

بررسی اثر سمیت روی (Zn) بر برخی از پارامترهای بیوشیمیایی خون بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی (*Hypophthalmichthys molitrix*)

مهزاد شکوری^{۱*}، سورنا ابدالی^۲ و حسین نگارستان^۳

۱ و ۲- گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
۳- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۶/۵

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی سمیت فلز سنگین روی بر برخی فاکتورهای سرولوژیکی خون ماهی فیتوفاگ طی مجاورت کوتاه مدت با فلز روی می‌باشد. به منظور انجام این مطالعه ۱۳۵ عدد بچه ماهی فیتوفاگ با وزن متوسط 50 ± 10 گرم و طول متوسط 13 ± 1 سانتی‌متر، در مجاورت غلظت‌های ۰، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نترات روی $Zn(NO_3)_2$ در ۹ آکواریوم هر یک به ظرفیت ۹۰ لیتر قرار داده شدند. نمونه برداری خون از سیاهرگ دمی به صورت کاملاً تصادفی، هر ۱۲ ساعت یکبار تا ۹۶ ساعت صورت گرفت. نتایج نشان داد که کلسترول خون در ۹۶ ساعت در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با تیمارهای ۵ میلی‌گرم در لیتر و شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). به طوری که حداقل میزان آن در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در ۹۶ ساعت برابر با $(10/83 \pm 0/2)$ میلی‌گرم بر دسی لیتر و بیشترین میزان آن در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر در ۴۸ ساعت برابر با $(102/7 \pm 22/7)$ میلی‌گرم بر دسی لیتر مشاهده گردید. میانگین تری گلیسرید خون دارای نوسان بود، به طوری که بیشترین میزان آن در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۱۲ ساعت برابر با (93 ± 14) میلی‌گرم بر دسی لیتر و حداقل میزان آن در ۹۶ ساعت در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر برابر با $(24/4 \pm 2)$ میلی‌گرم بر دسی لیتر مشاهده گردید. میانگین آلبومین خون با افزایش غلظت روی و مدت زمان مجاورت با افزایش معنی‌داری همراه بود ($P < 0/05$). به طوری که حداقل میزان آن در تیمار شاهد برابر با $(0/73 \pm 0/14)$ گرم بر دسی لیتر و حداکثر میزان آن در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر در ۹۶ ساعت برابر با $(9/03 \pm 0/6)$ گرم بر دسی لیتر مشاهده گردید. میانگین پروتئین کل کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$)، به طوری که کمترین میزان آن در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر در ۹۶ ساعت برابر با $(0/043 \pm 0/003)$ گرم بر دسی لیتر و بیشترین آن در ۱۲ ساعت در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر برابر با $(3/53 \pm 0/3)$ گرم بر دسی لیتر به دست آمد. گلوکز پلاسما اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P \geq 0/05$). بر اساس نتایج حاصل، پارامترهای خونی و بیوشیمیایی فاکتورهای مناسب برای پایش سمیت روی و استرس ناشی از آن به ویژه در غلظت‌های حاد (کشنده) در ماهی فیتوفاگ می‌باشند.

واژگان کلیدی: نترات روی، گلوکز، آلبومین، پروتئین، کلسترول، تری گلیسرید، فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)

مقدمه

یکی از شاخه‌های مهم پزشکی و دامپزشکی که نقش آن در تشخیص اختلالات و بیماری‌ها دارای اهمیت فراوان است، خون‌شناسی است (آذری تاکامی و کهنه شهری، ۱۳۷۳). خون از مهم‌ترین مایعات بدن است که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردند. لذا در اختیار داشتن مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و بررسی چگونگی تغییرات آنها در بیماری‌های مختلف همواره از ابزارهای مهم تشخیص در بسیاری از بیماری‌های انسان و دام بوده است. اخیراً شاخص‌های بیوشیمیایی برای تشخیص اثر تحت کشنده مواد سمی مختلف از جمله فلزات سنگین در ماهیان بکار می‌روند (Theodorakis et al., 1992). در مورد آبزیان از جمله ماهی نیز این مهم با تعیین مقادیر طبیعی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی به عنوان مبنا و شاخصی برای مقایسه و قضاوت در تشخیص بیماری‌ها مورد تأکید قرار گرفته است (Rehulka et al., 2004). بنابراین یکی از راه‌های تشخیص بیماری‌های عفونی و مسمومیت در ماهیان، بررسی و آنالیز هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون آنها است (آذری تاکامی، ۱۳۷۳). ویژگی‌های بیوشیمیایی خون به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های وضعیت فیزیولوژیک ماهی قلمداد می‌شود (Edsall, 2003). تغییرات پروفیل بیوشیمیایی خون در واقع بازتاب تغییر در پروسه متابولیسم و بیوشیمی ماهی است که به طور عمده ناشی از تأثیر آلاینده‌ها می‌باشد (Casillas, ۱۹۸۶). رشد روزافزون صنایع و آلودگی فزاینده محیط زیست به مواد شیمیایی موجب گردیده است که زندگی موجودات زنده به ویژه آبزیان مورد تهدید قرار گیرد. یکی از این عناصر کمیاب آلوده کننده، فلز روی (Zn) است (محمدخانلو عشایری، ۱۳۸۲). عوارض ناشی از مسمومیت با فلز روی در برخی گزارش‌ها نشان می‌دهد که این فلز قادر به عبور از سد خونی مغزی می‌باشد و در فضای

