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

مهزاد شکوری[1*] و سورنا ابدالی[2]

۱. گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات

۲.گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۹/۲۰ تاریخ پذیرش:۱۳۹۶/۰۲/۱۲

چکیده

هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر سمیت فلز سنگین سرب بر برخی فاکتورهای سرولوژیکی خون ماهی فیتوفاگ طی مجاورت کوتاه مدت با فلز سرب می باشد. به منظور انجام این مطالعه ۱۳۵ عدد بچه ماهی فیتوفاگ با وزن متوسط ۱۰ ± ۵۰ گرم و طول متوسط ۱±۱۳سانتی متر، در مجاورت غلظت های ۰، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر سرب نیترات $Pb(NO_3)_2$ در ۹ دستگاه آکواریوم هر یک به ظرفیت ۹۰ لیتر قرار داده شدند. نمونه برداری خون از سیاهرگ دمی به صورت کاملا تصادفی، به تعداد ۳ عدد ماهی از هر آکواریوم، هر ۱۲ ساعت یکبار تا ۹۶ ساعت صورت گرفت. نتایج نشان داد که میزان هموگلوبین در ساعت ۲۴ بین گروه شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵). سطوح گلوکز پلاسما با افزایش غلظت سرب و با گذشت زمان بطور معنی داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). سطوح تری گلیسرید و آلبومین تغییر معنی داری نشان نداد (P>۰/۰۵). میزان کلسترول تا ۷۲ ساعت افزایش و سپس کاهش یافت. میزان توتال پروتئین با گذشت زمان و افزایش غلظت سرب افزایش یافت. بر اساس نتایج حاصل، پارامترهای بیوشیمیایی فاکتورهای مناسب برای پایش سمیت سرب و استرس ناشی از آن به ویژه در غلظت های حاد(کشنده)در ماهی فیتوفاگ می باشند.

واژگان کلیدی: سرب، گلوکز، آلبومین، پروتئین، تری گلیسرید، ماهی فیتوفاگ(*Hypophthalmichthys molitrix*)

* **نگارنده پاسخگو: Mahzadshakoori@yahoo.com**

مقدمه

آلودگی محیط زیست ناشی از فلزات سنگین در اثر توسعه شهرنشینی و صنایع که منجر به افزایش کمیت و کیفیت فاضلاب و پساب تولیدی شده است، به طور فزاینده ای در حال رشد است. هم اکنون پیدایش مسمومیت های شدید در جوامع انسانی و حیوانی مصرف کننده آب و محصولات کشاورزی، به صورت یکی از مباحث مهم دنیا در آمده است. فلزات سنگین در شکل های گوناگون و غلظت های متفاوت، به طور عمده از طریق تخلیه پساب های صنعتی و فاضلاب های شهری، در رودخانه ها و نهرها و نیز زهکشی زمین های کشاورزی، که با کودهای تهیه شده از لجن فاضلاب ها تغذیه می شوند، به محیط راه می یابند و نه تنها موجودات آبزی و ماهیان را اعم از وحشی یا پرورشی تهدید می کنند، بلکه موجب بروز تغییرات در اکوسیستمی که انسان با محیط اطرافش تشکیل داده و خود در رأس آن قراردارد، می شوند. گرچه مقادیر جزئی از فلزات موجود در آب ها دارای منشاء طبیعی هستند، اما مقادیر بیشتر آنها که ناشی از آلودگی های طبیعی و صنعتی هستند، باعث ایجاد مسمومیت در موجودات زنده مانند ماهیان می گردند. بر خلاف دیگر آلاینده های با منشاء آلی، فلزات در اکوسیستم تخریب و یا حذف نشده و در رسوبات و بدن موجودات انباشته می شوند (Rajkowska & Protasowicki., 2014) ؛ جلالی جعفری و همکاران، ۱۳۸۶)

برخی از این فلزات مانند مس، روی و آهن در مقادیر کم برای متابولیسم آبزیان ضروری هستند و نقش مهمی در بدن انسان دارند (Ghaedi *et al*., 2007; Canli *et al*., 2002; Ghaedi, 2006; Ghaedi *et al*., 2009) در حالی که نقش زیستی برخی از آنها مانند کادمیوم، سرب و جیوه هنوز شناخته نشده است و این فلزات حتی در غلظت های پایین نیز برای موجودات زنده سمی هستند (Canli *et al*., 2002).

از آنجایی که یکی از مهم ترین راه های در معرض قرار گرفتن انسان با سرب دریافت این عنصر از طریق منابع غذایی می باشد، لذا ارزیابی و کنترل میزان آلودگی اقلام مختلف غذا و شناسایی منابع آلاینده، تعدیل یا حذف آن تاثیر قابل ملاحظه ای بر سلامت و طول عمر انسان خواهد داشت(جلالی جعفری و همکاران، ۱۳۸۶).

سرب یک نوروتوکسین است که باعث بروز نقایص رفتاری در مهره داران می شود و می تواند سبب کاهش بقا، نرخ رشد، میزان یادگیری و متابولیسم شود (Eisler, 1988; Karadede *et al*., 2000).

