Archive of SID.ir

University of Tehran Press

Journal of Natural Environment

Online ISSN: 2423-7817

Homepage: https://jne.ut.ac.ir/

Investigating the toxicity potential of heavy metals on blood and biochemical indices of desert scraper (*Capoeta fusca*)

Mohammad Hossein Sayadi[1,2]✉ | **Javad Kharkan**[3]

1. Corresponding Author, Department of of Environmental Engineering, Faculty of Natural Resources and Environment, University of Birjand, Birjand, Iran.
2. Department of Agriculture, Faculty of Natural Resources and Environment, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail: mh_sayadi@uk.ac.ir
3. Department of of Environmental Engineering, Faculty of Natural Resources and Environment, University of Birjand, Birjand, Iran. E-mail: javad.kh9191@birjand.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received 15 October 2022

Received in revised form 18 December 2022

Accepted 20 December 2022

Published online 22 June 2023

Keywords:

Liver enzyme,

Aspartate aminotransferase,

Blood serum,

Cell vacuolation.

ABSTRACT

The development and expansion of industrial and agricultural centers has caused an increase in industrial and agricultural wastewaters and their entry into the environment, which will cause widespread damage. The aim of this research is to investigate the effects of heavy metal toxicity on blood parameters, biochemical parameters and liver enzymes of desert scraper (*Capoeta fusca*). The acute toxicity of studied heavy metals was estimated according to the OECD method. Samples in 5 groups of 20 pieces (one control group) were exposed to the sublethal concentration of different heavy metals and after the end of 28 days, the blood serum of the fishes was collected and its biochemical parameters and liver enzymes were measured by autoanalyzer. The average lethal concentration of cadmium, chromium, cobalt and copper in 96 hours for the studied species is 37.14, 292.49, 106.95 and 10.73 mg/L, respectively. The number of erythrocytes ($\times 10^6$ mm^3) in the blood of fishes exposed to cadmium, chromium, cobalt and copper was 3.4 ± 0.17, 4.5 ± 0.22, 2.9 ± 0.14, and 3.6 ± 0.18, respectively. The number of erythrocytes of fish exposed to cadmium, cobalt and copper is significantly ($p < 0.05$) lower than the control group (4.8 ± 0.24). The main damages to erythrocytes exposed to cadmium, chromium, cobalt and copper include vacuolation and deformation of erythrocytes. Glucose and cholesterol levels of fish exposed to cadmium, chromium, cobalt and copper metals are significantly ($P<0.05$) higher than the control group, and triglyceride, protein and albumin levels are decreased compared to the control group. The level of liver enzymes alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in fish exposed to cadmium, chromium, cobalt and copper was significantly ($P< 0.05$) higher than the control group after 28 days. Therefore, the exposure of the studied species to different heavy metals causes changes in the level of biochemical parameters and liver enzymes In addition, biochemical parameters and liver enzymes can be used as appropriate biomarkers for fish health and for monitoring the quality of aquatic environments.

Cite this article: Sayadi, M.H., & Kharkan, J. (2023). Investigating the toxicity potential of heavy metals on blood and biochemical indices of desert scraper (*Capoeta fusca*). *Journal Natural Environment*, 76 (2), 365-378. DOI: http//doi.org/10.22059/jne.2022.349964.2483

© The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: http//doi.org/10.22059/jne.2022.349964.2483

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

محیط زیست طبیعی
شاپای الکترونیکی: ۷۸۱۷-۲۴۲۳
Homepage: https://jne.ut.ac.ir/
انتشارات دانشگاه تهران

بررسی پتانسیل سمیت فلزات سنگین بر روی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سیاه‌ماهی قنات (*Capoeta fusca*)

محمدحسین صیادی[۱و۲]✉ | جواد خارکن[۳]

۱. نویسنده مسئول، گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
۲. گروه کشاورزی، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: mh_sayadi@uk.ac.ir
۳. گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه بیرجند، ایران. رایانامه: javad.kh9191@birjand.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۲۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۹/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۹
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۴/۰۱

کلیدواژه‌ها:
آنزیم کبدی،
آسپارتات آمینوترانسفراز،
سرم خون،
واکوئله شدن سلول.

چکیده

توسعه و گسترش مراکز صنعتی و کشاورزی باعث افزایش فاضلاب‌های صنعتی و کشاورزی و ورود آن‌ها به‌محیط زیست شده است که این امر آسیب‌های گسترده‌ای را به‌دنبال خواهد داشت. هدف از این پژوهش، بررسی اثرات سمیت فلزات سنگین مختلف بر روی شاخص‌های خونی، پارامترهای بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی سیاه‌ماهی قنات (*Capoeta fusca*) می‌باشد. سمیت حاد فلزات سنگین مورد مطالعه براساس روش OECD برآورد شد. سیاه ماهی مورد مطالعه در ۵ گروه ۲۰ قطعه‌ای (یک گروه شاهد) در معرض غلظت زیرکشندگی فلزات‌سنگین مختلف قرار گرفتند و پس از پایان ۲۸ روز جمع‌آوری سرم خون ماهیان انجام شد و پارامترهای بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی آن توسط دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شد. غلظت متوسط کشندهٔ کادمیوم، کروم، کبالت و مس در ۹۶ ساعت برای گونهٔ مورد مطالعه، به‌ترتیب ۳۷/۱۴، ۲۹۲/۴۹، ۱۰۶/۹۵ و ۱۰/۷۳ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد. تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون بر میلی‌متر مکعب) در خون ماهیان در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌ترتیب برابر ۳/۴±۰/۱۷، ۴/۵±۰/۲۲، ۲/۹±۰/۱۴ و ۳/۶±۰/۱۸ برآورد شد. تعداد گلبول‌های قرمز خون ماهیان در معرض کادمیوم، کبالت و مس به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) کمتر از گروه شاهد (۴/۸±۰/۲۴) بود. عمده‌ترین آسیب‌ها به گلبول‌های قرمز در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس شامل واکوئله شدن و تغییر شکل گلبول های قرمز بود. سطح گلوکز و کلسترول ماهیان در معرض فلزات کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) بیشتر از گروه شاهد بود و سطح تری‌گلیسیرید، پروتئین و آلبومین نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد. سطح آنزیم‌های کبدی آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در ماهیان در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) پس از ۲۸ روز بیشتر از گروه شاهد برآورد شد. به‌عنوان یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان داشت که قرار گرفتن سیاه‌ماهی مورد مطالعه در معرض فلزات سنگین مختلف باعث تغییر در سطح پارامترهای بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی می‌شود علاوه براین، پارامترهای بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی می‌تواند به‌عنوان نشانگرهای زیستی مناسب برای سلامت ماهیان در راستای نظارت بر کیفیت محیط‌های آبی استفاده شوند.

استناد: صیادی، محمدحسین؛ خارکن، جواد (۱۴۰۲). بررسی پتانسیل سمیت فلزات سنگین بر روی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سیاه‌ماهی قنات (*Capoeta fusca*). *محیط زیست طبیعی*، ۷۶ (۲)، ۳۷۸-۳۶۵.

DOI: http//doi.org/10.22059/jne.2022.349964.2483

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

مقدمه

امروزه توسعه و گسترش مراکز صنعتی و کشاورزی افزایش فاضلاب‌های صنعتی و کشاورزی را به‌دنبال دارد که در اثر وارد شدن به محیط زیست، آسیب‌های گسترده و جبران‌ناپذیری را بر محیط زیست تحمیل می‌نماید (Pan and Wang, 2012). یکی از مهم‌ترین نوع آلاینده‌های محیط زیستی، فلزات سنگین می‌باشند که پس از ورود به محیط‌های آبی، در بافت‌های مختلف آبزیان تجمع می‌یابند (Palaniappan and Karthikeyan, 2009). فلزات سنگین برخلاف ترکیبات آلی، توانایی تجزیه در محیط زیست را ندارند، بنابراین به‌دلیل توانایی تجمع‌پذیری و عدم تجزیه‌پذیری وارد زنجیرهٔ غذایی موجودات زنده شده و سمیت‌حاد و مزمن را ایجاد می‌کنند (Ekpo *et al*., 2008). این گونه فلزات قادرند از طریق واکنش با آنزیم‌ها و پروتئین‌های بدن موجودات زنده فعالیت سلول‌هایرا تحت تأثیر قرار دهند. همچنین و از طریق جایگزین با سایر املاح و مواد معدنی مورد نیاز بدن، باعث سمیت مستقیم در بدن موجودات می‌شوند (Pratush *et al*., 2018).

