# تعیین بیومارکرهای خونی آلودگی سرب در خلیج گرگان با استفاده از شاخص‌های خون‌شناسی گاوماهی لکه‌دار (*Neogobius melanostomus*, Pallas 1814)


- **فخریه امیدی***: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
- **حجت‌الله جعفریان**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
- **رحمان پاتیمار**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
- **محمد هرسیج**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
- **حامد پاک‌نژاد**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران


تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۸

## چکیده

**تحقیق حاضر، جهت مهیا کردن اطلاعات پایه‌ای از آسیب‌های اکوفیزیولوژیکی (شاخص‌های خونی) گاوماهی لکه‌دار در شرایط آزمایشگاهی و محیطی آلودگی سرب و در نهایت طراحی بیومارکرهای خونی ردیابی آلودگی سرب، در خلیج گرگان انجام گردید. در مطالعات آزمایشگاهی، ٤٠٠ قطعه گاوماهی لکه‌دار با میانگین وزنی ۳۵±۷/۱٦ گرم به‌طور زنده صید شده و به‌مدت ١٤روز در معرض غلظت‌های ۰، ۳/۷۵، ۷/۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر سرب قرار داده شدند. پس از اتمام آزمایش، از ماهیان نمونه‌های خون و کبد تهیه شده و مورد آنالیزهای خون‌شناسی و سم‌شناسی قرار داده شدند. در تست میدانی، نمونه‌های ماهی، آب و رسوب، از ٤ منطقه به‌نام خزینی۱، خزینی۲، قره سو و گرگانرود تهیه گردید. علاوه بر سنجش سرب در آب، رسوب و بافت کبد، نمونه‌های خون ماهیان نیز، مشابه آن‌چه در مورد شرایط آزمایشگاهی ذکر شد، آنالیز گردید. طبق نتایج، از بین پارامترهای خون‌شناسی گاوماهی لکه‌دار، مونوسیت، گلبول قرمز، هموگلوبین و MCHC، یک همبستگی مثبت و قابل توجه‌ای و لنفوسیت و MCV، یک همبستگی منفی و قابل توجه‌ای با آلودگی سرب تجمع یافته در کبد گاوماهیان در شرایط آزمایشگاهی نشان داد و در شرایط محیطی، مونوسیت یک همبستگی مثبت و معنی‌داری و ائوزینوفیل یک همبستگی منفی و معنی‌داری با آلودگی سرب کبد گاوماهیان در شرایط محیطی نشان داد. نوتروفیل نیز، یک روند افزایشی را با تغییرات آلودگی سرب کبد نشان داد، ولی این تغییرات معنی‌دار نبود. در مجموع ، از بین شاخص‌های خونی گاوماهی لکه‌دار، درصد مونوسیت خون به‌دلیل نشان دادن همبستگی بالا و روند یکسان در هر دو شرایط محیطی و آزمایشگاهی (P<۰/۰۵)، به‌عنوان مؤثرترین و کارآمدترین بیومارکرخونی آلودگی سرب در گاو ماهی لکه‌دار پیشنهاد گردید.**

**کلمات کلیدی:** بیومارکر خونی، آلودگی سرب، خلیج گرگان، *Neogobius melanostomus*



* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: fakhriyeh.omidi90@gmail

(DOI): 10.22034/aej.2020.113071



## مقدمه

امروزه یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های زیست‌محیطی در اکوسیستم‌های آبی، ورود، انتشار و تأثیر آلاینده‌های مختلف در اکوسیتم‌های آبی می‌باشد(Kar و همکاران، ۲۰۰۸).با پیشرفت تکنولوژی وبالطبع توسعه صنایع مختلف و در پی آن توسعه مناطق کشاورزی و استفاده از کودها و سموم دفع آفات و هم‌چنین آلودگی نفتی موجب گردیده تا میزان زیادی از فاضلاب‌های صنعتی و شهری که دارای ترکیبات شیمیایی مختلف، مخصوصاً فلزات سنگین می‌باشند، وارد اکوسیستم‌های آبی گردند(Al-Ghadban و همکاران، ۱۹۹۶).فلزات سنگین در صورتی‌که، غلظت آن‌ها از حد معینی فراتر برود، ممکن است باعث تغییر در روند طبیعی اکوسیستم‌های آبی و عملکرد صحیح اجزای بدن آبزیان شود (Turkmen و همکاران، ۲۰۰۹؛ Demirak و همکاران، ۲۰۰۶). سرب یکی از فلزات غیر ضروری برای ارگانیسم‌های زنده است، که حتی در غلظت‌های کم سمی است(Bryan، ۱۹۷۶). به‌طوری‌که آلودگی زیست محیطی آن به یک مشکل جهانی تبدیل شده است (Makokha و همکاران، ۲۰۱۱).بیومارکرها یانشانگرهای زیستی،شاخص‌های ژنتیکی، بیوشیمیایی، سلولی، بافتی، خون شناسی، آنزیمی و جمعیتی هستند، که به ردیابی اثرات ثانویه آلاینده‌ها بر آبزیان می‌پردازند و وضعیت فیزیولوژیک آبزی را جهت ارزیابی سلامت آبزیان و نهایتاً اکوسیستم آبی مورد بررسی قرار می‌دهند(Holdway،۱۹۹۶).استفاده‌از پارامترهای خونی به‌عنوان شاخصی به‌منظور بررسی اثرات استرس‌های تحت کشنده در ماهی‌ها در حال افزایش است (Cataldi و همکاران، ۱۹۹۸). این موضوع که خون آسیب‌های به‌وجود آمده در اثر سمیت فلزات سنگین را قبل از آسیب‌های ظاهری نشان می‌دهد، بسیار شناخته شده می‌باشد، هم‌چنین خون در تمام عملکردهای بدن دخالت دارد، بنابراین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین پارامترها در تشخیص وضعیت سلامت موجود قرار گرفته در معرض آلاینده، به‌شمار می‌رود (BelaZutshi و همکاران، ۲۰۱۰). گزارشات متعددی در ارتباط با بررسی پارامترهای خونی ماهیان، در معرض فلزات سنگین وجود دارد. Kim و Kang (۲۰۱۵)، اثر رژیم غذایی حاوی غلظت‌های مختلف سرب را، روی پارامترهای خون ماهی راک‌فیش(*Sebastes schlegelii*)، مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد، تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون به‌طور قابل توجه‌ای کاهش یافت. در تحقیقات دیگر، خبازی و همکاران (۱۳۹۴)، پارامترهای هماتولوژیک قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را، در غلظت‌های تحت کشنده فلز مس($CuSo_4$)،هدایتی(۱۳۹۰)، پارامترهای خونی ماهی شانک زرد باله‌را،در خوریات ماهشهر آلوده به‌فلز جیوه و هم‌چنین وابونیان (۱۳۹۱)، برخی پارامترهای هماتولوژیک ماهی شانک زردباله ( *Acantopagrus latus*) را، در غلظت‌های تحت کشنده کادمیم، مورد بررسی قرار دادند. مطالعات انجام شده نشان داده، که ماهی گزینه مناسبی برای مطالعه اثرات فلزات سنگین در اکوسیستم آبی می‌باشد، زیرا ماهیان در سطوح بالایی هرم غذایی قرار دارند، دارای ارزش بیولوژیکی و اکولوژیکی بیش‌تری بوده و اطلاعات از ماهی نسبت به سایر آبزیان بیش‌تر موجود است (Hesp و همکاران، ۲۰۰۴). گاوماهیان از رده ماهی‌های استخوانی بوده که با ۲۱۲ جنس و حداقل ۱۹۵۰ گونه شناخته شده، جزو بزرگ‌ترین خانواده ماهی‌ها پس از کپورماهیان می‌باشند (Nelson، ۲۰۰۶). گاوماهیان به‌علت عدم بهره‌برداری و فراوانی گونه‌ای و هم‌چنین جمعیت زیادشان در دریای خزر، در تولید عمومی این دریا نقش مهمی را ایفا می‌کنند. در دریای خزر گونه‌های مختلف این خانواده از ماهیان بسترهای متفاوت مانند سنگی، ماسه‌ای، صدفی، گلی تا لجنی را برای زیست انتخاب می‌کنند (Stepanova، ۲۰۰۱). غذاهای مصرفی این خانواده شامل سخت‌پوستان کوچک، نرم‌تنان، کرم‌های حلقوی، کرم‌های پرتار، روزن‌داران، ماهی‌های کوچک، تخم بی‌مهرگان مختلف و ماهی‌ها می‌باشد (Corkum و همکاران، ۲۰۰۴). خلیج گرگان بین عرض جغرافیایی " ۴۵ ، ۳۷ ، °۳۶ و طول جغرافیای "۵۴ ، ۵ ، °۵۳ واقع شده است. مساحت کلی آن ۴۰۰ کیلومتر مربع می‌باشد، شکل آن سه گوش بوده و طول آن حدود ۶۰ کیلومتر و بیش‌ترین پهنای آن ۱۲ کیلومتر است. خلیج از شرق به غرب کشیده شده و رأس آن در غرب قرار داشته و حاشیه باریک و دراز میانکاله، آن را از دریا جدا می‌سازد. و رودخانه‌های کوچک زیادی که از کوه‌های جنوبی سرچشمه می گیرند، به آن می‌ریزد ( منصوری، ۱۳۹۵).افزایش جمعیت انسانی و هم‌چنین افزایش فعالیت‌های کشاورزی و صنعتی منجر به افزایش آلاینده‌های مختلف شده است که بخش عمده‌ایی از آن‌ها وارد خلیج گرگان می‌شود. در سال‌های آینده انتظار می‌رود که میزان تولید این آلاینده‌ها به‌صورت چشمگیری افزایش یابد. بنابراین در تحقیق حاضر به تعیین بیومارکرهای خونی آلودگی سرب در خلیج گرگان، با استفاده از شاخص‌های اکوفیزیولوژیک (شاخص خونی) گاو ماهی لکه‌دار به‌عنوان مدل زیستی، پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

