک آباد، محمدرضا رضائی*، جواد خارکن

گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۸

چکیده

با افزایش جمعیت انسانی و تقاضای محصولات زراعی، استفاده از آفت‌کش‌های طبیعی در دهه اخیر به شدت افزایش یافته است. هدف از این پژوهش تأثیر غلظت‌های تحت حاد علف‌کش کلتودیم بر روی سلول‌های خونی، پارامترهای بیوشیمیایی، آنزیم‌های کبدی و آسیب‌های بافت‌شناسی آبشش و روده سیاه‌ماهی قنات می‌باشد. غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم در سیاه‌ماهی براساس دستورالعمل OECD محاسبه شد و مطالعات خون‌شناسی و بافت‌شناسی پس از ۲۸ روز بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد که غلظت متوسط کشنده کلتودیم از ۲۴ ساعت تا ۹۶ ساعت کاهش و سمیت حاد آن افزایش می‌یابد. نتایج نشان می‌دهد که افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم سبب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌شود. میزان هماتوکریت خون سیاه‌ماهی در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم پس از ۲۸ روز به ترتیب برابر ۲۸/۸±۳/۱۶، ۲۸/۷±۷/۲۸، ۲۸/۳۷±۴/۷۲ و ۲۳/۱۲±۸/۶۱ می‌باشد بنابراین با افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم میزان هماتوکریت کاهش یافته است. سطح تری‌گلیسیرید گروه‌های ۲۵ (۱۲۵/۱۲±۱۷/۱۴)، ۵۰ (۱۲۲/۸۲±۱۴/۷۳) و ۷۵ (۱۰۷/۲۴±۱۱/۲۳) درصد نسبت به گروه کنترل (۱۲۶/۰۵±۲۱/۱۷) کاهش یافته است. سطح آنزیم‌های کبدی در تمامی گروه‌های مورد مطالعه در معرض غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بیشتر از گروه کنترل می‌باشد. آسیب‌های بافت‌شناسی مشاهده شده در بافت آبشش سیاه‌ماهی در معرض علف‌کش کلتودیم شامل به هم چسبیدگی و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه، اودما و چماقی شدن لاملاها می‌باشد. غلظت‌های تحت حاد علف‌کش کلتودیم می‌تواند باعث تغییراتی در سلول‌های خونی و بافت‌های سیاه‌ماهی شود که شدت آن وابسته به غلظت کلتودیم می‌باشد.

کلید واژگان: آفت‌کش، بافت‌شناسی، پارامترهای بیوشیمیایی، سیاه‌ماهی قنات

مقدمه

آفت کش‌ها معمولاً برای افزایش عملکرد کشاورزی از طریق کشتن و مهار رشد ارگانسیم‌های مضر استفاده می‌شوند. با افزایش جمعیت انسانی و تقاضای محصولات زراعی، استفاده از آفت‌کش‌های طبیعی و مصنوعی و کاربرد آنها در دهه اخیر به شدت افزایش یافته است (Kishor et al., 2020). در نتیجه، خطر مواجهه موجودات زنده با این مواد به شدت افزایش یافته است. مطالعات مختلف اثرات مضر قرار گرفتن در معرض آفت‌کش‌ها را بر محیط‌زیست و موجودات زنده نشان می‌دهند. آلاینده‌هایی مانند آفت‌کش‌ها، به سرعت در محیط و اندام‌های انسان پخش می‌شوند و در مدت کوتاهی پس از قرار گرفتن در معرض آن، منجر به مشکلات زیادی برای سلامتی انسان می‌شوند (Gavrilesc et al., 2015). به دلیل فعالیت‌های متابولیکی قابل توجهی که دارند، می‌توانند آسیب‌های جدی به اندام‌های مهم بدن از جمله کبد وارد کنند. از این رو، حفاظت از سلامت انسان در برابر آفت‌کش‌های مختلف یک اولویت جهانی است (Damalas and Koutrouba, 2016).

کلتودیم (Clethodim) با نام تجاری سلکت، علف‌کشی سیستمیک برای کنترل باریک برگ‌های یکساله و چندساله نظیر ارزنی، سوروف، ارزن، قیاق، پنجه مرغی و غلات خودرو می‌باشد (Xiong et al., 2019). این علف‌کش از نظر نحوه عمل، بازدارنده استیل کوآنزیم آکریبوکسیلاز محسوب می‌شود. فروش قابل توجه سالانه بیش از ۱۰۰ میلیون دلار نیز شاهدهی بر کاربرد گسترده جهانی آن است (Mohamed et al., 2023). آژانس حفاظت محیط‌زیست ایالات متحده آمریکا (EPA) آن را به عنوان یک عامل سمیت کلاس II طبقه‌بندی می‌کند که نشان می‌دهد نسبتاً سمی و تحریک‌کننده است. به دلیل حلالیت زیاد در آب به راحتی می‌تواند وارد محیط آبی شود. ترکیبات حاصل از تخریب نوری کلتودیم در محیط آبی بسیار پایدار هستند بنابراین تأثیرات مخرب زیادی بر موجودات آبی می‌گذارد (Hong et al., 2023).

ماهی‌ها در ارزیابی‌های سم‌شناسی مدل‌های مناسبی هستند زیرا در بالای زنجیره غذایی آبیان قرار دارند و طیف تحمل گسترده‌ای دارند بنابراین شاخص‌های خوبی برای بررسی اثرات طولانی‌مدت آلاینده‌ها می‌باشند و می‌توان از آنها به عنوان شاخص‌های زیستی استفاده نمود. غلظت

متوسط کشنده کلتودیم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بین ۱۸ تا ۵۶ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد و در ماهی *Bluegill* برابر ۳۳ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد که این اطلاعات نشان می‌دهد علف‌کش کلتودیم برای ماهی‌ها نسبتاً سمی می‌باشد (Xiong et al., 2019). اطلاعات اندکی در مورد مکانیسم‌های عمل کلتودیم و میزان سمیت آن بر روی موجودات زنده وجود دارد (Santos et al., 2023). به عنوان مثال مطالعات نشان می‌دهند که قرارگرفتن در معرض کلتودیم باعث ایجاد سمیت رشدی عصبی در گورخرماهی می‌شود (Wang et al., 2023). محققان همچنین اثرات منفی قرارگرفتن در معرض این علف‌کش را بر عملکرد تولیدمثلی و جنین‌زایی در موش‌های آلبینو به دلیل مختل کردن غدد درون‌ریز را گزارش کرده‌اند (Dcunha et al., 2023). علاوه بر این، در صورت قرارگرفتن انسان در معرض کلتودیم می‌تواند باعث تحریک چشم، پوست، ترشح بیش از حد بزاق، کاهش فعالیت حرکتی، عدم هماهنگی و راه رفتن ناپایدار شود (Pang and Hu, 2020) همچنین، سمیت مزمن این علف‌کش سبب کم‌خونی، افزایش توده کبدی، آسیب اسکلتی و کاهش وزن جنین انسان می‌شود (Wang et al., 2019). از طریق علم بافت‌شناسی، آسیب‌های سلولی و بافتی به کمک میکروسکوپ تشخیص داده می‌شود همچنین، می‌توان طبیعی و غیرطبیعی بودن سلول‌ها و تغییرات اندام‌های در معرض علف‌کش‌ها را مورد بررسی قرار داد. علاوه بر علم بافت‌شناسی، خون‌شناسی نیز یک شاخص بسیار مهم برای بررسی وضعیت ایمونولوژیک موجودات زنده می‌باشد. خون منعکس‌کننده وضعیت پاتوفیزیولوژیکی کل بدن است. بنابراین، پارامترهای خون در تشخیص وضعیت ساختاری و عملکردی اعضای بدن در معرض مواد سمی مفید است (Sayadi et al., 2023). مطالعات مختلف ثابت می‌کنند که علف‌کش‌های مختلف می‌توانند اثرات مخربی بر روی خون و بافت‌های مختلف ماهیان داشته باشند. Talib و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که علف‌کش رانداپ باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و تغییرات رفتاری از قبیل از دست‌دادن تعادل، شنای نامنظم، باز و بسته کردن سریع آبشش‌ها و برخورد با دیواره آکواریوم‌ها در ماهی گامبوزیا می‌شود. Abbaszadeh و همکاران (۲۰۲۴) بیان کردند که علف‌کش پاراکوات سبب تغییر پارامترهای بیوشیمیایی و آسیب‌های بافت‌شناسی در سیاه‌ماهی می‌شود. Das و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که

مواد و روش‌ها

تهیه سیاه ماهی: تعداد ۸۰ قطعه سیاه‌ماهی از قنات‌های مختلف بیرجند صید شدند و به‌همراه آب قنات به آزمایشگاه لیمنولوژی دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست دانشگاه بیرجند منتقل شدند. سیاه‌ماهی‌ها به‌منظور سازگاری با شرایط آزمایشگاهی به‌مدت دو هفته در مخزن‌های ۲۰۰ لیتری قرار گرفتند و یک بار در روز توسط غذای تجاری تغذیه شدند.

آماده‌سازی علف‌کش کلتودیم: علف‌کش کلتودیم (۲۴ درصد) از شرکت فارمر شاپ خریداری شد و یک محلول ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از آن تهیه گردید.

اندازه‌گیری غلظت متوسط‌کشنده علف‌کش کلتودیم بر روی سیاه‌ماهی: به‌منظور محاسبه سمیت‌حاد علف‌کش کلتودیم بر روی سیاه‌ماهی با طول کل بدن به‌طور متوسط $11/06 \pm 0/2$ سانتی‌متر و وزن متوسط بدن $6/2 \pm 0/8$ گرم از دستورالعمل OECD شماره ۲۳۳ استفاده شد تا غلظت متوسط‌کشنده میانه (LC_{50}) مشخص شود. ابتدا یک محلول ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از علف‌کش کلتودیم تهیه شد. سپس غلظت‌های متفاوتی از علف‌کش کلتودیم شامل ۱، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌مدت ۹۶ ساعت در معرض ۱۰ ماهی قرار گرفت. در طول دوره سنجش میزان مرگ و میر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در هر غلظت ثبت شد و در نهایت براساس داده‌های به‌دست آمده و نرم‌افزار پروبیت میزان غلظت‌کشنده میانه محاسبه شد (OECD, 1998).

طراحی آزمایش‌ها: در این پژوهش سیاه‌ماهی در ۴ گروه ۱۰ قطعه‌ای شامل یک گروه کنترل و در معرض غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد غلظت متوسط‌کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش کلتودیم ($4/16$ میلی‌گرم بر لیتر) و با سه تکرار به‌مدت ۲۸ روز در ۳۰ لیتر آب قرار گرفتند (بهبادی و همکاران، ۱۳۹۵؛ کیانی و علیخانی، ۱۳۹۸؛ کوهکن، ۱۴۰۲).

گروه الف: کنترل

گروه ب (۲۵ درصد): ۱/۰۴ میلی‌گرم بر لیتر علف‌کش کلتودیم

گروه ج (۵۰ درصد): ۲/۰۸ میلی‌گرم بر لیتر علف‌کش کلتودیم

گروه د (۷۵ درصد): ۳/۱۲ میلی‌گرم بر لیتر علف‌کش کلتودیم

پاراکوات سبب افزایش سطح آنزیم‌های کبدی در خون ماهی (*Heteropneustes fossilis*) می‌شود. Agbohessi و همکاران (۲۰۲۳) بیان کردند که گربه‌ماهی آفریقایی در معرض گلایفوسیت دچار تغییرات بافتی از جمله نکروز، واکوئل شدن و دژنراسیون سلول‌های کبدی و اتساع سینوسی در بافت کبد ماهی می‌شود. Oladunjoye و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که علف‌کش گلایفوسیت باعث هیپرپلازی و همجوشی لاملاهای ثانویه در گربه‌ماهی هیبریدی می‌شود. Azadikhah و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که گلایفوسیت باعث ایجاد ضایعاتی مانند آمیختگی لاملاهای ثانویه، آنورسم و هیپرپلازی در آبشش ماهی *Ctenopharyngodon idella* می‌شود. کلتودیم متعلق به کلاس سیکلوهگزان دیون اکسیم می‌باشد. این علف‌کش پس از ورود به محیط آبی دچار فتولیز می‌شود و ترکیبات حاصل از آن بسیار مضر برای موجودات آبی می‌باشد و مطالعات مختلف، فتولیز کلتودیم در محیط‌های آبی را ثابت کرده‌اند (Sevilla-Moran et al., 2010). Falb و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده کردند که کلتودیم در معرض تجزیه در محلول‌های آبی است و نسبت به اسیدی بودن آب بسیار حساس می‌باشد. Sandín-España و همکاران (۲۰۰۵) تجزیه این علف‌کش را در آب مورد مطالعه قرار دادند و بیان کردند که سولفوکسیدها و سولفون‌ها در اثر تجزیه نوری کلتودیم تولید می‌شود و برای موجودات آبی مضر هستند. سیاه‌ماهی در چشمه‌ها، رودخانه‌های آب شیرین، قنات‌های مناطق سیستان، بیرجند، تجن و بجستان پراکنش دارد. این گونه گیاه‌خوار می‌باشد و از جلبک‌هایی که به بستر قنات‌ها و چشمه‌ها چسبیده‌اند، تغذیه می‌کنند (Johari et al. 2009). با توجه به اینکه مطالعات کمی در مورد سمیت کلتودیم بر روی سلول‌های خونی و بافت‌های مختلف موجودات آبی به‌ویژه ماهیان وجود دارد هدف از این پژوهش بررسی سمیت غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم بر روی پارامترهای خون‌شناسی، بیوشیمیایی، آنزیم‌های کبدی و بافت‌های آبشش و روده سیاه‌ماهی قنات (*Capoeta fusca*) می‌باشد.