جیوه، کادمیوم، آرسنیک و سرب عناصری هستند که بیشترین عوارض را بر روی سلامتی انسان دارد و بسیار سمی می باشند. اختلال بیوسنتز هموگلوبین و کم خونی، افزایش فشار خون، آسیب به کلیه، سقط جنین و تولید نوزاد نارس، اختلال سیستم عصبی، آسیب به مغز، ناباروری مردان، کاهش قدرت یادگیری و اختلالات رفتاری در کودکان از عوارض افزایش غلظت سرب در بدن انسان است (Berlin, 1985). از میان فلزات سنگین که در آب های طبیعی یافت می شوند، سرب وکادمیوم از نظر امکان بروز تلفات در ماهیان از اهمیت زیادی برخوردارند(Robert, 2001). ماهی در بالاترین نقطه زنجیره غذایی آبی قرار گرفته است و توانایی بزرگنمایی زیستی فلزات سنگین را حتی در غلظت های پایین موجود در محیط دارد (Bhagwant *et al*., 2000).

مکانیسم ورود فلزات سنگین، جذب و دفع آنها در ماهیان گوناگون متفاوت است. اما مشخص شده است که تأثیر سمی فلزات بر ماهی ارتباط معنی داری با شکل حضور آنها در آب دارد (جلالی و همکاران، ۱۳۸۶؛ عسگری ساری و همکاران، ۱۳۸۹). آلودگی آب با ترکیبات یا عناصر فلزات سنگین، منجر به مسمومیت خونی ماهیان و به دنبال آن تلفات مستقیم و یا مسمومیت مزمن و تغییرات مهم در فیزیولوژی ماهیان می شود که نتیجه آن نداشتن توانایی جانور برای ادامه حیات خواهد بود (جلالی و همکاران، ۱۳۸۶).

خون به عنوان یک شاخص مهم، وضعیت فیزیولوژیک اندام های بدن را نشان می دهد. آنالیز خون محیطی از نظر پارامترهای هماتولوژی، سرولوژی و بیوشیمیایی در تشخیص بیماری های خونی، سم شناسی متابولیک و کنترل روند زیستی موجودات زنده از جمله آبزیان به ما کمک می کند (Gholamian, 2004). تغییر در میزان و سطوح این پارامترها می تواند منعکس کننده پاسخ های ماهیان به تغییرات در محیط زندگی آنها باشد (Satheeshkumar *et al*., 2010).

تغییرات پارامترهای خونی اغلب به تغییرات فیزیولوژیکی و محیطی وابسته هستند. در شرایطی که ماهیان در معرض آلاینده های فلزات سنگین قرار گیرند، برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی خون آنها تغییر می کند (Sweety *et al*., 2007; Cicik *et al*., 2005). وجود فلزات سنگین تنش اضافی به ماهی تحمیل می کند که این

تنش به بروز سایر تغییرات فیزیولوژیکی در ماهی منجر می شود (Sweety *et al.*, 2007: Bhagwant & Bhikagee, 2000).

فلزات سنگین که به صورت ترکیب با آنزیم ها وارد بدن انسان می شوند، توسط پروتئین ها حمل می شوند و یا در چربی های بدن حل می گردند، تأثیرات نامطلوب بیشتری دارند (جلالی و همکاران، ۱۳۸۶). پژوهش هایی که در زمینه آلودگی فلزات سنگین در اکوسیستم های آبی انجام می شود از دیدگاه سلامت انسان و بهداشت عمومی بسیار مهم هستند. هدف اصلی از این قبیل بررسی ها پیشگیری از ابتلای انسان به امراض و عوارض گوناگون ناشی از استفاده غذایی از آبزیان آلوده به فلزات سنگین است(Mendil *et al.*, 2007) . از طرفی در این پژوهش ها حفظ حالت توازن اکوسیستم های آبی به عنوان هدف ثانویه مدنظر است (دادالهی سهراب و همکاران،۱۳۸۷). لذا در تحقیق حاضر اثر سمی کوتاه مدت فلز سرب نیترات بر روی برخی از فاکتورهای سرولوژیکی بچه ماهیان فیتوفاگ مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

تحقیق حاضر در بهار سال ۱۳۹۰ در بخش های فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت به انجام رسید. برای مطالعه اثر غلظت های مختلف فلز سرب 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 بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان واقع در جاده سنگر منتقل شد. پس از سازگاری بچه ماهیان، بر اساس تیمارهای مورد نظر در ۹ آکواریوم ۱۰۰ لیتری حاوی ۹۰ لیتر آب شهر(کلر زدایی شده و مجهز به هوادهی) ، تعداد ۱۵ عدد ماهی با میانگین وزنی ۱۰±۵۰ گرم و میانگین طول کل ۱±۱۳سانتی متر در هر آکواریوم قرار داده شدند. برای ثابت نگهداشتن شرایط محیطی، در طول آزمایش پارامترهای فیزیکی مانند دما توسط دماسنج جیوه ای، pH (توسط pH سنج دیجیتال مدل Multi 340I ساخت آلمان) و میزان اکسیژن محلول توسط دستگاه اکسیژن سنج دیجیتال مدل(WIW 3301ساخت آلمان) اندازه گیری شد. دمای آب در طول آزمایش برابر با ۱±۲۴ درجه سانتی گراد، و میانگین pH برابر با ۰/۲±۸ ، و میانگین میزان اکسیژن محلول آب در طول آزمایش برابر با ۵/۲ میلی گرم در لیتر بوده است. در مجموع ۳ گروه، شامل یک گروه شاهد و تیمارهای با غلظت ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر سرب نیترات $Pb(NO_3)_2$ و هر تیمار با سه تکرار در نظر گرفته شد. غلظت های مورد نظر سرب نیترات بر اساس جرم مولی و به روش جرمی _ حجمی تعیین شد. (Hovis *et al.*, 2005). در طول آزمایش آب تعویض نشد و غلظت فلز سرب در طول مراحل تحقیق ثابت بود.