### شرایط آزمایشگاهی

**تهیه ماهی:** این تحقیق در تابستان سال ۱۳۹۷، در سالن شهید ناصرفضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. برای انجام آزمایش، تقریباً حدود ۴۰۰ قطعه گاوماهی لکه‌دار با میانگین وزنی ۷/۱۶±۳۵گرم، از سایت خزینی یک (منطقه‌ای با آلودگی کم‌تر) در خلیج گرگان، توسط تور صید و به‌صورت زنده، به

(DOI): 10.22034/aej.2020.113071



وسیله پلاستیک‌های حاوی یک‌سوم آب و مابقی‌اکسیژن، به آزمایشگاه منتقل گردیدند. ماهیان به‌منظور سازش با موقعیت جدید به‌مدت دو هفته در مخازن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری محتوی آب دریای فیلتر شده، و در شرایط نوری طبیعی، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، نگه‌داری شدند. هم‌چنین ماهیان با استفاده از کیلکای چرخ‌شده به‌صورت روزانه (سه درصد وزن بدن)، تغذیه شدند. به‌منظور حذف متابولیت‌ها و غذای خورده نشده، ۵۰٪ آب به‌صورت روزانه تعویض شد و آب مورد نیاز برای تعویض مخازن به‌وسیله تانکرهای ۲۰۰۰ لیتری، از قسمت‌های غیرآلوده خلیج گرگان، به آزمایشگاه منتقل و بعد از فیلترشدن، مورد استفاده قرار گرفت.

**تعیین غلظت کشندگی متوسط:** جهت انجام این آزمایش، ۸ غلظت درنظر گرفته شد. غلظت‌های اسمی برای نیترات (II) سرب شامل ۱، ۱۰، ۲۰، ۶۰، ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات (II) سرب بود. ۲۴ ساعت قبل از انجام این آزمایش، تغذیه ماهیان متوقف گردید. برای هر غلظت سه تکرار درنظر گرفته شد و در هر مخزن ۲۰ لیتری، ۷ قطعه گاوماهی لکه‌دار، به‌صورت تصادفی توزیع شد. تلفات ماهیان هر ۲۴ ساعت ثبت و جمع‌آوری گردید و این کار تا انتهای ۹۶ ساعت (چهار روز) انجام پذیرفت. غلظت کشندگی متوسط با استفاده از نرم‌افزار پروبیت انجام پذیرفت.

**آزمایش سمیت تحت حاد:** این آزمایش به‌مدت ۱۴روز و با غلظت‌های ۰، ۷/۵، ۱۵ و ۳۰٪ غلظت کشنده از آلاینده نیترات (II) سرب انجام پذیرفت. غلظت‌های تعیین شده، ۰، ۶، ۱۲ و ۲۴ میلی‌گرم بر لیتر نیترات(II) سرب، تعیین شد. به‌طوری‌که ماده موثر سرب موجود در غلظت‌های تعیین شده، ۰، ۳/۷۵، ۷/۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر بود. این آزمایش در ۱۲ مخزن ۲۰ لیتری (چهار غلظت متفاوت در سه تکرار)، برای تعیین سمیت تحت کشنده سرب انجام پذیرفت. آزمایش سمیت تحت‌کشنده به‌صورت تجدیدپذیر بود و تعویض آب در مخازن آزمایش انجام گرفت و غذادهی نیز در زمان‌های متناوب (۱۰ صبح و ۲ بعد ازظهر) و به‌میزان سه درصد وزن بدن، انجام گرفت. در پایان دوره آزمایش، ابتدا ماهیان با یک PPT، ماده بی‌هوش‌کننده گل میخک بی‌هوش گردیده و سپس از ماهی‌ها، به‌وسیله سرنگ، خون گرفته شد. نمونه‌های خون با لوله‌های حاوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید به آزمایشگاه منتقل گردید، هم‌چنین جهت آزمایشات سم‌شناسی، از ماهیان نمونه‌برداری بافت کبد، صورت گرفت.

**آنالیز نمونه‌های خون:** در این آزمایش، ویژگی‌های خون‌شناسی شامل تعداد گلبول‌های قرمز با استفاده از لام نئوبار و استفاده از محلول دیس (Houston، ۱۹۹۰)، درصد هماتوکریت به‌روش میکروهماتوکریت (Dacie و Lewis، ۲۰۰۱)، هموگلوبین به‌روش استاندارد (Houston، ۱۹۹۰)، با استفاده از کیت سنجش هموگلوبین ساخت شرکت زیست شیمی تهران مورد سنجش قرار گفت و برای محاسبه شاخص‌های حجم‌متوسط گلبولی (MCV)، وزن هموگلوبین داخل گلبولی (MCH) و درصدغلظت‌هموگلوبین داخل‌گلبولی در یک گلبول قرمز (MCHC)، از روابط زیر استفاده گردید (Houston، ۱۹۹۰).

$$MCV(fl) = [(\text{مقدار هماتوکریت})/(\text{قرمز گلبول برحسب میلیون در } mm^3)] \times ۱۰$$

$$MCH(pg) = [(\text{مقدار هموگلوبین})/(\text{قرمز گلبول برحسب میلیون در } mm^3)] \times ۱۰$$

$$MCHC(g/dL) = [(\text{مقدار هموگلوبین})/(\text{مقدار هماتوکریت})] \times ۱۰۰$$

پارامترهای ایمنی‌شناسی خون، شامل تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از لام نئوبار و استفاده از محلول دیس (Houston، ۱۹۹۰)، و شمارش افتراقی، درصد لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و بازوفیل نیز، با تهیه گسترش‌های خونی و رنگ‌آمیزی گیمسا (Lim و همکاران، ۲۰۰۰) ، مورد سنجش قرار گرفت.

