

بررسی اثرات فلز سنگین روی بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک در بچه‌ماهیان فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) پرورشی

- **جواد سپاهی*:** گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران
- **دلارام نخبه‌زارع:** گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران
- **رها فدایی‌راینی:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران
- **طیبه یوسفی:** گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۸

چکیده

در این تحقیق، به منظور تعیین سمیت حاد فلز سنگین روی بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی بچه‌ماهی فیتوفاگ، ۲۷۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزنی $01/6 \pm 8/1$ گرم و میانگین طولی $17/1 \pm 2$ سانتی‌متر در مجاورت غلظت‌های ۰، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نترات روی $Zn(NO_3)_2$ در مجتمع دانشگاهی سراوان از آذر ماه ۱۳۹۵ تا بهمن ماه ۱۳۹۵ قرار گرفتند. نمونه‌برداری از ماهیان در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انجام شد. نتایج نشان داد که درصد هماتوکریت (Hct) در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). هموگلوبین (Hb) خون ماهیان در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0/05$). نتایج شمارش افتراقی لکوسیت‌ها نشان داد که در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در زمان ۹۶ ساعت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0/05$). تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) در غلظت‌های ۵ و ۱۰ در زمان‌های ۱۲ و ۹۶ ساعت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). این دو تیمار از لحاظ تعداد گلبول‌های قرمز نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($p < 0/05$). میزان پروتئین کل در تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0/05$). کلسترول خون تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با تیمارهای ۵ میلی‌گرم در لیتر و شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0/05$). تری‌گلیسرید و آلبومین خون ماهیان هر سه تیمار با یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0/05$). ولی کلسترول و گلوکز در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0/05$). براساس نتایج حاصل، شاخص‌های خونی فاکتورهای حساس در پایش سمیت نترات روی و استرس ناشی از آن، به‌ویژه در غلظت‌های مورد مطالعه می‌باشند.

کلمات کلیدی: روی، شاخص‌های خونی، شاخص‌های بیوشیمیایی، فیتوفاگ



مقدمه

فلزات سنگین از منابع کشاورزی، شهری و صنعتی به آب‌ها رهاسازی و بدین طریق به ماهی و انسان منتقل می‌شوند. استفاده از منابع آب‌های داخلی با افزایش بی‌رویه جمعیت، گسترش شهرها و صنایع از جمله عواملی است که نگرانی‌های بشر را نسبت به دستاوردهای تکنولوژی خویش بیش‌تر کرده است. شرایط هنگامی بحرانی خواهد شد که تجمع این فلزات از سطوح پایین هرم غذایی به سطوح بالاتر زنجیره همواره رو به افزایش باشد. این معضل بعد از گذشت چند نسل شدت خاصی پیدا می‌کند و سرانجام به موجوداتی می‌رسد که مستقیم در جیره غذایی انسان قرار می‌گیرند و سبب بیماری‌ها و نارسایی‌های خاص و خطرناک می‌گردد (WHO, 2000). آلودگی آب با ترکیبات یا عناصر فلزات سنگین، منجر به مسمومیت خونی ماهیان و به دنبال آن تلفات مستقیم و یا مسمومیت مزمن و تغییرات مهم در فیزیولوژی ماهیان می‌شود که نتیجه آن عدم توانایی جانور برای ادامه حیات خواهد بود. فلزات سنگین تغییرات قابل ملاحظه‌ای در چرخه‌های بیوشیمیایی ایجاد می‌کنند و هر یک از آن‌ها دارای آثار بیوشیمیایی خاصی در بدن موجودات زنده هستند (جلالی و آقازاده، 1385). با توجه به این‌که تغییرات غلظت فلزات سنگین در محیط‌های آبی، اثرات سوء زیستی قابل توجهی را بر موجودات آبی به‌ویژه انواع ماهی‌ها پدید آورده و با عنایت به تسلسل زنجیره‌های غذایی در عالم موجودات زنده و ثبات و پایداری فلزات سنگین در بدن موجودات زنده و انتقال آن‌ها به حلقه‌های بعدی زنجیره‌های غذایی، تأثیر فلزات سنگین در حیات موجودات آبی بسیار حائز اهمیت است (امینی‌رنجبر، 1373). متأسفانه اغلب اوقات آگاهی از وجود فلزات سنگین در محیط‌زیست آبریان زمانی اتفاق می‌افتد که غلظت‌های بالای آن‌ها، موجب بروز تلفات در میان موجودات شده باشد. در حالی که، وجود مقادیر غیرکشنده، در اغلب موارد، عوارض بالینی خاصی در پی نداشته و هم‌چون یک بیماری پنهان، از نظرها دور می‌ماند. یکی از این فلزات روی می‌باشد که به طرق مختلف وارد محیط‌های آبی شده و همواره نگرانی‌هایی را سبب می‌شود. اهمیت علم هماتولوژی به‌عنوان یک علم مبنا و مهم در پاراکلینیک و اهمیت خون به‌عنوان یک شاخص برای تعیین حالات سلامت و بیماری و درجات آن بر هیچ شخص آگاه از مسائل طب و حیات پوشیده نیست، چون این بافت حیاتی سیال آئینه تمام‌نمای بسیار روشنی از وضعیت فیزیولوژیک یا احتمالاً پاتولوژیک بدن است. بافت خون به‌عنوان یک شاخص مهم، وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن را نشان می‌دهد. آنالیز خون محیطی از نظر پارامترهای هماتولوژی، سرولوژی و بیوشیمیایی در تشخیص بیماری‌های خونی، سم‌شناسی متابولیک و کنترل روند زیستی موجودات زنده از جمله آبریان به ما کمک می‌کند. از آن‌جاکه

خون به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم در اغلب اعمال بیوشیمیایی بدن شرکت می‌نماید، تغییرات آن‌ها در بیماری‌ها غالباً به تشخیص ضایعه و در نتیجه درمان صحیح کمک می‌کند. به‌همین علت تاکنون تحقیقات گسترده‌ای توسط پژوهشگران مختلف روی این بافت مایع حیاتی بدن صورت گرفته است. با این حال، مطالعات انجام‌شده در ارتباط با بیوشیمی بالینی در ماهیان سالم نسبتاً کم و درخصوص بیماری‌های خاص ماهیان تقریباً نادر است. این امر تفسیر بیوشیمیایی سرم ماهیان بیمار را بسیار دشوار می‌کند. در این ارتباط باید مطالعات بیش‌تری هم در زمینه تعیین مقادیر پایه پارامترهای خونی و هم در زمینه انجام مطالعات گروهی در بیماری‌های تشخیص داده شده، صورت پذیرد (غلامیان، 1383). اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک خون می‌تواند به‌عنوان یک ابزار تشخیصی در سم‌شناسی و پایش زیستی به‌کار رود (Xiaoyun و همکاران، 2009). تغییر در میزان و سطوح این پارامترها می‌تواند منعکس‌کننده پاسخ‌های ماهیان به تغییرات در محیط زندگی آن‌ها باشد (Satheeshkumar و همکاران، 2010). ماهی بخش مهمی از رژیم غذایی انسان است و به‌همین دلیل تحقیقات متعددی در مورد تجمع فلزات سنگین در بافت‌های ماهی در ایران و سایر کشورها صورت گرفته است. مطالعه در مورد اثر فلزات سنگین بر آبریان در ایران، از دهه 1370 و با تأکید بر تجمع زیستی این فلزات به‌ویژه در ماهیان شروع شد. اثر سمیت حاد فلزات سنگین سرب، روی، مس و کادمیوم بر تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) (میرزایی، 1383)، بررسی فاکتورهای خونی ماهی حوض (وئوقی و همکاران، 1376)، مطالعه اثرات برخی از فلزات سنگین بر بافت‌های ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (ناجی و همکاران، 1386)، درماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) (گروبی و همکاران، 1387)، در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (فرهنگی و حاجی‌مرادلو، 1386) و بچه تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (فتح‌الهی و همکاران، 1389) اشاره نمود. در سایر کشورها مطالعات تخصصی بیش‌تری در مورد اثر فلزات سنگین بر شاخص‌های خونی ماهیان انجام‌شده که بیش‌تر به دهه 2000 به بعد مربوط می‌شود. در این خصوص، Serezli و همکاران (2011)، اثرات حاد مس و سرب بر برخی پارامترهای خونی در گونه *Salmo coruhensis* را طی یک‌دوره مجاورت کوتاه‌مدت در غلظت‌های بالای 5 و 10 میلی‌گرم در لیتر مورد مطالعه قرار دادند. Witeska (2005)، اثرات هماتولوژیکی و ایمونولوژیکی فلزات سنگین بر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) را مورد مطالعه قرار داد. Emad و همکاران (2005)، سمیت مس و کادمیوم و اثرات آن بر برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی انگشت قد کفال دریایی (*Mugil seheli*) را بررسی کردند. Yilmaz و همکاران (2011)، اثرات سولفات کادمیوم در گونه *Leuciscus cephalus* از خانواده

میلی گرم در لیتر و ۲۲۲ میلی لیتر از محلول استوک در تکرارهای غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر ریخته شد. نمونه برداری از ماهیان پس از ۱۲ و ۲۴ ساعت انجام شد. در هر دوره نمونه برداری از ناحیه سیاهرگ دمی ماهیان خون گیری به عمل آمد. عملیات خونگیری با استفاده از سرنگ های هپارینه با حجم ۲ میلی لیتر از سیاهرگ دمی و از زیر باله مخرجی انجام شد. سپس خون در تیوب های مخصوص ریخته و به منظور انجام مطالعات خون شناسی به آزمایشگاه مجتمع دانشگاهی سراوان منتقل شد.