در بررسی، فاکتورهای بیوشیمیایی از ماهیان در زمان های ۷۲،۴۸،۲۴،۱۲ و ۹۶ از ساقه دمی توسط سرنگ ۲ میلی لیتر هپارینه خونگیری به عمل آمد. به منظور تعیین فاکتورهای بیوشیمیایی خون، ضرورت دارد خون هپارینه هر چه سریع تر سانتریفیوژ گردد .برای تهیه سرم از روش پولینگ (pooling) استفاده شد.

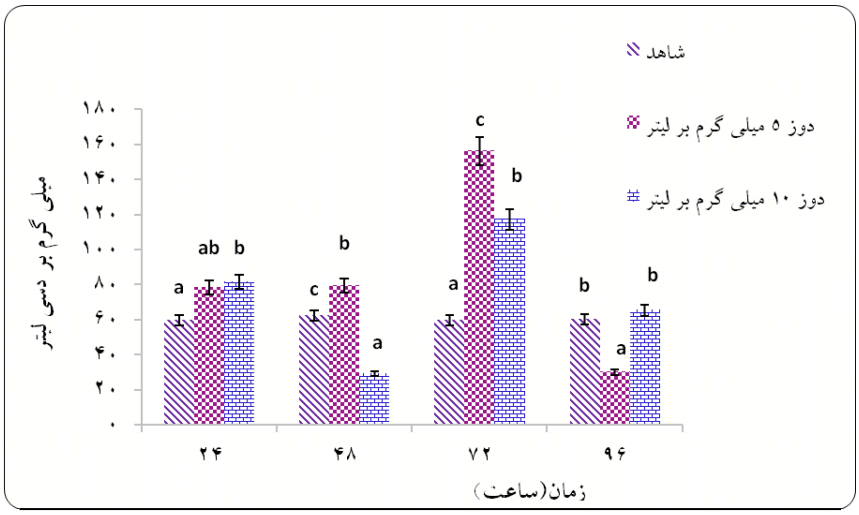
جداسازی سرم از سلول های خونی توسط دستگاه سانتریفیوژ(مدل Labofuge 200)،ساخت شرکت Heraeus sepatech آلمان با سرعت ۳۰۰۰ دور در مدت زمان ۱۰ دقیقه انجام گرفت. سرم جدا شده، به لوله های آزمایش منتقل و سپس میزان جذب گلوکز و کلسترول و تری گلیسرید با طول موج ۵۴۶ نانومتر، پروتئین تام با طول موج ۵۶۰ نانومتر و آلبومین با طول موج ۶۳۰ نانومتر، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدلUV/VI ۶۵۰۵ ساخت شرکت Jenway انگلیس) اندازه گیری شدند(کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS V.14 انجام شد. نرمال بودن داده ها با آزمون (کولموگرف-اسمیرنف) بررسی شد و داده ها به به روش آنالیز واریانس یک طرفه (One - way ANOVA) با یکدیگر مقایسه شدند (پور غلام و همکاران، ۱۳۸۹). به منظور رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

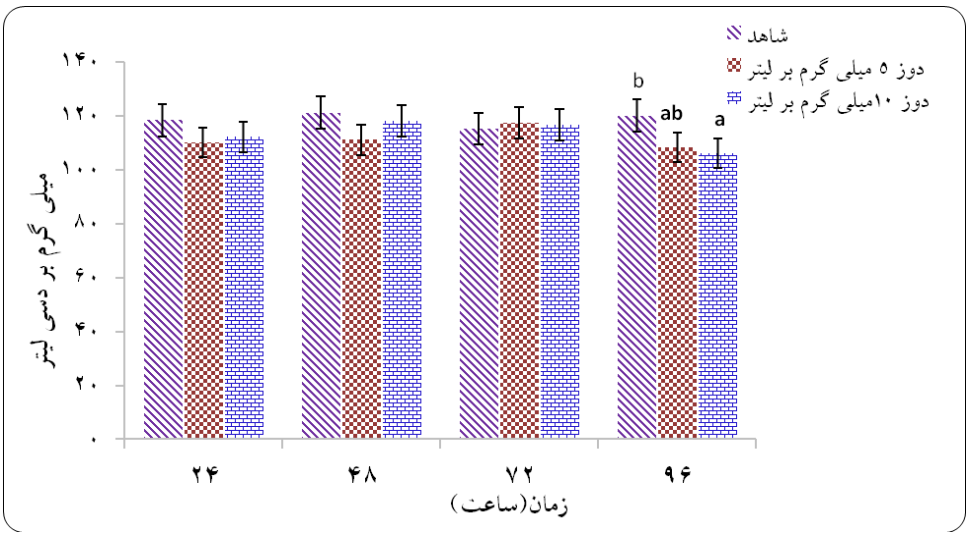
نتایج

نتایج تحقیق حاضر شامل میانگین کلسترول در گروه شاهد، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر در ۹۶ ساعت در (شکل۱)، میانگین تری گلیسرید در (شکل۲) و میانگین آلبومین در (شکل۳) ارائه شده است.