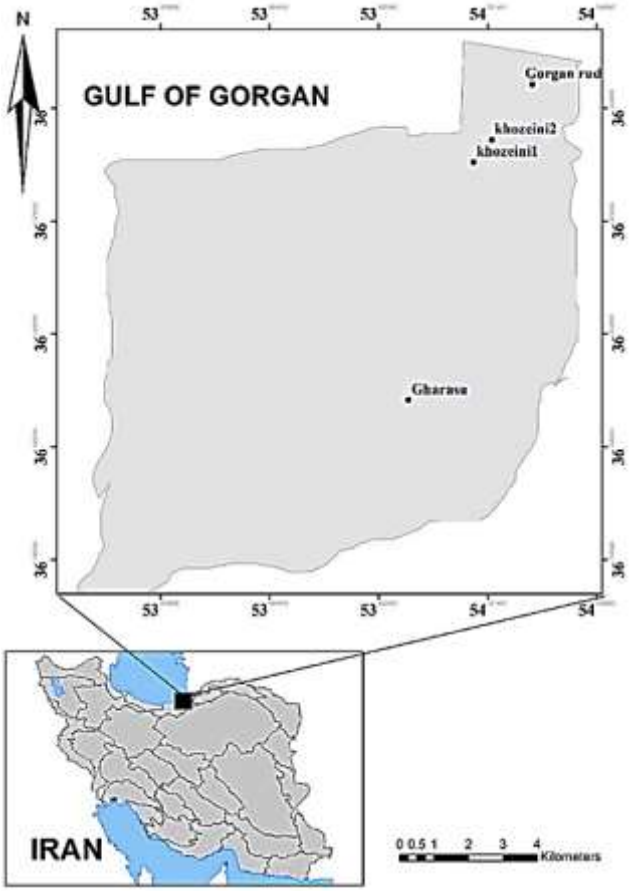
**شرایط محیطی**

**زمان و مکان نمونه‌برداری**: این تحقیق در تابستان ۱۳۹۷، در حوضه‌جنوب‌شرقی دریای‌خزر و خلیج‌گرگان تا منطقه میان‌قلعه، واقع در بخش‌شرقی شبه‌جزیره میانکاله (منطقه بندرترکمن) صورت گرفت (شکل۱). منطقه موردمطالعه باتوجه به دسترسی منطقه، میزان صید ماهی‌و بارآلاینده ورودی،به چندسایت نمونه‌برداری،تقسیم‌شد. سایت خزینی ۱ (شاهد) و خزینی ۲ با آلودگی کم‌تر و قره‌سو و گرگانرود با آلودگی بیش‌تر می‌باشد و مختصات جغرافیایی آن‌ها بین ۳۶ درجه و ۴۹ دقیقه تا ۳۶ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی و ۵۴ درجه و ۱ دقیقه تا ۵۴ درجه و ۲ دقیقه شرقی واقع‌شده است.مجموعاً ۲۰۰ عدد ماهی‌با میانگین‌وزنی ۳/۸۷±۲۸/۶گرم،از تمامی‌سایت‌ها صیدشد. درهر سایت، بلافاصله پس از صیدماهی، نمونه‌های‌خون و بافت کبد درسه‌تکرار به روش توضیح‌داده‌شده‌در بخش‌شرایط آزمایشگاهی، تهیه‌و به آزمایشگاه جهت آنالیز خون‌شناسی به‌روش ذکرشده، منتقل گردید. علاوه بر آن، به همراه نمونه‌ها، نمونه آب و رسوب نیز در سه تکرار از هر سایت نمونه‌برداری، تهیه شده و در مجاورت یخ، جهت سنجش میزان سرب موجود در آب، رسوب و بافت کبد، با استفاده از دستگاه جذب اتمی و رورش مورد قبول Moopam (۱۹۹۹)، به آزمایشگاه منتقل گردید.

**تجزیه و تحلیل‌داده‌ها:** جهت مشخص‌کردن نرمال‌بودن‌داده‌ها، از آزمون اسمرینوف-کولوموگراف استفاده شد. سپس، اطلاعات حاصل از آنالیزهای خون‌شناسی و سم‌شناسی، با انجام آزمون آنوای یک‌طرفه و تست‌دانکن در سطح اطمینان ۹۵درصد، موردتجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. در نهایت هم از آزمون همبستگی، جهت تعیین همبستگی بین غلظت سرب اندازه‌گیری شده در نمونه‌ها (کبد ماهیان) با میزان بیومارکرهای‌اندازه‌گیری‌شده (شاخص‌های خونی)، استفاده شد. جهت تجزیه‌و تحلیل آماری‌اطلاعات تحقیق‌حاضر،از نرم‌افزار Rاستفاده‌گردید.

(DOI): 10.22034/aej.2020.113071






**شکل۱: نقشه سایت‌های انتخاب شده جهت انجام مطالعات محیطی**

## نتایج

**تعیین غلظت کشندگی متوسط:** پس از ثبت داده‌های مرگ و میر در غلظت‌های موجود و استفاده از نرم‌افزار پروبیت، میزان غلظت کشندگی متوسط نیترات (II) سرب در محدوده اطمینان ۹۵ درصد، ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد (جدول۱).

**جدول ۱: میانگین غلظت کشنده نیترات (II) سرب در گاوماهی لکه‌دار در ساعات ( ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶)**

| غلظت کشنده (میلی‌گرم برلیتر) | زمان در معرض گذاری (ساعت) |
|---|---|
| ۱۳۰/۵۰ | ۲۴ |
| ۱۲۳/۴۰ | ۴۸ |
| ۸۹/۰۰ | ۷۲ |
| ۸۰/۰۰ | ۹۶ |

**غلظت سرب در نمونه‌های آب، رسوب و کبد:** دامنه غلظت سرب در آب مناطق نمونه‌برداری بین ۰/۱ تا ۶/۴۵ میکروگرم بر لیتر بود (جدول۲). به‌جز منطقه قره‌سو، مقدار سرب موجود در آب مناطق مختلف اختلاف معنی‌داری با منطقه شاهد (خزینی۱) نشان ندادند (P>۰/۰۵) و بیش‌ترین سرب آب در منطقه قره‌سو یافت شد. که این نتایج کاملاً منطبق بر فعالیت‌های ساحلی در مجاورت مناطق بود، منطقه خزینی ۱ و ۲ در مجاورت کانال خزینی قرار داشت و هیچ‌گونه خروجی فاضلابی در مجاورت آن‌ها نبود، در حالی‌که مناطق قره‌سو و گرگانرود در مجاورت رودخانه‌های قره‌سو و گرگانرود که حامل آلودگی به خلیج گرگان بودند، قرار داشت. برخلاف سرب آب، مقادیر سرب موجود در رسوب مناطق مختلف، تفاوت معنی‌داری با منطقه شاهد داشتند (P<۰/۰۵). محدوده غلظت سرب رسوبات نیز ۶۰۰۰ تا ۱۲۰۰۰/۵۰۰ میکروگرم برکیلوگرم وزن خشک رسوبات بود.

**جدول۲: میزان سرب موجود درآب و رسوبات مناطق نمونه‌برداری خلیج گرگان**

| مناطق | سرب در آب (میکروگرم بر لیتر) | سرب در رسوبات (میکروگرم بر کیلوگرم) |
|---|---|---|
| خزینی ۱ | ۰/۱۰ ± ۰/۰۰$^{b}$ | ۶۰۰۰/۰۰ ± ۱۰۰۰$^{c}$ |
| خزینی۲ | ۰/۵۰ ± ۰/۴۰$^{b}$ | ۸۰۰۰/۰۰ ± ۰/۰۰$^{b}$ |
| قره سو | ۶/۴۵ ± ۰/۳۵$^{a}$ | ۱۲۰۰۰/۵۰۰ ± ۵۰۰$^{a}$ |
| گرکانرود | ۰/۴۰± ۰/۱۰$^{b}$ | ۱۱۰۰۰/۵۰۰ ± ۵۰۰$^{a}$ |

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.

غلظت سرب در بافت کبد ماهیان مناطق خزینی۱، خزینی۲، قره‌سووگرگانرود به‌ترتیب ۳۷/۴۴، ۳۳/۸۱، ۶۰/۶۹و ۵۷/۸۶ میکروگرم بر کیلوگرم وزن خشک بود (جدول ۳). نتایج سنجش غلظت سرب کبد ماهیان در مناطق مختلف نشان داد، میزان سرب در کبد ماهیان در مناطق آلوده نسبت به منطقه شاهد (خزینی۱) افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). بین غلظت سرب در کبد ماهی و رسوب محل صید آن همبستگی معنی‌داری مشاهده گردید (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که ضریب همبستگی بین غلظت سرب در رسوب و غلظت سرب در کبد ماهیان، مقدار عددی بالایی(۰/۹۰)، نشان داد. درحالی‌که غلظت سرب در کبد ماهی با آب محل صید آن، ضریب همبستگی کم‌تری (۰/۶۲)، نسبت به رسوب داشت. غلظت سرب در کبد ماهیان قرار گرفته در معرض غلظت‌های تحت‌کشندگی سرب در شرایط آزمایشگاهی، در جدول ۳، نشان داده شده است. تجمع سرب در کبد این ماهیان ۴۵/۱۴، ۴۵/۶۴، ۵۷/۸۴ و ۹۸/۶۵ میکروگرم برکیلوگرم وزن خشک بود. به‌طوری‌که با افزایش غلظت تحت حاد سرب، میزان سرب کبد هم افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵).