جمع‌آوری سرم از خون سیاه‌ماهی مورد مطالعه: خون‌گیری در هر گروه از ۳ قطعه ماهی به صورت تصادفی از طریق قطع ساقه دم انجام شد سپس برای جمع‌آوری سرم، نمونه‌های خون در لوله‌های بدون ضد انعقاد به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و پس از لخته شدن با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس سرم جمع‌آوری شده، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای آنالیزهای بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی فریز شد (Abbaszadeh et al., 2024).

شمارش گلبول‌های قرمز، سفید، هماتوکریت و هموگلوبین خون: شمارش تقریبی گلبول‌های قرمز خون پس از ۲۸ روز به صورت دستی پس از رقیق شدن با محلول ایزوتونیک نمک طعام توسط لام نئوبار انجام شد. جهت شمارش گلبول‌های سفید با استفاده از پیت ملانژور سفید و محلول رقیق کننده مارکانو رقت ۱ به ۲۰ تهیه شد سپس تعداد گلبول‌های سفید خون بر روی لام نئوبار محاسبه شد (Simmons, 1997).

برای محاسبه مقادیر هماتوکریت، $\frac{2}{3}$ لوله مویینه با نمونه خون پر شد و درب آن با خمیر هماتوکریت بسته شد و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و میزان هماتوکریت برحسب درصد محاسبه شد. مقدار هموگلوبین بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر براساس فرمول ۱ محاسبه شد (Gross and Siegel, 1983).

فرمول ۱:
$$\pm 1 \frac{\text{هماتوکریت}}{3}$$
 هموگلوبین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی: پارامترهای بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی (آلکالین فسفاتاز، آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز) سرم با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (gc san Chem 200) و کیت‌های تجاری استاندارد اندازه‌گیری شدند (صیادی و خارکن، ۱۴۰۲).

بررسی ساختار گلبول‌های قرمز: به منظور بررسی ساختار گلبول‌های قرمز در معرض غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم ابتدا گسترش خونی از نمونه‌ها بر روی یک لام تمیز تهیه شد سپس توسط اتانول بر روی لام ثابت گردید و در نهایت توسط رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شد و با میکروسکوپ بررسی شد (Ghiasi et al., 2010).

مطالعات بافت‌شناسی: پس از پایان دوره آزمایش (۲۸ روز) بافت‌های آبشش و روده سیاه‌ماهی جدا شدند. نمونه‌ها برای ثابت شدن در فرمالین ۱۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند سپس، جهت آبگیری نمونه‌ها از الکل‌های ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۹۶ درصد استفاده شد. نمونه‌ها بعد از ۹ ساعت نگهداری درون پارافین مایع (در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) قالب‌گیری شدند و با استفاده از میکروتوم برش‌های ۵ میکرومتری از آنها تهیه شد. برای رنگ‌آمیزی نمونه‌ها از رنگ هماتوکسیلین اتوزین استفاده شد و در نهایت نمونه‌ها بر روی لام چسبانده شد و با میکروسکوپ نوری (Nikon, eclips-E200) مطالعه شدند (Sayadi et al., 2020).

تحلیل‌های آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده شد. به منظور بررسی نرمال بودن داده‌های مطالعات خون‌شناسی از آزمون کلموگروف-اسمرینوف استفاده شد که توزیع نرمال داده‌ها را در سطح ($P > 0.05$) نشان داد. از آنالیز واریانس یک‌طرفه برای تعیین سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) استفاده شد.

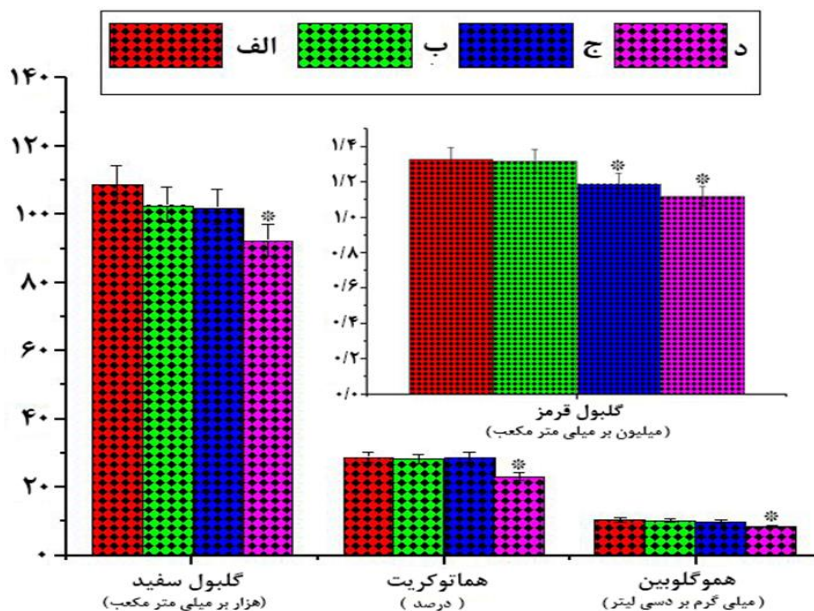
نتایج

غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم بر روی سیاه‌ماهی: غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم (LC_{50}) بر روی سیاه‌ماهی مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که غلظت متوسط کشنده کلتودیم از ۲۴ ساعت تا ۹۶ ساعت کاهش می‌یابد و سمیت حاد آن افزایش می‌یابد.

اثرات علف‌کش کلتودیم بر روی پارامترهای خونی سیاه‌ماهی: اثرات سمیت علف‌کش کلتودیم بر روی پارامترهای خون‌شناسی سیاه‌ماهی پس از ۲۸ روز در شکل ۱ نشان داده شده است. براساس نتایج به دست آمده، تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون بر میلی‌متر مکعب) در خون سیاه‌ماهی در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده به ترتیب برابر 1.33 ± 0.06 ، 1.32 ± 0.03 ، 1.19 ± 0.06 و 1.12 ± 0.04 می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم سبب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌شود و این کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در گروه‌های (ج) و (د) نسبت به گروه کنترل، معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

جدول ۱- غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم بر روی سیاه‌ماهی قنات (*Capueta fusca*)

غلظت (میلی‌گرم بر لیتر)		علف‌کش	
ساعت ۹۶	ساعت ۷۲	ساعت ۴۸	ساعت ۲۴
LC	LC ₅₀	LC	LC ₅₀
۴/۱۶	۴/۵۷	۴/۷۶	۵/۰۲



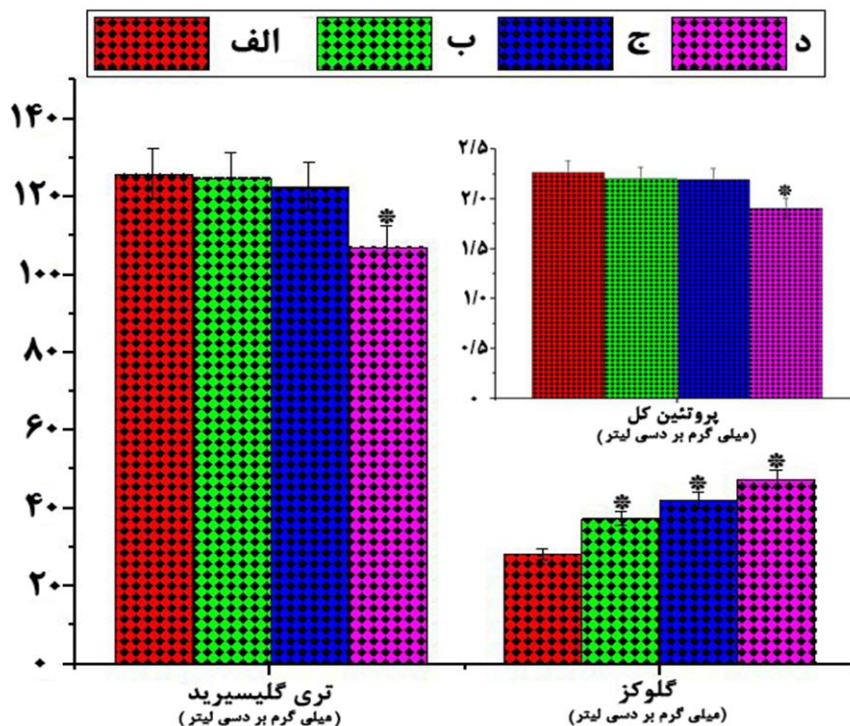
شکل ۱- تغییر در تعداد گلبول قرمز، گلبول سفید، هماتوکریت و هموگلوبین خون سیاه‌ماهی قنات در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم بر روی سیاه‌ماهی پس از ۲۸ روز (*: اختلاف معنی‌داری $P < 0.05$) با گروه کنترل دارد)

براساس نتایج، تعداد گلبول‌های سفید (هزار بر میلی‌متر مکعب) در خون سیاه‌ماهیان مورد مطالعه در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم به ترتیب برابر $10.8/9 \pm 6/0.2$ ، $10.2/8.1 \pm 9/1.1$ ، $9.2/7.2 \pm 7/4.1$ و $8.2/6.2 \pm 5/4.1$ می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم تعداد گلبول‌های سفید نیز کاهش می‌یابد که در گروه ۷۵ (د) درصد نسبت به گروه کنترل معنی‌دار می‌باشد معنی‌داری $P < 0.05$.

براساس نتایج شکل ۱ تغییرات قابل توجهی در میزان هماتوکریت و هموگلوبین خون سیاه‌ماهی در معرض غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم رخ داده است. میزان هماتوکریت (درصد) خون سیاه‌ماهی در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم پس از ۲۸ روز به ترتیب برابر $23/12 \pm 8/6.1$ و $28/37 \pm 4/7.2$ ، $28/7 \pm 7/2.8$ ، $28/8 \pm 3/1.6$ و $23/12 \pm 8/6.1$ می‌باشد بنابراین با افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم میزان

هماتوکریت کاهش یافته است که این کاهش در گروه ۷۵ (د) درصد نسبت به گروه کنترل معنی‌دار می‌باشد $P < 0.05$. میزان هموگلوبین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم به ترتیب برابر $10.8/9 \pm 6/0.2$ ، $10.2/8.1 \pm 9/1.1$ ، $9.2/7.2 \pm 7/4.1$ و $8.2/6.2 \pm 5/4.1$ می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم تعداد گلبول‌های سفید نیز کاهش می‌یابد که در گروه ۷۵ (د) درصد نسبت به گروه کنترل معنی‌دار می‌باشد معنی‌داری $P < 0.05$.

براساس نتایج شکل ۱ تغییرات قابل توجهی در میزان هماتوکریت و هموگلوبین خون سیاه‌ماهی در معرض غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم رخ داده است. میزان هماتوکریت (درصد) خون سیاه‌ماهی در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم پس از ۲۸ روز به ترتیب برابر $23/12 \pm 8/6.1$ و $28/37 \pm 4/7.2$ ، $28/7 \pm 7/2.8$ ، $28/8 \pm 3/1.6$ و $23/12 \pm 8/6.1$ می‌باشد بنابراین با افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم میزان



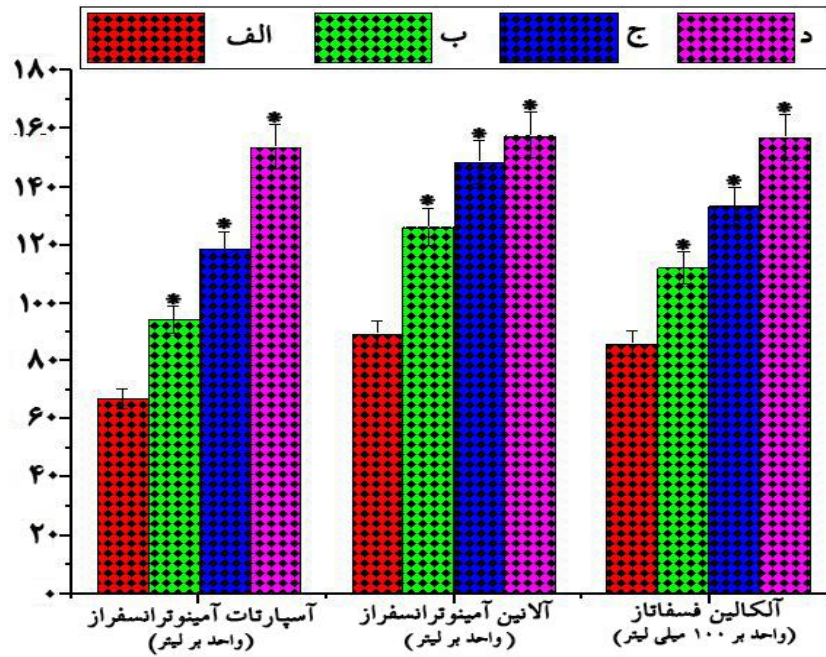
شکل ۲- اثرات سمیت علف‌کش کلتودیم بر روی پارامترهای بیوشیمیایی سیاه‌ماهی قنات در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم پس از ۲۸ روز (*: اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) با گروه کنترل دارد)

اثر علف‌کش کلتودیم بر روی آنزیم‌های کبدی سرم سیاه‌ماهی: اثر سمیت غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم بر روی آنزیم‌های کبدی سرم سیاه‌ماهی پس از ۲۸ روز در شکل ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که سطح آنزیم‌های کبدی (آلکالین فسفاتاز، آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز) در تمامی گروه‌های مورد مطالعه در معرض غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) پس از ۲۸ روز بیشتر از گروه کنترل است که این افزایش وابسته به غلظت علف‌کش کلتودیم می‌باشد.