ایران جزء کشورهای خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شود. در بسیاری از مناطق مانند مناطق کویری، رودهای دائمی وجود ندارد و منابع آبی به‌صورت فصلی می‌باشد. عمده منابع آبی در این مناطق به‌صورت قنات می‌باشد. قنات‌ها یکی از زیستگاه‌هایی مناسب برای جمعیت ماهیان در حوضه‌های خشک و کویری محسوب می‌شوند (Meshgani and Pourkasmani, 2003). از ماهیان مهم قنات، سیاه‌ماهی (*Capoeta fusca*) می‌باشد این گونه متعلق به خانوادهٔ کپورماهیان Cyprinidae و جنس *Capoeta* است. پراکنش این گونه مربوط به حوضه‌های لوت و سیستان و بلوچستان، کویر بجستان، رودخانه هری‌رود و تجن می‌باشد (Eagderi *et al*., 2022). سیاه‌ماهیان از جلبک‌ها تغذیه می‌کنند دارای بدنی کشیده و استوانه‌ای شکل و باله‌های پشتی کوتاهی هستند. فلس‌ها معمولا کوچک می‌باشد و دهان در وضعیت شکمی (در پایین) قرار دارد و لب پایینی با غلاف شاخی پوشیده شده است (Banimasani *et al*., 2019; Esmaeili *et al*., 2019). از ماهیان برای ارزیابی بهداشت محیط‌های آبی استفاده می‌شود از این‌رو به‌عنوان یک شاخص زیستی برای بررسی تأثیر فلزات سنگین مختلف در محیط آبی به‌شمار می‌آیند (Palaniappan and Karthikeyan, 2009). از آنجاکه آب قنات‌ها، توسط مصارف کشاورزی و یا به‌عنوان آب شرب توسط مردم محلی مصرف می‌شود با گذشت زمان، بر میزان فلزات سنگین مختلف آن‌ها افزوده می‌شود که در نهایت باعث بیماری‌های مختلفی در موجودات و انسان می‌شود بنابارین پایش مستمر آب قنات‌ها بسیار ضروری می‌باشد.

از علم خون‌شناسی در ارزیابی شرایط فیزیولوژیک سلول‌های خونی استفاده می‌شود که در آن با خون‌گیری و تعیین پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون و مقایسهٔ آن با شرایط طبیعی، می‌توان از آن به‌عنوان یک ابزار پاراکلینیکی در تشخیص اثرات مواد آلاینده روی ماهی‌ها استفاده نمود (Khage *et al*., 2008). در رابطه با سمیت فلزات سنگین مختلف بر روی فاکتورهای خونی ماهیان تحقیقات مختلفی انجام شده است که می‌توان به اثر آرسنیک بر روی پارامترهای هماتولوژی، شاخص‌های کبدی و گوارشی گربه ماهی آب شیرین (*Mystus vittatus*) (Verma and Prakash, 2019)، اثر سمیت برخی فلزات‌سنگین بر روی شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور (*Catla catla*) (Naz *et al*., 2021) و گربه ماهی (*Pangasianodon hypophthalmus*) (Islam *et al*., 2020) اشاره نمود. مطالعهٔ حاضر به‌منظور بررسی اثرات سمیت فلزات سنگین کادمیوم، کروم، مس و کبالت بر روی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سیاه‌ماهی قنات (*Capoeta fusca*) به‌اجرا درآمد.

روش‌شناسی پژوهش

منطقهٔ (قنات‌های) جمع‌آوری ماهی: ایران جزء کشورهای خشک و نیمه‌خشک است. در بسیاری از مناطق مانند مناطق کویری، رودهای دائمی وجود ندارد و منابع آبی به صورت فصلی می‌باشد. منابع آبی عمده در این مناطق به‌صورت قنات وجود دارند. قنات یکی از روش‌های قدیمی و در عین حال مناسب استحصال آب در مناطق بیابانی و خشک می‌باشد. در خراسان جنوبی آب قنات به‌طور مستقیم برای شرب و آبیاری محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد بنابارین آلوده بودن آن به فلزات سنگین مختلف باعث می‌شود سلامت موجودات آبزی و انسان با خطر مواجه شود. سیاه‌ماهی از قنات‌های مختلف استان خراسان جنوبی شامل اشکفتوک (۵۹° ۰۹ ′۶۸۷۸ . ۳۲ °۹۷ ′۹۷۵۴)، حاجی آباد (۵۹° ۵۲ ′۱۵۸۶ . ۳۲ °۴۶ ′۷۷۱۱) و سربیشه

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

(W ۱۰۳۸. ′۸۲ °۳۲ N ′۳۹۲۴ . ۴۸ °۵۹) نمونه‌برداری و به‌همراه آب قنات به آزمایشگاه لیمنولوژی دانشگاه بیرجند منتقل و به‌مدت ۱۰ روز پیش از شروع آزمایش‌ها در آکواریوم همراه با هوادهی نگهداری شدند.

اندازه‌گیری سمیت حاد: پس از پایان دورهٔ سازگاری سیاه‌ماهیان مورد مطالعه با شرایط آزمایشگاهی، آزمایش سمیت حاد به‌منظور تعیین غلظت متوسط کشندهٔ (Lethal concentration 50) کلریدهای کادمیوم، کروم، کبالت و مس بر روی سیاه‌ماهی تحت شرایط آزمایشی ساکن و براساس پروتکل شماره ۲۰۳ OECD انجام شد. غذادهی ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش قطع شد. محلول‌های حجمی کادمیوم، کروم، کبالت و مس با انحلال نمک‌های کلرید کادمیوم ($CdCl_2$- $6H_2O$- Analar grade, Merck)، کلرید کروم ($CrCl_2$- $6H_2O$- Analar grade, Merck)، کلرید کبالت ($CoCl_2$ $6H_2O$-Analar grade, Merck) و کلرید مس ($CuCl_2$- $6H_2O$-Analar grade, Merck, Germany) در آب یون‌زدایی شده با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شدند که برای رسیدن به غلظت‌های مورد نظر (۱، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) این محلول‌های استوک رقیق شدند. تعداد ۱۰ ماهی به‌مدت ۹۶ ساعت در معرض غلظت‌های مختلف فلزات سنگین مورد مطالعه قرار گرفتند و در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تعداد ماهیان تلف ثبت و بلافاصله از محیط خارج شدند. پس از پایان ۹۶ ساعت دورهٔ آزمایش، داده‌های به‌دست آمده از مرگ و میر ماهیان با انجام آنالیز Probit با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۰ مورد پردازش قرار گرفتند تا در نهایت میزان غلظت متوسط کشندهٔ (Lethal concentration 50) کلریدهای کادمیوم، کروم، کبالت و مس مشخص شود.