آزمایشات خون شناسی: در آزمایشگاه، نمونه ها با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ بادور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، پلاسما تهیه گردید. جهت انجام آزمایش های سیتولوژیک و اندازه گیری میزان هماتوکریت، هموگلوبین، شمارش گلبول های قرمز و سفید، شمارش افتراقی لکوسیت ها (لنفوسیت ها، نوتروفیل ها، ائوزینوفیل ها، مونوسیت ها) و ترومبوسیت ها از خون ماهیان و برای اندازه گیری برخی شاخص های بیوشیمیایی از قبیل میزان کلسترول، تری گلیسرید، پروتئین کل، آلبومین و گلوکز از پلاسما خون ماهیان استفاده گردید (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

شمارش یاخته های قرمز (WBC=Count White Blood cells)

و سفید خون (RBC=Count Red Blood cells): برای شمارش و رقیق سازی گلبول های سفید و قرمز و تشخیص آن ها از همدیگر از محلول رنگ آمیزی گیمسا و به وسیله پپیت ملانژور به اندازه کافی محلول به دست آمده روی لام نئوبار زیر لامل ریخته شد و با لنز ۴۰ میکروسکوپ نوری یاخته ها مورد شمارش قرار گرفت که در آن ۵ مربع کوچک مرکزی جهت شمارش گلبول های قرمز و ۴ مربع بزرگ کناری جهت شمارش گلبول های سفید استفاده گردید (Klontz, ۱۹۹۴). نحوه محاسبه تعداد یاخته های قرمز در هر میلی متر مکعب با رقت یک دویستم (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹):

$$N = n \times S \times h \times d$$

n: مجموع تعداد یاخته های قرمز شمارش شده در ۵ مربع کوچک، S: مساحت ۵ مربع (یک پنجم میلی متر مربع)، h: ارتفاع هر مربع (۰/۱ میلی متر)، d: رقت خون در محلول رقیق کننده (یک دویستم)

$$N = n \times 5 \times 10 \times 200 = n \times 10000$$

نحوه محاسبه تعداد یاخته های سفید در هر میلی متر مکعب خون نیز با رقت یک بیستم (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹):

$$N = n \times S \times h \times d$$

n: مجموع تعداد یاخته های سفید شمارش شده در ۴ مربع بزرگ، S: مساحت ۴ مربع (۴ میلی متر مربع)، h: ارتفاع هر مربع (۰/۱ میلی متر)، d: رقت خون در محلول رقیق کننده (یک بیستم)

$$N = n \times 0.75 \times 10 \times 200 = n \times 1500$$

کیورماهیان را مورد مطالعه قرار دادند. از جمله مطالعات صورت گرفته در مورد فلز روی توسط محققین در خارج از کشور Jeng و Shyong (۲۰۰۷)، غلظت بالای فلز روی بر غشاء پلاسمایی اریتروسیت های ماهی کپور معمولی، فیتوفاگ پرورشی و تیلایپا، Jozwiak و Akaheri (۱۹۹۹)، تأثیر فلز روی بر گلبول های قرمز ماهی کپور، Sen و Lian (۱۹۹۸)، مقایسه غلظت فلز روی در بافت های مختلف کپور معمولی با بافت های سایر آبزیان، Lithuania و Zita (۱۹۹۹)، اثر فلزات سنگین از جمله روی بر فاکتورهای خونی ماهیان، Tailor و Jengetal (۱۹۹۸)، مقایسه بین غلظت فلز روی در بافت کپور معمولی و سایر موجودات آبزی، Papagianis و همکاران (۲۰۰۳)، بررسی تأثیرات فلز روی بر اکوسیستم محل زندگی کپور معمولی، Liana و Tomova (۲۰۰۷)، اثرات روی بر مورفولوژی اریتروسیت ها در ماهی کپور پرورشی، Qureshi و Winselt (۱۹۹۲)، تغییرات بیوشیمی فلز روی بر کبد کپور معمولی اشاره نمود. مجاورت ماهیان با آب حاوی فلزات سنگین موجب تجمع این فلزات در اعضای بدن آن ها شده که با مصرف این ماهیان ممکن است علائم مسمومیت در جمعیت های انسانی به ویژه کودکان ظاهر شود. از آن جاکه اطلاعات کافی در مورد اثر فلز روی بر گونه بچه فیتوفاگ پرورشی وجود ندارد، مطالعه فوق در جهت تعمیم فاکتورهای قابل بررسی از نظر غلظت های مضر و نامناسب فلز روی در کنترل شرایط پرورشی این گونه اقتصادی، حائز اهمیت می باشد. با توجه به اهمیت موضوع، این مطالعه با هدف تعیین اثرات فیزیولوژیکی فلز سنگین روی بر بافت های هدف و برخی فاکتورهای سیتولوژیکی، سرولوژیکی و بیوشیمیایی خون بچه ماهی فیتوفاگ انجام شد.

مواد و روش ها

تهیه فلز سنگین، بچه ماهی و نمونه گیری: این تحقیق در

مجتمع دانشگاهی سراوان به مدت ۲ ماه از آذر ماه ۱۳۹۵ تا بهمن ماه ۱۳۹۵ انجام گرفت. تعداد ۲۷۰ عدد بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی با میانگین وزنی ۵۱/۶±۸/۱ گرم و میانگین طولی ۱۷/۱±۲ سانتی متر، از مراکز پرورش ماهی سراوان در استان سیستان و بلوچستان تهیه و پس از سازگاری ماهیان براساس تیمارهای مورد نظر در ۱۸ عدد آکواریوم ۱۰۰ لیتری حاوی ۹۰ لیتر آب شیر (بدون خروجی و مجهز به هوادهی) و به تعداد ۱۵ عدد ماهی در هر آکواریوم معرفی شدند. نیترات روی خالص در قوطی ۵۰ گرمی تهیه گردید. در مجموع ۳ تیمار، شامل تیمار شاهد (با دوز صفر) و با غلظت ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر به طور مجزا برای نیترات روی و هر تیمار با سه تکرار در نظر گرفته شد. پس از تهیه فلز سنگین نیترات روی با غلظت های مورد نظر، مقدار ۱۱۱ میلی لیتر از محلول استوک را در هر یک از تکرارهای غلظت ۵



شاخص‌های یاخته‌های قرمز (Red Blood Cell Indices):

شاخص‌های یاخته‌های قرمز (MCV، MCHC و MCH) که برای توصیف اندازه یاخته‌ها و میزان هموگلوبین آن‌ها به کار می‌رود و از شمارش یاخته‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و هماتوکریت به دست می‌آید از روابط زیر محاسبه گردید:

حجم متوسط سلولی (MCV=Mean Corpuscular Volume):

$MCV = \text{فمتولیتتر (fl)} \text{ یا میکرومتر مکعب}$

$10 \times \text{تعداد یاخته‌های قرمز (میلیون عدد در میلی متر مکعب)} / \text{هماتوکریت}$

میانگین غلظت هموگلوبین ذره‌ای (Mean Corpuscular):

$(MCHC = \text{Haemoglobin Concentration})$

$100 \times \text{هماتوکریت} / \text{هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)} = MCHC$ درصد

میانگین هموگلوبین ذره‌ای (Mean Corpuscular Haemoglobin):

$(MCH =$

$MCH = \text{پیکوگرم}$

$10 \times \text{تعداد یاخته‌های قرمز (میلیون در میلی متر مکعب)} / \text{هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)}$

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی:

اسپکتروفتومتر (مدل UV-VIS-650، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و کیت پارس آزمون، میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل و آلبومین محاسبه گردید (Shayne، 2007؛ McClatchey، 2002؛ Moss و Henderson، 1999).