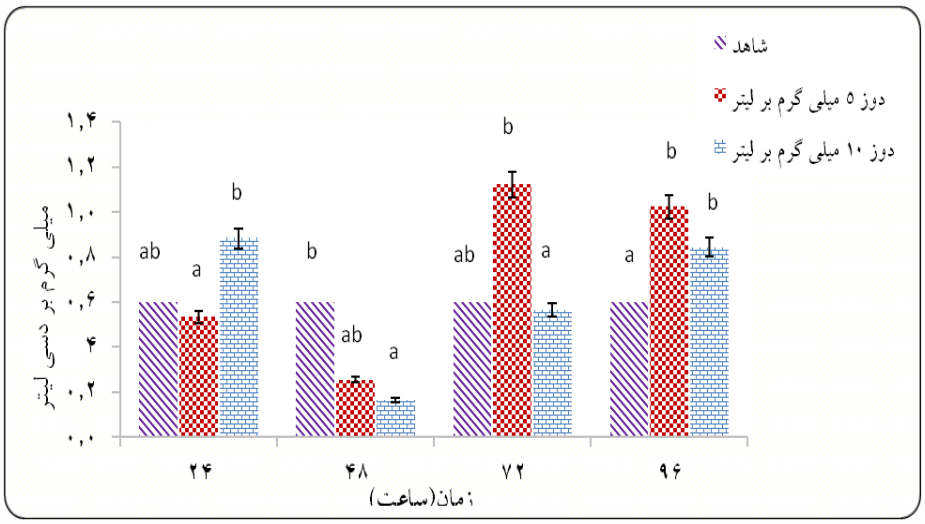
شکل ۱- میانگین کلسترول پلاسمای خون بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی در معرض سرب نیترات درتیمارهای مختلف مورد مطالعه (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار است) (آنتنک ها نشان دهنده انحراف معیار هستند)

براساس نتایج میانگین کلسترول پلاسمای خون در تیمارها و در زمان های مختلف دارای نوسان بود، به طوریکه در ۲۴ ساعت با افزایش غلظت فلز سرب، اختلاف معنی داری با تیمار شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). در زمان ۷۲ ساعت سطوح کلسترول بطور معنی داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). ولی در ۹۶ ساعت دارای نوسان بود.



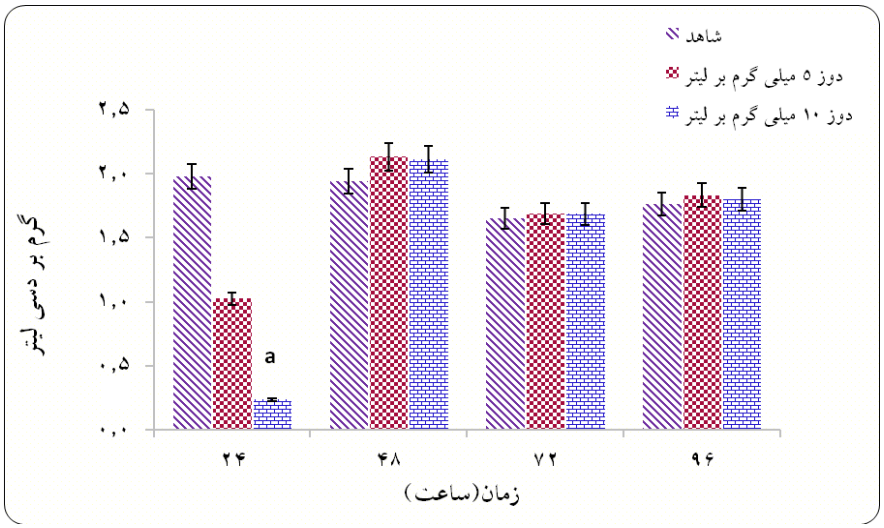
شکل ۲- میانگین تری گلیسرید پلاسمای خون بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی در معرض سرب نیترات درتیمارهای مختلف مورد مطالعه (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار است) (آنتنک ها نشان دهنده انحراف معیار هستند)

نتایج حاصل از بررسی میانگین تری گلیسرید پلاسمای خون اختلاف معنی داری را بین تیمارها تا زمان ۷۲ ساعت نشان نداد ($P\geq ۰/۰۵$)، ولی در زمان ۹۶ ساعت با افزایش غلظت فلز میزان آن کاهش یافت، بطوریکه بین تیمار با غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر و شاهد اختلاف معنی داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$).



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

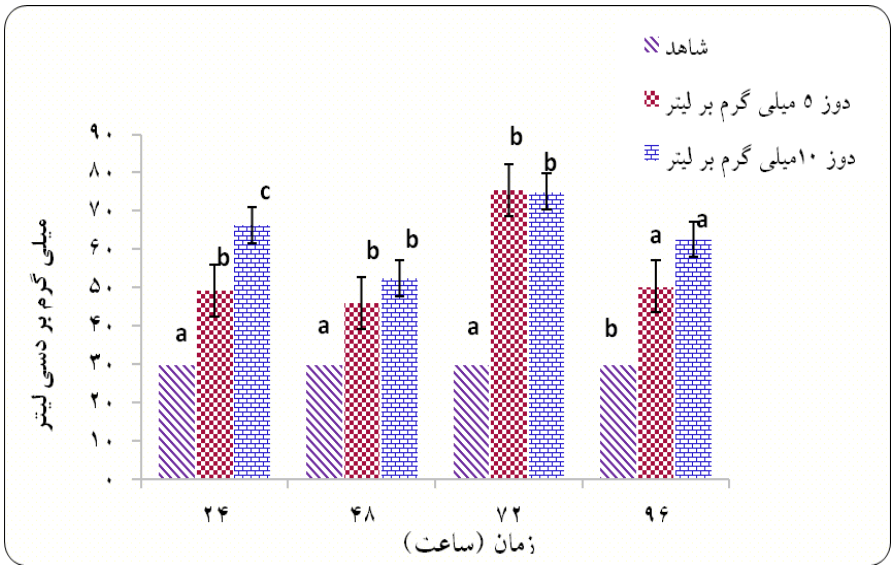
میانگین آلبومین پلاسمای خون در ۲۴ ساعت اختلاف معنی داری بین تیمار ۱۰ میلی گرم با تیمار شاهد و ۵ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد ($P<۰/۰۵$)و در ۷۲،۴۸ و ۹۶ ساعت با افزایش غلظت فلز سرب اختلاف معنی داری مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). متوسط پروتئین تام در (شکل۴) و متوسط گلوکز در (شکل۵) نمایش داده شده است.