مویزگ‌های مغزی می‌تواند ظاهر شود و این می‌تواند در بروز عوارض ناشی از روی در مغز مؤثر باشد (Rodriguez, 1990). یکی از مهم‌ترین وظایف بیوشیمیایی این فلز، تأثیر بر فعالیت بیش از ۳۰۰ آنزیم شامل اکسید و ردوکتاز، ترانسفراز، هیدرولاز، ایزومراز و لیگاز است. به عبارت دیگر روی کوفاکتور این آنزیم‌ها است (پیغان، ۱۳۷۸). اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک خون می‌تواند به عنوان یک ابزار تشخیصی در سم‌شناسی و پایش زیستی بکار رود (Xiaoyan et al., 2009).

تغییر در میزان و سطوح این پارامترها می‌تواند منعکس کننده پاسخ‌های ماهیان به تغییرات در محیط زندگی آنها باشد (Satheeshkumar et al., 2010). بنابراین با توجه به ورود فلز روی در آب مزارع پرورشی و مشکلات ناشی از آن، (Rodriguez, 1990)، در پژوهش حاضر اثر نیترات روی بر برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی فیتوفاگ پرورشی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در بهار سال ۱۳۹۰ در بخش‌های فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت به انجام رسید. برای مطالعه اثر غلظت‌های مختلف فلز روی تعداد ۱۳۵ عدد بچه ماهی فیتوفاگ از مرکز پرورش ماهیان گرمابی کوئی کارپ واقع در ۱۰ کیلومتری جاده تهران- رشت خریداری و به انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان واقع در جاده سنگر منتقل شد.

آماده سازی تیمارها

پس از سازگاری بچه ماهیان، بر اساس تیمارهای مورد نظر در ۹ آکواریم ۱۰۰ لیتری حاوی ۹۰ لیتر آب شهر (کلر زدایی شده و مجهز به هوادهی)، تعداد ۱۵ عدد ماهی با میانگین وزنی 50 ± 10 گرم و

اندازه‌گیری شد (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

آنالیز آماری

آمار توصیفی برای بیان کمترین، بیشترین، میانگین، انحراف معیار، واریانس و خطای استاندارد مربوط به شاخص‌های بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت. داده‌ها در نرم افزار Excel ثبت و برای بررسی وضعیت نرمال بودن داده‌ها از آزمون (کولموگروف-اسمیرنف) بهره گرفته شد. با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 14.0 و آنالیز آماری به روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام (پور غلام و همکاران، ۱۳۸۹) و نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SE}$ ارائه گردید.

نتایج

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که متوسط کلاسترول در تیمارهای شاهد، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در ۹۶ ساعت به ترتیب برابر $۶۴/۷ \pm ۲۴/۱$ ، $۸۱/۹ \pm ۲/۴$ و $۱۰/۸ \pm ۰/۲$ میلی‌گرم بر دسی لیتر (شکل ۱)، متوسط تری‌گلیسرید در گروه شاهد، تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت به ترتیب $۵۴ \pm ۵/۵$ ، $۲۴/۴ \pm ۱/۶$ و $۷۵/۴ \pm ۰/۴$ میلی‌گرم بر دسی لیتر به دست آمد (شکل ۲)، متوسط آلبومین در تیمارهای شاهد، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در ۹۶ ساعت به ترتیب $۰/۷ \pm ۰/۱$ ، $۰/۶ \pm ۰/۱$ و $۰/۶ \pm ۰/۱$ گرم بر دسی لیتر بود (شکل ۳). متوسط گلوکز در گروه شاهد، تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت به ترتیب $۶۵/۵ \pm ۷$ ، $۵۱/۶ \pm ۳/۹$ و $۵۴/۴ \pm ۰/۳$ میلی‌گرم بر دسی لیتر (شکل ۴) و متوسط پروتئین تام در گروه شاهد، تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت به ترتیب $۳/۱ \pm ۰/۵$ ، $۰/۴ \pm ۰/۰۳$ و $۰/۰۲ \pm ۰/۰۳$ گرم بر دسی لیتر ارزیابی شد (شکل ۵). در این بررسی میانگین کلاسترول پلاسما از ۱۲ تا ۷۲ ساعت در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P \geq ۰/۰۵$)، ولی در ۹۶ ساعت