آنالیز آماری:

در نهایت اطلاعات حاصل در فرم‌های مخصوص ثبت و برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 21.0 استفاده شد. جهت آنالیز آماری داده‌ها از آمار توصیفی به منظور تعیین میانگین، انحراف معیار مربوط به شاخص‌های خونی (سرولوژیک و سیتولوژیک) و از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه براساس شاخص‌های مورد بررسی به منظور بررسی اختلاف معنی‌دار در سطح خطاهای 5 درصد بین تیمارها استفاده گردید.

نتایج**مشاهدات ماکروسکوپی:**

در غلظت 5 میلی گرم بر لیتر، در ساعات اولیه حرکات شدید پرشی به سمت بیرون، شنای واژگون و تجمع در کف آکواریوم‌ها مشاهده شد. هم‌چنین لکه‌های تاول مانند سفید با پوست ملتهب مشاهده شد. در تشریح ماهی‌های مرده در دوز 5 میلی گرم در لیتر تورم حلق و آبشش، پرخونی آبشش و خونریزی آبشش و خونریزی داخل روده‌ای مشاهده گردید. در تیمار 10 میلی گرم بر لیتر، در ساعات اولیه شنای تند و سریع و حرکات پرشی شدید مشاهده گردید و لکه‌های قرمز رنگ در داخل چشم‌ها و گود افتادگی شدیدی در زیر چشمان، تجمع در کف آکواریوم‌ها و لکه‌های تاول مانند سفید

با پوست ملتهب مشاهده شد. در تشریح ماهیان مرده تورم حلق به شدت دیده شد. پرخونی آبشش، تورم کمان آبششی، لخته شدن خون در محوطه شکمی، آب‌آوردگی شکم، دفرمه شدن آبشش، سفید شدگی در آبشش و تیره شدن کیسه صفرا مشاهده گردید.

نتایج حاصل از شاخص‌های سیتولوژیکی خون:

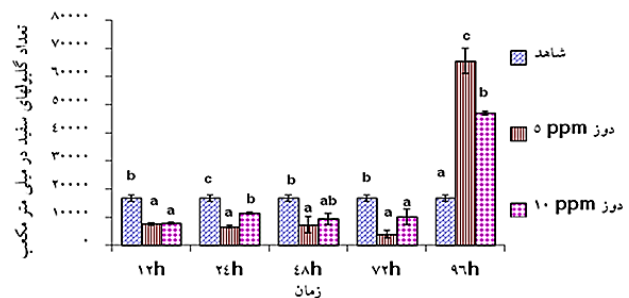
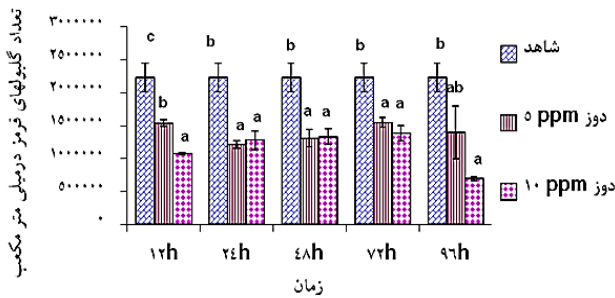
داد که تعداد گلبول‌های سفید خون در تیمارهای 5 و 10 میلی گرم در لیتر تا زمان 72 ساعت کم‌تر از تعداد گلبول‌های سفید در تیمار شاهد بود. و در 12 ساعت بین غلظت‌های 5 و 10 با شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$). در صورتی که، غلظت‌های 5 و 10 با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p > 0.05$). در 24 ساعت تیمارهای 5 و 10 میلی گرم در لیتر با یکدیگر و با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($p < 0.05$). در 48 ساعت تیمار 5 میلی گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$) ولی با تیمار 10 اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$). در 72 ساعت تیمار 5 و 10 میلی گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داده ولی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p > 0.05$). در 96 ساعت تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای 5 و 10 میلی گرم در لیتر، نسبت به سایر زمان‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید در 96 ساعت در تیمار 5 میلی گرم در لیتر مشاهده گردید. هم‌چنین تعداد گلبول‌های قرمز خون در تیمارهای 5 و 10 میلی گرم در لیتر در تمامی زمان‌ها تا 96 ساعت کم‌تر از شاهد بود. در 12 ساعت بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$). در زمان‌های 24، 48 و 72 ساعت تیمار شاهد با تیمار 5 و 10 میلی گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). ولی دو تیمار 5 و 10 با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p > 0.05$). در 96 ساعت تیمار شاهد با تیمار 5 اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$). ولی با تیمار 10 اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). در کل بیش‌ترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار شاهد و کم‌ترین میزان آن در 96 ساعت در تیمار 10 میلی گرم در لیتر مشاهده گردید (شکل 1).

میزان درصد هماتوکریت خون در زمان‌های متفاوت دارای نوسان بود، به‌طوری که، طبق شکل 2، بین تیمارهای شاهد، 5 و 10 میلی گرم در 12، 48 و 72 ساعت اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید ($p > 0.05$). در 24 و 96 ساعت در غلظت‌های 5 و 10 میلی گرم در لیتر با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$), که با افزایش همراه بود. ولی تیمارهای 5 و 10 میلی گرم در لیتر در 24 و 96 ساعت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p > 0.05$). بیش‌ترین درصد هماتوکریت در 24 ساعت در تیمار 10 میلی گرم در لیتر و کم‌ترین میزان آن در 72 ساعت در تیمار 10 میلی گرم در لیتر مشاهده

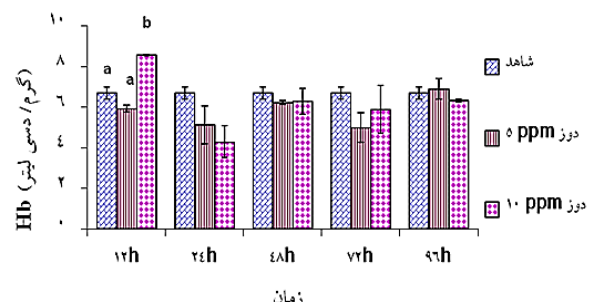
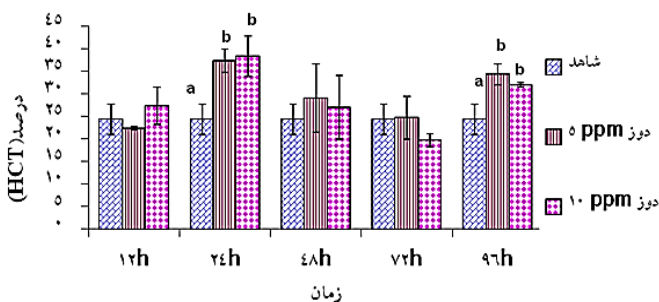


معنی داری نشان داد ($p < 0.05$). همچنین تیمار ۵ و ۱۰ با هم اختلاف معنی داری نشان دادند ($p < 0.05$). در زمان های ۲۴ تا ۹۶ ساعت اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p > 0.05$) (شکل ۲).

گردید. متوسط هموگلوبین خون در ۱۲ ساعت در تیمار ۵ میلی گرم در لیتر کم تر از شاهد و در تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر، بیش تر از شاهد مشاهده شد و شاهد با تیمار ۵ میلی گرم در لیتر، اختلاف معنی داری نشان نداد ($p > 0.05$)، ولی با تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر، اختلاف



شکل ۱: میانگین $\pm$ انحراف معیار تعداد گلبول های سفید و قرمز خون تحت اثر غلظت های متفاوت فلز روی در زمان های مختلف (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار است).