توضیح کامل اثرات بوم‌سم‌شناسی بالقوه مواد شیمیایی بر روی همه موجودات غیرممکن است بنابراین، بوم‌سم‌شناس‌ها روش‌های استاندارد تست سمیت را برای مجموعهٔ کوچکی از گونه‌های شاخص ارائه می‌دهند. انتخاب ارگانیسم‌های مدل تا حد زیادی به حساسیت نسبی آن‌ها به آلاینده‌های خاص، ارتباط و سهولت استفاده آن‌ها بستگی دارد. چندین نهاد بین‌المللی استانداردسازی تست سمیت از جمله آژانس حفاظت از محیط زیست ایالت متحده آمریکا (US EPA)، انجمن آمریکایی آزمایش و مواد (ASTM) و سازمان همکاری اقتصادی و توسعه (OECD) را می‌توان نام برد. براساس روش OECD گونهٔ مورد مطالعه برای ۹۶ ساعت در معرض مادهٔ شمیایی قرار می‌گیرد و در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تعداد تلف شده‌ها ثبت می‌شود سپس براساس داده‌های به‌دست آمده میزان سمیت حاد مادهٔ شیمیایی مورد مطالعه محاسبه می‌شود (Park *et al.*, 2021).

طراحی آزمایش‌ها: معادل یک دهم (۰/۱) از مقدار غلظت متوسط کشندهٔ ۹۶ ساعت برای کلریدهای کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌ترتیب ۳/۷۱ و ۲۹/۲۴، ۱۰/۶۹ و ۱/۰۷ میلی‌گرم بر لیتر به‌عنوان غلظت زیرکشندگی انتخاب شد. گونهٔ مورد مطالعه در ۵ گروه ۲۰ قطعه‌ای (یک گروه شاهد) در معرض غلظت زیرکشندگی کلریدهای کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌مدت ۲۸ روز قرار گرفتند و پس از پایان ۲۸ روز خون‌گیری و جمع‌آوری سرم خون ماهیان انجام شد.

جمع‌آوری سرم خون: خون‌گیری از طریق ورید دمی از ۵ ماهی به‌طور تصادفی از هر آکواریوم با استفاده از سرنگ پلاستیکی یکبار مصرف، مجهز به سوزن ۲۳ انجام شد. سپس برای جمع‌آوری سرم، خون گرفته شده در لوله‌های بدون ضد انعقاد به‌مدت ۵ ساعت در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند پس از لخته‌شدن خون، نمونه‌ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند سپس سرم جمع‌آوری شده در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد و برای بررسی پارامترهای بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی فریز شدند.

اندازه‌گیری میزان تجمع فلزات سنگین کادمیوم، کروم، کبالت و مس در خون سیاه‌ماهی: برای اندازه‌گیری میزان تجمع زیستی کادمیوم، کروم، کبالت و مس، سرم نمونه‌های خون جمع‌آوری شد سپس به نمونه‌ها با نسبت ۲:۱ پرکلریک اسید و نیتریک‌اسید اضافه شد و در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد هضم شدند پس از سرد شدن به نمونه‌های هضم شده، آب مقطر اضافه و سپس فیلتر شد. غلظت فلزات کادمیوم، کروم، کبالت و مس در سرم با استفاده از طیف‌سنجی جذب اتمی کوره گرافیتی اندازه‌گیری شد و به‌صورت میکرو گرم در لیتر خون بیان شد.

مطالعات خون‌شناسی: تعداد گلبول‌های قرمز (Red Blood Cell) به‌صورت دستی توسط محلول ایزوتونیک نمک طعام توسط لام نئوبار با استفاده از رابطهٔ ۱ انجام شد. بدین‌ترتیب که با استفاده از پیپت ملانژور مخصوص شمارش گلبول قرمز و محلول

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

رقیق‌کننده، رقت ۱ به ۲۰۰ به‌دست آمد. شمارش گلبول‌های قرمز روی لام نئوبار (در ۵ خانه از ۲۵ خانه) و در زیر میکروسکوپ انجام شد (Simmons, 1997).

رابطهٔ ۱

۵×۱۰×۲۰۰× مجموع تعداد گلبول‌های قرمز شمارش شده در ۵ مربع کوچک =تعداد گلبول‌های قرمز در یک میلی‌متر مکعب خون

عدد ۱۰ ضریب تصحیح فاصلهٔ بین لام و لامل و عدد ۲۰۰ ضریب رقت می‌باشد

جهت شمارش گلبول‌های سفید (WBC) با استفاده از پیپت ملانژور سفید و محلول رقیق‌کننده، رقت ۱ به ۲۰ تهیه شد سپس تعداد گلبول‌های سفید خون بر روی لام نئوبار (در ۴ خانهٔ مخصوص گلبول‌های سفید) در زیر میکروسکوپ با استفاده از رابطهٔ ۲ محاسبه شد (Simmons, 1997).

رابطهٔ ۲

۱۰×۲۰×(w/۴) =تعداد گلبول های سفید در یک میلی متر مکعب خون

W: تعداد گلبول‌های سفید در هر خانه لام نئوبار

عدد ۱۰ ضریب تصحیح فاصلهٔ بین لام و لامل و عدد ۲۰ ضریب رقت می‌باشد. میزان هموگلوبین (Hb) توسط هموگلوبینومتر سهلی برآورد شد. در هموگلوبینومتر سهلی اسید کلریدریک در لولهٔ همومتر مدرج تا علامت مشخص ریخته شد سپس ۲۰ میکرولیتر خون توسط پیپت به لولهٔ همومتر اضافه شد محلول به‌مدت ۱۰ دقیقه در لوله همومتر باقی ماند تا اسید هماتین تشکیل شود سپس اسید هماتین با افزودن آب مقطر با قطره چکان رقیق شد تا رنگ لولهٔ هماتین با رنگ لولهٔ کالیبراسیون دستگاه منطبق شود. عدد نشان داده‌شده روی لولهٔ همومتر بیانگر هموگلوبین خون می‌باشد (Damayanthi *et al*., 2015). به‌منظور اندازه‌گیری میزان هماتوکریت (Ht)، $\frac{2}{3}$ لولهٔ مویینه با نمونه خون پر شدند و درب آن با خمیر هماتوکریت بسته شد سپس با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و با استفاده از رابطهٔ ۳ میزان هماتوکریت بر حسب درصد محاسبه شد (Dancan *et al*., 1994).

رابطهٔ ۳

(ارتفاع گلبول قرمز و پلاسما)/(ارتفاع گلبول قرمز × ۱۰۰) =درصد هماتوکریت

بررسی تغییرات ریخت‌شناسی گلبول‌های قرمز: گسترش خونی سیاه‌ماهیان مورد مطالعه، به‌منظور بررسی ریخت‌شناسی گلبول‌های قرمز خون سیاه‌ماهیان پس از ۲۸ روز روی یک لام شیشه‌ای تهیه شد و در دمای اتاق خشک شد سپس لام با استفاده از متانول ثابت شد و برای رنگ‌آمیزی از محلول گیمسا استفاده شد در نهایت ریخت‌شناسی گلبول‌های قرمز زیر میکروسکوپ مشاهده شد (Ghiasi *et al*., 2010).

اندازه‌گیری پارامترهای بیوشمیایی و آنزیم‌های کبدی ماهی: اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی (تری گلیسیرید، گلوکز، کلسترول، آلبومین، پروتئین، کراتینین) و مقدار آنزیم های کبدی آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) به‌وسیلهٔ دستگاه اتوانالایزر انجام شد همچنین جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی، سرم جداسازی‌شده در دستگاه اتوانالایزر مدل gc san Chem 200 قرار گرفتند.

تحلیل‌های آماری: مقادیر LC_{50} با استفاده از برنامهٔ تجزیه و تحلیل Probit در محیط نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۰ محاسبه شد. برای بررسی نرمال بودن داده‌های مطالعات خون‌شناسی از آزمون کولموگروف–اسمرینوف استفاده شد که بیانگر نرمال توزیع نرمال داده‌ها بود ($P>۰/۰۵$). از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) برای تعیین سطح معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) استفاده شد. تمام داده‌های به‌دست آمده به‌صورت میانگین±و انحراف معیار ارائه شدند.

