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، به‌منظور تعیین سمیت حاد فلز سنگین روی بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی بچه‌ماهی فیتوفاگ، ۲۷۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزنی ۸/۱±۵۱/۶ گرم و میانگین طولی ۲±۱۷/۱ سانتی‌متر در مجاورت غلظت‌های ۰، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات روی Zn(NO3)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<۰/۰۵). هموگلوبین (Hb) خون ماهیان در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). 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<۰/۰۵). تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) در غلظت‌های ۵ و ۱۰ در زمان‌های ۱۲ و ۹۶ ساعت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵). این دو تیمار از لحاظ تعداد گلبول‌های قرمز نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند (p<۰/۰۵). میزان پروتئین کل در تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (p<۰/۰۵). کلسترول خون تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با تیمارهای ۵ میلی‌گرم در لیتر و شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (p<۰/۰۵). تری‌گلیسرید و آلبومین خون ماهیان هر سه تیمار با یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (p<۰/۰۵). ولی کلسترول و گلوکز در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). براساس نتایج حاصل، شاخص‌های‌خونی فاکتورهای‌حساس در پایش سمیت نیترات روی و استرس ناشی از آن، به‌ویژه در غلظت‌های مورد مطالعه می‌باشند.

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

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: sepahijavad@yahoo.com

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 ازجمله 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، ۲۰۰۰). آلودگی آب با ترکیبات یا عناصر فلزات سنگین، منجر به مسمومیت خونی ماهیان و به‌دنبال 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 بیوژئوشیمیایی ایجاد می‌کنند و هر یک از آن‌ها دارای آثار بیوشیمیایی خاصی در بدن موجودات زنده هستند (جلالی و آقازاده، ۱۳۸۵). باتوجه به این‌که تغییرات غلظت فلزات سنگین در محیط‌های آبی، اثرات سوء زیستی قابل توجهی را بر موجودات آبزی 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 آبزی بسیار حائز اهمیت است (امینی‌رنجبر، ۱۳۷۳). متأسفانه اغلب اوقات آگاهی از وجود فلزات سنگین در محیط‌زیست آبزیان زمانی اتفاق می‌افتد که غلظت‌های بالای آن‌ها، موجب بروز تلفات در میان موجودات شده باشد. درحالی‌که، 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 تمام نمای 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 ازجمله آبزیان 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 درنتیجه 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 انجام شده 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، ۱۳۸۳). اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک خون می‌تواند به‌عنوان یک ابزار تشخیصی در سم‌شناسی و پایش زیستی به‌کار رود (Xiaoyun و همکاران، ۲۰۰۹). تغییر در میزان و سطوح این پارامترها می‌تواند منعکس‌کننده پاسخ‌های ماهیان به تغییرات در محیط زندگی آن‌ها باشد (Satheeshkumar و همکاران، ۲۰۱۰). 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 آبزیان در ایران، از دهه ۱۳۷۰ 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، ۱۳۸۳)، بررسی فاکتورهای خونی ماهی حوض (وثوقی و همکاران، ۱۳۷۶)، مطالعه اثرات برخی از فلزات سنگین بر بافت‌های ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (ناجی و همکاران، ۱۳۸۶)، در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) (گرویی و همکاران، ۱۳۸۷)، در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (فرهنگی و حاجی‌مرادلو، ۱۳۸۶) و بچه تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (فتح‌الهی و همکاران، ۱۳۸۹) اشاره نمود. در سایر کشورها مطالعات تخصصی بیش‌تری در مورد اثر فلزات سنگین بر شاخص‌های خونی ماهیان انجام شده که بیش‌تر به دهه ۲۰۰۰ به بعد مربوط می‌شود. در این‌خصوص، Serezli و همکاران (۲۰۱۱)، اثرات حاد مس و سرب بر برخی پارامترهای خونی در گونه *Salmo coruhensis* را طی یک‌دوره مجاورت کوتاه‌مدت در غلظت‌های بالای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مورد مطالعه قرار دادند. Witeska (۲۰۰۵)، اثرات هماتولوژیکی و ایمونولوژیکی فلزات سنگین بر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) را مورد مطالعه قرار داد. Emad و همکاران (۲۰۰۵)، 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 (۲۰۱۱)، اثرات سولفات کادمیوم در گونه *Leuciscus cephalus* از خانواده