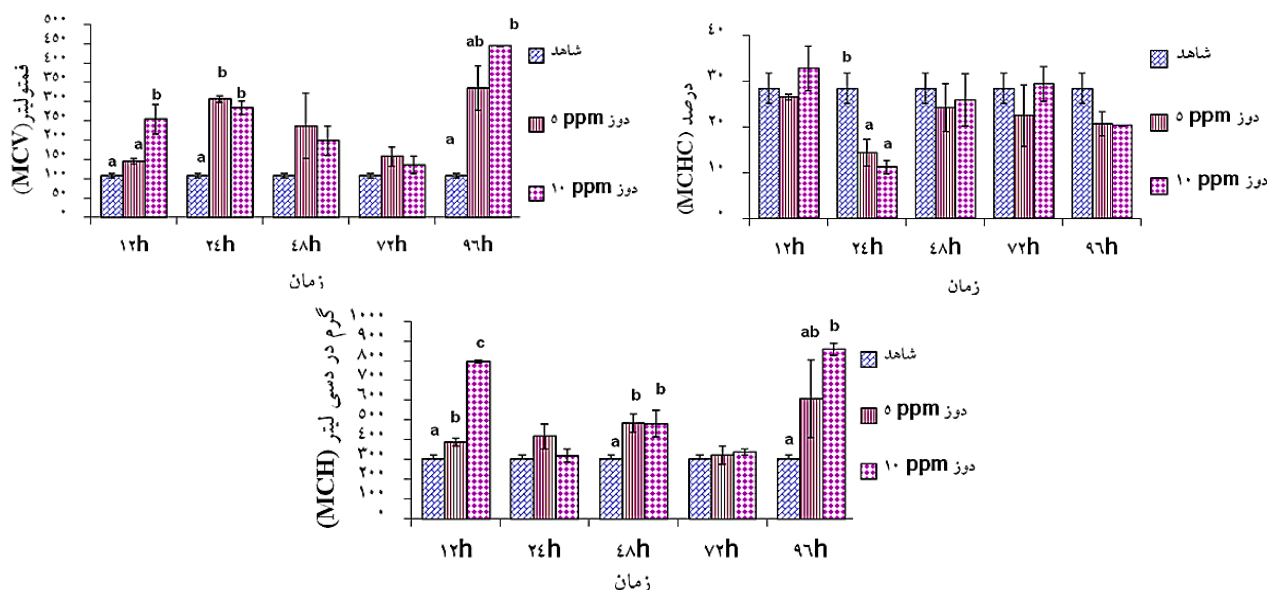


شکل ۲: میانگین $\pm$ انحراف معیار تغییرات سطوح هموگلوبین و درصد هماتوکریت پلاسماي خون تحت اثر غلظت های متفاوت فلز روی در زمان های مختلف (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار است).

یافت. در ۱۲ ساعت اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده شد ($p < 0.05$)، در حالی که در ۹۶ ساعت تیمار ۵ میلی گرم در لیتر با شاهد و تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر اختلاف معنی داری نشان نداد ($p > 0.05$). ولی تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی داری نشان داد ($p < 0.05$). در ۲۴ و ۷۲ ساعت اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p > 0.05$). در ۴۸ ساعت بین تیمار ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p < 0.05$). میانگین غلظت هموگلوبین ذره ای (MCHC) در تیمارها و زمان های مختلف دارای نوسان بود در ۱۲، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p > 0.05$)، ولی در ۲۴ ساعت در غلظت های ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر با تیمار شاهد اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p < 0.05$). ولی غلظت های ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر با یکدیگر اختلاف معنی داری نشان نداد ($p > 0.05$). حداکثر میانگین تغییرات غلظت هموگلوبین ذره ای در ۱۲ ساعت در تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر، و حداقل میزان آن در ۲۴ ساعت در تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۳).

میانگین حجم متوسط سلولی (MCV) در زمان ها و تیمارهای مختلف دارای نوسان بود. حداکثر میزان آن در ۹۶ ساعت در تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر و حداقل میزان آن در تیمار شاهد مشاهده شد. در ۱۲ ساعت بین تیمار ۵ میلی گرم در لیتر و شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). ولی تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر با تیمار ۵ میلی گرم در لیتر و شاهد اختلاف معنی داری نشان داد ($p < 0.05$). در ۲۴ ساعت غلظت های ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی داری نشان دادند ($p < 0.05$). ولی غلظت های ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر با یکدیگر اختلاف معنی داری نشان ندادند ($p > 0.05$). در زمان های ۴۸ و ۷۲ ساعت اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نگردید ($p > 0.05$). در ۹۶ ساعت تیمار ۵ میلی گرم در لیتر با شاهد و تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر اختلاف معنی داری نشان نداد ($p > 0.05$). ولی تیمار شاهد با تیمار ۱۰ اختلاف معنی داری نشان داد ($p < 0.05$). میانگین هموگلوبین ذره ای (MCH) در غلظت های مختلف دارای نوسان بود. در ۱۲ و ۹۶ ساعت با افزایش غلظت، میانگین هموگلوبین ذره ای افزایش





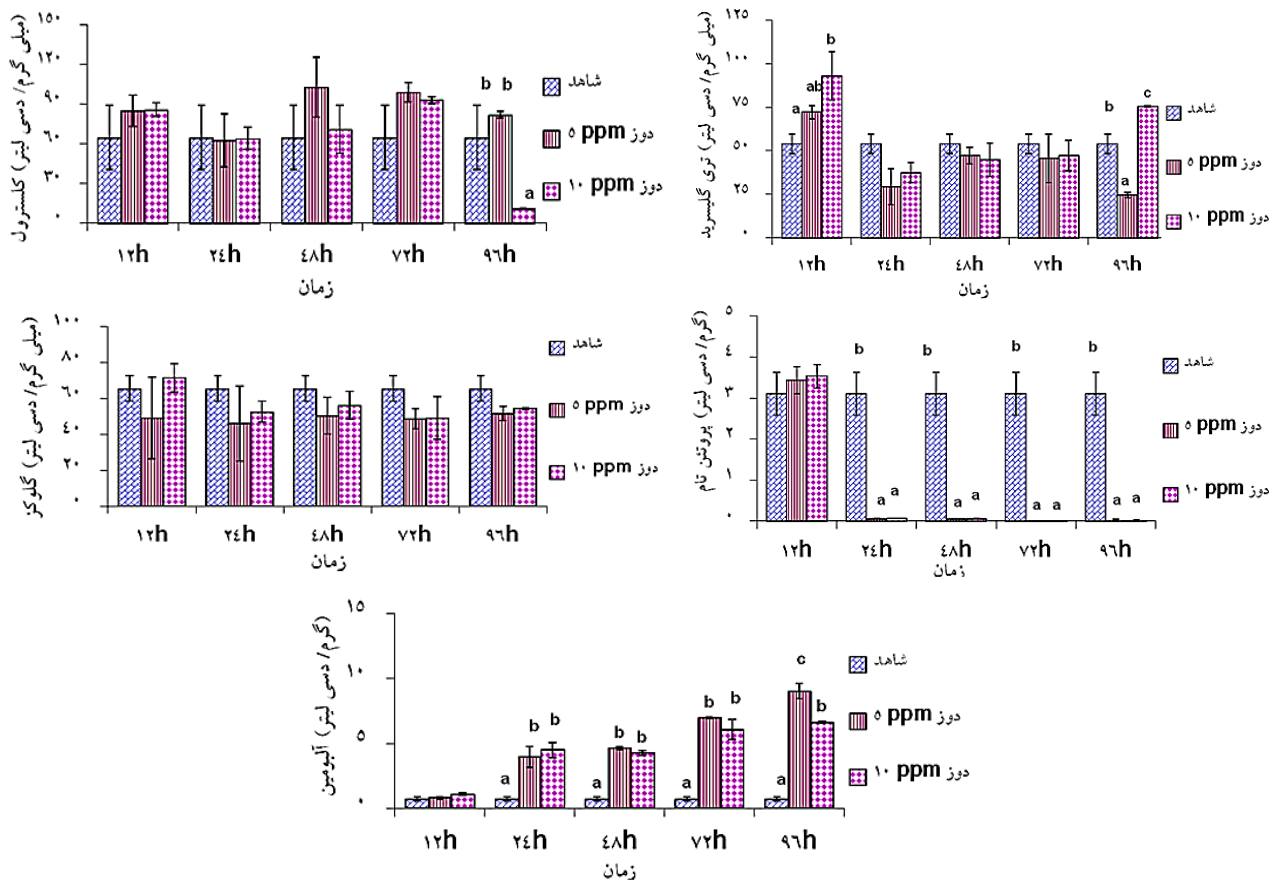
شکل ۳: میانگین $\pm$ انحراف معیار غلظت حجم متوسط سلولی (MCV)، هموگلوبین ذره‌ای (MCHC) و میانگین هموگلوبین ذره‌ای (MCH) در غلظت‌های مختلف نیتراژ روی در زمان‌های مختلف (حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است).

زمان‌های ۲۴ تا ۹۶ ساعت، تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، نسبت به تیمار شاهد کاهش یافتند و بین تیمار شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$). بین غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، در ۹۶ ساعت به حداقل میزان خود رسید. سطوح آلبومین پلاسما در ۱۲ ساعت بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده گردید ($p < 0.05$). به‌طوری‌که حداکثر میزان آلبومین در ۹۶ ساعت در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید (شکل ۴).