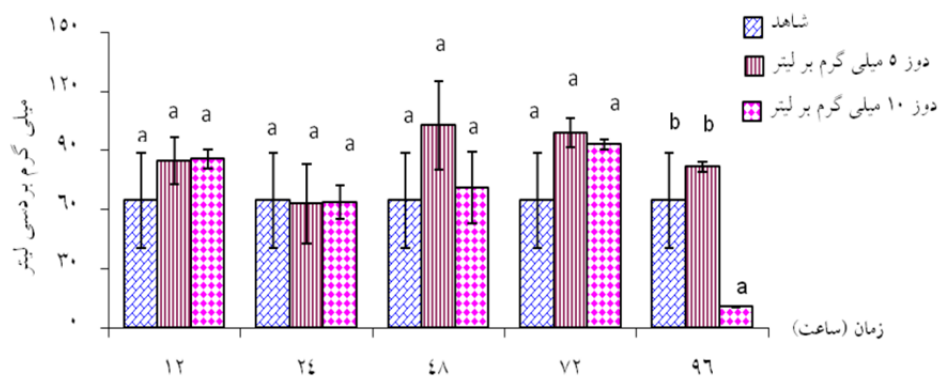
میانگین طول کل ۱۳ ± ۱ سانتی‌متر در هر آکواریوم قرار داده شدند. دمای آب در طول آزمایش برابر با ۲۴ ± ۱ درجه سانتی‌گراد، میانگین pH برابر با $۸ \pm ۰/۲$ و میانگین میزان اکسیژن محلول آب در طول آزمایش برابر با $۵/۲$ میلی‌گرم در لیتر تنظیم شد. در مجموع ۳ گروه، شامل یک گروه شاهد و تیمارهای با غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نترات روی $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ و هر تیمار با سه تکرار در نظر گرفته شد. غلظت‌های مورد نظر نترات روی بر اساس جرم مولی و به روش جرمی - حجمی تعیین شد. به طوری که ابتدا کل مقدار سم مورد نیاز برای انجام طرح محاسبه و پس از حل کردن ۴ گرم از فلز روی در حجم معینی از آب مصرفی، محلول استوک تهیه گردید. سپس بر اساس غلظت‌های مورد نظر، حجم معینی از استوک برداشته و به آکواریوم‌ها اضافه گردید.