یافته‌های پژوهش

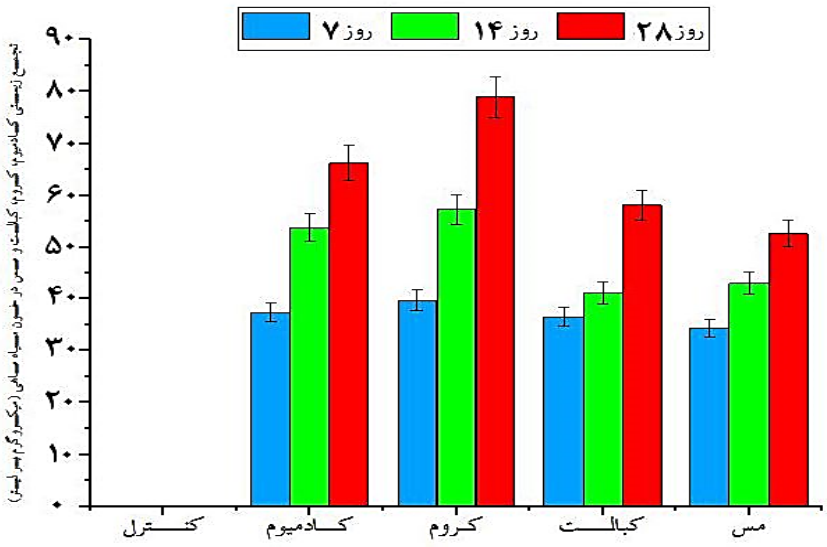
سمیت حاد: مقادیر غلظت متوسط کشندهٔ (LC_{50}) کلریدهای کادمیوم، کروم، کبالت و مس برای سیاه‌ماهی پس از قرارگرفتن در معرض ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در جدول ۱ ارائه شده است براساس نتایج، مقادیر متوسط کشنده برای کلریدهای مختلف فلزات سنگین در سیاه‌ماهی با افزایش زمان قرارگیری از ۲۴ ساعت به ۹۶ ساعت کاهش و سمیت حاد آن افزایش نشان داد. نتایج نشان

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

جدول ۱. غلظت متوسط کشندهٔ (Lethal concentration 50) فلزات‌سنگین کادمیوم، کروم، کبالت و مس بر روی سیاه‌ماهی قنات (*Capueta fusca*)

فلزات‌سنگین مختلف		غلظت (میلی‌گرم بر لیتر)			
	LC	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
کلرید کادمیوم	LC_{50}	۶۴/۰۸	۴۷/۵۷	۴۳/۸۳	۳۷/۱۴
کلرید کروم	LC_{50}	۱۱۰۷/۶۸	۵۲۹/۱۸	۴۸۱/۰۷	۲۹۲/۴۹
کلرید کبالت	LC_{50}	۱۸۳/۸۷	۱۵۳/۳۸	۱۲۹/۶۰	۱۰۶/۹۵
کلرید مس	LC_{50}	۱۶/۵۷	۱۳/۷۱	۱۰/۷۳	۱۰/۷۳



شکل ۱. میزان تجمع زیستی فلزات سنگین کادمیوم، کروم، کبالت و مس در خون سیاه‌ماهی قنات (*Capueta fusca*) برای سه دورهٔ ۷، ۱٤ و ۲۸ روز

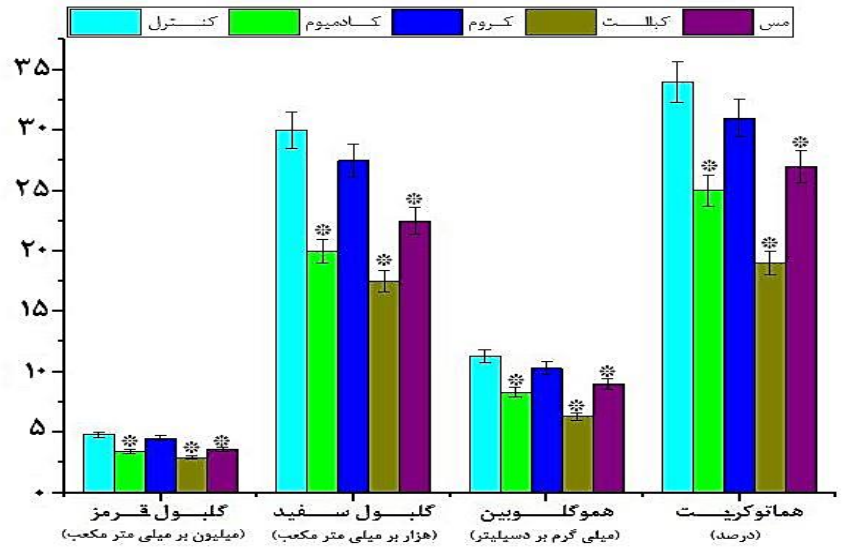
می‌دهد که مقادیر غلظت متوسط کشنده برای سیاه‌ماهی پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای کلریدهای کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌ترتیب برابر ۳۷/۱۴، ۲۹۲/۴۹، ۱۰۶/۹۵ و ۱۰/۷۳ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که کلرید مس نسبت به کلریدهای کادمیوم، کروم و کبالت برای سیاه‌ماهی سمی‌تر می‌باشد و پس از آن به‌ترتیب کادمیوم، کبالت و کروم سمی هستند.

میزان تجمع فلزات‌سنگین کادمیوم، کروم، کبالت و مس در خون سیاه‌ماهی: شکل ۱، میزان تجمع زیستی فلزات سنگین کادمیوم، کروم، کبالت و مس برای سه دورهٔ ۷، ۱۴ و ۲۸ روز در خون ماهیان را نشان می دهد. براساس نتایج، میزان کادمیوم در خون ماهیان برای سه دوره به‌ترتیب ۳۷/۴۲±۱/۸۷، ۵۳/۸۱±۲/۶۹ و ۶۶/۲۴±۳/۳۱ میکروگرم بر لیتر می‌باشد میزان کروم به‌ترتیب برابر ۳۹/۷۲±۱/۹۸، ۵۷/۲۸±۲/۸۶ و ۷۸/۹۳±۳/۹۴ میکروگرم بر لیتر، میزان کبالت به‌ترتیب برابر ۳۶/۵۱±۱/۸۲، ۴۱/۱۶±۲/۰۵ و ۵۸/۱۱±۲/۹۰ میکروگرم بر لیتر و میزان مس به‌ترتیب برابر ۳۴/۳۵±۱/۷۱، ۴۳/۰۲±۲/۱۵ و ۵۲/۶۱±۲/۶۳ میکروگرم بر لیتر می‌باشد. نتایج نشان داد که میزان تجمع زیستی فلزات سنگین مختلف در خون ماهیان با گذشت زمان از ۲۸-۷ روز افزایش پیدا می‌کند.

اثرات سمیت کادمیوم، کروم، کبالت و مس بر روی پارامترهای خون‌شناسی سیاه‌ماهی: اثرات سمیت فلزات سنگین مختلف بر روی پارامترهای هماتولوژی خون سیاه ماهی در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که، تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون بر میلی‌متر مکعب) در خون ماهیان در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌ترتیب برابر ۳/۴±۰/۱۷، ۴/۵±۰/۲۲، ۲/۹±۰/۱۴ و ۳/۶±۰/۱۸ می‌باشد. تعداد گلبول‌های قرمز خون ماهیان در معرض کادمیوم، کبالت و مس به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) کمتر از گروه شاهد (۴/۸±۰/۲۴) می‌باشد اما تعداد گلبول‌های قرمز ماهیان در معرض کروم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



شکل ۲. تغییر در تعداد گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین و هماتوکریت خون سیاه‌ماهی قنات (*Capueta fusca*) در معرض فلزات سنگین کادمیوم، کروم، کبالت و مس پس از ۲۸ روز (*: اختلاف معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) با گروه شاهد دارد)