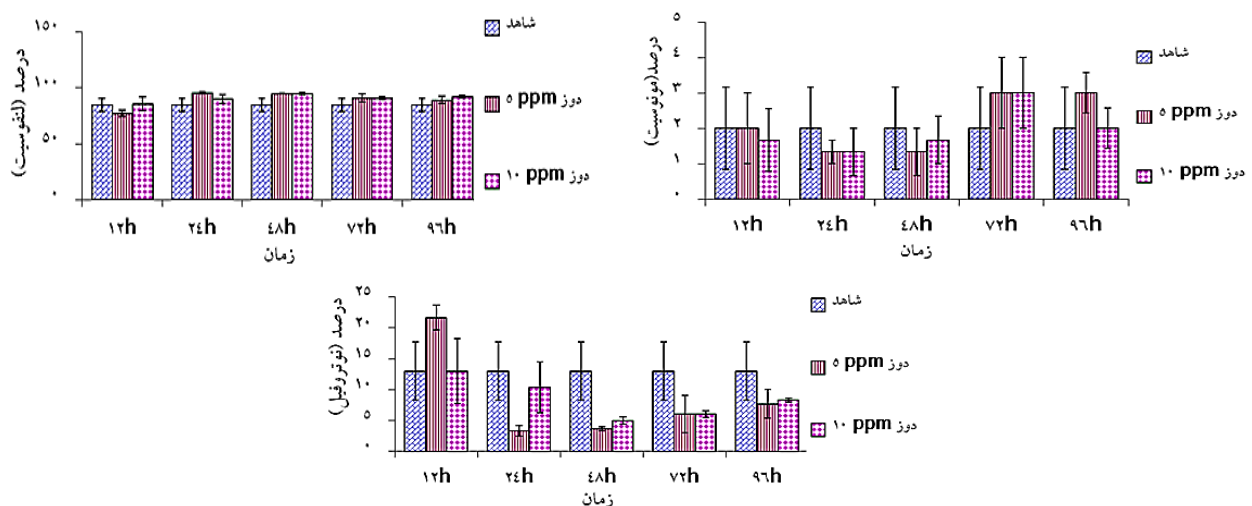
شمارش افتراقی گلبول‌های سفید: تعداد درصد لنفوسیت‌ها در همه تیمارها و زمان‌های مورد مطالعه فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($p > 0.05$) و به‌جز ۱۲ ساعت در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر، در مابقی تیمارها میانگین درصد لنفوسیت‌ها نسبت به شاهد افزایش یافت. تعداد مونوسیت‌ها اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($p > 0.05$). تعداد نوتروفیل‌ها در تیمارها و زمان‌های مختلف فاقد اختلاف معنی‌داری بود ($p > 0.05$). ولی در ۱۲ ساعت در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر، به حداکثر میزان و در ۲۴ و ۴۸ ساعت در همین تیمار به کم‌ترین میزان خود رسید (شکل ۵).

نتایج حاصل از مطالعه شاخص‌های سرولوژیک خون: سطوح

تری‌گلیسرید در تیمارها و زمان‌های مختلف دارای نوسان بود. در زمان ۱۲ ساعت در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری با دو تیمار دیگر مشاهده نگردید ($p > 0.05$). ولی در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده گردید ($p < 0.05$). در تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، از ۲۴ تا ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید ($p > 0.05$). ولی در ۹۶ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد ($p < 0.05$). بیش‌ترین میزان تری‌گلیسرید در ۱۲ ساعت در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و کم‌ترین میزان آن در ۹۶ ساعت در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر، مشاهده شد. سطوح کلسترول در تیمارها و زمان‌های مختلف دارای نوسان بود. در ۷۲ ساعت بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). در ۹۶ ساعت تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، با شاهد و تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$). بیش‌ترین میزان سطح کلسترول در ۴۸ ساعت در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر و کم‌ترین میزان آن در ۹۶ ساعت در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در زمان‌های مورد آزمون در متوسط گلوکز خون مشاهده نگردید ($p > 0.05$). در ۱۲ ساعت اختلاف معنی‌داری در سطوح پروتئین کل بین تیمارها مشاهده نشد ($p > 0.05$). ولی در



شکل ۴: میانگین $\pm$ انحراف معیار تغییرات سطوح تری گلیسرید، کلسترول، گلوکز، پروتئین کل و آلبومین پلاسمای خون در غلظت‌های مختلف نیترات روی در زمان‌های متفاوت (حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است).



شکل ۵: میانگین $\pm$ انحراف معیار روند تغییرات تعداد لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌های خون در غلظت‌های مختلف نیترات مس در زمان‌های متفاوت (حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است).



بحث

روی یکی از عناصر ضروری بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند رشد و تقسیم سلول، متابولیسم، التیام زخم‌ها، ایمنی و تولیدمثل می‌باشد و در عملکرد حس چشایی و بینایی دخالت دارد. روی به طرق مختلف مانند انتقال غیرفعال با گلبول‌های قرمز خون تشریک مساعی دارد. ولی اگر مقدار این عنصر از حد معینی تجاوز کند، جزء عناصر سمی به‌شمار می‌رود (Taylor و همکاران، ۲۰۰۰). هم‌چنین با پروتئین ترکیب شده و متالوآنزیم‌ها را ایجاد می‌کند. از انواع متالوآنزیم‌ها به کربونیک ایندراز که در تنظیم گاز کربنیک تنفسی نقش عمده‌ای دارد، می‌توان اشاره کرد (Soszynski و همکاران، ۱۹۹۶). ترکیبات روی برای ماهیان سم محسوب می‌شود و بدین لحاظ در مواقعی که فاضلاب‌های صنعتی و پساب‌های معدنی حاوی ترکیبات روی وارد رودخانه یا دریا می‌شوند، بایستی در زمان بهره‌برداری از آب رودخانه یا دریا برای پرورش ماهی، احتیاط لازم را مبذول داشت. سمیت روی برای موجودات آبی بیش‌تر تحت تأثیر pH پائین، قلیانیت کم، اکسیژن محلول اندک و درجه حرارت بالا می‌باشد (Weatherly و همکاران، ۱۹۹۸). بیش‌تر مطالعات فلز روی در ماهی اغلب روی مرگ و میر، تنظیم یونی، تولیدمثل و تجمع بوده و کم‌تر تحقیقاتی راجع به تغییرات بافتی انجام شده است و هم‌چنین تأثیر فلز روی در ماهیان جوان بیش‌تر از ماهیان بالغ می‌باشد. به‌همین دلیل، در ماهیان جوان‌تر به راحتی می‌توان تغییرات و تأثیرات حاصل از روی را مشاهده نمود (Jozwiak و Akaheri، ۱۹۹۹).

در مطالعه حاضر، اثرات حاد فلز روی بر تغییرات بافت خون ماهیان فیتوفاگ پرورشی جوان مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعات صورت گرفته اثرات حاد فلز روی بر بافت خونی ماهیان، به‌خصوص ماهی کپور معمولی نشان داد که در غلظت‌های بالای فلز روی، تنها غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت در خون ماهی کپور معمولی کاهش یافته و در مطالعات بلندمدت، درحالی‌که ماهی در تماس با غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر روی قرار داشته است، تغییری در فاکتورهای خونی مشاهده نگردید (Sovobodova و همکاران، ۱۹۹۴). در این مطالعه تأثیر فلز سنگین نیترا روی هم از جنبه غلظت و هم از جنبه زمان تماس با ماهی فیتوفاگ مورد بررسی قرار گرفت، که در مواردی این دو فاکتور تغییراتی برگشت‌پذیر داشتند. در ضمن شاخص‌های خونی در شرایط مختلف محیطی، حساسیت‌های متفاوتی دارند (Vosyliene، ۱۹۹۶). مطالعات بسیاری تاکنون بر سمیت فلز روی در آب‌های سبک و سنگین انجام شده و نشان داده که فلز روی در آب‌های سنگین سمیت بیش‌تری نسبت به آب‌های سبک دارد (Svecevieius، ۱۹۹۹). براساس نتایج مطالعات سایر محققین بعد از یک روز تماس کپور معمولی