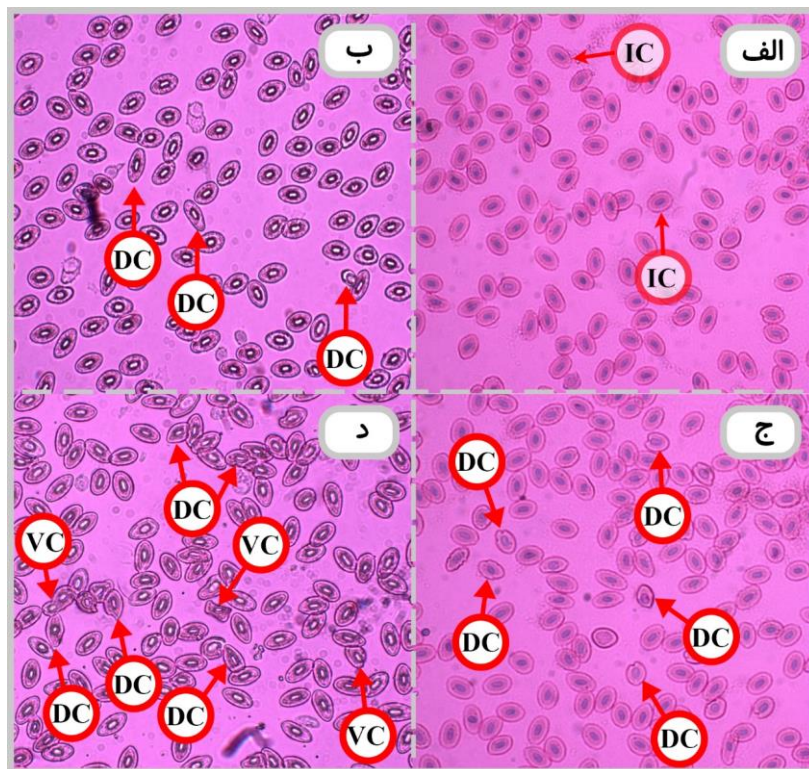
اثر علف‌کش کلتودیم بر روی ساختار گلبول‌های قرمز سیاه‌ماهی: اثر سمیت غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم بر روی ساختار گلبول‌های قرمز سیاه‌ماهی پس از ۲۸ روز در شکل ۴ نشان داده شده است. براساس نتایج غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم باعث تغییرات ساختاری از قبیل واکنش و تغییر شکل گلبول‌های قرمز سیاه‌ماهی می‌شود به گونه‌ای که با افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم (۷۵ درصد) میزان این آسیب‌ها بیشتر از سایر گروه‌ها می‌باشد.

افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم سطح تری گلیسیرید کاهش می‌یابد به گونه‌ای که این کاهش در گروه ۷۵ (د) درصد معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$) بنابراین این نتایج نشان می‌دهد که کاهش سطح تری گلیسیرید وابسته به غلظت علف‌کش کلتودیم می‌باشد.

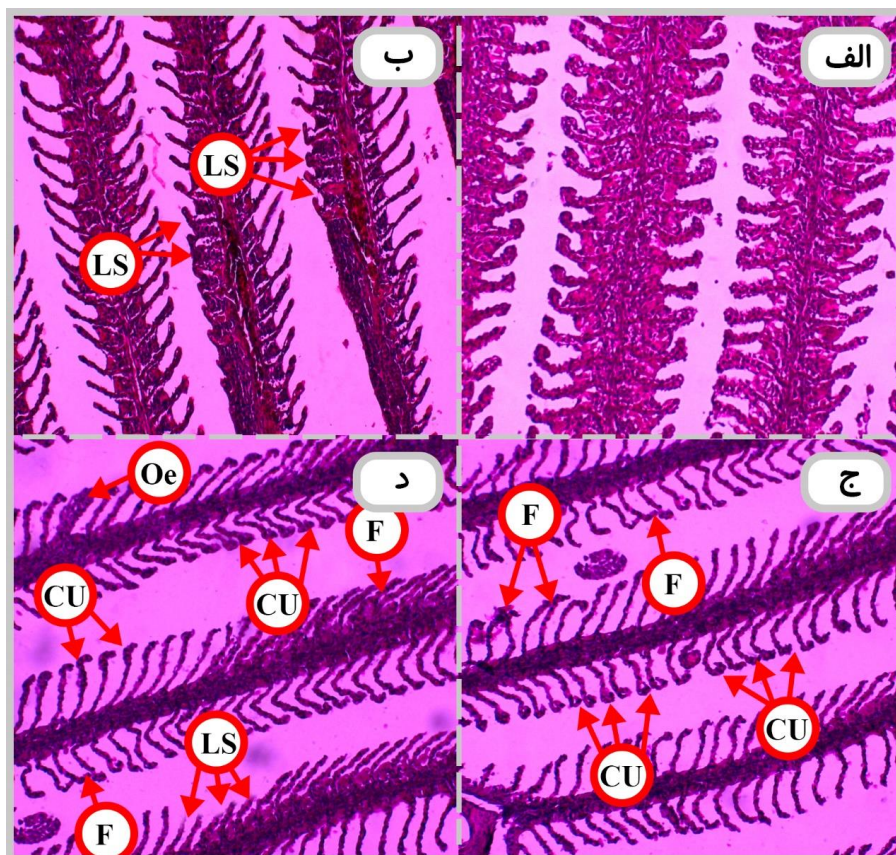
شکل ۲ نشان می‌دهد که سطح گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) سرم سیاه‌ماهی در گروه‌های ۲۵ ($37/31 \pm 2/16$)، ۵۰ ($42/11 \pm 6/41$) و ۷۵ ($47/42 \pm 7/62$) نسبت به گروه کنترل ($28/19 \pm 3/02$) به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.05$) بنابراین نتایج نشان می‌دهد که افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم سبب افزایش سطح گلوکز سرم سیاه‌ماهی می‌شود. نتایج همچنین نشان داد که سطح پروتئین کل (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) سرم سیاه‌ماهی در تمامی گروه‌های مورد مطالعه (۲۵ ($2/21 \pm 0/13$)، ۵۰ ($2/20 \pm 0/42$) و ۷۵ ($1/91 \pm 0/06$)) نسبت به گروه کنترل ($2/27 \pm 0/04$) کاهش یافته است. سطح پروتئین کل در گروه ۷۵ (د) به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است که بیانگر کاهش سطح پروتئین کل سرم سیاه‌ماهی وابسته به غلظت علف‌کش کلتودیم است.



شکل ۳- اثرات علف‌کش کلتودیم بر روی آنزیم‌های کبدی سیاه‌ماهی قنات در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم پس از ۲۸ روز (*: اختلاف معناداری ($P < 0.05$) با گروه کنترل دارد)



شکل ۴- اثر سمیت غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم بر روی گلبول‌های قرمز سیاه‌ماهی قنات در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم پس از ۲۸ روز IC: سلول‌های سالم، VC: واکئوله شدن و DC: تغییر شکل سلول)



شکل ۵- اثر سمیت غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم بر روی آبشش سیاه‌ماهی قنات در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم پس از ۲۸ روز: (F) همجوشی لاملاهای ثانویه، (LS) کوتاه شدن لاملاهای ثانویه، (Oe) اودما و (Cu) انحنا (X۴۰۰)

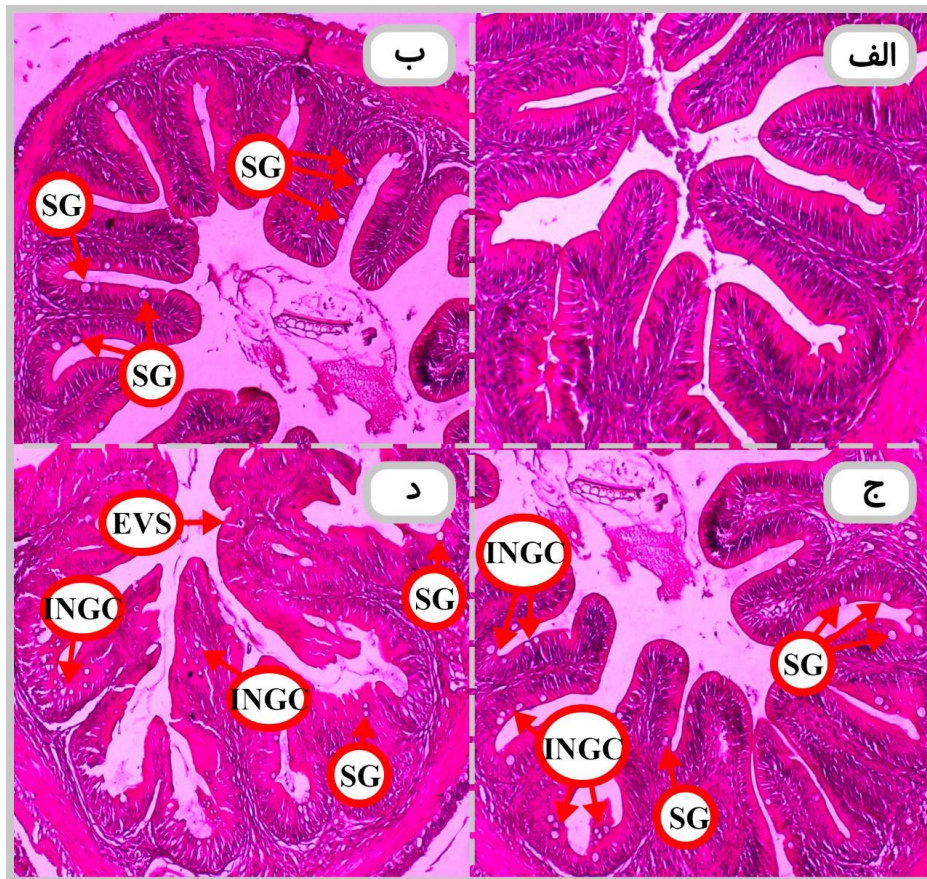
جدول ۲- آسیب‌های بافت‌شناسی آبشش سیاه‌ماهی قنات در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم پس از ۲۸ روز: (F) همجوشی لاملاهای ثانویه، (LS) کوتاه شدن لاملاهای ثانویه، (Oe) اودما و (Cu) انحنا (-: بدون تغییر، +: متوسط، ++: زیاد و +++: خیلی زیاد)

آسیب‌های بافت‌شناسی				بافت
Oe	CU	LS	F	آبشش
+	-	-	-	کنترل
-	-	++	-	۲۵ درصد (ب)
-	++	-	++	۵۰ درصد (ج)
++	+++	+	+++	۷۵ درصد (د)

می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد با افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم (گروه د) شدت این آسیب‌ها افزایش می‌یابد (جدول ۲).