(DOI): 10.22034/aej.2020.113071



**جدول۳: میزان سرب موجود در کبد ماهیان در شرایط محیطی و آزمایشگاه**

| | شرایط آزمایشگاه | شرایط محیطی | |
|---|---|---|---|
| **تیمارها** | غلظت سرب کبد (میکروگرم بر کیلوگرم) | مناطق | غلظت سرب کبد (میکروگرم بر کیلوگرم) |
| شاهد (۰ میلی‌گرم بر لیتر) | ۴۵/۶۴ ±۰ /۴۹$^{c}$ | خزینی ۱ | ۳۷/۴۴±۱ /۰۰$^{b}$ |
| تیمار۱ (۳/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) | ۴۵/۱۴± ۱/۰۰$^{c}$ | خزینی۲ | ۳۳/ ۸۱± ۳/۶۱$^{b}$ |
| (۷/۵ میلی‌گرم بر لیتر) تیمار۲ | ۵۷/۸۴ ±۱/۵۰ $^{b}$ | قره سو | ۶۰/۶۹±۱ /۳۱$^{a}$ |
| تیمار۳ ( ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر) | ۹۸/۶۵± ۲/۶۵$^{a}$ | گرکانرود | ۵۷/۸۶± ۴/۱۴$^{a}$ |

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح (P< ۰/۰۵) می‌باشد.

**سنجش پارامترهای خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی در غلظت‌های تحت کشنده سرب:** طبق نتایج (جدول۴)، با افزایش غلظت سرب تفاوت معنی‌داری در میزان سطوح هماتوکریت، MCH، گلبول‌های سفید، نوتروفیل، بازوفیل و ائوزینوفیل خون مشاهده نشد (P>۰/۰۵)، در حالی‌که با افزایش غلظت سرب در آزمایشگاه، یک روند افزایشی معنی‌داری در میزان سطوح گلبول قرمز، هموگلوبین، MCHC و مونسیت خون، و یک روند کاهشی معنی‌داری در میزان سطوح MCV و لنفوسیت خون نسبت به تیمار شاهد، مشاهده شد (P<۰/۰۵).

**جدول۴: اثر غلظت‌های مختلف سرب بر پارامترهای هماتولوژی گاوماهی بعد از ۱۴روز در معرض گذاری**

| پارامترها | شاهد | تیمار۱ | تیمار۲ | تیمار۳ |
|---|---|---|---|---|
| | ۰ میلی‌گرم بر لیتر | ۳/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر | ۷/۵ میلی‌گرم بر لیتر | ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر |
| گلبول قرمز (شمارش×۱۰ میلیون/ میلی‌متر مکعب) | ۰/۸۳± ۰/۰۱$^{c}$ | ۰/۸۴ ±۰/۰۰۲$^{c}$ | ۱/۰۸ ± ۰/۰۰$^{b}$ | ۱/۳۷ ± ۰/۱۸$^{a}$ |
| هموگلوبین (گرم بر دسی‌لتر) | ۱/۳۸ ± ۰/۰۵$^{d}$ | ۱/۵۶ ± ۰/۰۹$^{c}$ | ۲/۲۲ ± ۰/۰۱$^{b}$ | ۲/۶۸ ± ۰/۱ $^{a}$ |
| هماتوکریت (درصد) | ۳۹/۰۰ ± ۴/۰۰$^{a}$ | ۳۰/۵۰ ± ۰/۵۰$^{a}$ | ۳۵/۵۰ ± ۳/۵۰$^{a}$ | ۳۰/۸۳ ± ۱/۰۴$^{a}$ |
| MCV (فمتولیتر) | ۴۷۰/۳۰ ± ۷۵/۸۹ $^{a}$ | ۳۶۲/۰۳ ±۷ /۰۰۹ $^{b}$ | ۳۲۸/۷۰ ± ۳۲/۴۰$^{b}$ | ۲۲۸/۲۲ ± ۴۱/۲۹$^{c}$ |
| MCH (پیکوگرم) | ۱۶/۵۹ ± ۰/۶۱$^{a}$ | ۱۸/۵۶ ± ۱/۰۳ $^{a}$ | ۲۰/۶۱ ± ۰/۱۷$^{a}$ | ۱۹/۸۸ ± ۳/۳۱ $^{a}$ |
| MCHC (درصد) | ۳/۶۱ ± ۰/۷$^{d}$ | ۵/۱۳ ± ۰ /۴۰$^{c}$ | ۶/۳۱± ۰/۶۷$^{b}$ | ۸/۷۱ ± ۰/۱۱$^{a}$ |
| گلبول سفید (شمارش×۱۰ میلیون/ میلی‌متر مکعب) | ۲۰/۸۷ ± ۰/۰۰$^{a}$ | ۱۶/۲۵ ± ۱/۲۵$^{a}$ | ۱۰/۶۲ ± ۱/۸۷ $^{a}$ | ۱۶/۵۱ ± ۷/۸۶$^{a}$ |
| لنفوسیت (درصد) | ۷۹/۳۳ ± ۱/۵۲$^{a}$ | ۶۷/۶۶ ± ۶/۴۳ $^{b}$ | ۶۹/۰۰ ± ۲/۰۰$^{b}$ | ۶۰/۰۰ ± ۲/۰۰$^{b}$ |
| مونوسیت (درصد) | ۱۶/۳۳ ± ۱/۵۲ $^{c}$ | ۲۱/۳۳ ±۴/۶۱ $^{bc}$ | ۲۴/۰۰ ± ۱/۰۰$^{b}$ | ۳۳/۰۰ ± ۳/۰۰$^{a}$ |
| نوتروفیل (درصد) | ۱/۰۰ ± ۰/ ۵۷$^{a}$ | ۱/۶۶ ± ۰/۱۱$^{a}$ | ۲/۶۶ ±۰/۴۶$^{a}$ | ۲/۰۰ ± ۰/۵۷$^{a}$ |
| بازوفیل (درصد) | ۱/۳۳ ±۰/ ۲۳$^{a}$ | ۲/۰۰ ± ۰/۵۷$^{a}$ | ۱/۰۰ ± ۰/۵۷$^{a}$ | ۱/۰۰ ± ۰/۵۷$^{a}$ |
| ائوزینوفیل (درصد) | ۲/۰۰ ± ۰/۰۰$^{a}$ | ۷/ ۳۳± ۰/۵۷$^{a}$ | ۳/۳۳ ± ۰/۶۴$^{a}$ | ۴/۰۰ ± ۰/۶$^{a}$ |

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.

نتایج همبستگی غلظت‌های سرب بافت کبد با شاخص‌های خونی و ایمنی خون گاو ماهی لکه‌دار در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که مونوسیت، گلبول قرمز، هموگلوبین و MCHC، یک همبستگی مثبت و قابل توجه‌ای و لنفوسیت و MCV یک همبستگی منفی و قابل توجه‌ای با آلودگی سرب تجمع یافته در کبد گاوماهیان در شرایط آزمایشگاهی نشان داد جدول (۵).

**جدول۵: همبستگی پارامترهای هماتولوژی گاوماهی با غلظت‌های سرب بافت کبد در شرایط آزمایشگاهی**

| | لنفوسیت | مونوسیت | گلبول قرمز | هموگلوبین | MCV | MCHC |
|---|---|---|---|---|---|---|
| همبستگی پیرسون (r) | -۰/۷۲** | ۰/۸۶** | ۰/۹۰** | ۰/۹۰ | -۰/۷۸** | ۰/۹۰** |
| (p) sig | ۰/۰۰۷ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰۳ | ۰/۰۰ |

* همبستگی در سطح ۰/۰۵، ** همبستگی در سطح ۰/۰۱

(DOI): 10.22034/aej.2020.113071



**سنجش پارامترهای خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی در شرایط محیطی:** در مطالعه محیطی، پارامترهای هموگلوبین، گلبول قرمز، هماتوکریت، MCV، MCH، MCHC، گلبول سفید، لنفوسیت و بازوفیل تفاوت معنی‌داری با تغییرات آلودگی نشان نداد (P>۰/۰۵). به‌جز مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل که تفاوت معنی‌داری با تغییرات آلودگی در محیط نشان داد(P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که درصد مونوسیت و نوتروفیل با تغییرات آلودگی یک روند افزایشی نسبت به منطقه شاهد نشان داد ولی درصد ائوزینوفیل یک روند کاهشی نسبت به منطقه شاهد داشت (جدول ۶).