کپورماهیان را مورد مطالعه قرار دادند. از جمله مطالعات صورت گرفته در مورد فلز روی توسط محققین در خارج از کشور Shyong و Jeng (۲۰۰۷)، غلظت بالای فلز روی بر غشاء پلاسمایی اریتروسیت‌های ماهی کپور معمولی، فیتوفاگ پرورشی و تیلاپیا، Akaheri و Jozwiak (۱۹۹۹)، تأثیر فلز روی بر گلبول‌های قرمز ماهی کپور، Lian و Sen (۱۹۹۸)، مقایسه غلظت فلز روی در بافت‌های مختلف کپور معمولی با بافت‌های سایر آبزیان، Lithuania و Zita (۱۹۹۹)، اثر فلزات سنگین ازجمله روی بر فاکتورهای خونی ماهیان، Jengetal و Tailor (۱۹۹۸)، مقایسه بین غلظت فلز روی در بافت کپورمعمولی و سایر موجودات آبزی، Papagianis و همکاران (۲۰۰۳)، بررسی تأثیرات فلز روی بر اکوسیستم محل زندگی کپورمعمولی، Tomova و Lliana (۲۰۰۷)، اثرات روی بر مورفولوژی اریتروسیت‌ها در ماهی کپورپرورشی، 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 آن‌ها شده که با مصرف این ماهیان ممکن است علائم مسمومیت در جمعیت‌های انسانی به‌ویژه کودکان ظاهر شود. از آن‌جاکه اطلاعات کافی در مورد اثر فلز روی بر گونه بچه فیتوفاگ پرورشی وجود ندارد، مطالعه فوق در جهت تعمیم فاکتورهای قابل بررسی از نظر غلظت‌های مضر و نامناسب فلز روی در کنترل شرایط پرورشی این گونه اقتصادی، حائز اهمیت می‌باشد. با توجه به اهمیت موضوع، این مطالعه با هدف تعیین اثرات فیزیولوژیکی فلز سنگین روی بر بافت‌های هدف و برخی فاکتورهای سیتولوژیکی، سرولوژیکی و بیوشمیایی خون بچه‌ماهی فیتوفاگ انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه فلز سنگین، بچه‌ماهی و نمونه‌گیری: این تحقیق در مجتمع دانشگاهی سراوان به‌مدت ۲ ماه از آذر ماه ۱۳۹۵ تا بهمن ماه ۱۳۹۵ انجام گرفت. تعداد ۲۷۰ عدد بچه‌ماهی فیتوفاگ پرورشی با میانگین وزنی ۸/۱±۵۱/۶ گرم و میانگین طولی ۲±۱۷/۱ سانتی‌متر، 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 میلی‌گرم در لیتر به‌طور مجزا برای نیترات روی و هر تیمار با سه تکرار درنظر گرفته شد. پس از تهیه فلز سنگین نیترات روی با غلظت‌های مورد نظر، مقدار ۱۱۱ میلی‌لیتر از محلول استوک را در هر یک از تکرارهای غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر و ۲۲۲ میلی‌لیتر از محلول استوک در تکرارهای غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ریخته شد. نمونه‌برداری از ماهیان پس از ۱۲ و ۲۴ ساعت انجام شد. در هر دوره نمونه‌برداری از ناحیه سیاهرگ دمی ماهیان خون‌گیری به‌عمل آمد. عملیات خونگیری با استفاده از سرنگ‌های هپارینه با حجم ۲ میلی‌لیتر از سیاهرگ دمی و از زیر باله مخرجی انجام شد. سپس خون در تیوب‌های مخصوص ریخته و به‌منظور انجام مطالعات خون‌شناسی به آزمایشگاه مجتمع دانشگاهی سراوان منتقل شد.

آزمایشات خون‌شناسی: در آزمایشگاه، نمونه‌ها با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ بادور ۳۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه، پلاسما تهیه گردید. جهت انجام آزمایش‌های سیتولوژیک و اندازه‌گیری میزان هماتوکریت، هموگلوبین، شمارش گلبول‌های قرمز و سفید، شمارش افتراقی لکوسیت‌ها (لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها، مونوسیت‌ها) و ترومبوسیت‌ها از خون ماهیان و برای اندازه‌گیری برخی شاخص‌های بیوشیمیایی از قبیل میزان کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل، آلبومین و گلوکز از پلاسمای خون ماهیان استفاده گردید (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

شمارش یاخته‌های قرمز (WBC=Count White Blood cells) و سفید خون (Count Red Blood cells =RBC): برای شمارش و رقیق‌سازی گلبول‌های سفید و قرمز و تشخیص آن‌ها از همدیگر از محلول رنگ‌آمیزی گیمسا و به‌وسیله پیپت ملانژور به اندازه کافی محلول به‌دست آمده روی لام نئوبار زیر لامل ریخته شد و با لنز ۴۰ میکروسکوپ نوری یاخته‌ها مورد شمارش قرار گرفت که در آن ۵ مربع کوچک مرکزی جهت شمارش گلبول‌های قرمز و ۴ مربع بزرگ کناری جهت شمارش گلبول‌های سفید استفاده گردید (Klontz، ۱۹۹۴). نحوه محاسبه تعداد یاخته‌های قرمز در هر میلی‌متر مکعب با رقت یک دویستم (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹): $N = n \times S \times h \times d$

n: مجموع تعداد یاخته‌های قرمز شمارش شده در ۵ مربع کوچک، S: مساحت ۵ مربع (یک پنجم میلی‌متر مربع)، h: ارتفاع هر مربع (۰/۱ میلی‌متر)، d: رقت خون در محلول رقیق‌کننده (یک دویستم)