آزمایش‌های سیتولوژیک

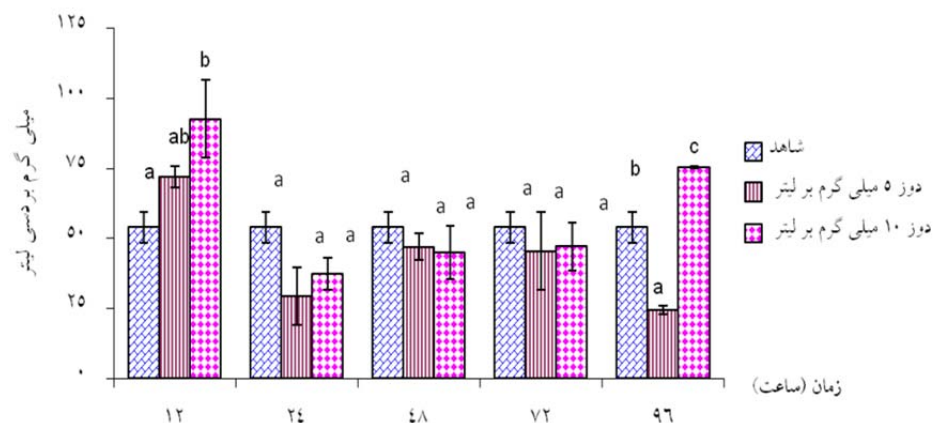
برای انجام آزمایش‌های سیتولوژیک از خون ماهیان و برای اندازه‌گیری برخی پارامترهای بیوشیمیایی از پلاسما خون ماهیان استفاده گردید. در بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی از ماهیان در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت از ساقه دمی توسط سرنگ ۲ میلی‌لیتر هپارینه خونگیری به عمل آمد. به منظور تعیین فاکتورهای بیوشیمیایی خون، ضرورت دارد خون هپارینه هر چه سریع‌تر سانتریفیوژ گردد. جهت تهیه سرم از روش پولینگ (pooling) استفاده شد. جداسازی سرم از سلول‌های خونی توسط دستگاه سانتریفیوژ (مدل Labofuge 200)، ساخت شرکت Heraeus sepatech آلمان با سرعت ۳۰۰۰ دور در مدت زمان ۱۰ دقیقه انجام گرفت. سرم جدا شده، به لوله‌های آزمایش منتقل و سپس میزان جذب گلوکز و کلاسترول و تری‌گلیسرید با طول موج ۵۴۶ نانومتر، پروتئین تام با طول موج ۵۶۰ نانومتر و آلبومین با طول موج ۶۳۰ نانومتر، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UV/VI ۶۵۰۵ ساخت شرکت Jenway انگلیس)

طوری که در ساعت ۱۲ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P \geq 0/05$). در ساعت ۲۴، ۴۸، ۷۲ تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($P < 0/05$). و در ساعت ۹۶ سه تیمار با هم اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($P < 0/05$). (شکل ۳) میانگین گلوکز پلاسمای خون در تیمارها و زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P \geq 0/05$). (شکل ۴) میانگین پروتئین تام خون در ساعت ۱۲ بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی در ساعت ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۲۴، ۴۸ تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند که با کاهش همراه بود ($P < 0/05$) (شکل ۵).

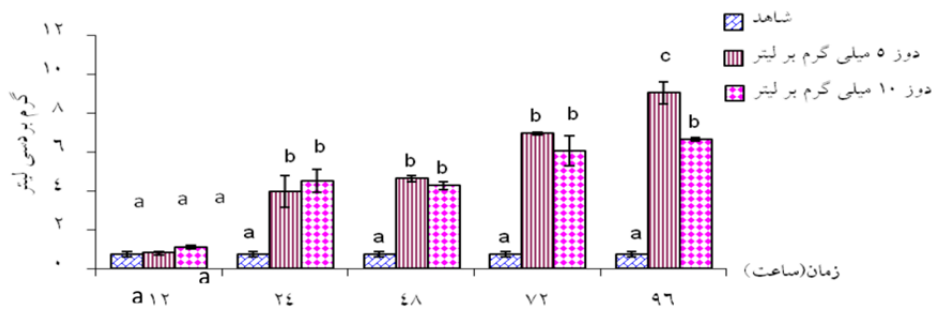
تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر با تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر و شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد که با افزایش غلظت نیترات روی و در ساعت ۹۶ با کاهش همراه بود ($P < 0/05$) (شکل ۱). میانگین تری‌گلیسرید پلاسمای خون با نوسان همراه بود و در ساعت ۱۲ تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر با شاهد و تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P \geq 0/05$) ولی در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). از ساعت ۲۴ تا ساعت ۷۲ با افزایش غلظت نیترات روی و با گذشت زمان اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ولی در ساعت ۹۶ هر سه تیمار اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($P < 0/05$) (شکل ۲). میانگین آلبومین پلاسمای خون در تیمارها و زمان‌های مختلف با نوسان همراه بود، به



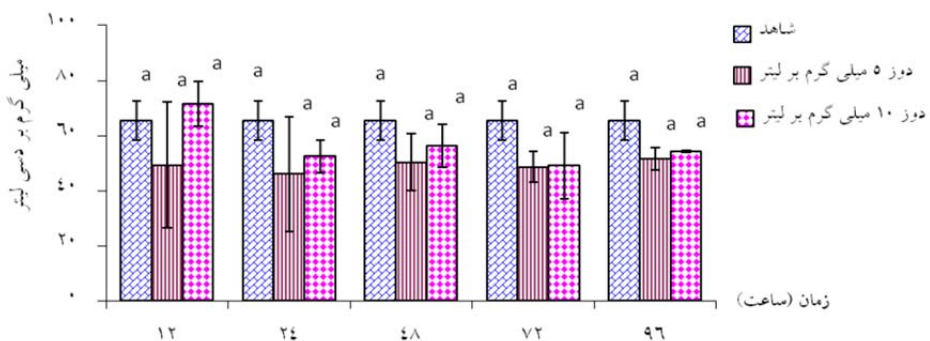
شکل ۱- میانگین کلسترول پلاسمای خون بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی در معرض نیترات روی در تیمارهای مختلف مورد مطالعه (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است) (آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار هستند)