**جدول۶: پارامترهای هماتولوژی گاو ماهی لکه‌دار در مناطق نمونه‌برداری در خلیج گرگان**

| پارامترها | مناطق نمونه‌برداری | | | |
|---|---|---|---|---|
| | خزینی۱ | خزینی۲ | قره سو | گرگانرود |
| گلبول قرمز (شمارش×۱۰ میلیون/ میلی‌متر مکعب) | ۱/۲۶ ± ۰/۰۹$^{a}$ | ۱/۳۵ ± ۰/۱۰$^{a}$ | ۱/۲۱۰ ± ۰/۱۸ $^{a}$ | ۱/۳۰ ± ۰/۱۷$^{a}$ |
| هموگلوبین (گرم بر دسی‌لتر) | ۲/۹۴ ± ۰/۵۸$^{a}$ | ۳/۰۷ ± ۰/۷۰$^{a}$ | ۳/۲۵ ± ۰/۴۸$^{a}$ | ۳/۰۵ ± ۰/۰۰۸$^{a}$ |
| هماتوکریت (درصد) | ۲۵/۰۰ ± ۱/۰۰$^{a}$ | ۲۲/۰۰ ± ۱/۷۳$^{a}$ | ۳۰/۰۰ ± ۵/۱۹$^{a}$ | ۲۴/۳۳ ± ۵/۷۷$^{a}$ |
| MCV (فمتولیتر) | ۱۹۸/۲۳ ± ۷/۳۶$^{a}$ | ۱۶۳/۴۸ ± ۷/۹۶$^{a}$ | ۲۵۶/۱۷ ± ۴۲/۴۴$^{a}$ | ۱۹۱/۱۱ ± ۳۰/۳۸ $^{a}$ |
| MCH (پیکوگرم) | ۲۳/۲۱ ± ۳/۵۹$^{a}$ | ۲۳/۱۸ ± ۶/۷۳$^{a}$ | ۲۷/۳۴ ± ۶/۵۱$^{a}$ | ۲۳/۷۲ ± ۲/۹۹$^{a}$ |
| MCHC (درصد) | ۱۱/۷۳ ± ۱/۹۲$^{a}$ | ۱۴/۲۰ ± ۴/۱۱$^{a}$ | ۱۰/۹۴ ± ۱/۸۵$^{a}$ | ۱۲/۹۵ ± ۲/۷۰$^{a}$ |
| گلبول سفید (شمارش×۱۰ میلیون/ میلی‌متر مکعب) | ۲۲/۵۰ ± ۱ /۰۸$^{a}$ | ۲۱/۸۳ ± ۰/۴۷$^{a}$ | ۲۲/۳۳ ±۱/۵۵$^{a}$ | ۲۳/۳۳ ± ۰/۵۷$^{a}$ |
| لنفوسیت (درصد) | ۷۴/۶۶ ± ۴/۰۴$^{a}$ | ۷۲/۶۶ ± ۱۰/۰۱$^{a}$ | ۸۱/۶۶ ±۳ /۵۱ $^{a}$ | ۷۷/۰۰±۱/۷۳$^{a}$ |
| مونوسیت (درصد) | ۵/۰۰ ± ۱/۷۳$^{b}$ | ۶/۳۳ ± ۰/۵۷$^{b}$ | ۷/۰۰± ۰/۰۰$^{b}$ | ۱۶/۰۰ ± ۱/۰۰$^{a}$ |
| نوتروفیل (درصد) | ۱/۰۰ ± ۰/۰۰$^{b}$ | ۰/۳۳ ± ۰/۱۱$^{b}$ | ۰/۶۶ ± ۰/۱۱$^{b}$ | ۲/۳۳ ± ۰/۵۷$^{a}$ |
| ائوزینوفیل (درصد) | ۱۹/۳۳ ± ۵/۷۷$^{a}$ | ۲۰/۶۶ ± ۱۰/۵۰$^{a}$ | ۱۰/۶۶ ± ۳/ ۵۱$^{ab}$ | ۴/۶۶ ± ۲/۰۸$^{b}$ |
| بازوفیل (درصد) | ۰/۰۰ ± ۰/۰۰$^{a}$ | ۰/۰۰ ± ۰/۰۰$^{a}$ | ۰/۰۰ ±۰ /۰۰$^{a}$ | ۰/۰۰ ± ۰/۰۰$^{a}$ |

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح (P< ۰/۰۵) می‌باشد.

نتایج همبستگی غلظت‌های سرب بافت کبد با شاخص‌های خونی و ایمنی خون گاو ماهی لکه‌دار در شرایط محیطی در جدول ۷ گزارش شده است. طبق نتایج، پارامتر مونوسیت یک همبستگی مثبت و معنی‌داری و پارامتر ائوزینوفیل یک همبستگی منفی و معنی‌داری با آلودگی سرب کبد گاوماهیان در شرایط محیطی نشان داد. پارامتر نوتروفیل نیز، یک روند افزایشی را با تغییرات آلودگی سرب کبد نشان داد. ولی این تغییرات معنی‌دار نبود. مقایسه نتایج شاخص‌های خونی و ایمنی خون گاو ماهی لکه‌دار، نشان داد که پارامتر مونوسیت خون، به‌دلیل نشان دادن نتیجه یکسان، در مواجهه با غلظت‌های سرب در شرایط آزمایشگاهی و محیطی، می‌تواند به‌عنوان بیومارکر پیشنهادی شاخص‌های ایمنی خون معرفی شود.

**جدول۷: همبستگی پارامترهای هماتولوژی گاوماهی با غلظت‌های سرب بافت کبد در شرایط محیطی**

| | مونوسیت | نوتروفیل | ائوزینوفیل |
|---|---|---|---|
| همبستگی پیرسون (r) | ۰/۵۸* | ۰/۴۴ | -۰/۶۶* |
| (p) sig | ۰/۰۵ | ۰/۱۵ | ۰/۰۲ |

* همبستگی در سطح ۰/۰۵، ** همبستگی در سطح ۰/۰۱

## بحث

بین غلظت سرب در کبد ماهی و رسوب محل صید آن همبستگی معنی‌داری مشاهده گردید، به‌طوری‌که ضریب همبستگی بین غلظت سرب در رسوب و غلظت سرب در کبد ماهیان، مقدار عددی بالایی نشان داد، درحالی‌که غلظت سرب در کبد ماهی با آب محل صید آن، ضریب همبستگی کم‌تری نسبت به رسوب داشت که این یافته موید آن است که بررسی غلظت سرب در رسوب می‌تواند به‌عنوان شاخص مناسبی جهت تجمع زیستی آلاینده‌ها در بدن گاوماهی لکه‌دار باشد، به‌طورکلی به‌دلیل همبستگی بالا بین غلظت‌های سرب کبد ماهیان و غلظت‌های سرب موجود در آب در شرایط آزمایشگاهی (r=۰/۹۴ و همبستگی در