اثر سمیت علف‌کش کلتودیم بر روی روده سیاه‌ماهی:
آسیب‌های بافت‌شناسی غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم در روده سیاه‌ماهی پس از ۲۸ روز در شکل ۶ نشان داده شده است. بر اساس نتایج، غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم باعث آسیب‌هایی از قبیل تورم سلول‌های

اثر سمیت علف‌کش کلتودیم بر روی آبشش سیاه‌ماهی:
اثرات سمیت غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم بر روی آبشش سیاه‌ماهی پس از ۲۸ روز در شکل ۵ نشان داده شده است. براساس نتایج، عمده آسیب‌های بافت‌شناسی مشاهده شده در بافت آبشش سیاه‌ماهی در معرض علف‌کش کلتودیم شامل به هم چسبیدگی و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه، اودما و چماقی شدن لاملاها



شکل ۶- اثر سمیت غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم بر روی روده سیاه‌ماهی قنات در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم پس از ۲۸ روز: تورم سلول‌های گابلت، (SG) افزایش تعداد سلول‌های گابلت و (INGC) افزایش تعداد سلول‌های گابلت و (EVS) گسترش ساختار ویلی (X۴۰۰)

جدول ۳- آسیب‌های بافت‌شناسی روده سیاه‌ماهی قنات در معرض گروه کنترل (الف)، ۲۵ (ب)، ۵۰ (ج) و ۷۵ (د) درصد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم پس از ۲۸ روز: تورم سلول‌های گابلت، (SG) افزایش تعداد سلول‌های گابلت و (EVS) گسترش ساختار ویلی (-: بدون تغییر، +: متوسط، ++: زیاد و +++: خیلی زیاد)

آسیب‌های بافت‌شناسی			بافت
EVS	INGC	SG	روده
-	-	-	کنترل
-	-	++	۲۵ درصد (ب)
-	++	++	۵۰ درصد (ج)
++	+++	+++	۷۵ درصد (د)

بحث

غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم بر روی سیاه‌ماهی: در مطالعه حاضر، غلظت متوسط کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش کلتودیم برای سیاه‌ماهی با طول کل بدن به‌طور متوسط $11/06 \pm 0/2$ سانتی‌متر و وزن متوسط بدن $6/2 \pm 0/8$ گرم برابر $4/16$ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه گردید. براساس نتایج، غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم با گذشت زمان از ۲۴ به ۹۶ ساعت کاهش می‌یابد اما سمیت

گابلت (SG)، افزایش تعداد سلول‌های گابلت (INGC) و گسترش ساختار ویلی (EVS) در روده سیاه‌ماهی می‌شود. جدول ۳ نشان می‌دهد که شدت آسیب‌های بافت‌شناسی در روده سیاه‌ماهیان مورد مطالعه وابسته به غلظت علف‌کش کلتودیم می‌باشد به گونه‌ای که با افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم شدت آسیب‌ها افزایش می‌یابد.

لیتر است. در مجموع مطالعات فوق غلظت متوسط کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش‌ها را برای ماهیان مختلف نشان می‌دهد و علت این تفاوت را می‌توان به گونه ماهی و کیفیت آب نسبت داد (Cattaneo *et al.*, 2011).

اثرات علف‌کش کلتودیم بر روی پارامترهای خونی سیاه‌ماهی: خون یک شاخص ایده‌آل برای بررسی شرایط نامساعد محیطی است، تجزیه و تحلیل پارامترهای خون‌شناسی در ماهی‌ها می‌تواند به‌طور معمول شرایط استرس و وضعیت عملکردی سلامت حیوانات را نشان دهد (Gholami-Seyedkolaei *et al.*, 2013).

مطالعات مختلف نشان می‌دهند که علف‌کش‌ها می‌توانند بر روی پارامترهای خون‌شناسی تأثیر زیادی داشته باشند (Acar *et al.*, 2021; Bortolon Ribas *et al.*, 2024; Abbaszadeh *et al.*, 2024). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون بر میلی‌متر مکعب)، هموگلوبین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و هماتوکریت (درصد) خون سیاه‌ماهی در معرض غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم وابسته به دوز کاهش می‌یابد (شکل ۱). مهار گلبول قرمز و تخریب گلبول‌های قرمز دو دلیل عمده برای کاهش تعداد گلبول‌های قرمز سیاه‌ماهی در معرض علف‌کش کلتودیم می‌باشد (Saravanan *et al.*, 2011a). کاهش مقدار هموگلوبین و هماتوکریت در خون سیاه‌ماهی در معرض علف‌کش کلتودیم را می‌توان به اختلال در فرآیندهای خونسازی و تسریع در تجزیه غشای سلولی گلبول‌های قرمز نسبت داد (Gholami-Seyedkolaei *et al.*, 2013). علاوه بر این کاهش تعداد هموگلوبین و هماتوکریت خون می‌تواند به دلیل تغییر ساختار و کاهش اندازه گلبول‌های قرمز خون سیاه‌ماهی در معرض علف‌کش کلتودیم اتفاق افتاده باشد (Saravanan *et al.*, 2011b). کم خونی می‌تواند به دلیل مهار گلبول‌های قرمز، هموستز و افزایش تخریب اندام‌های خون‌ساز ایجاد شود، ممکن است کاهش سطح هموگلوبین، هماتوکریت و همچنین تعداد گلبول‌های قرمز شاخصی برای تشخیص کم‌خونی باشد (Svobodova *et al.*, 1997). در مطالعات مشابه Bojarski و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که غلظت‌های مختلف علف‌کش گلائیفوسیت سبب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز ماهی کپور معمولی می‌شود که این تغییرات وابسته به غلظت و مدت زمان قرار گرفتن در معرض گلائیفوسیت است

حاد آن افزایش می‌یابد (جدول ۱). مطالعات اندکی در مورد غلظت متوسط کشنده علف‌کش کلتودیم بر روی ماهیان مختلف وجود دارد.

در مطالعات مشابه Mohamed و همکاران (۲۰۲۳) بیان کردند که غلظت متوسط کشنده کلتودیم برای زنبور عسل با گذشت زمان از ۲۴ به ۹۶ ساعت کاهش می‌یابد اما سمیت حاد آن افزایش می‌یابد و غلظت متوسط کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش کلتودیم برای زنبور عسل برابر ۳/۱۵ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. Peluso و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که غلظت متوسط کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش گلائیفوسیت بر روی لارو *Rhinella arenarum* برابر ۳۷/۶۷ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. گزارش شده است که مقدار غلظت متوسط کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش گلائیفوسیت به ترتیب برای گونه‌های *Gambusia*، *Leporinus macrocephalus*، *yucatanensis*، *Prochilodus lineatus* و *Cyprinus carpio* برابر ۱۷/۸، ۱۵/۲، ۱۳/۷ و ۲۲/۱۹ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد (Rendón-von Osten *et al.*, 2005; Albinati *et al.*, 2007; Do Carmo Langiano and Martinez, 2008; Gholami-Seyedkolaei *et al.*, 2013). همچنین Ladipo و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که مقدار غلظت متوسط کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش پاراکوات برای گونه‌های *Clarias gariepinus* برابر ۱/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد در حالی که Oladokun و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که غلظت متوسط کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش پاراکوات برای گونه *Clarias gariepinus* برابر ۵۰ میکروگرم بر لیتر می‌باشد. Okey و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که غلظت متوسط کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش پاراکوات برای گونه *Clarias gariepinus* برابر ۱۰۷ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. Nualkaw و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که غلظت متوسط کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش پاراکوات برای گونه *Oreochromis niloticus* برابر ۱۰/۲۳ میکروگرم بر لیتر است. Nwani و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که مقدار غلظت متوسط کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش آترازین برای گونه *Channa punctatus* برابر ۴۲/۳۸ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. Ali و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که غلظت متوسط کشنده ۹۶ ساعت علف‌کش آترازین در گونه *Schizothorax plagiostomus* برابر ۱۲/۱۹ میلی‌گرم بر

ماهی است (Svobodova *et al.*, 1997). درصد لنفوسیت‌های کمتر و درصد نوتروفیل‌های بیشتر دو واکنش طبیعی ماهی‌هایی هستند که در معرض انواع سموم قرار دارند (Witeska, 2005). مطالعه حاضر، نشان می‌دهد که تعداد گلبول‌های سفید خون سیاه‌ماهی وابسته به غلظت در معرض علف‌کش کلتودیم کاهش می‌یابد (شکل ۱). مطالعات نشان می‌دهند که در مواجهه اولیه با آلاینده‌ها تعداد گلبول‌های سفید افزایش می‌یابد اما در مواجهه طولانی‌مدت باعث سرکوب سیستم ایمنی بدن و کاهش تعداد گلبول‌های سفید می‌شود (Kotsanis *et al.*, 2000). علاوه بر این، کاهش تعداد گلبول‌های سفید احتمالاً به دلیل مهار بلوغ گلبول‌های سفید و رها شدن از مخازن بافتی در اثر واکنش با علف‌کش کلتودیم نیز می‌تواند باشد (Kreutz *et al.*, 2010). در مطالعات مشابه Khan و همکاران (۲۰۱۶a) اشاره کردند که در ماهی کپور معمولی که به مدت ۲۴ تا ۹۶ ساعت در معرض ۰/۱-۰/۰۲ میلی‌لیتر در گلایفوسیت قرار گرفتند تعداد گلبول‌های سفید خون در روز اول کاهش یافت و سپس به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. علاوه بر این، مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها در ماهی‌های در معرض گلایفوسیت ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. -Gholami Seyedkolaei و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که علف‌کش گلایفوسیت سبب کاهش قابل توجه گلبول‌های سفید نسبت به گروه کنترل در ماهی کپور معمولی می‌شود. Kondera و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که علف‌کش گلایفوسیت باعث کاهش گلبول‌های سفید خون در ماهی کپور معمولی می‌شود. Bojarski و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که علف‌کش گلایفوسیت باعث کاهش گلبول‌های قرمز نسبت به گروه کنترل می‌شود. Kreutz و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که گلایفوسیت سبب کاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید خون در گربه‌ماهی نقره‌ای نسبت به گروه کنترل می‌شود. نتایج سایر مطالعات با این مطالعه همخوانی دارد (Latorre *et al.*, 2016; Desouky *et al.*, 2023).

اثرات علف‌کش کلتودیم بر روی پارامترهای بیوشیمیایی سرم سیاه‌ماهی: اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی خون به‌عنوان ابزار تشخیصی مهم برای تشخیص ناهنجاری‌ها در کبد و سایر بافت‌ها استفاده می‌شود (Banaee *et al.*, 2011). در مطالعه حاضر، سطح گلوکز در گروه‌های در معرض علف‌کش کلتودیم نسبت به گروه کنترل

از طرفی بیان کردند که پارامترهای هماتولوژیک نشانگرهای حساس‌تر و قابل اعتمادتری برای مواجهه ماهی‌ها با علف‌کش‌های مختلف می‌باشد. Gholami-Seyedkolaei و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که غلظت‌های مختلف علف‌کش گلایفوسیت سبب کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت خون در ماهی کپور معمولی می‌شود که این کاهش وابسته به مدت زمان و غلظت گلایفوسیت می‌باشد همچنین بیان کردند که تغییرات در پارامترهای خون‌شناسی می‌تواند به‌عنوان شاخص کارآمد برای تعیین سمیت علف‌کش‌ها در محیط آبی مورد استفاده قرار گیرد. Naz و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که علف‌کش گلایفوسیت سبب کاهش معنی‌دار گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت خون خرگوش می‌شود که این کاهش وابسته به غلظت و مدت زمان قرار گرفتن در معرض علف‌کش می‌باشد. Barathinivas و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که علف‌کش بوتیزان استار سبب کاهش قابل توجهی در تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت خون گربه‌ماهی آب شیرین وابسته به غلظت و مدت زمان قرار گرفتن در معرض علف‌کش می‌شود. Shah و همکاران (۲۰۲۳) بیان کردند که علف‌کش آترازین سبب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین در خون ماهی *Ctenopharyngodon idella* می‌شود و بیان کردند که علف‌کش‌ها قادرند حتی در مدت کوتاه سبب تغییر در پارامترهای خون‌شناسی شوند. George و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که علف‌کش آترازین سبب کاهش قابل توجهی در تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین خون گربه‌ماهی آفریقایی می‌شود و بیان کردند که بررسی پارامترهای خون‌شناسی برای پایش وضعیت سلامت موجودات بسیار مناسب می‌باشد. Ahmadivand و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند که علف‌کش بوتاکلر سبب کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و گلبول‌های سفید خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. Orun و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین خون ماهی کپور معمولی در معرض ۶ و ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر علف‌کش گلایفوسیت وابسته به غلظت کاهش می‌یابد. گلبول‌های سفید نقش کلیدی در تنظیم عملکرد ایمنی در موجودات مختلف دارند، تغییرات در تعداد گلبول‌های سفید در مقابل آلاینده‌ها نشان‌دهنده کاهش ایمنی غیراختصاصی

پرومترین سبب افزایش سطح گلوکز سرم نسبت به گروه کنترل می شود.