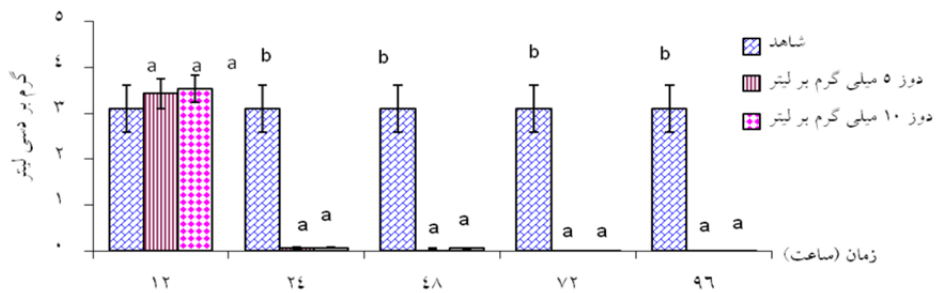
شکل ۲- میانگین تری‌گلیسرید پلاسمای خون بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی در معرض نیترات روی در تیمارهای مختلف مورد مطالعه (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است) (آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار هستند)



شکل ۳- میانگین آلبومین پلاسمای خون بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی در معرض نیترات روی در تیمارهای مختلف مورد مطالعه (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار است) (آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار هستند)



شکل ۴- میانگین گلوکز پلاسمای خون بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی در معرض نیترات روی در تیمارهای مختلف مورد مطالعه (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار است) (آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار هستند)



شکل ۵- میانگین پروتئین تام پلاسمای خون بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی در معرض نیترات روی در تیمارهای مختلف مورد مطالعه (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار است) (آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار هستند)

گلوکز خون در مجاورت با فلز سنگین و استرس می‌تواند ناشی از پاسخ‌های هورمونی (آدرنالین، کورتیزول) ماهی به عامل تنش‌زا باشد و البته کاهش سطح گلوکز خون می‌تواند ناشی از گرسنگی نیز باشد (Sandstrom, 1989; Lwaman et al., 2004). مقدار گلوکز سرم خون شاخص مناسبی برای پاسخ‌های

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر، متوسط گلوکز در تیمارهای شاهد، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در ساعت ۹۶ به ترتیب $65/5 \pm 7$ ، $51/6 \pm 3/9$ و $54/4 \pm 0/3$ میلی‌گرم بر دسی لیتر به دست آمد (شکل ۴) و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P \geq 0/05$). کاهش میزان

میلی‌گرم بر لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). از ۲۴ ساعت تا ۷۲ ساعت با افزایش غلظت نیترات روی و با گذشت زمان اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ولی در ۹۶ ساعت همه تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($P < 0/05$)، به طوری که بیشترین میزان آن در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۱۲ ساعت برابر با (93 ± 14) میلی‌گرم بر دسی لیتر و حداقل میزان آن در ۹۶ ساعت در تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر برابر با $(24/4 \pm 2)$ میلی‌گرم بر دسی لیتر مشاهده گردید. ارتباط تری گلیسریدها و پروتئین تام شاید به این خاطر باشد که تری گلیسریدها به دلیل عدم حلالیت در آب قادر به انتقال در پلاسما نیستند، از این رو با برخی لیپوپروتئین‌ها و کلسترول مجموعه‌ای را تشکیل می‌دهند که قابل انتقال در پلاسما باشد و افزایش ساخت این لیپوپروتئین‌ها بر پروتئین تام تأثیرگذار است (ملک نیا و شهبازی، ۱۳۷۴).