$N = n \times ۵ \times ۱۰ \times ۲۰۰ = n \times ۱۰۰۰۰$

نحوه محاسبه تعداد یاخته‌های سفید در هر میلی‌متر مکعب خون نیز با رقت یک بیستم (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹): $N = n \times S \times h \times d$

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

$N = n \times ۰/۲۵ \times ۱۰ \times ۲۰۰ = n \times ۵۰۰$

شاخص‌های یاخته‌های قرمز (Red Blood Cell Indices): شاخص‌های یاخته‌های قرمز (MCV، MCHC و MCH) که برای توصیف اندازه یاخته‌ها و میزان هموگلوبین آن‌ها به‌کار می‌رود و از شمارش یاخته‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و هماتوکریت به‌دست می‌آید از روابط زیر محاسبه گردید:

حجم متوسط سلولی (MCV=Mean Corpuscular Volume):

MCV= فمتولیتر (fl) یا میکرومتر مکعب

۱۰×تعداد یاخته‌های قرمز (میلیون عدد در میلی‌متر مکعب)/ هماتوکریت

میانگین غلظت هموگلوبین ذره‌ای (Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration=MCHC):

MCHC= درصد هماتوکریت/ هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر) × ۱۰۰

میانگین هموگلوبین ذره‌ای (Mean Corpuscular Haemoglobin=MCH):

MCH= پیکوگرم

۱۰ ×تعداد یاخته‌های قرمز(میلیون در میلی‌مترمکعب)/ هموگلوبین(گرم در دسی‌لیتر)

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی: با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS-۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و کیت پارس آزمون، میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل و آلبومین محاسبه گردید (Shayne، ۲۰۰۷؛ McClatchey، ۲۰۰۲؛ Moss و Henderson، ۱۹۹۹).

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 ۲۱,۰ استفاده شد. جهت آنالیز آماری داده‌ها از آمار توصیفی به‌منظور تعیین میانگین، انحراف معیار مربوط به شاخص‌های خونی (سرولوژیک و سیتولوژیک) و از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه براساس شاخص‌های مورد بررسی به‌منظور بررسی اختلاف معنی‌دار در سطح خطاهای ۵ درصد بین تیمارها استفاده گردید.

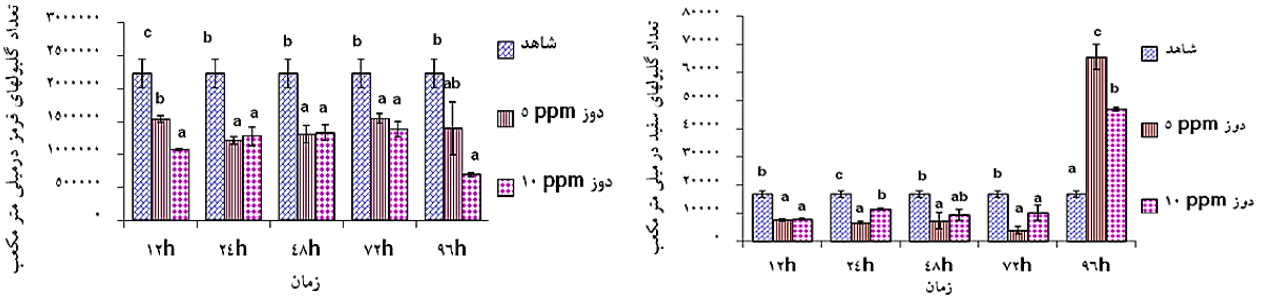
نتایج

مشاهدات ماکروسکوپی: در غلظت ۵ میلی‌گرم 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 ۵ میلی‌گرم در لیتر تورم حلق و آبشش، پرخونی آبشش و خونریزی آبشش و خونریزی داخل روده‌ای مشاهده گردید. در تیمار ۱۰ میلی‌گرم 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 به‌شدت 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.