سطح تری گلیسیرید و پروتئین کل سرم سیاه ماهی در معرض غلظت های مختلف علف کش کلتودیم، نسبت به گروه کنترل کاهش می یابد (شکل ۲). تری گلیسیرید شکل ذخیره سازی چربی ها و منابع اصلی روغن ها و چربی های است که در خون جاری می شوند. کاهش حجم تری گلیسیرید در پلاسما ی خون در غلظت های بالای علف کش کلتودیم می تواند به دلیل عدم تعادل ایجاد شده توسط غلظت های بالاتر این سم باشد که بر سیستم گوارشی، کبد و آنزیم های مرتبط و همچنین عدم تعادل هورمونی و متابولیک طبیعی در سیاه ماهی تأثیر می گذارد (Abdali et al., 2011). اختلال در چرخه اسیدهای چرب ممکن است استفاده از تری گلیسیرید را که اغلب برای تأمین انرژی در هنگام نیاز تحت شرایط استرس زا استفاده می شوند، تغییر دهد (De Moura et al., 2017) علاوه بر این پروتئین کل و کربوهیدرات ها از مهم ترین منابع تأمین انرژی در موجودات زنده می باشند بنابراین هر گونه تغییر در مقدار تری گلیسیرید و پروتئین می تواند بیانگر مصرف آنها به منظور تأمین انرژی لازم بدن باشد (Abou El-Naga et al., 2005). در مطالعات مشابه Mosiichuk و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که غلظت های مختلف علف کش پرومترین سبب کاهش سطح پروتئین کل در ماهی قرمز می شود. Banaee و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که غلظت های مختلف دیازینون سبب کاهش قابل معنی دار سطح پروتئین کل در سرم ماهی قزل آلی رنگین کمان نسبت به گروه کنترل می شود. Ghaffari و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که علف کش گلایفوسیت سبب کاهش قابل توجه سطح پروتئین کل نسبت به گروه کنترل در ماهی *Labeo rohita* می شود. Hashemi و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که علف کش پاراکوات باعث کاهش سطح پروتئین کل سرم ماهی *Mesopotamichthys sharpeyi* نسبت به گروه کنترل می شود. Akhtar و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که علف کش اترازین باعث کاهش سطح پروتئین کل سرم در ماهی قزل آلی برفی (*Schizothorax plagiostomus*) می شود. Chanu و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که علف کش گلایفوسیت سبب کاهش سطح پروتئین کل در سرم ماهی *Labeo rohita* نسبت به گروه کنترل می شود.

افزایش یافت. نشان داده شده است که گلوکز خون یک شاخص حساس استرس محیطی برای هر آلاینده شیمیایی از جمله آفت کش ها است (Mohammad Mostakim et al., 2015). Khan و همکاران (۲۰۱۶b) هایپرگلیسمی قابل توجهی را در ماهی کپور معمولی در معرض گلایفوسیت کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مشاهده کردند. افزایش در سطح گلوکز سرم گونه *Prochilodus lineatus* که در معرض ۱۰ میلی گرم در لیتر گلایفوسیت برای ۹۶ ساعت قرار گرفته بود، توسط Do Carmo Langiano و Martinez در سال ۲۰۰۸ گزارش شد. هایپرگلیسمی یک واکنش بسیار رایج در ماهی ها در شرایط استرس است. این شرایط توسط آلاینده ها ایجاد می شود و با فراهم کردن بسترهای انرژی برای بافت هایی مانند مغز، آبشش ها و ماهیچه ها به حیوان کمک می کند تا با افزایش تقاضای انرژی مقابله کند بنابراین سطح گلوکز خون افزایش می یابد (Barton, 2002). حالت هایپرگلیسمی در استخوان های نازک عمدتاً توسط آدرنالین و کورتیزول ایجاد می شود و می تواند توسط گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز رخ دهد (Wendelaar Bonga, 1997). در مطالعات مشابه Mohammad Mostakim و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که کوینالفوس سبب افزایش قابل توجه سطح گلوکز خون ماهی *Barbonymus gonionotus* نسبت به گروه کنترل می شود و بیان کردند که *Barbonymus gonionotus* برای تولید انرژی مورد استفاده در مبارزه با استرس ناشی از کوینالفوس، گلوکز بیشتری تولید می کند. Owagboriaye و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که علف کش گلایفوسیت سبب افزایش سطح گلوکز خون رت آلبینو نسبت به گروه کنترل می شود و گزارش کردند افزایش سطح گلوکز در پاسخ به شرایط استرس می باشد. Abbaszadeh و همکاران (۲۰۲۴) بیان کردند که ترکیب علف کش پاراکوات و میکروپلاستیک سطح گلوکز خون سیاه ماهی را نسبت به گروه کنترل افزایش می دهد و بیان کردند که به منظور تأمین انرژی مورد نیاز برای مقابله با شرایط استرس سطح گلوکز خون افزایش می یابد. Saravanan و همکاران (۲۰۱۱b) بیان کردند آفت کش لیندان سبب افزایش قابل توجه سطح گلوکز خون در ماهی کپور معمولی نسبت به گروه کنترل می شود. Velisek و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که قرار گرفتن ماهی کپور معمولی به مدت ۶۰ روز در معرض

آسیب و شدت آن به نوع ماده سمى و مدت زمان قرار گرفتن در معرض آن بستگى دارد. در مطالعات مشابه Bawa و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که علف‌کش گلايفوسیت سبب افزایش فعالیت AST و ALP در سرم ماهى کپور معمولی می‌شود و این افزایش وابسته به مدت زمان قرارگیری و غلظت علف‌کش دارد. Gholami-Seyedkolaei و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که فعالیت آنزیم‌های AST، ALT و ALP در سرم ماهى کپور معمولی در معرض غلظت‌های مختلف علف‌کش گلايفوسیت به‌طور معنی‌دارى نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد. Blahova و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند که علف‌کش آترازین سبب افزایش معنی‌دار سطح آنزیم‌های AST و ALP در سرم ماهى کپور معمولی می‌شود. Abdelmagid و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که سطح فعالیت آنزیم‌های AST، ALP و ALT در معرض غلظت‌های مختلف علف‌کش گلايفوسیت نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دارى دارد. Abbaszadeh و همکاران (۲۰۲۴) بیان کردند که ترکیب میکروپلاستیک و علف‌کش پاراکوات سبب افزایش معنی‌دار سطح AST، ALP و ALT در خون سیاه‌ماهى می‌شود. Fathy و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که علف‌کش استوکلر سبب افزایش سطح آنزیم‌های AST، ALP و ALT در سرم ماهى تیلاپى نیل می‌شود. Ghelichpour و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که حشره‌کش ایندوکساکارب سبب افزایش سطح آنزیم‌های ALT و AST در سرم ماهى کپور معمولی می‌شود.

اثر علف‌کش کلتودیم بر روی ساختار گلبول‌های قرمز

سیاه‌ماهى: براساس نتایج به‌دست آمده غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم باعث تغییرات ساختارى از قبیل واکنش شدن و تغییر شکل گلبول‌های قرمز سیاه‌ماهى می‌شود به گونه‌ای که با افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم (۷۵ درصد) میزان این آسیب‌ها بیشتر از سایر گروه‌ها می‌باشد. بررسی ساختار گلبول‌های قرمز به‌لحاظ اثرات احتمالى ناشى از سموم مختلف در مطالعات سم‌شناسى بساير حائز اهمیت است چرا که در صورتى که ساختار گلبول‌های قرمز در معرض سموم مختلف دچار تغییر شده باشند می‌تواند باعث اختلالات تنفسى برای موجودات شود (Samim and Vaseem, 2021). در مطالعات مشابه Samim and Vaseem (۲۰۲۱) گزارش کردند که نانوذرات اکسید نیکل

Jalil و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که علف‌کش پرتیلاکلر سبب کاهش معنی‌دار سطح تری‌گلیسیرید سرم در خون ماهى کپور معمولی نسبت به گروه کنترل می‌شود. Dobšiková و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که سطح تری‌گلیسیرید سرم کپور معمولی در معرض علف‌کش Gardoprim به‌طور معنی‌دارى نسبت به گروه کنترل کاهش می‌یابد. Banaee و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند که سطح تری‌گلیسیرید سرم کپور معمولی در معرض علف‌کش پاراکوات به‌طور قابل توجهی نسبت به گروه کنترل کاهش می‌یابد.

اثر علف‌کش کلتودیم بر روی آنزیم‌های کبدى سرم

سیاه‌ماهى: هر گونه تغییر در فعالیت‌های آنزیمی موجودات آبرى معمولاً بیانگر آسیب‌های بافتی ناشى از بیماری‌ها و یا استرس ناشى از سموم می‌باشد (Mukherjee *et al.*, 2022). به‌طور کلی، برخی از آنزیم‌ها مانند ALT، AST، LDH و ALP برای اندازه‌گیری میزان آلودگی در حیوانات و همچنین بررسی دقیق آلودگی آب مورد استفاده قرار می‌گیرند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که آنزیم‌های فوق، نشانگرهای زیستی بسیار حساس و مناسبی برای تعیین استرس در ماهی‌هایی هستند که در معرض آلاینده‌های مختلف موجود در آب قرار می‌گیرند (Adhikari *et al.*, 2004). آنزیم‌های ALT و AST در بافت‌های مختلف کبد، قلب، ماهیچه اسکلتی، کلیه، پانکراس، طحال، گلبول‌های قرمز، مغز و آیشش یافت می‌شوند. آنها نقش مهمی در متابولیسم پروتئین و کربوهیدرات دارند و به‌عنوان شاخصی برای آسیب بافتی و پارگی سلولی عمل می‌کنند (Adeyemi *et al.*, 2015). افزایش AST در خون به‌طور قابل توجهی نشان‌دهنده نارسایى میوکارد است، در حالی‌که افزایش ALT به‌طور قابل توجهی نشان‌دهنده سیروز کبدى به‌دلیل سمیت کبدى است که باعث نفوذپذیری و نشت آنزیم‌های لیپوزومی می‌شود و آزادسازی این آنزیم‌ها را افزایش می‌دهد (Khozimy *et al.*, 2021). در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP برای سیاه‌ماهى که در معرض غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم قرار گرفته بودند، به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. این افزایش احتمالاً می‌تواند به‌دلیل آسیب به بافت‌های کبد و کلیه در اثر تجمع علف‌کش کلتودیم نسبت داده شود که به‌نوبه خود این آنزیم‌ها را به جریان خون آزاد می‌کنند. با این حال، سطح

سبب واکنش شدن و تغییر شکل گلبول‌های قرمز ماهی *Heteropneustes fossilis* می‌شود. Abbaszadeh و همکاران (۲۰۲۴) بیان کردند که ترکیب علف‌کش پاراکوات و میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلراید سبب تغییر شکل و واکنش شدن گلبول‌های قرمز سیاه‌ماهی می‌شود. Rezaei و همکاران (۲۰۲۵) بیان کردند که غلظت‌های مختلف بنزوالکونیوم کلراید سبب واکنش شدن و تغییر شکل گلبول‌های قرمز ماهی کپور معمولی می‌شود و بیان کردند که با افزایش غلظت بنزوالکونیوم کلراید شدت آسیب‌ها به گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد. Vijitha و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که غلظت‌های مختلف تریکلوزان سبب آپوپتوز گلبول‌های قرمز *Oreochromis niloticus* می‌شود. Da Costa Araújo و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که غلظت‌های مختلف میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن سبب هسته‌های کلیوی شکل، هسته‌های خارج از مرکز و واکنش شدن سلول در گلبول‌های قرمز ماهی *Danio rerio* می‌شود. همچنین Farag و همکاران (۲۰۲۳) دریافتند که میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن باعث ایجاد سیستوسیت و کراتوسیت در گلبول‌های قرمز موش می‌شوند.

اثر سمیت علف‌کش کلتودیم بر روی آبشش سیاه‌ماهی: علم بافت‌شناسی بررسی ساختار میکروسکوپی اجزای سلول از نظر ساختاری و عملکرد می‌باشد. در صورتی که هدف مطالعه بررسی ساختارهای غیرطبیعی یا بیماری باشد، آگاهی از ظاهر بافتی طبیعی ضروری است (Lowe et al., 2023). آبشش ماهیان از اولین اندام‌هایی است که در تماس مستقیم با آلاینده‌ها قرار می‌گیرد (Pandey et al., 2008). اکسیژن و دی‌اکسید کربن که در آب حل شده‌اند از طریق آبشش‌ها مبادله می‌شوند. آبشش‌ها در پشت و کنار حفره دهان قرار دارند و از رشته‌های گوشتی تشکیل شده‌اند که توسط قوس‌های آبششی پشتیبانی می‌شوند و پر از رگ‌های خونی هستند که به آبشش‌ها رنگ قرمز روشن می‌دهند. آبی که به‌طور مداوم از طریق دهان وارد می‌شود، از بین نوارهای آبششی و روی رشته‌های آبششی به عقب عبور می‌کند، جایی که تبادل گازها انجام می‌شود. مویرگ‌های خونی در رشته‌های آبششی نزدیک به سطح آبشش هستند تا اکسیژن را از آب بگیرند و دی‌اکسید کربن اضافی را به آب بدهند. در مطالعه حاضر، آسیب‌های بافت‌شناسی یافت‌شده در بافت آبشش سیاه‌ماهی در معرض