(DOI): 10.22034/aej.2020.113071



سطح ۰/۰۱) و هم‌چنین به‌دلیل همبستگی بالا بین غلظت‌های سرب کبد ماهیان و غلظت‌های سرب موجود در رسوبات در شرایط محیطی (r=۰/۹ و همبستگی در سطح ۰/۰۱) و از طرفی دیگر به‌دلیل ناپایدار بودن عنصر سرب در آب، جریان داشتن آب و احتمال ته‌نشین شدن سرب موجود در آب در شرایط محیطی، در این مطالعه از پارامتر غلظت‌های سرب کبد ماهیان، که در هر دو شرایط محیطی و آزمایشگاهی وجود داشت، جهت تعیین همبستگی با پارامترهای فیزیولوژیکی گاوماهی لکه‌دار (شاخص‌های خونی) در هر دو شرایط محیطی و آزمایشگاه و در نهایت تعیین بیومارکرهای خونی آلودگی سرب در خلیج گرگان استفاده گردید. سلول‌های خونی در ماهیان عموماً به وسیله بافت‌های خون‌ساز در کلیه تولید می‌شود. از عمده‌ترین وظیفه گلبول‌های قرمز خون می‌توان به انتقال اکسیژن به بافت‌های مختلف بدن نام برد(Affonso و همکاران، ۲۰۰۲؛ Begum، ۲۰۰۴). در مطالعه حاضر تعداد گلبول‌های قرمز با افزایش غلظت سرب در آزمایشگاه افزایش و در محیط طبیعی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. گزارشات متعددی در ارتباط با شمارش گلبول‌های قرمز ماهیان در معرض فلزات سنگین وجود دارد. Vinodhini و Narayanan (۲۰۰۹)، افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز کپور معمولی در معرض فلزات، کادمیوم، سرب، نیکل و کروم و Tishanova و Ilieva (۱۹۹۴)، افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز کپور معمولی، بعد از در معرض‌گذاری با فلز روی مشاهده کردند، در حالی‌که، Tavares-Dias و همکاران(۲۰۱۱)، کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز ماهی پاکوی سیاه (*Colossoma macropomum*)، در معرض سولفات مس و Kim و Kang (۲۰۱۵)، کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز ماهی راک فیش (*Sebastes schlegelii*)، در معرض رژیم غذایی حاوی سرب، به‌دلیل همولیز گلبول قرمز و کاهش تولید خون و در نتیجه کاهش تولید این گونه از سلول‌های خونی و هم‌چنین خونریزی داخلی به‌دلیل آسیب‌های وارده به کلیه مشاهده کردند (Shah و Altindag، ۲۰۰۵)، این تفاوت در نتایج به‌دست آمده به غلظت آلاینده‌ها و مدت زمان مجاورت با آلاینده‌ها بستگی دارد(Elia و همکاران، ۲۰۰۳)، به‌طور کلی افزایش گلبول‌های قرمز در مطالعه حاضر و مطالعات ذکر شده، به‌دلیل دهیدراسیون و هایپوکسیا و متعاقباً افزایش حرکت گلبول‌های قرمز به جریان خون اتفاق می‌افتد. مکانیسم ساده‌ای نیز توسط مکانیسم قلیائیت اتفاق می‌افتد. با افزایش نیاز اکسیژن خون، این مکانیسم سنسورهای کلیه را وادار به تشخیص هایپوکسیا و افزایش حرکت گلبول‌ها می‌کند (Gad، ۲۰۰۷). در مطالعه حاضر در سطوح هماتوکریت خون گاوماهی لکه‌دار در شرایط آزمایشگاهی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در پروسه انتقال اکسیژن از طریق خون، هموگلوبین نقش بسیار مهمی را برعهده‌دارد و به‌عنوان عامل اصلی انتقال اکسیژن در خون ماهیان درنظر گرفته می‌شود و میزان غلظت هموگلوبین با سلول‌های قرمز خون ارتباط تنگاتنگ دارد (Perry و Tufts، ۱۹۹۸)، به‌طوری‌که در مطالعه حاضر هم‌زمان با افزایش گلبول‌های قرمز خون، افزایش معنی‌داری در میزان سطوح هموگلوبین خون در شرایط آزمایشگاهی مشاهده شد ولی در شرایط محیطی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. مشابه تحقیق حاضر، Chowdhury و همکاران (۲۰۰۴)، افزایش هموگلوبین خون، در طول مواجهه تحت‌کشنده با فلزات سنگین را، به‌دلیل هایپوکسیا و افزایش قدرت انتقال و ظرفیت اکسیژنی خون، عنوان کردند. محققین دیگری نیز افزایش این شاخص‌ها را در غلظت‌های بالای فلزات سنگین مشاهده نمودند. ازجمله Tort و Torres (۱۹۸۸) در کادمیوم، Safahieh و همکاران (۲۰۱۰) در جیوه و Zaki و همکاران (۲۰۰۸) در سرب. بنابراین در مطالعه حاضر نیز، می‌توان افزایش هموگلوبین خون گاوماهی لکه‌دار را به کاهش سطح اکسیژن سلولی در آلودگی سرب، نسبت داد. میزان شاخص‌های MCV، MCHC و MCH به سطح‌های گلبول قرمز و هموگلوبین خون وابسته است، زیرا از آن‌ها منشا می‌گیرد (Javad و Usmani، ۲۰۱۵). در مطالعه حاضر بین سطح‌های MCH خون تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، درصورتی‌که مقادیر MCV خون یک روند کاهشی در شرایط آزمایشگاهی نشان داد و در شرایط محیطی تفاوت معنی‌داری نشان نداد، به‌عبارت دیگر می‌توان این گونه بیان داشت، که با افزایش سرعت تکثیر سلول‌ها، گلبول‌ها با اندازه کوچک‌تری به‌داخل خون آزاد شده‌اند که با نتایج Ololade و Oginni (۱۹۹۲)، که تاثیر نیکل را روی پارامتر MCV خون گربه ماهی افریقایی (*Clarias gariepinus*) بررسی کردند، هم راستا بود. مقدار MCHC خون در شرایط آزمایشگاهی یک افزایش معنی‌داری نشان داد، درحالی‌که مقادیر آن در شرایط محیطی معنی‌دار نبود. افزایش مقدار MCHC نشان می‌دهد، با این که سلول‌ها کوچک‌تر شده‌اند ولی میزان هموگلوبین نسبت به حجم خود گلبول بالاتر است. که با نتایج Dharam و همکاران ( ۲۰۰۸)، که تاثیر غلظت‌های تحت حاد فلز مس را، روی مقدار MCHC خون خامه ماهی (*Channa punctatus*) بررسی کردند، هم‌سو بود. گلبول‌های سفید خون یکی از نخستین خطوط دفاعی موجود در برابر آلودگی‌ها و عفونت‌ها محسوب می‌شوند و بررسی تعداد این سلول‌ها و نسبت هرکدام از انواع آن می‌تواند به‌عنوان شاخص مناسبی برای ارزیابی وضعیت سلامت و توان ایمنی موجود باشد(Elia و همکاران، ۲۰۰۳). گلبول‌های سفید شامل گرانولوسیت‌ها، مونوسیت، لنفوسیت و ترومبوسیت‌ها هستند. فعالیت گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌ها به شکل فاگوسیتوز موادزائداز بافت‌های آسیب‌دیده تعریف می‌گردند و هم‌چنین لنفوسیت‌ها موجب تولید آنتی‌بادی‌ها می‌شوند (Maheswaran و همکاران، ۲۰۰۸). در مطالعه حاضر در سطوح گلبول‌های سفید، نوتروفیل، بازوفیل و ائوزینوفیل خون گاوماهی لکه‌دار در شرایط آزمایشگاهی، تفاوت