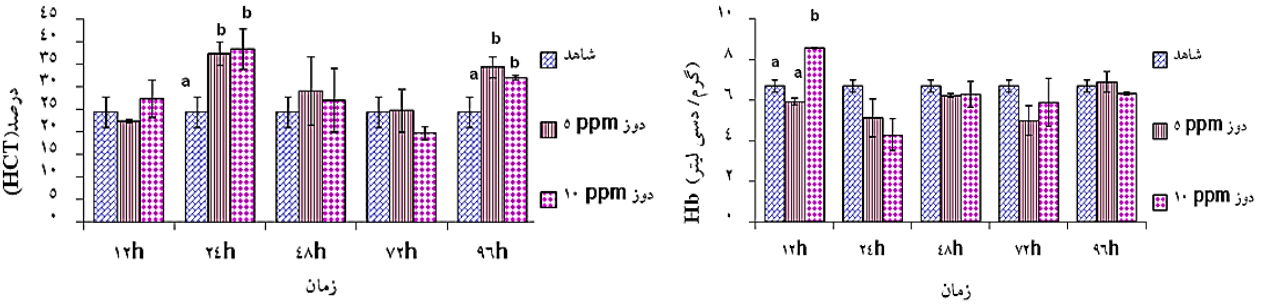
نتایج حاصل از شاخص‌های سیتولوژیکی خون: نتایج نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید خون در تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تا زمان ۷۲ ساعت کم‌تر از تعداد گلبول‌های سفید در تیمار شاهد بود. و در ۱۲ ساعت بین غلظت‌های ۵ و ۱۰ با شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$). درصورتی‌که، غلظت‌های ۵ و ۱۰ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p>0/05$). در ۲۴ ساعت تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با یکدیگر و با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($p<0/05$). در ۴۸ ساعت تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p<0/05$) ولی با تیمار ۱۰ اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p>0/05$). در ۷۲ ساعت تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داده ولی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p>0/05$). در ۹۶ ساعت تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، نسبت به سایر زمان‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0/05$). بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید در ۹۶ ساعت در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر و کم‌ترین تعداد آن در ۷۲ ساعت در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید. هم‌چنین تعداد گلبول‌های قرمز خون در تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در تمامی زمان‌ها تا ۹۶ ساعت کم‌تر از شاهد بود. در ۱۲ ساعت بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$). در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شاهد با تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p<0/05$). ولی دو تیمار ۵ و ۱۰ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p>0/05$). در ۹۶ ساعت تیمار شاهد با تیمار ۵ اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p>0/05$). ولی با تیمار ۱۰ اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p<0/05$). در کل بیش‌ترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار شاهد و کم‌ترین میزان آن در ۹۶ ساعت در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید (شکل ۱).

میزان درصد هماتوکریت خون در زمان‌های متفاوت دارای نوسان بود، به‌طوری‌که، طبق شکل ۲، بین تیمارهای شاهد، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در ۱۲، ۴۸ و ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید ($p>0/05$). در ۲۴ و ۹۶ ساعت در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$)، که با افزایش همراه بود. ولی تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در ۲۴ و ۹۶ ساعت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p>0/05$). بیش‌ترین درصد هماتوکریت در ۲۴ ساعت در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و کم‌ترین میزان آن در ۷۲ ساعت در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده

گردید. متوسط هموگلوبین خون در ۱۲ ساعت در تیمار ۵ میلی‌گرم درلیتر کم‌تر از شاهد و در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، بیش‌تر از شاهد مشاهده شد و شاهد با تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵)، ولی با تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). هم‌چنین تیمار ۵ و ۱۰ با هم اختلاف معنی‌داری نشان دادند(p<۰/۰۵).درزمان‌های ۲۴تا ۹۶ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (p>۰/۰۵) (شکل ۲).

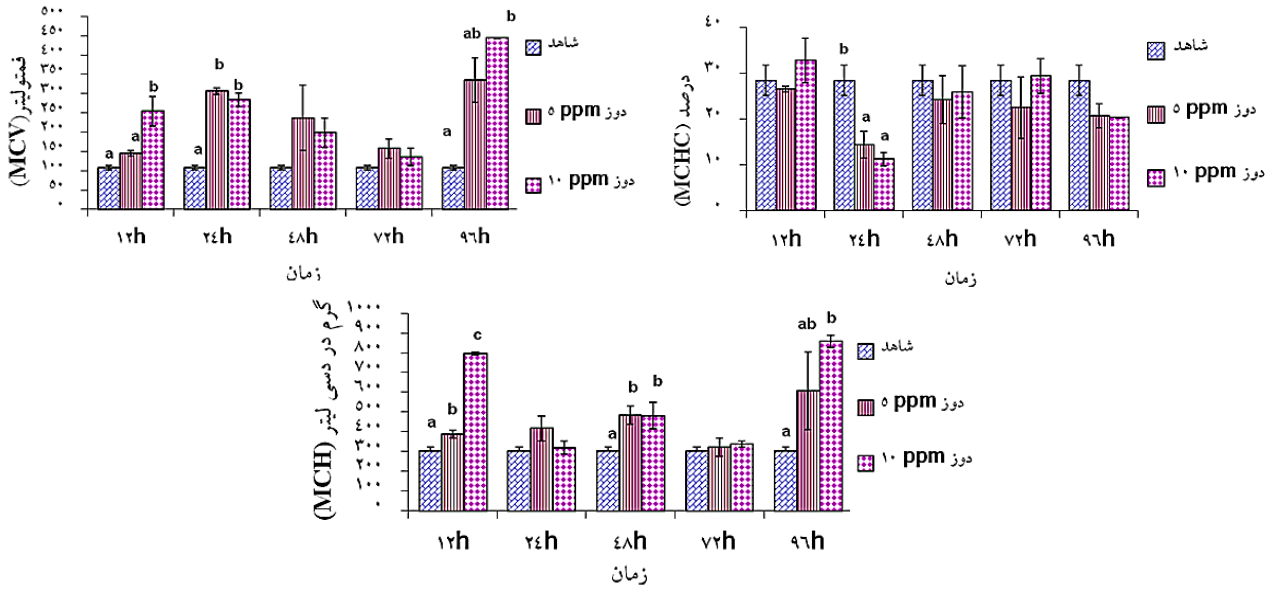


شکل ۱: میانگین± انحراف معیار تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون تحت اثر غلظت‌های متفاوت فلز روی در زمان‌های مختلف (حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است).