شکل ۴- میانگین پروتئین تام پلاسمای خون بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی در معرض سرب نیترات درتیمارهای مختلف مورد مطالعه (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار است) (آنتنک ها نشان دهنده انحراف معیار هستند)

میانگین پروتئین تام خون در ۲۴ ساعت با افزایش غلظت فلز سرب بطور معنی داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$).

در حالیکه در۷۲،۴۸ و ۹۶ ساعت روند معکوسی داشته و فاقد اختلاف معنی دار بود ($P\geq۰/۰۵$).



شکل ۵- میانگین گلوکز خون بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی در معرض سرب نیترات در تیمارهای مختلف مورد مطالعه (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار است) (آنتنک ها نشان دهنده انحراف معیار هستند)

میانگین گلوکز پلاسمای خون در زمان های مورد مطالعه بطور معنی داری نسبت به شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۵)، به طوریکه در ۲۴ ساعت بین تیمار شاهد ۵ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر اختلاف معنی داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). در۷۲،۴۸ و ۹۶ ساعت تیمار شاهد با تیمار ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر اختلاف معنی داری مشاهده شد (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر متوسط کلسترول در گروه های شاهد، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر سرب نیترات در ۹۶ ساعت به ترتیب برابر۲۱/۲±۱۲/۲/۶۰،۲/۱±۰/۳۰،۶۵/۴ میلی گرم بر دسی لیتر بدست آمد (شکل۱). سطح کلسترول در تیمارها و زمان های مختلف دارای نوسان بود و با افزایش میزان غلظت سرب اختلاف معنی داری با تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵).

غلظت کلسترول خون ماهیان در بین و درون گونه ها بسته به نوع تغذیه، شدت فعالیت و مرحله رشد و نمو جنسی می تواند متفاوت و متغیر باشد(Zhou *et al*., 2009). کلسترول ماده پیش ساخت هورمون های استروئیدی است که تحت شرایط استرس، غلظت آن در خون افزایش می یابد و ممکن است باعث افزایش ساخت هورمون کورتیزول باشد. افزایش بیش از حد کلسترول بیانگر بی نظمی سوخت و ساز چربی و لیپوپروتئین بویژه 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 می یابد (Satheeshkumar *et al*., 2010). Glueek و همکاران در سال ۱۹۸۶ بیان داشتند که مجاورت با سرب باعث افزایش کلسترول پلاسما در موش ها می شود و همچنین دریافتند که مجاورت موش ها با سرب سبب افزایش LDL(چربی با چکالی کم) و کاهش HDL(چربی با چگالی بالا) خون می شود.

در تحقیق حاضر متوسط تری گلیسرید خون در گروه شاهد، تیمارهای ۵ و۱۰ میلی گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت به ترتیب برابر۵/۶±۲/۱۲۳،۲/۱۲۰±۱/۴۳،۲/۱۰۸±۱۰۶/۱۲۳میلی گرم بر دسی لیتر به دست آمد(شکل۲)، نتایج حاصل از بررسی میانگین تری گلیسرید پلاسمای خون اختلاف معنی داری را بین تیمارها تا زمان ۷۲ ساعت نشان نداد (P≥۰/۰۵)، ولی در زمان ۹۶ ساعت با افزایش غلظت فلز میزان آن کاهش یافت، بطوریکه بین تیمار با غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر و شاهد اختلاف معنی داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). سطوح غلظت تری گلیسرید و کلسترول به عنوان شاخص های اصلی وضعیت سلامت ماهیان استخوانی عالی مطرح می باشد (Gul *et al*., 2011; Zhou *et al*., 2009) به طوریکه تغییر درغلظت کلسترول بیانگر سوخت و ساز در کبد است. افزایش بیش از حد کلسترول بیانگر بی نظمی سوخت و ساز چربی و لیپوپروتئین به ویژه تخریب کارایی فیزیولوژیک کبد است (Gul *et al*., 2011; Zhou *et al*., 2009).

ارتباط تری گلیسریدها و پروتئین تام شاید به دلیل این که تری گلیسیریدها به خاطر عدم حلالیت در آب قادر به انتقال در پلاسما نیستند، باشد از اینرو با برخی لیپوپروتئین ها و کلسترول مجموعه ای را تشکیل می دهند که قابل انتقال در پلاسما باشد و افزایش ساخت این لیپوپروتئین ها بر پروتئین تام تاثیرگذار است (ملک نیا و شهبازی، ۱۳۷۴).