(DOI): 10.22034/aej.2020.113071



معنی‌داری مشاهده نشد. لنفوسیت‌ها غالب‌ترین لوکوسیت‌های افتراقی ماهیان هستند. لنفوسیت مسئول بسیاری از عملکردهای سیستم ایمنی است. لنفوسیت‌ها نسبت به سایر لکوسیت‌ها طول عمر زیادتری دارند و اغلب در مواجهه با آلودگی کاهش می‌یابند. در تحریک یا سرکوب سیستم ایمنی، لنفوسیت‌ها بیومارکرهای کارآمدی محسوب می‌شوند. هر چند کاهش تعداد لنفوسیت‌ها ممکن است با تغییر عملکرد آن‌ها نیز همراه باشد (Elia و همکاران،۲۰۰۳). اصلی‌ترین عملکرد منوسیت‌ها فاگوسیتوز و هضم ذرات بزرگی نظیر سلول‌های پیر، باقی‌مانده سلول‌های نکروزه و میکروارگانیسم‌های بزرگ است. افزایش منوسیت پاسخ ثانویه به عوارضی نظیر تخریب گسترده بافتی، نئوپلازی، نکروز و کم خونی همولیتیک است. مونوسیت‌ها سلول‌های دواری هستند، که همانند گرانولوسیت‌ها فاگوسیتوز کرده و توانایی خروج از خون به بافت‌ها هنگام التهاب بافتی را دارند (Elia و همکاران، ۲۰۰۳). افزایش منوسیت در التهاب‌های بدخیم و محیطی رخ می‌دهد (Evans، ۲۰۰۹)، بنابراین افزایش منوسیت در تحقیق حاضر در دو شرایط محیطی و آزمایشگاه، بیانگر تأثیرات سلولی و بافتی شدید سرب بر گاوماهی لکه‌دار می‌باشد. گزارشات متعددی در ارتباط با بررسی گلبول‌های سفید ماهیان در معرض آلاینده‌ها وجود دارد. در ماهی تیلاپیا مشاهده گردیده است که میزان منوسیت‌ها در شرایط استرس آلاینده‌ها افزایش می‌یابد، حال آن‌که میزان لنفوسیت‌ها کاهش یافته است (Evans، ۲۰۰۹). Adhikari و همکاران (۲۰۰۴)، در سگ ماهی مواجهه شده با غلظت‌های تحت‌کشنده کلریدجیوه، کاهش معنی‌داری در مقادیر لنفوسیت و افزایش معنی‌داری در مقادیر منوسیت مشاهده کردند. Lohner و همکاران (۲۰۰۱)، در بررسی ماهی خورشیدی (*Lepomis* sp.)، تحت استرس محیطی سلنیوم، افزایش منوسیت را مشاهده کردند. مقایسه این نتایج با تحقیق حاضر نشان می‌دهد که بر خلاف شاخص‌های مرتبط با گلبول‌های قرمز، روند تغییرات شاخص‌های مرتبط با گلبول‌های سفید در گونه‌های مختلف و در استرس‌های مختلف محیطی و آزمایشگاهی یکسان بوده و بیانگر رفتار یکسان این شاخص‌ها در برابر آلاینده‌ها است. در مجموع، از بین پارامترهای خون‌شناسی گاوماهی لکه‌دار، پارامترهای مونوسیت، گلبول قرمز، هموگلوبین و MCHC، یک همبستگی مثبت و قابل توجه‌ای و لنفوسیت و MCV یک همبستگی منفی و قابل توجه‌ای با آلودگی سرب تجمع یافته در کبد گاوماهیان در شرایط آزمایشگاهی نشان داد و در شرایط محیطی، پارامتر مونوسیت یک همبستگی مثبت و معنی‌داری و پارامتر ائوزینوفیل یک همبستگی منفی و معنی‌داری با آلودگی سرب کبد گاوماهیان در شرایط محیطی نشان داد. پارامتر نوتروفیل نیز، یک روند افزایشی را با تغییرات آلودگی سرب کبد نشان داد. ولی این تغییرات معنی‌دار نبود. در نهایت، از بین شاخص‌های خونی گاوماهی لکه‌دار، درصد مونوسیت خون به‌دلیل نشان دادن همبستگی بالا و روند یکسان در هر دو شرایط محیطی و آزمایشگاهی، به‌عنوان مؤثرترین و کارآمدترین بیومارکرخونی آلودگی سرب در گاوماهی لکه‌دار پیشنهاد می‌گردد.

## تشکر و قدردانی

در نهایت از جناب دکتر سیدعلی‌اکبر هدایتی، عضو هیئت علمی شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، که طی اجرای این تحقیق، همکاری صمیمانه‌ای داشتند، قدردانی می‌گردد.

## منابع


۱. **خبازی، م.؛ هرسیج، م.؛ هدایتی، ع.؛ گرامی، م. و غفاری فارسانی، ح.، ۱۳۹۴.** تأثیر غلظت‌های تحت کشنده فلز مس ($CuSo_4$) در پارامترهای هماتولوژیک خون قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله بوم‌شناسی آبزیان. دوره۴، شماره ۴، صفحات ۱ تا ۷.

۲. **منصوری، ب.، ۱۳۹۵.** مطالعه و بررسی منابع آلاینده خلیج گرگان. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. مرکز تحقیقات ذخائر آبزیان آب‌های داخلی. ۴۳ صفحه.

۳. **وابونیان، ع.، ۱۳۹۱.** تأثیر غلظت‌های تحت کشنده کادمیم بر برخی پارامترهای آنزیمی، هماتولوژیک و تجمع زیستی در کبد ماهی شانک زرد باله (*Acantopagrus latus*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر. ۱۰۴ صفحه.

۴. **هدایتی، ع.، ۱۳۹۰.** تعیین بیومارکرهای آلودگی جیوه با استفاده از شاخص‌های اکوفیزیولوژیک کبد ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*). پایان‌نامه دکتری، دانشکده علوم دریایی گروه بیولوژی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر. ۱۲۶ صفحه.

۵. **Adhikari, S.; Sarkar, B.; Chatterjee, A.; Mahapatra, C.T. and Ayyappan, S., 2004.** Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost; *Labeo rohita* (Hamilton). Ecotoxicol. Environ. Saf. Vol. 58, pp: 220-226.

۶. **Affonso, E.G.; Polez, V.L.P.; Correa, C.; Mazon, A.F.; Araujo, M.R.R.; Moraes, G. and Ratin, F.T., 2002.** Blood parameters and metabolites in the teleosts fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol. Vol. 133, No. 3, pp: 375-382.

۷. **Al-Ghadban, A.N.; Massoud, M.S. and Al-Abdali, F., 1996.** Bottom sediments of the Persian Gulf: I. sedimentological characteristics. Kuwait J. Sci. Eng. Vol. 23, No. 1, pp: 69-87.

(DOI): 10.22034/aej.2020.113071




۸. **Begum, G., 2004.** Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (Linn.) and recovery response. Aquat. Toxicol. Vol. 66, No. 1, pp: 83-92.

۹. **BelaZutshi, S.G. and RaghuPrasad, R., 2010.,** Alteration in hematology of Labeo rohita under stress of pollution from Lakes of Bangalore, Karnataka, India. Environ. Monit. Assess. Vol. 168, No. 1-4, pp: 11-19.

۱۰. **Bryan, G.W., 1976.** Some effects of heavy metal tolerance in aquatic organisms. In Effects of pollutants on aquatic organisms. Edited by APM. Lockwood. Cambridge University Press,Cambridge, England. pp: 7-34.

۱۱. **Cataldi, E.; DiMarco, P.; Mandich, A. and Catandella, S., 1998.** Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* ( pisces: Acipenseriformes): effect of tempreture and stress. Comp. Biochem. Physiol., Part A: Mol. Integr. Physiol. Vol. 121, No. 4, pp: 351-354.

۱۲. **Corkum, L.D. ; Sapota, M.R. and Skora, K.E., 2004 .**The round goby, *Neogobius melanostomus*, a fish invader on both sides of the Atlantic Ocean. Biol Invasion. Vol. 6, No. 2, pp: 173-181.

۱۳. **Dacie, J.V. and Lewis, S. M., 2001.,** Practical Haematology. Churchill Livingstone. London. 633 p.

۱۴. **Demirak, A.; Yilmaz, F.; Levent Tuna, A. and Ozdemi, N., 2006.** Heavy metals in water, sediment and tissues of (Leuciscus cephalus) from a stream in southwestern Turkey. Chemosphere. Vol. 63, No. 9, pp: 1451-1458.

۱۵. **Dharam, S.; Kamlesh, N.; Trivedi, S.P. and Sharma, Y.K., 2008.** Impact of copper on haematological profile of freshwater fish, *Channa punctatus*. Ecotoxicol. Environ. Saf. Vol. 29, No. 2, pp: 253-257.

۱۶. **Elia, A.C.; Galarini, R.; Taticchi, M.; Dorr, A.J. and Mantilacci, L., 2003.** Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. Ecotoxicol. Environ. Saf. Vol. 55, No. 2, pp: 162-167.

۱۷. **Evans, G.O., 2009.** Animal Hematotoxicology. Chemical Rubber Company Press. 204 p.

۱۸. **Gad, S.C., 2007.** Animal Models in Toxicology. Chemical Rubber Company Press. 950 p.

۱۹. **Hesp, S.A., Potter, I.C. and Hall, N.G., 2004.** Reproduction biology and protandrous hermaphroditism in *Acanthopagrus latus*. Environ. Biol. Fishes. Vol. 70, No. 3, pp: 252-272.