شکل ۲: میانگین± انحراف معیار تغییرات سطوح هموگلوبین و درصد هماتوکریت پلاسمای خون تحت اثر غلظت‌های متفاوت فلز روی در زمان‌های مختلف (حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است).

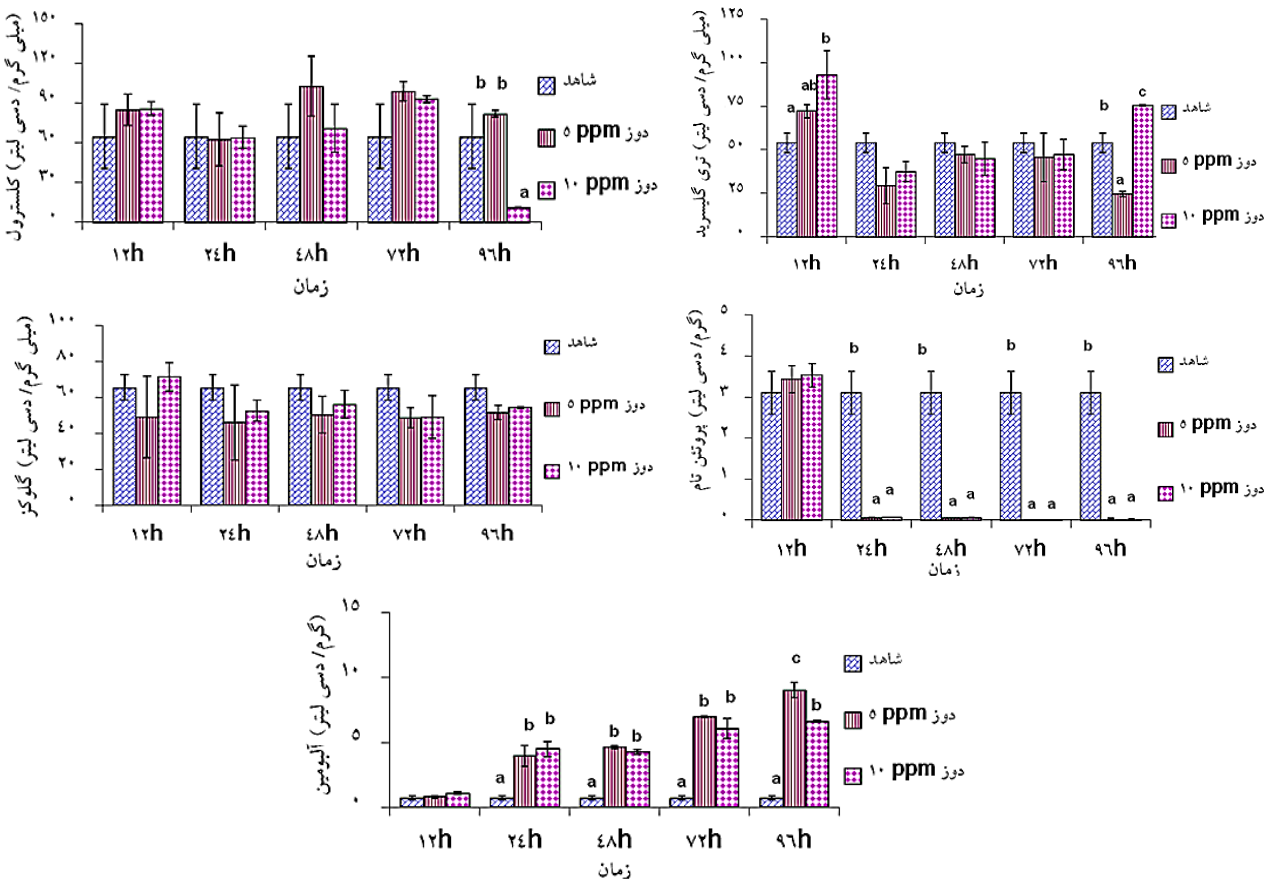
میانگین حجم متوسط سلولی (MCV) در زمان‌ها و تیمارهای مختلف‌دارای نوسان بود. حداکثر میزان آن در ۹۶ ساعت در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و حداقل میزان آن در تیمار شاهد مشاهده شد. در ۱۲ ساعت بین تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). ولی تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر و شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). در ۲۴ ساعت غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی داری نشان دادند(p<۰/۰۵). ولی غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (p>۰/۰۵). در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید (p>۰/۰۵). در ۹۶ ساعت تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر با شاهد و تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). ولی تیمارشاهدبا تیمار ۱۰ اختلاف‌معنی‌داری‌نشان‌داد(p<۰/۰۵). میانگین هموگلوبین ذره‌ای(MCH)در غلظت‌های مختلف دارای نوسان بود. در ۱۲ و ۹۶ ساعت با افزایش غلظت، میانگین هموگلوبین ذره‌ای افزایش یافت. در ۱۲ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد (p<۰/۰۵)، درحالی‌که در ۹۶ ساعت تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر با شاهد و تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). ولی تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). در ۲۴ و ۷۲ ساعت‌اختلاف‌معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد(p>۰/۰۵).در ۴۸ ساعت‌بین‌تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم‌درلیترباشاهد اختلاف‌معنی‌داری‌مشاهده شد (p<۰/۰۵). میانگین غلظت هموگلوبین ذره‌ای (MCHC) در تیمارها و زمان‌های مختلف دارای نوسان بود در ۱۲، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (p>۰/۰۵)، ولی در ۲۴ ساعت در غلظت‌های ۵ و۱۰ میلی‌گرم در لیتر با تیمار شاهداختلاف‌معنی‌داری‌مشاهده‌شد(p<۰/۰۵).ولی‌غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). حداکثر میانگین تغییرات غلظت هموگلوبین ذره‌ای در ۱۲ ساعت‌در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، و حداقل میزان آن در ۲۴ ساعت در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۳).