علف‌کش کلتودیم شامل به هم چسبیدگی و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه، اودما و چماقی شدن لاملاها می‌باشد (شکل ۵). شدت آسیب‌های وارد شده به بافت‌های آبشش وابسته به غلظت علف‌کش کلتودیم می‌باشد هر چه غلظت افزایش می‌یابد شدت آسیب‌ها بیشتر می‌شود (جدول ۲). همجوشی و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه یک مکانیسم حفاظتی ماهی در برابر آلاینده‌های مختلف می‌باشد این عمل سبب می‌شود تا سطح آبشش با آلاینده محدود شود و سرعت جذب آلاینده کاهش یابد (Beegam et al., 2020). اودما زمانی اتفاق می‌افتد که لاملاهای بافت آبشش متورم می‌شود و این عمل سبب می‌شود اکسیژن‌رسانی دچار مشکل شود (Gropper et al., 1994). در مطالعات مشابه Rezaei و همکاران (۲۰۲۵) گزارش کردند که بنزوالکونیوم کلراید باعث اودما، انوریسم، همجوشی و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه در آبشش ماهی کپور معمولی می‌شود و بیان کردند که با افزایش غلظت بنزوالکونیوم کلراید، شدت آسیب‌ها به بافت آبشش افزایش می‌یابد. Abbaszadeh و همکاران (۲۰۲۴) بیان کردند که علف‌کش پاراکوات در ترکیب با میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلراید سبب آسیب‌های بافت‌شناسی از قبیل همجوشی و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه، اودما، انوریسم و نکروز در بافت آبشش سیاه‌ماهی می‌شود و بیان کردند که شدن آسیب‌ها با افزایش غلظت پاراکوات و میکروپلاستیک، افزایش می‌یابد. Vigário و Sabóia-Morais (۲۰۱۴) بیان کردند که علف‌کش توفوردی سبب همجوشی و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه در آبشش ماهی *Veterinária Brasileira* می‌شود. Badroo و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که علف‌کش پاراکوات سبب انوریسم، چماقی شدن، پیچ خوردگی لاملاهای ثانویه و هایپرتروفی و نکروز در بافت آبشش ماهی *Channa punctatus* می‌شود. Ahmad و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که غلظت‌های حاد علف‌کش آترازین سبب هایپرپلازی، بلند شدن اپیتلیال و انوریسم در بافت آبشش ماهی *Ctenopharyngodon idella* می‌شود. Oladunjoye و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که غلظت‌های مختلف علف‌کش گلایفوسیت سبب همجوشی لاملاهای ثانویه، هایپرپلازی، تخریب و واکنش شدن لاملاها در بافت آبشش گربه‌ماهی می‌شود. Américo-Pinheiro و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که غلظت‌های

در Sudhakaran and Sreeja می‌شود. *Danio rerio* سال (۲۰۲۳) بیان کردند که علف‌کش کلرپیریفوس سبب تخریب لایه مخاطی و نکروز سلول‌های اپیتلیال در بافت روده *Anabas testudineus* می‌شود. Noreen و همکاران (۲۰۲۳) بیان کردند که علف‌کش کلرپیریفوس سبب پارگی پرزها، نکروز و پیکنوز در روده کبوتر می‌شود. Saleh و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که علف‌کش گلایفوسیت باعث تغییر شکل پرزهای روده و هیپرپلازی سلول‌های گابلت در روده موش‌ها می‌شود.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که قرار گرفتن در معرض غلظت‌های زیر کشنده علف‌کش کلتودیم که ممکن است در آب‌های طبیعی آلوده ایجاد شود باعث تغییراتی در سلول‌های خونی، پارامترهای بیوشیمیایی، آنزیم‌های کبدی و همچنین آسیب‌هایی در بافت‌های آبشش و روده سیاه‌ماهی می‌شود. این تغییرات نشانگرهای زیستی حساسی از قرار گرفتن در معرض مواد آلاینده هستند و همچنین به عواقب آلاینده‌های مختلف به‌ویژه کلتودیم برای سلامتی انسان اشاره دارند چراکه سالانه مقدار زیادی علف‌کش‌هایی مانند کلتودیم وارد محیط‌زیست می‌شوند. در صورت عدم استفاده صحیح و بیش از حد، مطمئناً بر سلامت انسان و محیط‌زیست تأثیر می‌گذارد. در حال حاضر، هیچ اجماعی در مورد یک مکانیسم واحد برای سمیت کلتودیم وجود ندارد بنابراین، هنوز نیاز به شناسایی نحوه عملکرد سمیت کلتودیم در طیف وسیعی از موجودات زنده می‌باشد برای محدود کردن استفاده گسترده از علف‌کش کلتودیم، ترویج شیوه‌های کشاورزی ارگانیک که از آفت‌کش‌های زیستی یا عوامل بیولوژیک برای کنترل علف‌های هرز به‌جای علف‌کش‌ها استفاده می‌کنند، بسیار مهم است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد گروه محیط‌زیست دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست دانشگاه بیرجند می‌باشد که از دانشگاه بیرجند به جهت حمایت و کمک‌های مالی، تشکر و قدردانی می‌شود.

تحت حاد علف‌کش کاربو فوران سبب آسیب‌های افزایش اپیتلیوم بین لایه‌ای و احتقان خون در تیغه‌های ثانویه می‌شود.

اثر سمیت علف‌کش کلتودیم بر روی روده سیاه‌ماهی:

بر اساس نتایج به‌دست آمده غلظت‌های مختلف علف‌کش کلتودیم باعث آسیب‌هایی از قبیل تورم سلول‌های گابلت، افزایش تعداد سلول‌های گابلت و گسترش ساختار ویلی در روده سیاه‌ماهی می‌شود. شدت آسیب‌های بافت‌شناسی در روده سیاه‌ماهی وابسته به غلظت علف‌کش کلتودیم می‌باشد به گونه‌ای که با افزایش غلظت علف‌کش کلتودیم شدت آسیب‌ها افزایش می‌یابد (جدول ۳). روده نقش مهمی در جذب و متابولیسم آلاینده‌ها دارد. آلاینده‌هایی از قبیل آفت‌کش‌ها می‌توانند آسیب‌های جدی برای بافت روده ایجاد کنند بنابراین بررسی بافت روده می‌تواند در مطالعات سم‌شناسی مفید باشد (Tang et al., 2021). اولین مکانیسم دفاعی در بافت روده ماهی، افزایش تعداد سلول‌های گابلت می‌باشد که به‌طور موقت میزان آسیب‌پذیری بافت روده را کاهش می‌دهد و از طرفی، گسترش ساختار ویلی جزء شایع‌ترین عارضه‌ها در مقابل آلاینده‌های مختلف در روده می‌باشد (Ribeiro et al., 2006). در مطالعات مشابه Abbaszadeh و همکاران (۲۰۲۴) بیان کردند که غلظت‌های مختلف علف‌کش پاراکوات در ترکیب با میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلراید سبب افزایش تعداد سلول‌های گابلت، تورم سلول‌های گابلت و گسترش ساختار ویلی در روده سیاه‌ماهی می‌شود و بیان کردند که با افزایش غلظت پاراکوات و میکروپلاستیک‌ها، شدت آسیب‌ها به بافت روده سیاه‌ماهی افزایش می‌یابد. Sayadi و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن و نمک‌های مختلف آهن سبب تورم سلول‌های گابلت، افزایش تعداد سلول‌های گابلت، نکروز و افزایش تعداد سلول‌های خونی در بافت روده سیاه‌ماهی می‌شود. Fathi و همکاران (۲۰۲۴) بیان کردند که غلظت‌های مختلف گلایفوسیت سبب ادغام پرزها، کاهش تعداد سلول‌های گابلت و نکروز برخی از سلول‌های اپیتلیال در بافت روده جوجه می‌شود. Ertug و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند که غلظت‌های مختلف علف‌کش توفوردی سبب ادوما، نکروز و آتروفی سلول‌های اپیتلیال در بافت روده‌ماهی

منابع

- صیادی م.ح.، خارکن ج. ۱۴۰۲. بررسی پتانسیل سمیت فلزات سنگین بر روی شاخص های خونی و بیوشیمیایی سیاه ماهی قنات (*Capoeta fusca*). محیط زیست طبیعی، ۷۶(۲): ۳۶۵-۳۷۸.
- کوهکن ا. ۱۴۰۲. مطالعه اثر غلظت های تحت کشنده علف کش پاراکوات بر بافت و شاخص های کلیوی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*). فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۱۱(۴): ۳۱-۴۸.
- کیانی ف.ز.، علیخانی م.م. ۱۳۹۸. تاثیرات فیزیولوژیک سم گلايفوزیت (رانداپ) بر بافت آبشش و کبد قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). محیط زیست جانوری، ۱۱(۴): ۲۱۳-۲۲۲.
- نفیسی بهابادی م.، دادگر ش.، لکزایی ف.، مهاجری برازجانی ژ.، عبدالهی ر. ۱۳۹۵. تاثیر غلظت های تحت حد علف کش بوتاکلر بر برخی پارامترهای خونی ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۵(۲): ۱۵۱-۱۶۱.
- Albinati A.C.L., Moreira E.L.T., Albinati R.C.B., Carvalho J.V., Santos G.B., Lira A.D. 2007.** Toxicidade aguda do herbicida Roundup® para piauçu (*Leporinus macrocephalus*). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 8(3), 184-192.
- Acar Ü., İnanan B.E., Navruz F.Z., Yilmaz S. 2021.** Alterations in blood parameters, DNA damage, oxidative stress and antioxidant enzymes and immune-related genes expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to glyphosate-based herbicide. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 249(2021), 109147.
- Abbaszadeh M., Sayadi M.H., Kharkan J. 2024.** Impact of polyvinyl chloride microplastic and paraquat herbicide on the blood cells, biochemical parameters, liver enzymes and morphological changes of aqueduct fish. *Chemosphere* 362(2024), 142643.
- Ali F., Khan M.Q., Anjum M.Z., Khattak I. 2018.** Toxic effect of atrazine herbicide on the hematological indices of snow carp (*Schizothorax plagiostomus*): an indigenous fish species of economic importance. *Fresenius Environmental Bulletin* 27(5), 3075-3080.
- Ahmadvand S., Farahmand H., Mirvaghefi A.R., Eagderi S., Shokrpour S., Rahmati-Holasoo H. 2014.** Histopathological and haematological response of male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) subjected to butachlor. *Veterinarni Medicina* 59(9).
- Abdali S., Yousefi Jourdehi A., Kazemi R., Yazdani M.A. 2011.** Effects of atrazine (Herbicide) on blood biochemical indices of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of the Persian Gulf* 2(5), 51-56.
- Abou El-Naga E.H., El-Moselhy K.M., Hamed M.A. 2005.** Toxicity of cadmium and copper and their effect on some biochemical parameters of marine fish *Mugil seheli*. *Egyptian Journal of Aquatic Research* 31(2), 60-71.
- Akhtar N., Khan M.F., Tabassum S., Zahran E. 2021.** Adverse effects of atrazine on blood parameters, biochemical profile and genotoxicity of snow trout (*Schizothorax plagiostomus*). *Saudi journal of biological sciences* 28(3), 1999-2003.
- Adhikari S., Sarkar B., Chatterjee A., Mahapatra C.T., Ayyappan S. 2004.** Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 58(2), 220-226.
- Adeyemi O.T., Osilesi O., Adebawo O.O., Onajobi F.D., Oyedemi S.O., Afolayan A.J. 2015.** Alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) Activities in selected tissues of rats fed on processed atlantic horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *Advances in Bioscience and Biotechnology* 6(03), 139.
- Abdelmagid A.D., El Asely A.M., Said A.M. 2021.** Evaluation of Foeniculum vulgare impact on glyphosate hepato- toxicity in Nile tilapia: Biochemical, molecular and histopathological study. *Aquaculture Research* 52(11), 5397-5406.
- Ahmad W., Sultan A., Jan S.M.H., Ali A., Rahman I.U., Usman H., Khan A. 2021.** Environmental risk of atrazine (herbicide) to brain, gills and liver tissues of fish *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844). *Journal of Geoscience and Environment Protection* 9(2), 1-16.