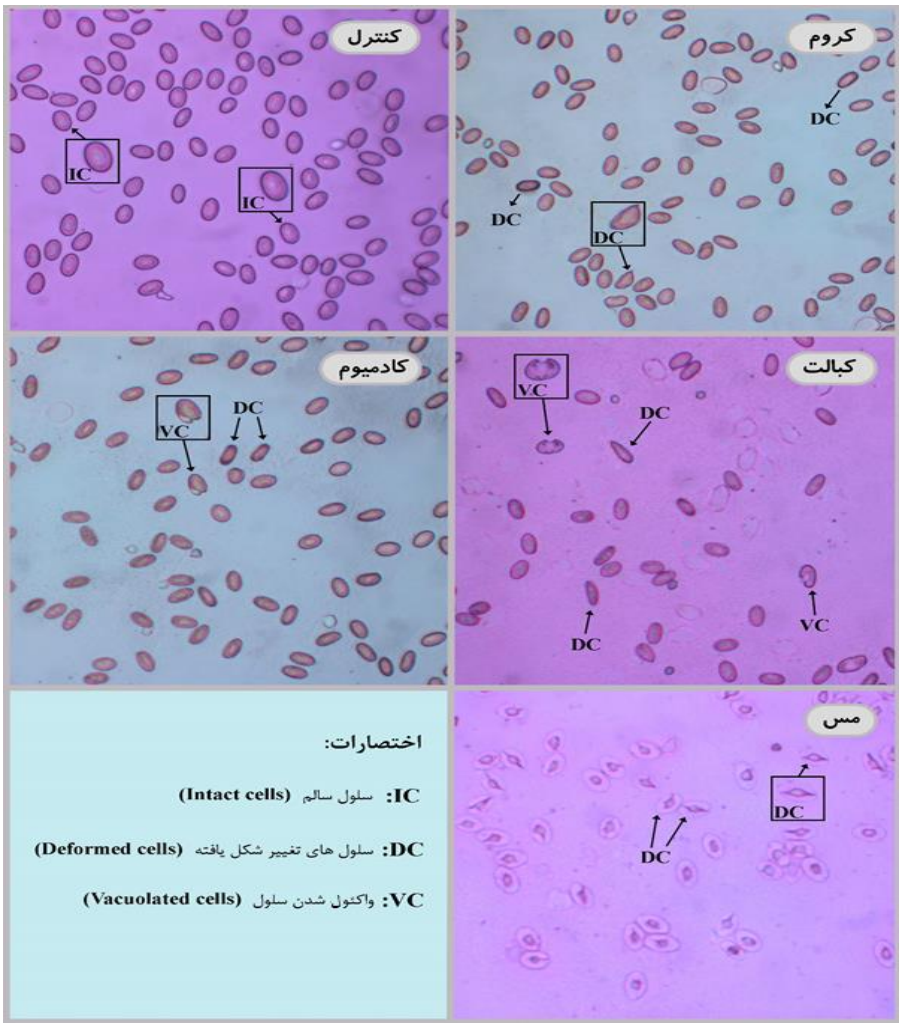
براساس نتایج به‌دست آمده تعداد گلبول‌های سفید (هزار بر میلی‌متر مکعب) در خون ماهیان در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌ترتیب برابر ۱±۲۰، ۱/۳۷±۲۷/۵، ۰/۸۷±۱۷/۵ و ۱/۱۲±۲۲/۵ می‌باشد. تعداد گلبول‌های سفید خون ماهیان در معرض کادمیوم، کبالت و مس به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد (۱/۵ ± ۳۰) می‌باشد ($P<۰/۰۵$) اما تعداد گلبول‌های سفید ماهیان در معرض کروم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. علاوه بر این، قرار گرفتن سیاه‌ماهی در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس سبب تغییرات قابل توجهی در میزان هموگلوبین و هماتوکریت شده است به‌گونه‌ای که میزان هموگلوبین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) ماهیان در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌ترتیب ۰/۴۱±۸/۳، ۰/۵۱±۱۰/۳، ۰/۳۱±۶/۳ و ۰/۴۵±۹ می‌باشد. میزان هموگلوبین ماهیان در معرض کادمیوم، کبالت و مس به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد (۰/۵۶±۱۱/۳) می‌باشد اما هموگلوبین ماهیان در معرض کروم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت و میزان هماتوکریت ماهیان در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌ترتیب ۱/۲۵±۲۵، ۱/۵۵±۳۱، ۰/۹۵±۱۹ و ۱/۳۵±۲۷ درصد می باشد (شکل ۲) بنابراین براساس نتایج میزان هماتوکریت (درصد) خون ماهیان در معرض کادمیوم، کبالت و مس به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) کمتر از گروه شاهد (۱/۷±۳۴) می‌باشد اما میزان هماتوکریت خون ماهیان در معرض کروم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ($P>۰/۰۵$).

تغییرات ساختار گلبول‌های قرمز خون سیاه‌ماهی در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس: شکل ۳، تغییر در ریخت‌شناسی گلبول‌های قرمز ناشی از سمیت کادمیوم، کروم، کبالت و مس را پس از ۲۸ روز نشان می‌دهد. براساس نتایج، گلبول‌های شاهد کاملاً سالم و طبیعی هستند. عمده‌ترین آسیب‌ها به گلبول‌های قرمز در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس شامل واکوئله شدن و تغییر شکل گلبول‌های قرمز می‌باشد.

اثر سمیت کادمیوم، کروم، کبالت و مس بر روی پارامترهای بیوشیمیایی خون سیاه‌ماهی: تغییرات غلظت پارامترهای مختلف بیوشیمیایی در سرم خون ناشی از قرار گرفتن در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس در جدول ۲ ارائه شده است. براساس نتایج، سطح تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) سرم خون ماهیان در معرض فلزات سنگین مختلف در ۲۸ روز به‌طور معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) کمتر از گروه شاهد می‌باشد. همچنین سطح گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) سرم خون ماهیان در معرض فلزات سنگین مختلف پس از ۲۸ روز به‌طور معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) بیشتر از گروه شاهد می‌باشد. نتایج نشان داد که سطح کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) سرم خون ماهیان در معرض فلزات سنگین مختلف پس از ۲۸ روز به‌طور معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) بیش‌تر از گروه شاهد می‌باشد. آنالیز سرم نشان داد که سطح پروتئین کل و آلبومین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) سرم ماهیان در معرض ترکیبات مختلف نیکل پس از ۲۸روز کمتر از گروه شاهد می‌باشد (جدول ۲).

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



شکل ۳. تغییرات ریخت شناسی گلبول‌های قرمز خون سیاه‌ماهی قنات (*Capueta fusca*) در معرض فلزات سنگین کادمیوم، کروم، کبالت و مس پس از ۲۸ روز (X٤٠٠)

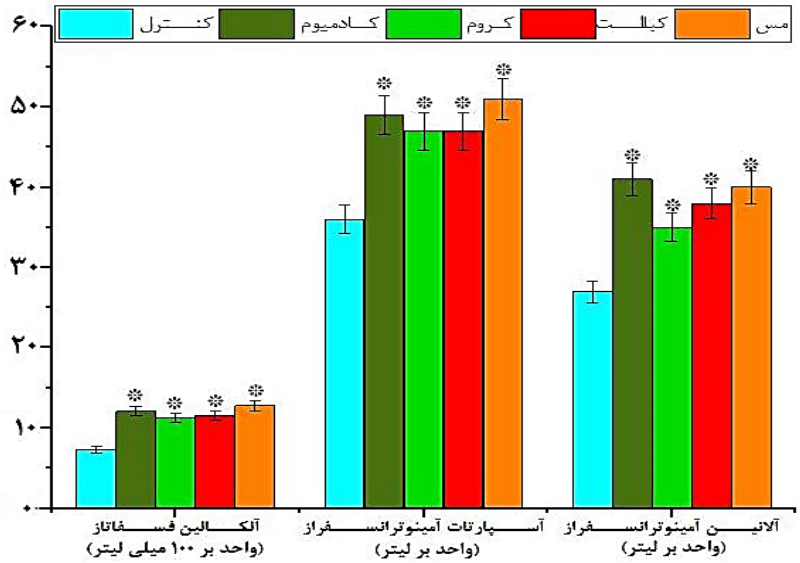
جدول ۲. اثرات سمیت فلزات سنگین کادمیوم، کروم، کبالت و مس بر روی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون سیاه‌ماهی قنات (*Capueta fusca*) پس از ۲۸ روز (*: اختلاف معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) با گروه شاهد دارد)