میانگین آلبومین پلاسمای خون در ۲۴ ساعت اختلاف معنی داری بین تیمار ۱۰ میلی گرم با گروه شاهد و ۵ میلی گرم بر لیتر نشان داد (P<۰/۰۵) و در ۷۲،۴۸ و ۹۶ ساعت با افزایش غلظت فلز سرب اختلاف معنی داری مشاهده گردید(P<۰/۰۵). سطوح آلبومین پلاسما در همه گروه ها و زمان های مورد مطالعه دارای اختلاف معنی داری بود. این تغییرات به دلیل کاهش میزان نفوذ سدیم است، زیرا در حضور سرب نیترات است که نفوذ سدیم پلاسما کاهش می یابد(Alkahemal *et al*.,2011). از آنجا که آلبومین یکی از پروتئین های خون است و مهم ترین وظیفه آن حفظ فشار اسمزی خون است، کاهش نفوذ پذیری سدیم پلاسما باعث افزایش فشار اسمزی شده و در نتیجه تنظیمات آلبومین بهم می خورد. کاهش میزان توتال پروتئین بدنبال کاهش میزان آلبومین است زیرا آلبومین ۶۰ درصد از توتال پروتئین است(یوسفی، ۱۳۸۵).

میانگین پروتئین تام خون در ۲۴ ساعت با افزایش غلظت فلز سرب بطور معنی داری کاهش یافت (P<۰/۰۵) در حالیکه در ۷۲،۴۸ و ۹۶ ساعت روند معکوسی داشته و فاقد اختلاف معنی دار بود (P≥۰/۰۵).

پروتئین های پلاسما بجز ایمونوگلوبولین ها در کبد ساخته می شوند. با توجه به اثر تخریبی فلز روی بر بافت کبد، ساخت پروتئین های کبد کاهش می یابد، در ضمن اثر استرس ناشی از مسمومیت و گرسنگی منجر به کاهش پروتئین تام سرم خون در ماهی می شود(Gluth & Hanke., 1985). ولی در مطالعه ای که توسط Zhou و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد، اثر سموم مختلف را در زمان های متفاوت بر روی

خون ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرار دادند و گزارش نموده اند که میزان پروتئین پلاسما و کلسترول تحت تأثیر سموم مختلف دچار کاهش می گردد (Amini Ranjbar, 1994).

پروتیین، چربی و کربوهیدرات از منابع اصلی تامین انرژی در ماهیان هستند(Mazon *et al.*, 2002). بنابراین تغییر و نوسان در میزان پروتئین و تری گلیسرید می تواند در ارتباط به مصرف آنها برای تامین انرژی لازم برای انجام فعالیت های حیاتی بدن باشد(Emad *et al.*, 2005) . Tuzen و همکاران در سال ۲۰۰۶، گزارش کردند که کارکرد کبد پس از مجاورت با غلظت های تحت حاد سرب تغییر می کند و سرب به پروتئین های پلاسما می چسبد و باعث تغییر در کارکرد آنزیم ها می شود. همچنین سنتز پروتئین در سلول های هپاتوسیت کبد را مختل می کند. کاهش در میزان توتال پروتئین در مسمومیت با سرب گزارش شده است.

در تحقیق حاضر متوسط گلوکز در گروه شاهد، تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر در ساعت ۹۶ به ترتیب برابر با۶۲/۶۵۴±۳/۵۰،۱/۳۲۱±۰/۳۰،۳±۳/۲ میلی گرم بر دسی لیتر بود و اختلاف معنی داری در زمان های مورد مطالعه نسبت به شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) (شکل۵).کاهش گلوکز خون در مجاورت با فلز سنگین و استرس می تواند ناشی از پاسخ های (هورمون آدرنالین، کورتیزول) ماهی به عامل تنش زا باشد و البته کاهش سطح گلوکز خون می تواند ناشی از گرسنگی نیز باشد (Sandstrom, 1989). مقدارگلوکز سرم خون شاخص مناسبی برای پاسخ های ثانویه استرسی ماهی به شرایط نامناسب محیطی است (yousefi *et al.*, 2011; Cicik, 2005). گلوکز اصلی ترین ماده به دست آمده از سوخت و ساز مواد کربوهیدراتی می باشد (Ahmadifar *et al.*, 2010) متغیر می باشد.

افزایش غلظت گلوکز خون از طریق مکانیزمی رخ می دهد که در آن واکنش بیوشیمیایی گلیکوژنز و تغییر گلیکوژن به گلوکز رخ می دهد و گلوکز در داخل خون تجمع می یابد(Ahmadifar *et al.*, 2010). در مطالعه ای که بر روی کپور معمولی انجام شد، میزان گلوکز خون تحت اثر فلز سنگین سرب افزایش معنی داری در مدت ۳۲ روز نشان داد که می تواند به دلیل استرس وارد شده تحت اثر آلاینده باشد (Vosyline & Kazalauskiene., 2004). در تحقیقی که توسطDange در سال ۲۰۱۰ بر روی ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) انجام شد، میزان گلوکز خون در غلظت های بالا و کم به مدت ۱۴ روز مورد مطالعه قرار گرفت که تفاوتی با گروه شاهد نداشت.