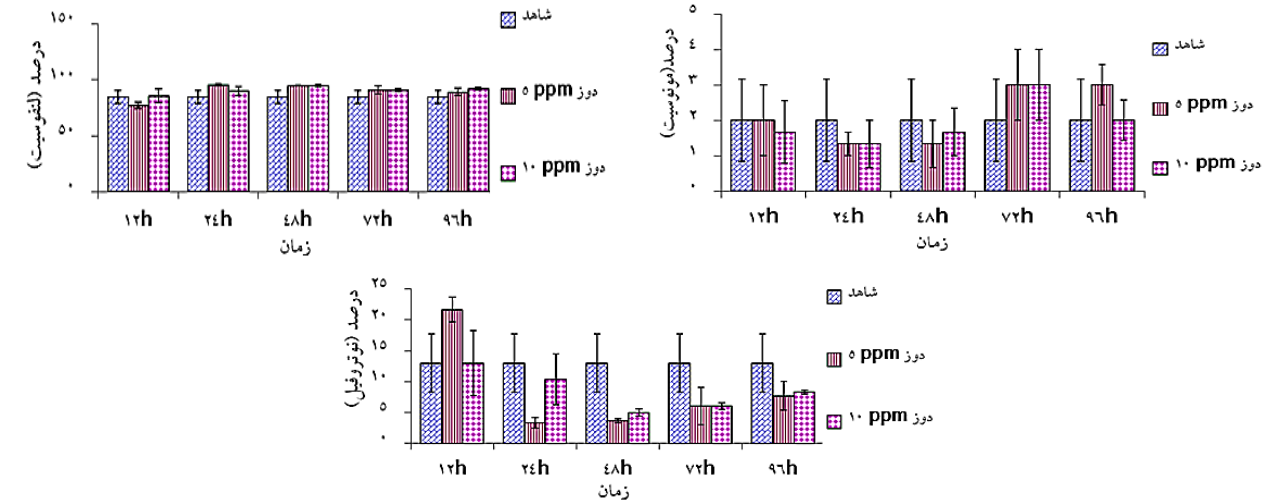
شکل ۳: میانگین± انحراف معیار غلظت حجم متوسط سلولی (MCV)، هموگلوبین ذره‌ای (MCHC) و میانگین هموگلوبین ذره‌ای (MCH) در غلظت‌های مختلف نیترات روی در زمان‌های مختلف (حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است).

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>۰/۰۵). ولی در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده گردید (p<۰/۰۵). در تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، از ۲۴ تا ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید (p>۰/۰۵). ولی در ۹۶ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد (p<۰/۰۵). 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>۰/۰۵). در ۹۶ ساعت تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، با شاهد و تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). 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>۰/۰۵).در ۱۲ ساعت اختلاف معنی‌داری در سطوح پروتئین کل بین تیمارها مشاهده نشد (p>۰/۰۵). ولی در 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<۰/۰۵). بین غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). 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>۰/۰۵). در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده گردید (p<۰/۰۵). 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>۰/۰۵) 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>۰/۰۵). تعداد نوتروفیل‌ها در تیمارها و زمان‌های مختلف فاقد اختلاف معنی‌داری بود (p>۰/۰۵)، 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).



شکل ۴: میانگین± انحراف معیار تغییرات سطوح تری‌گلیسرید، کلسترول، گلوکز، پروتئین کل و آلبومین پلاسمای خون در غلظت‌هاید مختلف نیترات روی در زمان‌های متفاوت (حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است).