پارامترهای بیوشیمیایی	روز	شاهد	کادمیوم	کروم	کبالت	مس
تری گلیسرید	۲۸	۱۶۳±۱۷/۲	*۱۲۸±۱۸/۱	*۱۵۴±۲۱/۸۱	*۸۳ ±۹/۵	*۹۳±۱۲/۶
گلوکز	۲۸	۳۱±۴/۱۱	*۵۱±۶/۲۱	*۵۷±۸/۳۹	*۵۱±۱۱/۸۲	*۵۳±۹/۷۳
کلسترول	۲۸	۲۷۱±۳۹/۱۳	*۴۸۶±۴۱/۰۱	*۵۲۶±۵۰/۳۶	*۵۱۹±۷۳/۷۲	*۴۸۱±۶۹/۰۲
پروتئین	۲۸	۷±۱/۳۵	۷±۱/۷۸	۷±۲/۴۹	۶±۰/۴۳	۶±۰/۴۰
آلبومین	۲۸	۴±۰/۱۳	۳±۰/۸۳	۳±۱/۰۵	*۲±۰/۶۱	۳±۰/۴۲

سمیت کادمیوم، کروم، کبالت و مس بر روی آنزیم‌های کبدی سیاه‌ماهی: اثر سمیت کادمیوم، کروم، کبالت و مس بر عملکرد کبد از نظر فعالیت آنزیم‌های کبدی (آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز) در شکل ۴ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که سطح آنزیم‌های کبدی آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در ماهیان در معرض کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) پس از ۲۸ روز بیشتر از گروه شاهد می‌باشد.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



شکل ٤- تغییرات آنزیم‌های کبدی در خون سیاه‌ماهی قنات (*Capueta fusca*) در معرض فلزات‌سنگین کادمیوم، کروم، کبالت و مس پس از ۲۸ روز (*: اختلاف معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) با گروه شاهد دارد)

بحث و نتیجه‌گیری

توسعه و گسترش مراکز صنعتی و کشاورزی باعث ورود بیش از اندازهٔ فلزات سنگین به محیط‌های آبی می شود. فلزات‌سنگین سبب ایجاد استرس و جذب در بافت‌های مختلف موجودات آبزی می‌شود و موجودات آبزی از طریق تغییر رفتار و فیزیولوژی مولکولی به این مادهٔ آلاینده پاسخ می‌دهند (Jalali and Aghazadeh, 2006). ماهیان از طریق تغییر در فیزیولوژی مولکولی و بیوشیمیایی خود به استرس ناشی از فلزات سنگین پاسخ می‌دهند (Sayadi *et al.*, 2022). مقاومت ماهی در برابر سمیت فلزات سنگین تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله جنس، سن، نوع گونه و شرایط محیطی مثل دما و pH متفاوت است (Witeska and Jezierska, 2003). سمیت حاد یک واکنش کشنده می‌باشد که در اثر قرار گرفتن در معرض یک آلاینده ایجاد می‌شود. هدف از انجام بررسی سمیت حاد، تعیین غلظت متوسط کشنده یا به‌عبارتی LC_{50} می‌باشد که غلظتی از یک آلاینده می‌باشد که باعث مرگ ۵۰ درصد از جمعیت موجودات می‌شود (Sayadi *et al.*, 2023). براساس نتایج به‌دست آمده، غلظت متوسط کشنده (LC_{50}) فلزات سنگین کادمیوم، کروم، کبالت و مس در سیاه ماهی قنات به‌ترتیب برابر ۳۷/۱۴، ۲۹۲/۴۹، ۱۰۶/۹۵ و ۱۰/۷۳ میلی‌گرم بر لیتر بود و با گذشت زمان از ۲۴ ساعت به ۹۶ ساعت میزان غلظت متوسط کشندهٔ فلزات سنگین مختلف روند کاهشی نشان دادد اما سمیت‌حاد آن افزایش نشان داد زیرا غلظت کمتری از فلزات سنگین مختلف سبب مرگ و میر ماهیان می‌شود (Sayadi *et al.*, 2020). در مطالعات مشابه Yalsuy و همکاران (۲۰۱۷)، میزان غلظت متوسط کشندهٔ کلرید کادمیوم را در ۹۶ ساعت برای ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) و ماهی حوض (*Carassius auratu*) به‌ترتیب ۸/۸۴ و ۹/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر برآورد کردند و بیان کردند با گذشت زمان از ۲۴ به ۹۶ ساعت میزان غلظت متوسط کشندهٔ کلرید کادمیوم کاهش پیدا می‌کند اما سمیت‌حاد آن افزایش می‌یابد (Yalsuy *et al.*, 2017). Sayadi و همکاران (۲۰۲۱)، گزارش دادند که مقدار غلظت متوسط کشنده برای نانوذرات اکسید روی و گرافن در سیاه ماهی (*Capoeta fusca*) به‌ترتیب برابر ۲/۶ و ۶۵/۱ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد و بیان کردند که سمیت حاد با افزایش زمان قرارگیری در معرض نانوذرات از ۲۴ ساعت به ۹۶ ساعت افزایش پیدا می‌کند. Nekoubin و همکاران (۲۰۱۲)، مقدار غلظت متوسط کشنده نیترات سرب و سولفات مس در ۹۶ ساعت برای ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) را به‌ترتیب برابر ۲۷۶/۱۶ و ۲/۴۴ میلی‌گرم بر لیتر گزارش کردند و بیان کردند که با گذشت زمان از ۲۴ ساعت به ۹۶ ساعت میزان سمیت حاد سرب و مس در گونهٔ مورد مطالعه افزایش پیدا می‌کند همچنین Jahanbakhshi و همکاران (۲۰۱۴)، میزان غلظت متوسط کشندهٔ کلریدهای سرب، جیوه و روی در بچه ماهیان قرمز با وزن متوسط ۱۰ گرم و طول متوسط ۶ سانتی‌متر را به‌ترتیب ۸۸/۸، ۰/۸۷ و ۹۲/۶ میلی‌گرم بر لیتر گزارش کردند و بیان کردند با گذشت زمان از ۲۴ به ۹۶ ساعت سمیت حاد کلریدهای سرب، جیوه و روی افزایش پیدا می‌کند.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