در سال ۲۰۰۹، Narayanan و همکاران اثر سمی فلزات سنگین بر پارامترهای خونی در ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* را مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که وجود فلزات سنگین سمی در محیط های آبی اثر قوی بر پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی کپور معمولی آب شیرین دارد. در مطالعه ای که Omima در سال ۲۰۱۰، در مورد اثر سرب، جیوه و کادمیوم بر پاسخ ایمنی در گونه تیلاپیای نیل *Oreochromis niloticus* انجام داد، دریافت که تیتر آنتی بادی در ماهیان قرار گرفته در مجاورت این فلزها در مقایسه با شاهد بیشتر بود. همچنین این فلزات اثر بازدارندگی بر سیستم ایمنی هومورال دارند. این اثر بازدارندگی فلزات مذکور بر پاسخ سیستم ایمنی می تواند ناشی از اثرات وارده به اندام های کبد، طحال و کلیه باشد(غلامیان،۱۳۸۳). تفاوت آشکار فاکتورهای بیوشیمیایی، تحت تاثیر غلظت های مختلف فلز سنگین سرب می تواند بیانگر تاثیر سوء فلز سرب بر سیستم ایمنی و فیزیولوژیک ماهیان باشد(جلالی جعفری و همکاران،۱۳۸۶). به طور کلی، با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و نیز بررسی نتایج دیگر پژوهشگران می توان 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. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که فلز سرب در ترکیب با نیترات در غلظت های ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر اثرات سمی شدیدی بر ماهی فیتوفاگ پرورشی دارد و در نهایت می تواند تاثیر سویی بر روی موجودات آبزی و محیط زیست آنها ایجاد نماید.

منابع

پورغلام، ر.، مکرمی رستمی، سعیدی، ع.، غرقی، ا. و پورغلام، ح.۱۳۸۹. بررسی اثرات حاد باکتری استرپتوکوکوس فسیوم(*Streptococcus Faecium*) روی برخی از بافتها و مشخصه های خونی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان. *مجله علمی شیلات ایران*،۱۹(۲):۱۸-۹.

جلالی جعفری، ب. و آقازاده مشگی م. ۱۳۸۶ . مسمومیت ماهیان در اثر فلزات سنگین آب و اهمیت آن در بهداشت عمومی. انتشارات مان کتاب. تهران.

دادالهی سهراب، ع.، نبوی، م .و خیرور، ن .۱۳۸۷ . ارتباط برخی مشخصات زیست سنجی با تجمع فلزات سنگین در بافت عضله و آبشش ماهی شیربت (*Barbus grypus*)رودخانه اروند رود. *مجله علمی شیلات ایران*، ۱۷(۴):۳۳-۲۷.

عسکری ساری، ا.، ولایت زاده، م. و محمدی، م. ۱۳۸۹ . میزان عنصر جیوه در د و گونه ماهی کفشک زبان گاوی و گل خورک در دو منطقه صیادی بندر امام خمینی و بندرعباس . *مجله شیلات آزادشهر*، ۴(۲): ۵۶-۵۱.

غلامیان، س. ۱۳۸۳. بررسی اثرات سمی مس بر بافت کبد و اندازه گیری پروتئین تام و برخی از آنزیم های سرم خون در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی. تهران، ایران.

کاظمی، ر.، پوردهقانی، م.، یوسفی جوردهی، ا.، یارمحمدی، م. و نصری تجن، م. ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. ناشربازرگان. رشت.

ملک نیا، ن.، و شهبازی، پ .۱۳۷۴ . بیوشیمی عمومی. جلد دوم. . چاپ چهاردهم. انتشارات دانشگاه تهران. ایران.

یوسفی جوردهی، ا. ۱۳۸۵. تعیین ارتباط برخی شاخص های خونی و اسمزی در روند تکامل جنسی ماهی ازون برون پرورشی (*Acipenser stellatus*) پرورشی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان. ایران.

Ahmdifar, 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 Journal*. 20: 447-451.

Alkahemal, H., Zobeir, A., Alisoleiman, A., Almisned, F. & Alamin, M. 2011. Toxicity bioassay of lead acetate and effects of its sublethal exposure on growth, haematological parameters and reproduction in *Clarias gariepinus*. *African Journal of Biotechnology*, 10(53):11039-11047.

Amini Ranjbar, Gh. 1994. Study on heavy metal bioaccumulation in sediments of the Anzali lagoon. *Iranian Journal of fisheries Science*, 8 (21):18-24.

Berlin, M. 1985. Handbook of the toxicology of metals. Elsevier Science Publishers, 2nd ed. London. Bhagwant, S. & Bhikagee, M. 2000. Induction of hypochromic *Macrocytic Anemia* in Oreohromis hybrid (Cichlidae) exposed to 100mg/L (sub lethal dose) of Aluminum. *Science and Technology Research Journal*, 5:8-20.

Canli, M. & Atli, G. 2002. The relationship between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Journal of Environmental Pollution*, 121:129-136.

Cicik, B. & Engin, K. 2005. The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758). *Turk Journal of Animal Science*, 29:113-117.

Dange, D.A. 2010. Changes in carbohydrate metabolism in tilapia, *Oreochromis mossambicus*, during short-term exposure to different types of pollutants environmental pollution. *Journal of Animal and Veterinary*, 41(2):165-177.

Eisler, R. 1988. Zinc hazards to fish. Wildlife and invertebrates: a synoptic review. US fish wildlife serve. Biol. REP.Vol.85.

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

the dependency on exposure time. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 9 (2):179-88.

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.

Hovis, M., Kimball, R. & Peterson, J. 2005. Mathematics exercises in biotechnology. Dilutions of stock liquid solutions. *National Science Foundation*, 2: 12-14.

Karadede, H. & Ünlü, E. 2000. Concentration of heavy metals in water, sediment and fish species from the Atatürk Dam Lake Turkey. *Chemosphere*, 41: 1371- 1376.

Martinez, C.B.R., Nagae, M.Y., Zaia, C.T.B.V. & Zaia, D.A.M. 2004. Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus* lineatus.*Brazilian. Journal of Biology*, 64: 797-807.