- Américo-Pinheiro J.H.P., Machado A.A., da Cruz C., Aguiar M.M., Ferreira L.F.R., Torres N.H., Machado-Neto J.G. 2020.** Histological changes in targeted organs of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to sublethal concentrations of the pesticide carbofuran. *Water, Air, & Soil Pollution* 231(5), 228.
- Agbohessi P., Olowo L., Degila B., Houedjissi G., Imorou Toko I. 2023.** Evaluation of acute toxicity and histology effect on liver of glyphosate and atrazine in the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 58(1), 21-30.
- Azadikhah D., Varcheh M., Yalsuyi A.M., Forouhar Vajargah M., Mansouri Chorehi M., Faggio C. 2023.** Hematological and histopathological changes of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) exposed to lethal and sublethal concentrations of roundup (glyphosate 41% SL). *Aquaculture Research* 2023(1), 4351307.
- Bortolon Ribas E., Colombo Dal-Pont G., Centa A., Bueno M.O., Cervini R., Silva Ogoshi R.C., Locatelli C. 2024.** Effects of Low Concentration of Glyphosate- Based Herbicide on Genotoxic, Oxidative, Inflammatory, and Behavioral Meters in *Danio rerio* (Teleostei and Cyprinidae). *Biochemistry Research International* 2024(1), 1542152.
- Bojarski B., Osikowski A., Hofman S., Szala L., Szczygiel J., Rombel-Bryzek A. 2022.** Effects of exposure to a glyphosate-based herbicide on haematological parameters, plasma biochemical indices and the microstructure of selected organs of the common carp (*Cyprinus carpio Linnaeus*, 1758). *Folia Biologica (Kraków)* 70(4), 213-229.
- Bojarski B., Ludwikowska A., Kurek A., Pawlak K., Tombarkiewicz B., Lutnicka, H. 2015.** Hematological alterations in common carp (*Cyprinus carpio* L.) exposed to herbicides: pendimethalin and ethofumesate tested separately and in mixture. *Folia Biologica (Kraków)* 63(3), 167-174.
- Barathinivas A., Ramya S., Neethirajan K., Jayakumararaj R., Pothiraj C., Balaji P., Faggio C. 2022.** Ecotoxicological effects of pesticides on hematological parameters and oxidative enzymes in freshwater Catfish *Mystus keletius*. *Sustainability* 14(15), 9529.
- Barton B.A. 2002.** Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology* 42(3), 517-525.
- Banaee M., Sureda A., Mirvaghefi A.R., Ahmadi K. 2011.** Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 99(1), 1-6.
- Banaee M., Nemadoost Haghi B., Tahery S., Shahafve S., Vaziriyani M. 2016.** Effects of sub-lethal toxicity of paraquat on blood biochemical parameters of common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). *Iranian Journal of Toxicology*, 10(6), 1-5.
- Blahova J., Modra H., Sevcikova M., Marsalek P., Zelnickova L., Skoric M., Svobodova Z. 2014.** Evaluation of biochemical, haematological, and histopathological responses and recovery ability of common carp (*Cyprinus carpio* L.) after acute exposure to atrazine herbicide. *BioMed Research International* 2014(1), 980948.
- Bawa V., Kondal J.K., Hundal S.S., Kaur H. 2017.** Biochemical and histological effects of glyphosate on the liver of *Cyprinus carpio* (Linn.). *American Journal of Life Sciences* 5(3-1), 71-80.
- Beegam A., Lopes M., Fernandes T., Jose J., Barreto A., Oliveira M., Pereira M.L. 2020.** Multiorgan histopathological changes in the juvenile seabream *Sparus aurata* as a biomarker for zinc oxide particles toxicity. *Environmental Science and Pollution Research* 27(2020), 30907-30917.
- Badroo I.A., Nandurkar H.P., Khanday A.H. 2020.** Toxicological impacts of herbicide paraquat dichloride on histological profile (gills, liver, and kidney) of freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch). *Environmental Science and Pollution Research* 27(31), 39054-39067.
- Cattaneo R., Clasen B., Loro V.L., de Menezes C.C., Pretto A., Baldisserotto B., de Avila L.A. 2011.** Toxicological responses of *Cyprinus carpio* exposed to a commercial formulation containing glyphosate. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 87(6), 597-602.
- Chanu K.R., Mangang Y.A., Debbarma S., Pandey P.K. 2023.** Effect of glyphosate-based herbicide roundup on hemato-biochemistry of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) and susceptibility to *Aeromonas hydrophila* infection. *Environmental Science and Pollution Research* 30(51), 110298-110311.

- Do Carmo Langiano V., Martinez C.B. 2008.** Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 147(2), 222-231.
- De Moura F.R., da Silva Lima R.R., da Cunha A.P.S., da Costa Marisco P., Aguiar D. H., Sugui M.M., Sinhoro V.D.G. 2017.** Effects of glyphosate-based herbicide on pintado da Amazônia: hematology, histological aspects, metabolic parameters and genotoxic potential. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 56(2017), 241-248.
- Da Costa Araújo A.P., de Andrade Vieira J.E., Malafaia G. 2020.** Toxicity and trophic transfer of polyethylene microplastics from *Poecilia reticulata* to *Danio rerio*. *Science of the Total Environment* 742(2020), 140217.
- Desouky H.K., Rizk N.M.H., Said H.E.M., Abd El-Azeem R.M. 2023.** Hematological alterations in Egyptian farmers occupationally exposed to pesticides. *Journal of Medical and Life Science* 5(3), 135-141.
- Dobšíková R., Blahová J., Modrá H., Škorič M., Svobodová Z. 2012.** The effect of acute exposure to herbicide Gardoprim Plus Gold 500 SC on haematological and biochemical indicators and histopathological changes in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno* 80(4), 359-363.
- Damalas C.A., Koutroubas S.D. 2016.** Farmers' exposure to pesticides: toxicity types and ways of prevention. *Toxics* 4(1), 1.
- Deunha R., Kumari S., Najjar M.A., Aravind A., Suvarna K. S., Hanumappa A., Kalthur G. 2023.** High doses of clethodim-based herbicide GrassOut Max poses reproductive hazard by affecting male reproductive function and early embryogenesis in Swiss albino mice. *Chemosphere* 336 (2023), 139215.
- Das P., Das M., Kalita A., Chutia P. 2020.** Studies on toxicological effect of the herbicide paraquat dichloride on the air breathing Singhi Catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). In *Proceedings of the Zoological Society* 73(4), 406-417.
- Ertug N.D., Akbulut C., Abar M., Günes S. 2014.** The histopathological effects of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid on intestine tissue of zebrafish (*Danio rerio*). *Elixir Pollution* 74(2014), 27021-27024.
- Fathy M., Mohamed I.A., Farghal A.I., Temerak S.A., Sayed A.E.D.H. 2019.** Hemotoxic effects of some herbicides on juvenile of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Environmental Science and Pollution Research* 26(30), 30857-30865.
- Farag A.A., Youssef H.S., Sliem R.E., El Gazzar W.B., Nabil N., Mokhtar M.M., Sayed A.E.D.H. 2023.** Hematological consequences of polyethylene microplastics toxicity in male rats: Oxidative stress, genetic, and epigenetic links. *Toxicology* 492(2023), 153545.
- Fathi M.A., Shen D., Luo L., Li Y., Elnesr S.S., Li C. 2024.** The exposure in ovo to glyphosate on the integrity of intestinal epithelial tight junctions of chicks. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 59(4), 183-191.
- Falb L.N., Bridges D.C., Smith A.E. 1991.** Separation of clethodim herbicide from acid and photodegradation products by liquid chromatography. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 74(6), 999-1002.
- Gholami-Seyedkolaei S.J., Mirvaghefi A., Farahmand H., Kosari A.A. 2013.** Effect of a glyphosate-based herbicide in *Cyprinus carpio*: assessment of acetylcholinesterase activity, hematological responses and serum biochemical parameters. *Ecotoxicology and environmental Safety* 98(2013), 135-141.
- George A.D.I., Akinrotimi O.A., Nwokoma U.K. 2017.** Haematological changes in African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to mixture of atrazine and metolachlor in the laboratory. *Journal of Fisheries Sciences* 11(3), 48.
- Ghaffar A., Hussain R., Ahmad N., Ghafoor R., Akram M.W., Khan I., Khan A. 2021.** Evaluation of hemato-biochemical, antioxidant enzymes as biochemical biomarkers and genotoxic potential of glyphosate in freshwater fish (*Labeo rohita*). *Chemistry and Ecology* 37(7), 646-667.
- Ghelichpour M., Taheri Mirghaed A., Mirzargar S.S., Joshaghani H., Ebrahimzadeh Mousavi H. 2017.** Plasma proteins, hepatic enzymes, thyroid hormones and liver histopathology of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) exposed to an oxadiazin pesticide, indoxacarb. *Aquaculture research* 48(11), 5666-5676.

- Gropper M.A., Wiener-Kronish J.P., Hashimoto S. 1994.** Acute cardiogenic pulmonary edema. *Clinics in Chest Medicine* 15(3), 501-515.
- Gavrilescu M., Demnerová K., Aamand J., Agathos S., Fava F. 2015.** Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New biotechnology* 32(1), 147-156.
- Gross W.B., Siegel H.S. 1983.** Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Diseases* pp. 972-979.
- Ghiasi F., Mirzargar S.S., Badakhshan H., Shamsi S. 2010.** Effects of low concentration of cadmium on the level of lysozyme in serum, leukocyte count and phagocytic index in *Cyprinus carpio* under wintering conditions. *Journal of fisheries and Aquatic Science* 5(2), 113-119.
- Hashemi R.A., Jaddi Y., Sadeghi M.A., Ghiamati S., Motazed M. 2017.** Study of toxicology effects of herbicide paraquat on hematological parameters of *Mesopotamichthys sharpeyi*. *Open Journal of Marine Science* 7(2), 258-270.
- Hong Z., Faqir Y., Kalhoro G.M., Kalhoro M.T., Kaleri A.R., Murad A., Adeel M. 2023.** Hazardous Impacts of Clopyralid, Benazolin, and Clethodim on Seed Germination and Seedling of Oil Rapeseed (*Brassica napus*). *Polish Journal of Environmental Studies* 32(3).
- Jalil A.T., Abdelbasset W.K., Shichiyakh R.A., Widjaja G., Altimari U.S., Aravindhana S., Naserabad S.S. 2022.** Protective effects of summer savory (*Satureja hortensis*) oil on growth, biochemical, and immune system performance of common carp exposed to pretilachlor herbicide. *Veterinary Research Communications* 46(4), 1063-1074.
- Johari S.A., Coad B.W., Mazloomi S., Kheyri M., Asghari S. 2009.** Biological and morphometric characteristics of, *Capoeta fusca*, a cyprinid fish living in the qanats of south Khorasan, Iran: (Osteichthyes: Cyprinidae). *Zoology in the Middle East* 47(1), 63-70.
- Khan A., Shah N., Gul A., Ismail A., Aziz F., Farooq M., Rizwan M. 2016.** Comparative Study of Toxicological Impinge of Glyphosate and Atrazine (Herbicide) on Stress Biomarkers; Blood Biochemical and Hematological Parameters of the Freshwater Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Polish Journal of Environmental Studies* 25(5).
- Khan A., Shah N., Gul A., Ismail A., Aziz F., Farooq M., Rizwan M. 2016b.** Comparative Study of Toxicological Impinge of Glyphosate and Atrazine (Herbicide) on Stress Biomarkers; Blood Biochemical and Hematological Parameters of the Freshwater Common carp (*Cyprinus carpio*). *Polish Journal of Environmental Studies* 25(5).
- Kotsanis N., Iliopoulou- Georgudaki J., Kapata- Zoumbos K. 2000.** Changes in selected haematological parameters at early stages of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, subjected to metal toxicants: arsenic, cadmium and mercury. *Journal of Applied Ichthyology* 16(6), 276-278.
- Kreutz L.C., Barcellos L.J.G., Marteninghe A., Dos Santos E.D., Zanatta R. 2010.** Exposure to sublethal concentration of glyphosate or atrazine-based herbicides alters the phagocytic function and increases the susceptibility of silver catfish fingerlings (*Rhamdia quelen*) to *Aeromonas hydrophila* challenge. *Fish & Shellfish Immunology* 29(4), 694-697.
- Kreutz L.C., Barcellos L.J.G., de Faria Valle S., de Oliveira Silva T., Anziliero D., dos Santos E.D., Zanatta R. 2011.** Altered hematological and immunological parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) following short term exposure to sublethal concentration of glyphosate. *Fish & Shellfish Immunology* 30(1), 51-57.
- Kondera E., Teodorczuk B., Ługowska K., Witeska M. 2018.** Effect of glyphosate-based herbicide on hematological and hemopoietic parameters in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Physiology and Biochemistry* 44(3), 1011-1018.
- Khozimy A.M., Abuzeid M.A., Hamada S.H.E., El-Danasoury H.M. 2021.** Sub-acute toxicity of two herbicides halosulfuron-methyl and Clethodim on biochemical and hematological parameters in male albino rats. *Journal of Applied Plant Protection* 10(1), 35-42.
- Kishor D.R., Moses S., Kumar M. 2020.** Study of Important Insecticide Samples. *Agriculture & Food: e-Newsletter* 5.
- Ladipo M.K., Doherty V.F., Oyebadejo S.A. 2011.** Acute toxicity, behavioural changes and histopathological effect of paraquat dichloride on tissues of catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of Biology* 3(2), 67.