شکل ۵: میانگین± 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 مانندرشد 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 ایجادمی‌کند. ازانواع 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 آبزی بیش‌تر تحت تأثیر pH پائین، قلیائیت 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 (Akaheri و Jozwiak، 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 کپورمعمولی 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 نیترات 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. درضمن 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 کپورمعمولی با غلظت‌های غیرکشنده فلز روی، تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین در خون افزایش یافت، ولی تعداد کل لکوسیت‌ها افزایش نیافته بود (Tishinova و IIieva، ۱۹۹۴). هم‌چنین غلظت‌های هموگلوبین و هماتوکریت در بعضی از ماهیان آب‌شیرین مثل کپور معمولی و تیلاپیا 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 مواد سمی 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 (Hct، RBC، MCV، Hb) 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. درصورتی‌که، 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 تنظم 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 درنتیجه 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 اخطاری است و کاهش بعد از آن نشان دهنده سازگاری است. کاهش غلظت هموگلوبین خون که

معمولاً به‌دلیل تاثیر سمی روی بر آبشش ماهی است و هم‌چنین کاهش اکسیژن نشان‌دهنده وجود کم خونی در ماهی و به‌عبارتی افزایش تأثیرات منفی فلز روی می‌باشد (Sovobodava و همکاران، ۱۹۹۴). براساس تحقیقات انجام گرفته روی گونه‌های مختلف، بهترین شاخص خونی برای استرس‌های زیست‌محیطی، 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 می‌یابد. حتی مطالعات میدانی روی بسیاری از گونه‌ها نشان داده که با تغییرات مکان زیست ماهیان در طبیعت و تغییرات سطوح اکسیژن محلول، میزان هموگلوبین دچار تغییر می‌شود (Wunderlin و همکاران، ۲۰۰۱). در مطالعات صورت گرفته توسط (Tavares و همکاران، ۱۹۹۹)، اثرات حاد فلز روی بر بافت خون ماهیان به‌خصوص کپور معمولی نشان داد که تنها در غلظت‌های بالای فلز روی، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت در خون کاهش یافته، در مطالعات بلندمدت، درحالی‌که ماهی در تماس با غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر روی قرار داشته، تغییری در فاکتورهای خونی مشاهده نگردید. براساس نتایج مطالعات بعد از یک روز تماس ماهی کپور با غلظت‌های غیرکشنده فلز روی، تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین و هماتوکریت در بعضی از ماهیان آب شیرین، مثل کپور معمولی و تیلاپیا افزایش یافته است (Tavares و Moraes، ۲۰۰۷). Bansel و همکاران (۱۹۹۷)، در بررسی هماتولوژی که روی ماهیان استخوانی آب‌شیرین انجام دادند، دریافتند یک‌سری از مواد شیمیایی مانند آلدرین، کلروان، متاسیستوکس، مس و اوزون سبب افزایش گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین خون در ماهیان می‌گردد و دسته دیگر همانند کادمیوم، سرب، جیوه و روی سبب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت شده و ایجاد کم خونی در ماهیان می‌کنند. البته این موضوع که مواد سمی نیز می‌توانند بر شاخص‌های خونی ماهیان تأثیر بگذارند، نیز به‌خوبی روشن و آشکار است (Van، ۲۰۰۳). شمارش تعداد سلول‌های قرمز خون همواره یکی از ایندکس‌های قابل اعتماد بوده و ماهی نیز سعی می‌کند تا تعداد این سلول‌ها را تحت شرایط استرس‌زا ثابت نگه داشته و مقدار از دست رفته آن را از طریق مسیرهای مختلف جبران نماید (Vosyliene، ۱۹۹۶). به‌عبارتی وجود فلز روی در محیط‌زیست ماهی فیتوفاگ سبب کاهش مقاومت همولیتیکی آن و در نتیجه افت فشار خون و کم رنگ شدن آبشش‌ها می‌شود (Akaheri و همکاران، ۱۹۹۹). تغییر در فاکتورهای هماتولوژیکی همگی پاسخ ثانویه جاندار به آلاینده‌ها می‌باشند. تماس کوتاه مدت ماهی با غلظت‌های پایین فلزات سنگین، اغلب افزایش اندکی را در میزان فاکتورهای خونی سبب می‌شود. این افزایش نشانگر آغاز واکنش‌هایی در پاسخ به استرس ناشی از تماس با فلزات سنگین می‌باشد. واکنش‌های استرسی در ماهی سبب به‌هم 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 گلبول‌های قرمز و در نتیجه افزایش درصد هماتوکریت می‌گردد (Golovina، ۱۹۹۶). البته این شاخص‌ها تحت شرایط و عوامل دیگری نیز تغییر می‌کنند. در شرایط استرس‌زا، اپی‌نفرین ترشح شده سبب انقباض طحال شده و اریتروسیت از این اندام وارد خون می‌شود، بالا رفتن گلبول‌های قرمز خون خود سهم عمده‌ای در افزایش میزان هماتوکریت دارد (Dunier و همکاران، ۱۹۹۲).