نتایج تحقیق نشان داد که متوسط کلسترول در گروه شاهد، تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت به ترتیب $64/7 \pm 24/1$ ، $81/9 \pm 2/4$ و $10/8 \pm 0/2$ میلی‌گرم بر دسی لیتر بود و از ۱۲ ساعت تا ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P \geq 0/05$). ولی در ۹۶ ساعت در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر با شاهد و تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$). غلظت کلسترول خون ماهیان در بین و درون گونه‌ها بسته به نوع تغذیه، شدت فعالیت و مرحله رشد و نمو جنسی می‌تواند متفاوت و متغیر باشد (Zhou et al., 2009). کلسترول پیش ماده ساخت هورمون‌های استروئیدی است که تحت شرایط استرس، غلظت آن در خون افزایش می‌یابد و ممکن است باعث افزایش ساخت هورمون کورتیزول باشد (Hoseini et al., 2011). سطوح غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول به عنوان شاخص‌های اصلی وضعیت سلامت ماهیان استخوانی عالی مطرح می‌باشد. به طوری که تغییر در غلظت

ثانویه استرسی ماهی به شرایط نامناسب محیطی است (یوسفی، ۱۳۸۵). در تحقیقی مشابه افزایش در میزان گلوکز در خون قزل‌آلای رنگین کمان در معرض سمیت حاد $0/125$ و $0/5$ میلی‌گرم بر لیتر روی مشاهده گردید (Vosyliene, 1996). افزایش مشابه در گلوکز خون قزل‌آلای رنگین کمان پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت مجاورت با ۲ میلی‌گرم بر لیتر روی نیز گزارش شده است (Nemsock & Hughes, 1988).

با این وجود، میزان گلوکز در خون گربه ماهی هندی (*Heteropneustes fossilis*) پس از ۲۴ ساعت مجاورت با غلظت $0/25$ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است (Singh & Reddy, 1990). گلوکز اصلی‌ترین ماده حاصل از سوخت و ساز مواد کربوهیدراتی می‌باشد، که تغییرات روزانه آن با تغییرات هورمون‌های کورتیزول و تیروئید در ارتباط است (Zhou et al., 2009). مقدار گلوکز خون بسته به گونه ماهی در محدوده ۳۵-۳۵۰ میلی‌گرم در دسی لیتر متغیر می‌باشد (Ahmadifar et al., 2010). افزایش غلظت گلوکز خون از طریق مکانیزمی رخ می‌دهد که در آن واکنش بیوشیمیایی گلیکوژنز و تغییر بافت گلیکوژن به گلوکز رخ می‌دهد و گلوکز در داخل خون تجمع می‌یابد (Ahmadifar et al., 2010). Dange (1986) تحقیقی بر روی ماهی تیلاپیا انجام داد و دریافت که همه آلاینده‌ها اثر قابل توجهی بر میزان گلیکوژن کبد و عضلات داشته و باعث افزایش غلظت گلوکز خون پلاسما می‌گردد. ویژگی‌های بیوشیمیایی خون به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های وضعیت فیزیولوژیک ماهی قلمداد می‌شود. تغییرات پروفیل بیوشیمیایی خون در واقع بازتاب تغییر در پروسه متابولیسم و بیوشیمی ماهی است که به طور عمده ناشی از تأثیر آلاینده‌ها می‌باشد (Edsall, 2003).

در این تحقیق میانگین تری گلیسرید پلاسما خون با نوسان همراه بود و در ۱۲ ساعت تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر با شاهد و تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P \geq 0/05$) ولی در تیمار ۱۰

گزارش شده است. در تحقیق انجام شده میانگین آلبومین پلاسماي خون در تیمارها و زمان‌های مختلف با نوسان همراه بود. به طوری که در ۱۲ ساعت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P \geq 0.05$). ولی در ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($P < 0.05$). به طوری که حداقل میزان آن در تیمار شاهد برابر با (0.73 ± 0.14) گرم بر دسی لیتر و حداکثر میزان آن در تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت برابر با (9.03 ± 0.06) گرم بر دسی لیتر مشاهده گردید. Gopal و همکاران در سال ۱۹۹۷ اثر فلزات سنگین بر بیوشیمی پروتئین خون ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* را به عنوان 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 به شدت کاهش و سپس به حالت اولیه برگشته و متعاقباً تا ۷۲ ساعت کاهش یافت و دریافتند که غلظت‌های کشنده و تحت کشنده فلزات سنگین روند مشابهی را نشان داده و بیان داشتند که اندازه‌گیری سطوح پروتئین، آلبومین و گلوبولین به عنوان شاخص پاسخ به عوامل استرس‌زای محیطی مطرح می‌باشد.