با غلظت‌های غیرکشنده فلز روی، تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین در خون افزایش یافت، ولی تعداد کل لکوسیت‌ها افزایش نیافته بود (Tishinova و Ilieva، ۱۹۹۴). هم‌چنین غلظت‌های هموگلوبین و هماتوکریت در بعضی از ماهیان آب‌شیرین مثل کپور معمولی و تیلپیا بعد از ۹۶ ساعت قرار گرفتن در غلظت‌های ۲۲ و ۳۲ میلی‌گرم در لیتر فلز روی، افزایش یافته بود (Hilmy و همکاران، ۱۹۸۷). در پژوهش حاضر تعداد لنفوسیت‌ها در همه تیمارها و زمان‌های مورد مطالعه فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($p > 0.05$) و به‌جز ۱۲ ساعت در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر در مابقی تیمارها میانگین درصد لنفوسیت‌ها نسبت به شاهد افزایش یافت. البته استرس‌های وارده از دستکاری‌ها و سایر عوامل محیطی استرس‌زا تعداد لنفوسیت‌های خون ماهیان را کاهش می‌دهد. این حالت در آزاد ماهیان با کاهش تعداد لنفوسیت‌های خون با بلوغ جنسی که با استرس همراه است، دیده می‌شود (Pickering و Pottinger، ۱۹۸۷). Niimi (۱۹۹۷)، در تحقیقی که روی خون ماهی کپور انجام داد، دریافت که موادمسمی و آلودگی محیطی، موجب کاهش گلبول‌های سفید می‌شود. کاهش گلبول‌های سفید در اثر حضور مواد سمی و آلودگی محیطی و وجود هر نوع استرس رخ می‌دهد (Hines و Yashouv، ۱۹۷۰). معمولاً تعداد گلبول‌های قرمز خون ماهیان در واکنش به حضور فلزات سنگین کاهش یافته و کم‌خونی ایجاد می‌شود، ولی در برخی موارد، به‌خصوص بعد از تماس‌های کوتاه‌مدت، فاکتورهای خونی (Hb، MCV، RBC، Hct) ممکن است افزایش یابند (Vosyliene، ۱۹۹۶). در این مطالعه کاهش میزان گلبول‌های قرمز در تمام گروه‌های آزمایشی مشاهده شد که می‌تواند در نتیجه تخریب بافت آبشش (ورود آب از محیط به بدن) و کلیه (عدم توانایی در دفع اضافه آب از بدن) اتفاق افتاده باشد. در صورتی‌که، افزایش تعداد گلبول‌های قرمز می‌تواند ناشی از استرس شیمیایی محیطی و یا بر اثر هیپرپلازی بافت آبشش باشد که برای تأمین اکسیژن مورد نیاز، میزان گلبول‌های قرمز خون افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. در اثر استرس ایجاد شده و در نتیجه تخریب تنظیم اسمزی گلبول‌های قرمز غشاء آن‌ها متورم شده و جذب الکترولیت‌ها و آب به داخل سلول‌ها مختل می‌شود و هم‌چنین اسیدی شدن پلاسما و قلیایی شدن سیتوپلاسم سلولی نیز به تورم بافت غشاء کمک می‌کند (Nikinama و Huestis، ۱۹۸۷). در مورد گلبول‌های قرمز، تحریک ایجاد شده توسط استرس، فعالیت طحال (محل ذخیره سلول‌های خونی) توسط کاتکول آمین افزایش یافته و در نتیجه ظرف مدت کوتاهی تعداد گلبول‌های قرمز در خون بالا می‌رود (Houston و همکاران، ۱۹۹۶). براساس مطالعات (Vosyliene، ۱۹۹۶)، افزایش هماتوکریت در ماهیانی که در معرض تماس با فلزات سنگین قرار گرفته‌اند، یک واکنش احتیاطی است و کاهش بعد از آن نشان دهنده سازگاری است. کاهش غلظت هموگلوبین خون که



معمولاً به دلیل تاثیر سمی روی بر آبشش ماهی است و همچنین کاهش اکسیژن نشان دهنده وجود کم خونی در ماهی و به عبارتی افزایش تأثیرات منفی فلز روی می باشد (Sovobodava و همکاران، ۱۹۹۴). براساس تحقیقات انجام گرفته روی گونه های مختلف، بهترین شاخص خونی برای استرس های زیست محیطی، هموگلوبین خون ماهیان تشخیص داده شده است (Cazenave و همکاران، ۲۰۰۵). براساس مطالعات (Saint-Paul، ۱۹۹۹)، مشخص گردید که با کاهش میزان اکسیژن محلول آب، میزان هموگلوبین افزایش می یابد. حتی مطالعات میدانی روی بسیاری از گونه ها نشان داده که با تغییرات مکان زیست ماهیان در طبیعت و تغییرات سطوح اکسیژن محلول، میزان هموگلوبین دچار تغییر می شود (Wunderlin و همکاران، ۲۰۰۱). در مطالعات صورت گرفته توسط (Tavares و همکاران، ۱۹۹۹)، اثرات حاد فلز روی بر بافت خون ماهیان به خصوص کپور معمولی نشان داد که تنها در غلظت های بالای فلز روی، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت در خون کاهش یافته، در مطالعات بلندمدت، درحالی که ماهی در تماس با غلظت ۳۰ میلی گرم در لیتر روی قرار داشته، تغییری در فاکتورهای خونی مشاهده نگردید. براساس نتایج مطالعات بعد از یک روز تماس ماهی کپور با غلظت های غیرکشنده فلز روی، تعداد گلبول های قرمز و غلظت هموگلوبین و هماتوکریت در بعضی از ماهیان آب شیرین، مثل کپور معمولی و تیلپیا افزایش یافته است (Moraes و Tavares، ۲۰۰۷). Bansel و همکاران (۱۹۹۷)، در بررسی هماتولوژی که روی ماهیان استخوانی آب شیرین انجام دادند، دریافتند یک سری از مواد شیمیایی مانند آلدین، کلروان، متاسیستوکس، مس و اوزون سبب افزایش گلبول های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین خون در ماهیان می گردد و دسته دیگر همانند کادمیوم، سرب، جیوه و روی سبب کاهش تعداد گلبول های قرمز و هماتوکریت شده و ایجاد کم خونی در ماهیان می کنند. البته این موضوع که مواد سمی نیز می توانند بر شاخص های خونی ماهیان تأثیر بگذارند، نیز به خوبی روشن و آشکار است (Van، ۲۰۰۳). شمارش تعداد سلول های قرمز خون همواره یکی از ایندکس های قابل اعتماد بوده و ماهی نیز سعی می کند تا تعداد این سلول ها را تحت شرایط استرس زا ثابت نگه داشته و مقدار از دست رفته آن را از طریق مسیرهای مختلف جبران نماید (Vosyliene، ۱۹۹۶). به عبارتی وجود فلز روی در محیط زیست ماهی فیتوفاگ سبب کاهش مقاومت همولیتیکی آن و در نتیجه افت فشار خون و کم رنگ شدن آبشش ها می شود (Akaheri و همکاران، ۱۹۹۹). تغییر در فاکتورهای هماتولوژیکی همگی پاسخ ثانویه جاندار به آلاینده ها می باشند. تماس کوتاه مدت ماهی با غلظت های پایین فلزات سنگین، اغلب افزایش اندکی را در میزان فاکتورهای خونی سبب می شود. این افزایش نشانگر آغاز واکنش هایی در پاسخ به استرس

ناشی از تماس با فلزات سنگین می باشد. واکنش های استرسی در ماهی سبب به هم خوردن توان اسمزی و تغییر در سیستم تنظیم یونی شده که خود منجر به از بین رفتن تعادل pH خون ماهی شده و در ادامه سبب افزایش حجم گلبول های قرمز و در نتیجه افزایش درصد هماتوکریت می گردد (Golovina، ۱۹۹۶). البته این شاخص ها تحت شرایط و عوامل دیگری نیز تغییر می کنند. در شرایط استرس زا، اپی نفرین ترشح شده سبب انقباضطحال شده و اریتروسیت از این اندام وارد خون می شود، بالا رفتن گلبول های قرمز خون خود سهم عمده ای در افزایش میزان هماتوکریت دارد (Dunier و همکاران، ۱۹۹۲). میانگین حجم متوسط سلولی (MCV) در این مطالعه، در زمان ها و تیمارهای مختلف دارای نوسان بود. ابتدا افزایش و سپس کاهش فاکتور MCV نشان دهنده سازگاری ماهی است. ولی به شرطی که غلظت آلاینده روی بیش از حد قابل تحمل نبوده و ماهی فرصت بازسازی و سازگاری را داشته باشد (Vosyliene، ۱۹۹۶). سطوح گلوکز در تحقیق انجام شده در تیمارها و زمان های مختلف دارای نوسان بود. به طوری که، اختلاف معنی داری را نشان نداد ($p > 0.05$). ورود آلاینده های مختلف به اکوسیستم های آبی می تواند عاملی تنش زا برای موجودات آبی محسوب گردد که واکنش موجودات به این عوامل تنش زا به صورت پاسخ های رفتاری، فیزیولوژی و بیوشیمیایی می باشد. در این تحقیق نیز هنگامی که ماهی در معرض غلظت های مختلف فلز روی که عاملی استرس زا می باشد، قرار گرفت میزان گلوکز خون ماهی کاهش یافت که ناشی از پاسخ های هورمونی (آدرنالین، کورتیزول) ماهی به عامل تنش زا می باشد. البته کاهش سطح گلوکز خون نیز می تواند ناشی از گرسنگی باشد (Lwaman و همکاران، ۲۰۰۴). سطوح کلسترول در این مطالعه در تیمارها و زمان های مختلف دارای نوسان بود. بیشترین میزان سطح کلسترول در ۴۸ ساعت در تیمار ۵ میلی گرم در لیتر و کمترین میزان آن در ۹۶ ساعت در تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد. Hanke و Gluth (۱۹۸۵)، اثر سموم مختلف را در زمان های متفاوت بر خون ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرار دادند و گزارش نموده اند که میزان پروتئین پلاسما و کلسترول تحت تأثیر سموم مختلف دچار کاهش می گردد. پروتئین های پلاسما به جز ایمونوگلوبولین ها در کبد ساخته می شوند. با توجه به اثر تخریبی فلز روی بر بافت کبد، ساخت پروتئین های کبد کاهش می یابد. در ضمن استرس ناشی از مسمومیت و گرسنگی منجر به کاهش پروتئین تام سرم خون در ماهی فیتوفاگ می شود (Godinho و Ranzani، ۱۹۸۵). Gopal و همکاران (۱۹۹۷)، اثر فلزات سنگین بر بیوشیمی پروتئین خون ماهی کپور معمولی به عنوان یک شاخص زیستی استرس زا مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که سطوح پروتئین کل و گلوبولین سرم خون ماهی بعد از ۲ ساعت تا ۲۰ ساعت افزایش و سپس تا ۷۲ ساعت



تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، مجتمع آموزش عالی سراوان، اداره کل شیلات سراوان تشکر نمایند.

منابع

۱. امینی رنجبر، غ.، ۱۳۷۳. بررسی میزان تجمع فلزات سنگین در رسوبات تالاب انزلی. مجله علمی شیلات ایران. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران. ۶ صفحه.
۲. جلالی جعفری، ب. و آقازاده‌مشگی، م.، ۱۳۸۶. مسمومیت ماهیان در اثر فلزات سنگین و اهمیت آن در بهداشت عمومی. انتشارات کتاب. ۳۶ صفحه.
۳. رستمی‌بشمن، م. و سلطانی، م.، ۱۳۸۸. مطالعه اثرات بافتی دوز مزمن سولفات مس بر برخی اندام‌های ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی (دانشگاه تهران). دوره ۶۴، شماره ۳، صفحات ۱۹۳ تا ۱۹۸.
۴. غلامیان، س.، ۱۳۸۳. بررسی اثرات سمی مس بر بافت کبد و اندازه‌گیری پروتئین تام و برخی از آنزیم‌های سرم خون در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. صفحات ۵ تا ۸.
۵. فتح‌الهی، ر.؛ خارا، ح.؛ پژند، ذ.؛ شناورماسوله، ع.؛ حلاجیان، ع. و مشتاقی، ب.، ۱۳۸۹. تعیین غلظت کشندگی (LC50) کلرید سدیم و اثرات آن بر بافت آبشش بچه‌تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). نشریه علوم زیستی. دوره ۴، شماره ۳، صفحات ۶۵ تا ۷۲.
۶. فرهنگ، م. و حاجی‌مرادلو، ع.، ۱۳۸۶. علایم بالینی و اثرات آسیب‌شناسی مسمومیت حاد با آمونیاک در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه شیلات. دوره ۱، شماره ۴، صفحات ۷۲ تا ۷۹.
۷. کاظمی، ر.؛ پوردهقانی، م.؛ یوسفی‌جوردهی، ا.؛ یارمحمدی، م. و نصری‌تجن، م.، ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون‌شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. ۱۹۴ صفحه.
۸. ناجی، ط.؛ صفاییان، ش.؛ رستمی‌بشمن، م. و صبرجو، م.، ۱۳۸۶. بررسی اثرات سولفات روی بر بافت آبشش بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه علوم و تکنولوژی محیط زیست. دوره ۹، شماره ۲، صفحات ۲۹ تا ۳۶.

کاهش یافت. سطوح آلبومین سرم در ابتدا بعد از ۲ ساعت تا ۴ ساعت به‌شدت کاهش و سپس به حالت اولیه برگشته و متعاقباً تا ۷۲ ساعت کاهش یافت. آن‌ها دریافتند که هم غلظت‌های کشنده و تحت‌کشنده فلزات سنگین روند مشابهی را نشان دادند و بیان داشتند که اندازه‌گیری سطوح پروتئین، آلبومین و گلوبولین به‌عنوان شاخص پاسخ به عوامل استرس‌زای محیطی مطرح می‌باشد.

به‌هر حال پیش‌بینی تغییرات در ماهیان آب‌های طبیعی براساس شاخص‌های هماتولوژیکی کمی مشکل است، زیرا مقادیر این فاکتورها همراه با تغییرات پارامترهایی مثل سن، فصل و جنس تغییر می‌کند (Luskova, ۱۹۹۷). به‌هر صورت نیاز به مطالعات بیش‌تری در مورد تأثیرات فلز روی و سایر فلزات سنگین بر فاکتورهای خونی در جهت یافتن مسیرهای عمومی تنظیم سیستم تبادل‌ات خونی ماهیان می‌باشد، این امر سبب خواهد شد تا به پیدا کردن نقاط بحرانی و محدوده تأثیر برگشت‌پذیر در ماهیان امیدوار بوده تا وضعیت ماهیان در شرایط طبیعی مورد تجزیه و تحلیل دقیق‌تری قرار گیرد. در مجموع می‌توان چنین نتیجه گرفت که تغییرات آشکار فاکتورهای خونی، تحت تأثیر غلظت‌های مختلف فلز سنگین روی می‌تواند بیانگر تأثیر سوء فلز روی بر سیستم ایمنی و فیزیولوژیک ماهیان باشد. بنابراین، از پارامترهای خونی و بیوشیمیایی می‌توان به‌عنوان شاخص، برای سنجش آلودگی فلز روی در محیط‌های آبی استفاده کرد. هم‌چنین با عنایت به ایجاد اختلالات مهم در فعالیت‌های طبیعی ماهیان در اثر بروز مسمومیت‌های مزمن با فلزات سنگین هم‌چون روی که بر سلامت، رشد و تولیدمثل تأثیرگذار می‌باشد (جلالی جعفری و مشکی، ۱۳۸۶).

انجام اقدامات لازم جهت جلوگیری از آلودگی آب استخرهای پرورشی، به این فلز سنگین توصیه می‌گردد. تفاوت شرایط تغذیه‌ای، محیطی، گونه‌ماهی، سن، جنس، زمان نمونه‌گیری و دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری از جمله فاکتورهایی است که می‌تواند عامل تفاوت نتایج به‌دست آمده باشد، اما با توجه به محدودیت منابع و مطالعات نسبتاً اندک صورت گرفته روی پارامترهای بیوشیمیایی و خون‌شناسی سرم خون آبزیان و با توجه به گسترش روز افزون صنعت آبی‌پروری به‌نظر می‌رسد، باید مطالعات بیش‌تری در ارتباط با پارامترهای خونی آبزیان و چگونگی تغییرات آن‌ها در شرایط مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک صورت گیرد. تا به موازات گسترش این صنعت بتوان پاسخگوی نیازهای علمی در زمینه پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری بود.