میانگین حجم متوسط سلولی (MCV) در این مطالعه، در زمان‌ها و تیمارهای مختلف دارای نوسان بود. ابتدا افزایش و سپس کاهش فاکتور MCV نشان‌دهنده 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 زمان‌های مختلف دارای نوسان بود. به‌طوری‌که، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p>0/05$). ورود آلاینده‌های مختلف به اکوسیستم‌های آبی می‌تواند عاملی تنش‌زا برای موجودات آبزی محسوب گردد که واکنش موجودات به این عوامل تنش‌زا به‌صورت پاسخ‌های رفتاری، فیزیولوژی و بیوشیمیایی می‌باشد. در این تحقیق نیز هنگامی‌که ماهی در معرض غلظت‌های مختلف فلز روی که عاملی استرس‌زا می‌باشد، قرار گرفت میزان گلوکز خون ماهی کاهش یافت که ناشی از پاسخ‌های هورمونی (آدرنالین، کورتیزول) ماهی به عامل تنش‌زا می‌باشد. البته کاهش سطح گلوکز خون نیز می‌تواند ناشی از گرسنگی باشد (Lwaman و همکاران، ۲۰۰۴). سطوح کلسترول در این مطالعه در تیمارها و زمان‌های مختلف دارای نوسان بود. 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. Gluth و Hanke (۱۹۸۵)، اثر سموم مختلف را در زمان‌های متفاوت بر خون ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرار دادند و گزارش نموده‌اند که میزان پروتئین پلاسما و کلسترول تحت تأثیر سموم مختلف دچار کاهش می‌گردد. پروتئین‌های پلاسما به‌جز ایمونوگلوبولین‌ها در کبد ساخته می‌شوند. با توجه به اثر تخریبی فلز روی بر بافت کبد، ساخت پروتئین‌های کبد کاهش می‌یابد. در ضمن استرس ناشی از مسمومیت و گرسنگی منجر به کاهش پروتئین تام سرم خون در ماهی فیتوفاگ می‌شود (Ranzani و Godinho، ۱۹۸۵). Gopal و همکاران (۱۹۹۷)، اثر فلزات سنگین بر بیوشیمی پروتئین خون ماهی کپور معمولی به‌عنوان یک شاخص زیستی استرس‌زا 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

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 فلزات‌سنگین‌روندمشابهی را نشان‌دادند و بیان داشتند که اندازه‌گیری سطوح پروتئین، آلبومین و گلوبولین به‌عنوان شاخص پاسخ به عوامل استرس‌زای محیطی مطرح می‌باشد.

به‌هرحال 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 یافتن‌مسیرهای‌عمومی‌تنظیم سیستم تبادلات خونی ماهیان می‌باشد، این امر سبب خواهد شد تا به پیدا کردن نقاط بحرانی و محدوده تأثیر برگشت‌پذیر در ماهیان امیدوار بوده‌تا وضعیت‌ماهیان‌درشرایط طبیعی مورد تجزیه و تحلیل دقیق‌تری قرار گیرد. در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گرفت‌که‌تغییرات آشکار فاکتورهای خونی،تحت‌تاثیرغلظت‌های 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 سنگینی هم‌چون روی که بر سلامت، رشد و تولیدمثل تأثیرگذار می‌باشد (جلالی‌جعفری و مشکی، ۱۳۸۶).

انجام اقدامات لازم جهت جلوگیری از آلودگی آب استخرهای پرورشی، به این فلز سنگین توصیه می‌گردد. تفاوت شرایط تغذیه‌ای، محیطی، گونه ماهی، سن، جنس، زمان نمونه‌گیری‌ودقت 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 آبزی‌پروری به‌نظر می‌رسد، باید مطالعات بیش‌تری در ارتباط با پارامترهای خونی آبزیان و چگونگی تغییرات آن‌ها در شرایط مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک صورت‌گیرد. تا به‌موازات گسترش این صنعت بتوان پاسخگوی نیازهای علمی در زمینه پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری بود.

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. **امینی‌رنجبر، غ.، ۱۳۷۳.** بررسی میزان تجمع فلزات سنگین در رسوبات تالاب انزلی. مجله علمی شیلات ایران. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران. ۶ صفحه.

۲. **جلالی‌جعفری، 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 کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. صفحات ۵ تا ۸.

۵. **فتح‌الهی، ر.؛ خارا، ح.؛ پژند، ذ.؛ شناورماسوله، ع.ر.؛ حلاجیان، ع. و مشتاقی، ب.، ۱۳۸۹.** تعیین غلظت کشندگی (LC5096h) کلرید سدیم و اثرات آن بر بافت آبشش بچه تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). نشریه علوم زیستی. دوره ۴، شماره ۳، صفحات ۶۵ تا ۷۲.

۶. **فرهنگی، 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.

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 (تاس‌ماهی ایرانی و ازون‌برون). پایان‌نامه 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 isvaeli mirror carp. Bamidgeh. 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 Jounal 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. Boletin do Instituto de pesca. Rios, F.S., Kalinin. Vol. 12, pp: 25-39.

۳۴. **Satheeshkumar, 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 membrance 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. Hydrobilogia. 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 (*Oncorhychus 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 fur 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. Toxical-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.