مطالعات خون‌شناسی ابزار مهمی برای ارزیابی شرایط فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص سلامت یا بیماری موجودات زنده از جمله ماهی‌ها می‌باشد (Mojabi, 2000) همچنین در ارزیابی اثرات سمیت مواد آلایندهٔ محیط بر روی ماهیان اهمیت دارند (Lusková *et al*., 1995). تغییرات در تعدادگلبول‌های قرمز و سفید، میزان هموگلوبین و هماتوکریت می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مهم در ارتباط با عکس‌العمل ماهیان با عوامل استرس مطرح باشد (Sayadi *et al*., 2022). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز، سفید، میزان هموگلوبین و هماتوکریت ماهیان در معرض کادمیوم، کبالت و مس به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود اما تعداد گلبول‌های قرمز، سفید، میزان هموگلوبین و هماتوکریت ماهیان در معرض کروم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. در مطالعهٔ حاضر، کاهش قابل توجه گلبول‌های قرمز در خون سیاه ماهیان در معرض کادمیوم، کبالت و مس ممکن است به‌دلیل تجمع این فلزات سنگین در گلبول قرمز باشد که باعث تغییر در ساختار و عملکرد آن شده و اثرات مضر روی آن‌ها داشته است (Pirsaheb *et al*., 2019). استرس اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین مختلف به‌دلیل پراکسیداسیون اسیدهای چرب در غشای پلاسما باعث تجزیهٔ گلبول‌های قرمز می‌شود و کاهش تعداد گلبول‌های قرمز ماهیان را به‌دنبال دارد (Yokota *et al*., 2019). در مطالعات مشابه، Abarqaui و همکاران (۲۰۲۰)، بیان کردند که نیترات نقره سبب کاهش قابل توجه گلبول‌های قرمز ماهی *Carassius auratu* نسبت به شاهد می‌شود اما تعداد گلبول‌های سفید اختلاف معنی‌داری نداشت و علت آن را مقاومت گونه مورد مطالعه نسبت به نیترات نقره بیان کردند. Samim و Vaseem در سال (۲۰۲۱) بیان کردند که غلظت ۴۸ میلی‌گرم بر لیتر از نانوذرات اکسید نیکل باعث کاهش قابل توجه تعداد گلبول‌های قرمز، سفید، هموگلوبین و هماتوکریت خون ماهی *Heteropneustes fossilis* می‌شود و بیان کردند که تجمع زیستی نانوذرات اکسید نیکل در خون ماهی سبب کاهش گلبول‌های قرمز و سفید شده است. Naz و همکاران (۲۰۲۱)، گزارش کردند که فلزات‌سنگین مس و کادمیوم سبب کاهش قابل توجه تعداد گلبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین و هماتوکریت خون ماهی *Catla catla* می‌شود. همچنین Hossain و همکاران (۲۰۲۱)، بیان کردند که فلزات سنگین کادمیوم، سرب، مس و آهن موجود در آب رودخانه Buriganga سبب کاهش قابل توجه تعداد گلبول‌های قرمز، سفید و میزان هموگلوبین و هماتوکریت ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) می‌شود.

به‌منظور بررسی اثرات احتمالی ناشی از سموم، بررسی ریخت‌شناختی گلبول‌های قرمز یکی از مهم‌ترین ابزارها در تحقیقات سم‌شناسی عنوان شده است (Bloom and Brandt, 2008). تغییر در ساختار گلبول‌های قرمز باعث اختلالات تنفسی در ماهی می‌شود که ممکن است ناشی از اثرات مضر فلزات سنگین مختلف در گلبول قرمز باشد (Samim and Vaseem, 2021). در این پژوهش فلزات سنگین مختلف سبب تغییر شکل و واکوئله شدن گلبول‌های قرمز سیاه ماهی شد این تغییرات اثرات سمیت فلزات سنگین مختلف را بر روی سیاه‌ماهی آشکار می‌کند (Samim and Vaseem, 2021). Yang و Chen (۲۰۰۳)، بیان کردند که غلظت‌های مختلف گالیم سبب تغییر شکل گلبول‌های قرمز ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌شود. Witeska و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که کلرید کادمیوم سبب تغییراتی از قبیل تورم، واکوئله شدن و تغییرشکل گلبول‌های قرمز ماهی کپور معمولی می‌شود. Islam و همکاران (۲۰۲۰)، بیان کردند که غلظت مختلف کروم سبب تغییراتی از جمله میکرونکلئوس، همجوشی و جوانه‌زدن هسته در گلبول‌های قرمز ماهی *Pangasianodon hypophthalmus* می‌شود. Samim و Vaseem (۲۰۲۱)، بیان کردند که غلظت ۴۸ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید نیکل سبب تغییرات میکرونکلئوس، واکوئله شدن و تغییر شکل گلبول‌های قرمز ماهی *Heteropneustes fossilis* می شود. Zulfahmi و همکاران (۲۰۲۱) ناهنجاری‌هایی از قبیل تورم، دوبرابر شدن، پارگی غشا و واکوئله شدن در گلبول قرمز ماهی *Chanos chanos* را غلظت مختلف سرب عنوان کردند.

پارامترهای بیوشیمیایی به‌منظور بررسی اثرات سمیت فلزات سنگین مختلف در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Theodorakis *et al*., 1992). پروتئین، چربی و کربوهیدرات از مهم‌ترین منابع تأمین انرژی در موجودات زنده می‌باشند بنابراین هر گونه تغییر در مقدار تری‌گلیسیرید، پروتئین و کلسترول می‌تواند بیانگر مصرف آن‌ها به‌منظور تأمین انرژی لازم بدن باشد (Emad *et al*., 2005). سطح گلوکز خون یکی از شاخص‌های بسیار مهم برای پاسخ‌های ثانویهٔ استرس ماهی نسبت به شرایط نامساعد محیطی می‌باشد (Yousefi *et al*., 2011). گلوکز مهم‌ترین مادهٔ ناشی از سوخت و ساز مواد کربوهیدراتی می‌باشد (Zhou *et al*., 2009). افزایش غلظت گلوکز در اثر واکنش بیوشیمیایی گلیکوژنز و تغییر بافت گلیکوژن به گلوکز ایجاد می‌شود

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

که در نهایت سبب افزایش غلظت گلوکز در خون می‌شود (Ahmadifar *et al*., 2011). هر گونه تغییر در غلظت کلسترول بیانگر سوخت و ساز در کبد می‌باشد. افزایش بیش از حد کلسترول بیانگر بی‌نظمی سوخت و ساز چربی و تخریب بافت کبد می‌باشد (Gul *et al*., 2011). در مطالعهٔ حاضر سطح گلوکز و کلسترول ماهیان در معرض فلزات کادمیوم، کروم، کبالت و مس به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود و سطح تری‌گلیسیرید، پروتئین و آلبومین نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد. کاهش سطح پروتئین و آلبومین در گروه‌های تحت درمان ممکن است نتیجه گلوکونئوژنز باشد که از آن برای تولید انرژی به شکل گلوکز استفاده می‌شود (Samim and Vaseem, 2021). در مطالعات مشابه Emad و همکاران (۲۰۰۵)، بیان کردند که کلریدهای مس و کادمیوم سبب افزایش سطح تری‌گلیسیرید، کلسترول و گلوکز در ماهی *Mugil seheli* می‌شود. Ali و همکاران (۲۰۲۱)، عامل کاهش سطح پروتئین کل و آلبومین در موش صحرایی نر (*Rattus norvegicus*) را نانو ذرات اکسید نیکل عنوان کردند. Samim و Vaseem (۲۰۲۱) بیان کردند که غلظت‌های مختلف نیکل نیز سبب کاهش سطح پروتئین کل و آلبومین در ماهی *Heteropneustus fossilis* می‌شود.

امروزه علم آنزیم‌شناسی به‌منظور بررسی آسیب‌های سلولی و اثرات تحریکی مواد آلاینده بر آنزیم‌های مختلف اهمیت زیادی دارد (Casillas *et al*., 1983). در مطالعات سم‌شناسی هر گونه تغییر در سطح آنزیم‌ها گویای آسیب سلولی یک اندام خاص و یا اختلال در فرآیند متابولیک می‌باشد بنابراین بررسی میزان آنزیم‌های مختلف به‌عنوان یک شاخص بیوشیمیایی مهم به‌منظور بررسی شرایط محیط و وجود مواد آلاینده می‌باشد (Baghshani and Shahsavani, 2013). عواملی نظیر ارزان بودن و حساسیت بالای آنالیز آنزیم‌ها سبب افزایش مطالعهٔ آن‌ها و تبدیل به فاکتورهای مهم در بررسی‌های بوم‌شناختی شده است (Nunes, 2011). در مطالعهٔ حاضر سطح آنزیم‌های کبدی ALP، AST و ALT نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود که این امر بیانگر ایجاد آسیب‌هایی در بافت کبد سیاه ماهی مورد مطالعه تحت تأثیر فلزات سنگین است. مطالعات مختلف گزارش کرده‌اند که فلزات‌سنگین مختلف می‌توانند سبب آسیب‌های بافتی و تغییرات میزان آنزیم‌ها در ماهیان شود (Abedi *et al*., 2013; Baghshani and Shahsavani, 2013). Oner و همکاران (۲۰۰۹)، بیان کردند فلزات سنگین باعث افزایش آنزیم AST در کبد ماهی تیلاپیا می‌شود ولی آنزیم ALT در سرم خون ماهی تیلاپیا کاهش یافت. Fırat و Kargın (۲۰۱۰) افزایش دو آنزیم AST و ALT در سرم خون ماهی *Oreochromis niloticus* را گزارش کردند. Younis و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که فلز روی سبب افزایش آنزیم‌های AST و ALT در سرم خون ماهی *O. niloticus* می‌شود و علت آن را آسیب بافت کبد به علت تجمع فلز روی در بافت کبد عنوان کردند.