به طور کلی، با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و نیز بررسی نتایج دیگر پژوهشگران می‌توان اینطور بیان کرد که فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهیان با توجه به شرایط مختلف، از قبیل بیماری، آلودگی، استرس، تغییر شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط آب، تغذیه، مراحل رشد، سن و اندازه ماهی و غیره متفاوت است. همچنین، گرچه روی یک فلز ضروری برای انجام بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی است ولی در ترکیب با نیترات در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر اثرات سمی شدیدی بر ماهی فیتوفاگ پرورشی دارد علاوه بر تأثیر بر محیط زیست، سلامت جامعه را هم می‌تواند تحت تأثیر قرار دهد.

کلسترول بازگو کننده سوخت و ساز در کبد است. مقدار کلسترول در ماهیان پرورشی نسبت به ماهیان وحشی همان گونه، بالاتر است. افزایش بیش از حد کلسترول بیانگر بی‌نظمی سوخت و ساز چربی و لیپوپروتئین به ویژه تخریب کارایی فیزیولوژیک کبد است (Gul et al., 2011; Zhou et al., 2009). غلظت کلسترول با افزایش چربی در جیره غذایی و اندازه ماهی افزایش می‌یابد (Satheeshkumar et al., 2010). Mumoz و همکاران (2004) در تحقیقی مشابه بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان دریافتند که سطوح کلسترول تا روز ۱۵ در معرض سمیت تحت کشنده روی افزایش، ولی در روز ۲۱ کاهش یافت. در تحقیق انجام شده میانگین پروتئین تام خون در ۱۲ ساعت بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P \geq 0.05$) ولی در ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند که با کاهش همراه بود ($P < 0.05$). به طوری که حداقل میزان آن در تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت برابر با (0.043 ± 0.003) گرم بر دسی لیتر و حداکثر آن در ۱۲ ساعت در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر برابر با (3.53 ± 0.3) گرم بر دسی لیتر مشاهده گردید. پروتئین‌های پلاسما بجز ایمونوگلوبولین‌ها در کبد ساخته می‌شوند. با توجه به اثر تخریبی فلز روی بر بافت کبد، ساخت پروتئین‌های کبد کاهش می‌یابد، در ضمن اثر استرس ناشی از مسمومیت و گرسنگی منجر به کاهش پروتئین تام سرم خون در ماهی می‌شود (Gluth & Hanke., 1985). ولی در مطالعه‌ای که توسط Zhou و همکاران (2009) انجام شد، اثر سموم مختلف را در زمان‌های متفاوت بر روی خون ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرار دادند و گزارش نموده‌اند که میزان پروتئین پلاسما و کلسترول تحت تأثیر سموم مختلف دچار کاهش می‌گردد. در پژوهش‌های مشابه افزایش معنی‌دار غلظت پروتئین‌های پلاسماي خون کپور ماهیان در معرض سمیت روی توسط Hansen و همکاران (2011)