۹. وثوقی، غ.م؛ شاهسونی، د. و پیغان، ر.، ۱۳۷۶. بررسی فاکتورهای خونی ماهی حوض (*Carassius auratus*). مجله تحقیقات دامپزشکی (دانشگاه تهران). دوره ۵۲، شماره ۴، صفحات ۳۶ تا ۴۲.
۱۰. میرزایی، ج.، ۱۳۸۳. مطالعه سمیت حاد فلزات سنگین سرب، روی، مس و کادمیوم بر دو گونه از ماهیان خاویاری دریای خزر (تاس ماهی ایرانی و ازون برون). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۱۰۰ صفحه.
۱۱. Akaheri, A. and Jozwiak, Z., 1999. Effect of Zinc on Common Carp (*Cyprinus carpio*) erythrocytes, Elsevier Science Inc. pp: 16-17.
۱۲. Cazenave, J.; Wunderline, D.A.; Hued, A.C. and Bistoni, A., 2005. Haematological Parameters in a neotropical fish, *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) (Pisces, Callichthyidae), Captured from Pristine and Polluted water.
۱۳. Dunier, M. and Siwicki, A.K., 1992. In vitro effects of heavy metals on lymphocyte proliferation and phagocytic activity of macrophages in common carp (*Cyprinus carpio*). Symposium on Sub lethal and chronic toxic effects of pollutants on fresh water fish. Lugano. EIFAC/XVII/ 92/ Symp. 4, 12.
۱۴. Emad, H.; Abou, E.N.; Khalid, M.; Moselhy, E. and Mohamed, A.H., 2005. Toxicity of cadmium and cooper and their effect on some biochemical parameters of marine fish *Mugil seheli*. Egyptian Journal of Aquatic Research, Vol. 31, pp: 60-71.
۱۵. Gluth, G. and Hanke, W., 1985. A comparison of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, induced by several pollutants at sublethal concentrations. I. the dependency on exposure time. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 9, No. 2, pp: 79-88.
۱۶. Golovina, N.A., 1996. Morphofunctional characteristics of the blood of fish as objects of aquaculture. Doctoral Thesis. Moscow. 53 p (In Russian).
۱۷. Gopal, V.; Parvathy, S. and Balasubra, P.R., 1997. Effect of heavy metals on the blood protein biochemistry of the fish *Cyprinus carpio* and its use as a bio - indicator of pollution stress. Environmental Monitoring and Assessment, Vol. 48, pp: 117-124.
۱۸. Hines, R.S. and Yashouv, A., 1970. Differential leukocyte counts and total leukocyte and erythrocyte counts for some normal israeli mirror carp. Bamidgheh. Vol. 22, pp: 106-113.
۱۹. Hilmy, A.M.; El-Domiaty, N.A.; Daabees, A.Y. and Abdel Latife, H.A., 1987. Some physiological and biochemical indices of Zinc toxicity in two fresh water fishes, (*Clarias lazera*) and *Tilapia zilli*. Comp. Biochem. Physiol. pp: 297-301.
۲۰. Jengetal, A. and Tailor, S., 1998. Comparetive heavy metal on tissue of comoon carp and other aquatic animals. Journal of fisheries. Vol. 9, pp: 45-53
۲۱. Klontz, G.W., 1994. Fish Hematology. In: Techniques in Fish Immunology, SOS Publications, and USA. ISBN: Vol. 2, pp: 121-132.
۲۲. Lwaman, G.K.; Afonso, L. and Vijayan, M., 2004. Aqua net workshop on fish Welfare, Campbell River, B.C. Canada.
۲۳. Lian- Tien, S. and Sen-Shyong, J., 1998. Comperative Zinc Concentration in Tissue of Common Carp and Other Aquatic Organisms. Zoological Studies, Vol. 37, No. 3, pp: 184-190
۲۴. Lithuania, M. and Zita, M., 1999. The effect of heavy metals on hematological indices of fish. Acta Zoological Journal. Vol. 9, No. 2, pp: 76-83.
۲۵. Luskova, V., 1997. Annual cycles and normal value of hematological parameters in fishes. Acta Sc. Nat. Brno. Vol. 31, No. 5, pp: 70.
۲۶. McClatchey, K.D., 2002. Clinical Laboratory Medicine. Williams and Wilkins, Philadelphia. 230 p.
۲۷. Moss, D.W. and Henderson, A.R., 1999. Clinical enzymology. p: 617-721. In: Burtis, C.A. and Ashwood, E.R., (Eds.). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
۲۸. Niimi, A.J., 1997. Biological and toxicological effects of environmental contaminations in fish. Canadian Journal of fisheries and aquatic Science. Vol. 40, pp: 306-312.
۲۹. Nikinma, M. and Huestis, W.H., 1987. Adrenergic swelling of nucleated erythrocyte: Cellular mechanism in a bird, domestic goose, and two teleosts, stripped bass and Rainbow trout. J. Exp Biol. Vol. 113, pp: 215-224.
۳۰. Papagianis, I.; Kagalou, J.; Leonados, D.; Petridis, V. and Kalfakakou, I., 2003. Copper and Zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotis (Greek). Environ international. Vol. 30, pp: 357-362.
۳۱. Pickering, A.D. and Pottinger, T.G., 1987. Lymphocytopenia and interregnal activity during sexual maturation in the brown trout, Fish Biology. Vol. 30, pp: 41-50.
۳۲. Qureshi, M. and Winselt, B., 1992. Biochemical difference of Zinc on Common carp (*Cyprinus carpio*) liver. Journal of biochemistry. Vol. 37, No. 3, pp: 184-190
۳۳. Ranzani Paiva, M.J.T. and Godinho, H.M., 1985. Estudos haematologicos em curimbata, (*Prochilodus scrofa*) Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae). Serie Vermelha. Boletim do Instituto de pesca. Rios, F.S., Kalinin. Vol. 12, pp: 25-39.
۳۴. Satheshkumar, P.; Ananthan, G.; Senthilkumar, D. and Jeevanantham, K., 2010. Comparative investigation on hematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. Journal of Comparative Clinical Pathology. Vol. 10, pp: 1091-1095.
۳۵. Serezli. Akhan, S. and Delihasan, F., 2011. Acute effects of copper and lead on some blood parameters on Coruh trout (*Salmo coruhensis*). African Journal of Biotechnology. Vol. 10, pp: 3204-3209.
۳۶. Shayne, C.G., 2007. Animal Models in Toxicology. Taylor and Francis, Boca Raton. 950 p.
۳۷. Shyong, S. and Jeng, Y., 2007. High Zinc in the erythrocyte plasma membrane of common carp (*Cyprinus carpio*). Fisheries Science. Vol. 73, pp: 421-428.
۳۸. Soszynski, M.; Filipiak, A.; Bartosz, G. and Gebiek, J., 1996. Effect of amino acid peroxides on the erythrocytes. Free Radic. Biol. Med. Vol. 20, pp: 45-51.
۳۹. Sovobodova, Z.; Vykusova, B. and Machova, J., 1994. Sub lethal chronic effects of pollutants on freshwater fish. Ed. R. Muller ir R. Lloyd. Lugano. pp: 39-52.
۴۰. Svobodova, Z.; Vykusova, B. and Machova, J., 1994. The effects of pollutants on selected hematological and biochemical parameters in fish. In: Sub lethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish (Eds.: Müller, R. and Lloyd, R.). Fishing New Books, London. 324 p.
۴۱. Svecevieius, G., 1999. Acute toxicology of Zinc to common fresh water fishes of Lithonia. Acta Zoologica. Lithonia. Hydrobiologia. Vol. 9, No. 2, pp: 114-128.
۴۲. Taylor, J.C.; Geer, L.N.; Wood, C.M. and Mc Donald, D.G., 2000. Physiological effects of chronic copper exposure to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in hand and soft water, evaluation of chronic indicators. Environ. Toxicol. Chem. Vol. 19, pp: 2298-2308.



۴۳. **Tavares-Dias, M. and Moraes, F.R., 2007.** Hematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *Journal of Fish Biology*. Vol. 71, pp: 383-388.
۴۴. **Tishinova, V. and Ilieva, N., 1994.** *Zoology*. Vol. 85, pp: 98-109 (in Bulgarian).
۴۵. **Tomova, E. and Lliana, V., 2007.** Effects of zinc on morphology of erythrocytes and spleen in *Carassius gibelio*. *J. Environ. Biol.* Vol. 29, No. 6, pp: 897-902.
۴۶. **Van-Duijn, J.R.C., 2000.** Diseases of fishes. Narendra publishing House. Delhi, India. 174 p.
۴۷. **Vosyliene, M.Z., 1996.** Haematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during short-term exposure to copper. *Ekologija*. Vol. 3, pp: 12-18.
۴۸. **World health organization (W.H.O), 2000.** Gide line for drinking water quality, Recommendation, W.H.O. Geneva, Switzerland. Vol. 1, 130 p.
۴۹. **Weatherly, A.H.; Lace, P.S. and Stural, P.L., 1998.** Zinc pollution and ecology of environment. *Toxicol-chem.* Vol. 18, No. 10, pp: 225-230.
۵۰. **Witeska, M., 2005.** Stress in fish hematological and immunological effects of heavy metals. *Electronic Journal of Ichthyology*. Vol. 1, pp: 35-41.
۵۱. **Wunderlin, D.; Diaz, M.; Ame, M.V.; Pesce, S.; Hued, A. and Bistoni, M.A., 2001.** Pattern recognition techniques for the evaluation of spatial and temporal variations in water quality. A case study: Suquia river basin (Cordoba, Argentina). *Water Research*. Vol. 35, pp: 2881-2894.
۵۲. **Xiaoyun, Z.; Mingyun, L.; Khalid, A. and Weinmin, W., 2009.** Comparative of hematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach, *Misgrurnus anguillicadatus*. *Fish Physiology Biochemistry*. Vol. 35, pp: 435-441.
۵۳. **Yilmaz, M.; Selami, A. and Ferhat, D., 2011.** Metal accumulation in sediment, water, and freshwater fish in a Dam Lake. *Toxicological & Environmental Chemistry*. Vol. 94, pp: 49-55.