Mazon, A.F., Monterio, E.A., Pinherio, G.H.D. & Fernandes, M.N. 2002. Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa. Brazilan. Journal of Biology*, 62(4A): 621-631.

Mendil, D. & Dogan Uluozlü, Ö. 2007. Determination of metal levels in sediment of five fish species from lakes in Tokat, Turkey. *Food Chemistry*, 101:739–745.

Narayan, A.S. & Singh, B.B. 2009. Histopathological lesions in Heteropneustes fossils subjected to acute thiodan toxicity. *Hydrobiological Journal*, 19: 235-243.

Omima, A.S.A. 2010. Impact of pollution with lead, mercury and cadmium on the immune response of *Oreochromis niloticus. Science Journal*, 3:12-16.

Rajkowska, M. & Protasowicki, M. 2014. Distribution of metals (Fe, Mn, Zn, Cu) in fish tissues in two lakes of different trophy in Northwestern Poland. fish *Mugil seheli*. *Egyption Journal of Aquatic Research*, 31: 60-71.

Ghaedi, M. 2006. Pyrimidine-2-thiol as selective and sensitive ligand for preconcentration and determination of Pb2+.*Chemia analityczna Journal*, 51:593–602.

Ghaedi, M., Ahmadi, F. & Soylak, M. 2007.Simultaneous preconcentration of copper, nickel, cobalt and lead ionsprior to their flame atomic absorption spectrometric determination. *Chemia analityczna journal*, 97: 277–285.

Ghaedi, M., Shokrollahi, A., Kianfar, A.H., Mirsadeghi, A.S., Pourfarokhi, A. & Soylak, M. 2008. The determination of some heavy metals in food samples by flame atomic absorption spectrometry after their separation–preconcentration on bis salicyl aldehyde, 1, 3 propan diimine (BSPDI) loaded on activated carbon. *Journal of Hazardous Material*, 154: 128–134.

Ghaedi, M., Shokrollahi, A., Kianfar, A.H., Pourfarokhi, A., Khanjari, N., Mirsadeghi, A.S. & Soylak, M. 2009. Preconcentration and separation of trace amount of heavy metal ions on bis (2-hydroxy acetophenone) ethylendiimine loaded on activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, 162: 1408–1414.

Gholamian, S. 2004. Evaluation of copper toxicity effects on liver and measuring of crude protein and some blood serum enzymes in common carp (*Cyprinus carpio). Iranian Journal of Toxicology*,8(2):120-126.

Glueck, C.J., Gordan, D.J., Nelson, J. J., Davis, C. E. & Tyroller, H.A.1986. Dietary and other correlates of changes in total and low density lipoprotein cholesterol in hypercholesterolemia men: the lipid research clinics coronary prevention tril. *Journal of the American Heart Association*. 44:489-500.

Gluth, G. & Hanke, W. 1985. A comparison of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, induced by several pollutants at sub lethal concentrations. I.

Tuzen, M. & Soylak, M. 2006. Determination of trace metals in canned fish marketed in Turkey. *Journal of Food Chemistry*, 101: 1378-1383.

Vosylienë, M.Z. 2004. The effect of long-term exposure to copper on physiological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2. Studies of haematological parameters. *Ekologija*, 1: 3-6.

Yousefi, M., Abtahi, B. & Abdian Kenari, A. 2011. Hematological, serum biochemical parameters, and physiological responses to acute stress of Beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles fed dietary nucleotide. *Comparative Clinical Pathology Journal*, 18:1-6.

Zhou, X., Li, M., Abbas, Kh. & Wang, W. 2009. Comparison of hematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish Physiology and Biochemical Journal*, 35: 435-441.

Environmental Monitoring and Assessment, 185: 3493-3502.

Roberts, R.J. 2001. Fish Pathology (3d ed). W.B Sawnders. Harcornt Publishers Co. LTD. London, England.

SandstrÖm, 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. *Journal of Comparative Clinical Pathology*, 10:1091-1095.

Sweety, R.R., Sajwan, K.S. & Kumar, K.S. 2007. Influence of zinc on cadmium induced hematological and biochemical responses in freshwater teleost fish *Catla catla*. *Fish Physiology and Biochemical Journal*, 34:169-174.

Effect of Lead on Some Biochemical Indices of Farmed Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)

Shakoori*[1], M. & Abdali [2], S.
1. Department of Marine Biology, Islamic Azad University, Tehran Science and Research Branch
2. Department of Marine Biology, Islamic Azad University Tehran North Branch

Abstract

The aim of this study was to evaluate the toxicity effect of lead heavy metal on some serological parameters on Silver Carp in the vicinity with lead for a short term. In order to do this study a total of 135 fish with mean weight of 50±10 g and mean length of 13±1 cm were placed in adjacent to 0, 5 and 10 mg/l of Pb $(NO_3)_2$ in 9 aquariums of 90 liter capacity. Sampling was done randomly each 12 hours for 96 hours from caudal vein of the fishes. The results showed that there was a significant difference in the amount of hemoglobin in 24 hours, between the control and treatments. The level of glucose was increased significantly by increasing the concentration of lead and passing of the time. The levels of triglyceride and albumin did not change significantly (P>0/05). The level of cholesterol increased significantly until 72 hours and after that decreased significantly. Amount of total protein increased significantly by increasing the concentration of lead and time. Based on the results, biochemical parameters are useful for monitoring of lead acute toxicity in Silver Carp.

Key word: Lead, Glucose, Albumin, Protein, Cholesterol, Triglyceride, Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix)*
***Corresponding author: Mahzadshakoori@yahoo.com**