- (*Oreochromis mossambicus*), during short-term exposure to different type of pollutants. *Environmental Pollution*, 41(A): 165-177.
- Edsall, C. 2003. A blood chemistry profile for lake trout. *Journal of Aquatic Animal Health*, 11:81- 86.
- Emad, H., Abou, E-N., Khalid, M., Moselhy, E. & 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*, 31: 60-71.
- Gluth, G. & Hanke, W. 1985. A comparison of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, induced by several pollutants at sublethal concentrations, the dependency on exposure time. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 9 (2):179-88.
- Gopal, V., Parvathy, S. & 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*, 48: 117-124.
- Gul, Y. Gao, Z. X. Qian, X. Q. & Wang, W. M. 2011. Hematological and serum biochemical characterization and comparison of wild and cultured northern snakehead (*Channa argus* Cantor, 1842). *Journal of Applied Ichthyology*, 27: 122-128.
- Hansen, J. A., Welsh, P. G., Lipton, J., Cacula, D. & Dailey, A. D. 2011. Relative sensitivity of Bull trout (*Salvelinus confluentus*) and Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to acute exposures of cadmium and zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21: 67-75.
- Hoseini, S. M. & Ghelichpour, M. 2011. Efficacy of clove solution on blood sampling and hematological study in Beluga, *Huso huso* (L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 52:134-140.
- Hovis, M., Kimball, R. & Peterson, J. 2005. Mathematics exercises in biotechnology. Dilutions of stock liquid solutions. *National Science Foundation*, 2: 12-14.
- Lwaman, G. K. Afonso, L. & Vijayan, M. 2004. Aqua net work shop on fish welfare, Campbell River, B.C.
- Mumoz, M. J., Carbaloo, M. & Tarazona, J.V. 2004. The effect of sublethal levels of zinc and cyanide on some biochemical
- منابع**
- آذری تاکامی، ق. و کهنه شهری، م. ۱۳۷۳. تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران. ایران.
- پورغلام، ر.، مکرمی رستمی، ع.، سعیدی، ع.، شریف پور، ع.، غرقی، ا. و پورغلام، ح. ۱۳۸۹. بررسی اثرات حاد باکتری استرپتوکوکس فسیوم (*Streptococcus faecium*) روی برخی از بافت‌ها و مشخصه‌های خونی بچه ماهیان قزل آلی رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۱۹(۲): ۹-۱۸.
- پیغان، ر. ۱۳۷۸. بررسی تجربی مسمومیت حاد با آمونیاک در ماهی کپور معمولی. پایان نامه دکترای تخصصی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران.
- کاظمی، ر.، پوردهقانی، م.، یوسفی جوردهی، ا.، یارمحمدی، م. و نصری تجن، م. ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزبان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. ایران.
- محمد خانلو عشایری، ص. ۱۳۸۲. تعیین LC₅₀ بررسی اثرات حاد فلز روی بر تغییرات بافت‌های عضله، گنادها و کبد در ماهی کپور معمولی. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.
- یوسفی جوردهی، ا. ۱۳۸۵. تعیین ارتباط برخی شاخص‌های خونی و اسمزی در روند تکامل جنسی ماهی ازون برون پرورشی (*Acipenser stellatus*) پرورشی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ایران.
- ملک نیا، ن. و شهبازی، پ. ۱۳۷۴. بیوشیمی عمومی. جلد دوم (چاپ چهاردهم). انتشارات دانشگاه تهران. ایران.
- Ahmadifar, A., Akrami, R., Ghelichi, A. & Mohammadi Zarejabad, A. 2010. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of Great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comparative Clinical Pathology*, 32:6-14.
- Casillas, E., Myers, M. S., Rhodes, L. D. & McCain, B. B. 1986. Serum chemistry of diseased English sole *Parophrys vetulas* girad from polluted areas of Puget Sound Washington. *Journal of Fish Diseases*, 8:437-449.
- Dange', A. D. 1986. Changes in carbohydrates metabolism in Mozambique Tilapia

- hepato-somatic index of an Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), and its recovery. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 20:30-35.
- Theodorakis, C. W., D'Surney, S. J., Bickham, J. W., Lyne, T. B., Bardley, B. P., Hawkins, W. E., Farkas, W. L., Mc. Carthy, J. F. & Shugart, L. R. 1992. On exposure to LC-50 of cadmium chloride, *Ophiocephalus punctatus* alters the physicochemical parameters of water. *Ecotoxicology*, 1:45-73.
- Vosyliene, M. Z. 1996. The effect of long-term exposure of zinc on physiological parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Studies of Haematological Parameters. Ekologija*, 1:3-6.
- Xiaoyun, Z., Mingyun, L., Khalid, A. & Weinmin, W. 2009. Comparative of hematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach, *Misgurnus anguillicadatus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 435 – 441.
- Zhou, X. Li, M. Abbas, K. & Wang, W. 2009. Comparison of hematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35:435-441.
- parameters of Rainbow trout along subacute exposition. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology*, 100:577-582.
- Nemscok, J. G. & Hughes, G. M. 1988. The effect of zinc sulphate on some biochemical parameters of Rainbow trout. *Environmental Pollution*, 49:77-85.
- Rehulka, J., Minarik, B. & Rehulkova, E. 2004. Red blood cell indices of Rainbow trout in aquaculture. *Aquaculture Research*, 35:529-546.
- Rodriguez, H. 1990. Zn uptake from blood in to brain and other tissues in the rat. *Neurochemical Research*, 5 (10):1003-1008.
- Sandstrom, O. 1989. Seasonal variations in some blood parameters in Perch, *Perca fluviatilis* L. *Journal of Applied Ichthyology*, 5:85-95.
- Satheeshkumar, P., Ananthan, G., Senthilkumar, D. & Jeevanantham, K. 2010. Comparative investigation on hematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar Estuary, Southeast Coast of India. *Comparative Clinical Pathology*, 10:1091-1095.
- Singh, H. S. & Reddy, T.V. 1990. Effect of zinc sulfate on hematology, blood chemistry and