۲۰. **Holdway, D.A., 1996.** The role of biomarkers in risk assessment. Hum. Ecol. Risk Assess. Vol. 2, No. 2, pp: 263-267.

۲۱. **Houston, H., 1990.** Review: are the classicalhematological variables acceptable indicators forfish health? Trans. Am. Fish. Soc. Vo. 126, No. 6, pp: 879-894.

۲۲. **Javad, M. and Usmani, N., 2015.** Impact of Heavy Metal Toxicity on Hematology an Glycogen Status of Fish: A Review. Natl. Acad. Sci. Vol. 85, No. 4, pp: 889-900.

۲۳. **Kar, D.; Sur, P.; Mandal, S.K.; Saha, T. and Kole, R.K., 2008.** Assessment of heavy metal pollution in surface water. Int. J. Environ. Sci. Technol. Vol. 5, No. 1, pp: 119-124.

۲۴. **Kim, J.H. and Kang, J.H., 2015.** The lead accumulation and hematological findings in juvenile rock fish *Sebastes schlegelii* exposed to the dietary lead (II) concentrations. Ecotoxicol. Environ. Saf. Vol. 115, pp: 33-39 .

۲۵. **Lim, C.; Klesius, P.H.; Li, M.H. and Robinson, E.H., 2000.** Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel cat fish (*Ictalurus punctatus*) to Edwardsiella ictalury challenge. Aquaculture. Vol. 185, No. 3-4, pp: 313-327.

۲۶. **Lohner, T.W.; Reash, R.J.; Willet, V.E. and Rose, L.A., 2001.** Assessment of tolerant sun fish populations (*Lepomis sp.*) inhabiting selenium-laden coal ash effuents. Ecotoxicol. Environ. Saf. Vol. 50, No. 3, pp:203-216.

۲۷. **Maheswaran, R.; Devapaul, A.; Muralidiharan, S.; Velmurugan, B. and Ignacimuthu, S., 2008.** Hematological studies of fresh water fhsh, *Claris batrachus (L)* exposed to mercuric chloride. Int.J. Integr. Biol. Vol. 2, No. 1, pp: 49-54.

۲۸. **Makokha, A.O.; Mghweno, L.R.; Magoha, H.S.; Nakajugo, A. and Wekesa, M., 2011.** The effects of environmental lead pollution in kisumu, Mwanza and Kampala. Environ. Eng. J. Vol. 4, No. 1, pp: 133-140.

۲۹. **Moopam, K., 1999.** Manual of Oceanographic Observations and Pollutant Analysis Methods . Kuwait. 321 p.

۳۰. **Nelson, J., 2006.** Fishes of the World. department of biological sciences. University of Alberta, Edmonton. Alberta, T6G2E9, Canada. 601 p.

۳۱. **Ololade, I.A. and Oginni, O., 2010.** Toxic stress and hematological effects of nickel on African catfish, Clarias gariepinus, fingerlings. J. Environ. Chem. Ecotoxicol. Vol. 2, No. 2, pp: 014-019.

۳۲. **Safahieh, A.; Ali Akbar, H; Ahmad, S. and Abdolali, M., 2010.** Experimental approaches of hematotoxic and immunotoxic effects of mercury chloride on yellow fin sea bream (*Acanthopagrus latus*). Am.-Eurasian J. Toxicol. Sci. Vol. 2, No. 3, pp: 169-176

۳۳. **Shah, S.L. and Altindag, A., 2004.** Haematological parameters of tench, Tinca tinca after acute and chronic exposure to lethal and sublethal mercury treatments. Bull. Environ. Contam. Toxicol. Vol. 73, pp: 911-918.

۳۴. **Stepanova, T.G., 2001.** Some feature of repruduction and growth of gobies in the northern Caspian. In Ecology of young fish and problems of Caspian Fish Reproduction. VNIRO Ed, Moscow. pp: 268-276.

۳۵. **Tavares-Dias, M.; Ferreira, J.S.; Affonso, E.G.; Ono, E.A. and Martins, M.L., 2011.**Toxicity and Effects copper sulfat on Parasitic Control and Hematological Response of Tambaque *(Colossoma macropomum).* Bol. Inst. Pesca. Vol. 37, No. 4, pp: 355-365.

۳۶. **Tishanova, V. and Ilieva, N., 1994.** Joint influence of Zn and Pb on some hematological indices of the common carp

(DOI): 10.22034/aej.2020.113071



(*Ciprinus carpio L.*). Annu. Sci. Stud., Univ. Sofia. Vol. 83, No. 1, pp: 119-123.

۳۷. **Tort, L. and Torres, P., 1988.** The effects of sublethal concentrations of cadmium on haematological parameters in the dog fish Scyliorhinus canicula. J. Fish Biol. Vol. 32, No. 2, pp: 277-282.

۳۸. **Turkmen, M.; Turkmen, A.; Tepe, Y. and Ates, A., 2009.** Determination of metalsin fish species from Aegean and Mediterranean seas. Food Biochem. Vol. 113, No. 1, pp: 233-237.

۳۹. **Vinodhini, R. and Narayanan, M., 2009.** The impact of toxic heavy metals on the hematological parameters in common carp (*Cyprinus carpio L.*). Iran. J. Environ. Health Sci. Eng. Vol. 6, No. 1, pp: 23-29.

۴۰. **Zaki, M.S.; Moustafa, S.; Rashad, H. and Sharaf, N., 2008.** Assessment of the hazardous effect of lead pollution on *Oreochromis niloticus* including haematological, biochemical and immunological parameters. Am.-Eurasian J. Agric. Environ. Sci. Vol. 3, pp: 91-95.

(DOI): 10.22034/aej.2020.113071



# Determination of blood biomarkers of lead pollution in Gorgan Gulf using blood indices of Mottled Goby (*Neogobius melanostomus*, Pallas 1814)


- **Fakhriyeh Omidi*:** Department of fisheris, Faculty of of Natural Resources, Department of Fisheries, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran
- **Hojatollah Jafaryan:** Department of fisheris, Faculty of of Natural Resources, Department of Fisheries, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran
- **Rahman Patimar:** Department of fisheris, Faculty of of Natural Resources, Department of Fisheries, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran
- **Mohammad Harsij:** Department of fisheris, Faculty of of Natural Resources, Department of Fisheries, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran
- **Hamed Paknejad:** Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran


Received: April 2019 Accepted: July 2019

**Key words:** Blood biomarker, Lead contamination, Gorgan Gulf, *Neogobius melanostomus*

# Abstract

The present study was carried out for providing basic information on the ecophysiological damages (blood indicators) of Mottled Goby in laboratory and environmental conditions of lead contamination and finally the design of blood biomarkers of lead contamination in Gorgan Gulf. In the laboratory studies, 400 piece of fishes with the weight average of 35±7.16 g were lively caughted and the tested fishes were exposed to concentrations of 0, 3.75, 7.5 and 15 mg/L of lead for 14 days. After the completion of the experiment, the samples of blood and liver were collected from fishes and the samples surveyed by the analyses of hematology and toxicology. In the field test, the samples of fish, water and sediment were prepared from 4 areas, Khozeini 1, Khozeini 2, Gharasu, and Gorgan rud. In addition to the measuring lead in water, sediment and liver tissue, the samples of blood from caughted fishes were similarly analyzed with the laboratory conditions mentioned. According to the results, among the hematologic parameters of Mottled Goby, monocyte, red blood cell, hemoglobin and MCHC showed a positive and significant correlation and lymphocyte and MCV showed a negative and significant correlation with accumulated lead contamination in the liver of Mottled Goby in laboratory conditions and in environmental conditions, monocyte showed, a positive and significant correlation and eosinophil showed a negative and significant correlation with the contamination of lead in the Mottled Goby liver in environmental conditions. Neutrophil also showed an increasing trend with changes of lead contamination in liver. In total, among the blood indices of Mottled goby, the monocyte percentage of the blood was proposed as the most effective and efficient blood biomarker of lead contamination in Mottled goby, due to the high correlations and the same trend in both environmental and laboratory conditions ($P<0.05$).

* Corresponding Author's email: fakhriyeh.omidi90@gmail.com