- Latorre M.A., Romito M.L., Larriera A., Poletta G.L., Siroski P.A. 2016.** Total and differential white blood cell counts in *Caiman latirostris* after in ovo and in vivo exposure to insecticides. *Journal of Immunotoxicology* 13(6), 903-908.
- Lowe J.S., Anderson P.G., Anderson S.I. 2023.** *Stevens & Lowe's Human Histology-E-Book: Stevens & Lowe's Human Histology-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Mohamed I.A., Omar E.M., Tawfik A.I., Amro A.M., Al Naggat Y. 2023.** Sublethal effects of herbicides clethodim, haloxyfop-P-methyl, and their mixture on honey bee health. *Apidologie* 54(1), 2.
- Mohammad Mostakim G., Zahangir M.M., Monir Mishu M., Rahman M.K., Islam M.S. 2015.** Alteration of blood parameters and histoarchitecture of liver and kidney of silver barb after chronic exposure to quinalphos. *Journal of Toxicology* 2015(1), 415984.
- Mosiichuk N.M., Maksymiv I.V., Husak V.V., Storey J.M., Storey K.B., Lushchak V.I. 2018.** Effect of prometryn-containing herbicide Gesagard on hematological profiles and biochemical parameters in goldfish liver and plasma. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 18(10), 1177-1185.
- Mukherjee D., Saha S., Chukwuka A.V., Ghosh B., Dhara K., Saha N.C., Faggio C. 2022.** Antioxidant enzyme activity and pathophysiological responses in the freshwater walking catfish, *Clarias batrachus* Linn under sub-chronic and chronic exposures to the neonicotinoid, Thiamethoxam®. *Science of The Total Environment* 836(2022), 155716.
- Mohamed I.A., Omar E.M., Tawfik A.I., Amro A.M., Al Naggat Y. 2023.** Sublethal effects of herbicides clethodim, haloxyfop-P-methyl, and their mixture on honey bee health. *Apidologie* 54(1), 2.
- Nwani C.D., Lakra W.S., Nagpure N.S., Kumar R., Kushwaha B., Srivastava S.K. 2010.** Toxicity of the herbicide atrazine: effects on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch). *International Journal of Environmental Research and Public Health* 7(8), 3298-3312.
- Nualkaw C., Wattanakornsiri A., Nanuam J., Nanthanawat P., Prasatkaew W., Meeprom C., Thanomsit C. 2022.** Effects of paraquat-based herbicide on acetylcholinesterase (AChE), antioxidant status and histological alterations in freshwater fish: Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation* 15(6), 3197-3211.
- Naz S., Iqbal R., Ahmad A., Malik M.F., Jabbar M., Yaqoob R., Razaq A. 2019.** 10. Effect of glyphosate on hematological and biochemical parameters of Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Pure and Applied Biology (PAB)* 8(1), 78-92
- Noreen S., Khan I.M., Khan M.S., Zarnaab B., Gul I., Khan M.Z., Liu Y. 2023.** Comparative valuation of the chlorpyrifos, acetamiprid, and lambda-cyhalothrin toxicity and their hematological and histopathological consequences in pigeons. *Environmental Science and Pollution Research* 30(40), 92817-92829.
- Oladokun E.I., Sogbanmu T.O., Anikwe J.C. 2020.** Sublethal concentrations of dichlorvos and paraquat induce genotoxic and histological effects in the *Clarias gariepinus*. *Environmental Analysis, Health and Toxicology* 35(3), 2020013.
- Oladunjoye R.Y., Bankole S.T., Fafioye O.O., Salisu T.F., Asiru R.A., Olalekan O.B., Solola T.D. 2022.** Histo-morphological alteration of lethal and sub-lethal effect of glyphosate-based herbicide on catfish hybrid (heteroclaris sp.). *Nigerian Journal of Animal Production* 49(1), 177-193.
- Okey I.B., Ekpenyong J.J., Inya F.U. 2021.** Haematological and histopathological examinations of African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to sub-lethal concentrations of Paraquat. *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research* 15(6), 29-45.
- Orun I., Dogru M.I., Erdogan K., Dogru A., Ongun A., Yuksel E., Talas Z.S. 2013.** Effects of acute and chronic exposure to glyphosate on common carp (*Cyprinus carpio* L.) hematological parameters: The beneficial effect of propolis. *Fresenius Environmental Bulletin* 22(9), 2504-2509.
- Owagboriaye F., Dedeke G., Ademolu K., Olujimi O., Aladesida A., Adeleke M. 2019.** Comparative studies on endogenous stress hormones, antioxidant, biochemical and hematological status of metabolic disturbance in albino rat exposed to roundup herbicide and its active ingredient glyphosate. *Environmental Science and Pollution Research* 26(14), 14502-14512.

- OECD 1998. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems, Test guideline No. 203: Fish, Acute Toxicity Testing. OECD Publishing, <https://doi.org/10.1787/20745761>
- Peluso J., Furió Lanuza A., Pérez Coll C.S., Aronzon C.M. 2022.** Synergistic effects of glyphosate- and 2, 4-D-based pesticides mixtures on *Rhinella arenarum* larvae. *Environmental Science and Pollution Research* 29(10), 14443-14452.
- Pandey S., Parvez S., Ansari R.A., Ali M., Kaur M., Hayat F., Raisuddin S. 2008.** Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. *Chemico-biological Interactions* 174(3), 183-192.
- Pang K., Hu J. 2020.** Simultaneous analysis and dietary exposure risk assessment of fomesafen, clomazone, clethodim and its two metabolites in soybean ecosystem. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(6), 1951.
- Rendón-von Osten J., Ortiz-Arana A., Guilhermino L., Soares A.M.V.M. 2005.** In vivo evaluation of three biomarkers in the mosquitofish (*Gambusia yucatana*) exposed to pesticides. *Chemosphere* 58(5), 627-636.
- Rezaei M.R., Kharkana J., Yazdanshenas M.R. 2025.** Assessing the Toxicity of Benzalkonium Chloride on Common Carp (*Cyprinus carpio*): Impacts on Blood Cells, Gills, Intestines, and Liver. *Sustainable Earth Review* 5(2).
- Ribeiro C.O., Neto F.F., Mela M., Silva P.H., Randi M.A.F., Rabitto I.S., Pelletier E. 2006.** Hematological findings in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead, and tributyltin chloride. *Environmental Research* 101(1), 74-80.
- Saravanan M., Karthika S., Malarvizhi A., Ramesh M. 2011a.** Ecotoxicological impacts of clofibrac acid and diclofenac in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings: hematological, biochemical, ionoregulatory and enzymological responses. *Journal of Hazardous Materials* 195(2011), 188-194
- Saravanan M., Kumar K.P., Ramesh M. 2011b.** Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane. *Pesticide Biochemistry and physiology* 100(3), 206-211.
- Svobodova Z., Groch L., Flajšhans M., Vykusova B., Machova J. 1997.** Effect of long-term therapeutic bath in malachite green on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno* 66(2), 111-116.
- Shah S.A.U.R., Rauf M., Ali S., Ullah S., Ullah K., Anjum S.I., Dawar F.U. 2023.** Variations in the Behaviour, Survival, Haematology, and Biochemistry of *Ctenopharyngodon idella* (Grass Carp) After Exposure to Commercial Grade Atrazine. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 111(1), 14.
- Svobodova Z., Groch L., Flajšhans M., Vykusova B., Machova J. 1997.** Effect of long-term therapeutic bath in malachite green on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno* 66(2), 111-116.
- Samim A.R., Vaseem H. 2021.** Assessment of the potential threat of nickel (II) oxide nanoparticles to fish *Heteropneustes fossilis* associated with the changes in haematological, biochemical and enzymological parameters. *Environmental Science and Pollution Research* 28(39), 54630-54646.
- Sudhakaran B.V., Sreeja S. 2023.** Impact of acute chlorpyrifos toxicity on the histology and biochemistry of the stomach, intestine, and muscle of the *Anabas testudineus*. *BioRxiv* 2023-10.
- Sayadi M.H., Mansouri B., Shahri E., Tyler C.R., Shekari H., Kharkan J. 2020.** Exposure effects of iron oxide nanoparticles and iron salts in blackfish (*Capoeta fusca*): Acute toxicity, bioaccumulation, depuration, and tissue histopathology. *Chemosphere* 247(2020), 125900.
- Sayadi M.H., Fahoul N., Kharkan J., Khairieh M. 2023.** Investigating the protective effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract on hematological parameters and damage of different tissues of male mice exposed to graphene oxide nanoparticles. *Nano Select* 4(9-10), 559-583.
- Saleh S.M., Elghareeb T.A., Atia M.M., Ahmed M.A.I. 2021.** Impact of glyphosate-roundup® in the Ileal structure of male and female rats: A morphological and Immunohistochemical study. *Microscopy and Microanalysis* 27(6), 1547-1563.
- Santos K.R., Galter I.N., Grecco K.D., Silva E.Z.M., Lascola M.B., Dos Santos S.N., Matsumoto S.T. 2023.** Toxicogenetic, biochemical, and anatomical effects of the herbicide Clethodim on *Allium cepa* L. *Environmental Science and Pollution Research* 30(60), 125388-125397.

- Sevilla-Morán B., Alonso-Prados J.L., García-Baudín J.M., Sandín-España P. 2010.** Indirect photodegradation of clethodim in aqueous media. Byproduct identification by quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Agricultural and food chemistry* 58(5), 3068-3076.
- Sandín-España P., Magrans J.O., García-Baudín J.M. 2005.** Study of clethodim degradation and by-product formation in chlorinated water by HPLC. *Chromatographia* 62(3), 133-137.
- Simmons A.** Butterworth-Heinemann, UK: Simmons, 1997, 507.
- Tang J., Wang W., Jiang Y., Chu W. 2021.** Diazinon exposure produces histological damage, oxidative stress, immune disorders and gut microbiota dysbiosis in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Environmental Pollution* 269(2021), 116129.
- Talib A.H., AL-Rudainy A.J., Gathwan M.A., Thakir B.M., Abdulfattah R.K. 2018.** The acute toxicity of herbicide roundup ultra in mosquito fish *Gambusia affinis*. *Journal of Biodiversity and Environmental Science* 13(1), 9-15.
- Velisek J., Stara A., Zuskova E., Svobodova Z. 2013.** Use of biometric, hematologic, and plasma biochemical variables, and histopathology to assess the chronic effects of the herbicide prometryn on Common Carp. *Veterinary Clinical Pathology* 42(4), 508-515.
- Vijitha C.K., Asifa K.P., Chitra K. C. 2017.** Assessment of genotoxic and haematological consequence of triclosan in the fish, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *International Journal of Applied Research* 3(2), 101-109.
- Vigário A.F., Sabóia-Morais S.M. 2014.** Effects of the 2, 4-D herbicide on gills epithelia and liver of the fish *Poecilia vivipara*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34(6), 523-528.
- Witeska M. 2005.** Stress in fish-hematological and immunological effects of heavy metals. *Electronic Journal of Ichthyology* 1(1), 35-41.
- Wendelaar Bonga S.E. 1997.** The stress response in fish. *Physiological Reviews* 77(3), 591-625.
- Wang H., Zhou L., Meng Z., Su M., Zhang S., Huang P., Lu H. 2019.** Clethodim exposure induced development toxicity and behaviour alteration in early stages of zebrafish life. *Environmental Pollution* 255(2019), 113218.
- Xiong G., Zou L., Deng Y., Meng Y., Liao X., Lu H. 2019.** Clethodim exposure induces developmental immunotoxicity and neurobehavioral dysfunction in zebrafish embryos. *Fish & Shellfish Immunology* 86(2019), 549-558.

The effect of subacute concentrations of the herbicide clothodim on some blood parameters and tissues of Desert scraper (*Capoeta fusca*)

Zahra Qadri Nookabad, Mohammad Reza Rezaei*, Javad Kharkan

Department of Environment, Faculty of Natural Resources and Environment, University of Birjand, Birjand, Iran.

*Corresponding author: mrrezaei@birjand.ac.ir

Received: 18.May.2025

Accepted: 9.Jul.2025

Abstract

With the increase in human population and demand for crops, the use of natural pesticides has increased dramatically in the last decade. The aim of this study was to investigate the effect of subacute concentrations of the herbicide Clothodim on blood cells, biochemical parameters, liver enzymes, and histological damage to the gills and intestines of *Capoeta fusca*. The lethal concentration of the herbicide clothodim in blackfish was calculated based on OECD guidelines, and hematological and histological studies were evaluated after 28 days. The results show that the lethal concentration of Clothodim decreases from 24 hours to 96 hours and its acute toxicity increases. The results show that increasing the concentration of the herbicide cloethidium causes a decrease in the number of red blood cells. The hematocrit (%) of the blood of *C. fusca* exposed to the control group (a), 25 (b), 50 (c) and 75 (d) percent of the lethal concentration of the herbicide clothodim after 28 days was 28.8 ± 3.16 , 28.7 ± 7.28 , 28.37 ± 4.72 and 23.12 ± 8.61 , respectively. Therefore, with increasing concentration of the herbicide Clothodim, the hematocrit level decreased. Triglyceride levels in groups 25 (125.12 ± 17.14), 50 (122.82 ± 14.73) and 75 (107.24 ± 11.23) decreased compared to the control group (126.05 ± 17.21). The levels of liver enzymes in all studied groups exposed to different concentrations of the herbicide clothodim were significantly ($P < 0.05$) higher than the control group. Histological lesions found in the gill tissue of black fish exposed to the herbicide cleothim include adhesion and shortening of secondary lamellae, oedema, and clubbing of lamellae. Subacute concentrations of the herbicide clothodim can cause changes in the blood cells and tissues of *C. fusca*, the severity of which depends on the concentration of clothodim.

Keywords: Aqueduct, Biochemical Parameters, Histology, Pesticide