یکی از موضوعات اساسی برای نظارت و پایش مکان‌های آلوده به فلزات‌سنگین، جلوگیری از ورود آن‌ها می‌باشد. آلودگی منابع آبی از جمله قنات‌ها به فلزات سنگین علاوه بر، کاهش کیفیت آب سبب تجمع این فلزات در موجودات آبزی به‌خصوص ماهیان می‌شود. فلزات سنگین در بافت و خون ماهیان تجمع پیدا می‌کنند و سبب تغییر در پارامترهای خون‌شناسی، بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی ماهیان می‌شود که نتایج این پژوهش به‌خوبی این موضوع را تأیید می‌کند همچنین تجمع فلزات سنگین در ماهیان سبب ورود این فلزات به زنجیرهٔ غذایی انسان می‌شود که سلامتی انسان را به‌خطر می‌اندازد بنابراین، ضروری است که از هم‌اکنون برای کاهش انتشار فلزات سنگین تا حد امکان اقدام شود تا از آلودگی منابع آبی مختلف جلوگیری شود.

قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح جایگزین خدمت سربازی با عنوان "ارزیابی پتانسیل سمیت حاد و مزمن فلزات سنگین مختلف بر روی ماهی قنات‌های مختلف خراسان جنوبی" می‌باشد. کمال تشکر را به پاس حمایت‌های دانشگاه بیرجند و مرکز نخبگان نیروهای مسلح جمهوری اسلامی ایران را دارد.

References

Abarqaui, S., Hedayati, A. A., Ghorbani, R., Paknejad, H., Bagheri, T., 2020. Investigating the toxicity of sub-lethal concentrations of silver nitrate on some hematological and immunological indicators of goldfish (*Carassius auratu*). Environmental Science and Technology 22(2), 57-66. (In Persian)

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

Abedi, Z., Hasantabar, F., Khalesi, M. K., Babaei, S., 2013. Enzymatic activities in common carp; *Cyprinus carpio* influenced by sublethal concentrations of cadmium, lead, chromium. World Journal of Fish and Marine Sciences 5(2), 144-151.

Ali, A.A.M., Mansour, A. B., Attia, S.A., 2021. The potential protective role of apigenin against oxidative damage induced by nickel oxide nanoparticles in liver and kidney of male Wistar rat, *Rattus norvegicus*. Environmental Science and Pollution Research 28(22), 27577-27592.

Ahmdifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A., Mohammadi Zarejabad, A., 2011. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Comparative Clinical Pathology 20(5), 447-451.

Ali, Z., Yousafzai, A.M., Sher, N., Muhammad, I., Nayab, G.E., Aqeel, S.A.M., Khan, H., 2021. Toxicity and bioaccumulation of manganese and chromium in different organs of common carp (*Cyprinus carpio*) fish. Toxicology Reports 8, 343-348.

Baghshani, H., Shahsavani, D., 2013. Effects of lead acetate exposure on metabolic enzyme activities in selected tissues of common carp (*Cyprinus carpio*). Comparative clinical pathology 22(5), 903-907.

Banimasani, M., Keivany, Y., Ebrahimi, E., 2019. Comparative geometric morphometric study of *Capoeta fusca* populations in Kavir and Harirud basins. Experimental Animal Biology *7*(4), 107-115.

Bloom, J. C., Brandt, J. T., 2008. Toxic responses of the blood. Casarett and Doull's, Toxicology: The Basic Science of Poisons., 7th ed. McGraw-Hill Medical, New York, pp: 455-484.

Casillas, E., Myers, M., Ames, W.E., 1983. Relationship of serum chemistry values to liver and kidney histopathology in English sole (*Parophrys vetulus*) after acute exposure to carbon tetrachloride. Aquatic Toxicology 3(1), 61-78.

Damayanthi, M.N., Seema, P., Kumar, K.J., 2015. Anemia among adolescents in urban field practice area of Rajarajeswari Medical College, Bangalore. Al Ameen Journal of Medical Sciences 8(4), 288-292.

Dancan, J.R., Prasse, K.W., Mahaffy, E.A., 1994. Veterinary laboratory medicine. Clinical pathology. 3rd ed. Iowa state university press. Ames: Iowa State University Press 243, 21-56.

Eagderi, S., Mouludi-saleh, A., Esmaeli, H.R., Sayyadzadeh, G., Nasri, M., 2022. Freshwater lamprey and fishes of Iran; a revised and updated annotated checklist-2022. Turkish Journal of Zoology 46(6), 500-522.

Ekpo, K.E., Asia, I.O., Amayo, K.O., Jegede, D.A., 2008. Determination of lead, cadmium and mercury in surrounding water and organs of some species of fish from Ikpoba River in Benin city, Nigeria. International Journal of Physical Sciences 3(11), 289-292.

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.

Esmaeili, H.R., Mehraban, H., Abbasi, K., Keivany, Y., Coad, B., 2017. Review and updated checklist of freshwater fishes of Iran: Taxonomy, distribution and conservation status. Iranian Journal of Ichthyology 4(1), 101-114.

Firat, Ö., Kargın, F., 2010. Biochemical alterations induced by Zn and Cd individually or in combination in the serum of *Oreochromis niloticus*. Fish physiology and biochemistry 36(3), 647-653.

Ghiasi, F., Mirzargar, S.S., Badakhshan, H., Shamsi, S., 2010. Lysozyme in Serum, Leukocyte Count and Phagocytic Index in *Cyprinus carpio* under the Wintering Conditions. Journal of fisheries and Aquatic Science 5(2), 113-119.

Gul, Y., Gao, Z. X., Qian, X. Q., Wang, W. M., 2011. Haematological and serum biochemical characterization and comparison of wild and cultured northern snakehead (*Channa argus* Cantor, 1842). Journal of Applied Ichthyology 27(1), 122-128.

Hossain, Z., Hossain, M.S., Ema, N.S., Omri, A., 2021. Heavy metal toxicity in Buriganga River alters the immunology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus L*). Heliyon 7(11), e08285.

Islam, S.M., Rohani, M.F., Zabed, S.A., Islam, M.T., Jannat, R., Akter, Y., Shahjahan, M., 2020. Acute effects of chromium on hemato-biochemical parameters and morphology of erythrocytes in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. Toxicology Reports 7, 664-670.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

Jahanbakhshi, A, Hedayati, A.A., Ahmadvand, S., Ahmadvand, S., 2014. Determination of the lethal concentration (LC50-96h) of mercury chloride (HgCl2), lead chloride (PbCl2) and zinc chloride (ZnCl2) on the survival of redfish (*Carassius auratus*). Aquaculture exploitation and culture magazine 3(2), 111-120. (In Persian)

Jalali, B., Aghazadeh, M., 2006. Fish poisoning due to heavy metals and its importance in public health. Book publishing. Page 36. (In Persian)

Khage, G., Paighan, R., Misbah, M., Rasakh, A., 2008. A comparative study of hematological parameters of farmed barb (Barbus sharpeyi) and grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), Iran Veterinary Journal, Shahid Chamran University, Ahvaz 4(1), 24-36.

Mojabi, A., 2000. Veterinary clinical biochemistry. Noorbakhsh Press, Tehran, Iran. 477, 479. (In Persian)

Meshgani, M., Pourkasmani, M., 2003. Identification of fishes in central Birjand aqueducts, Scientific Research Journal of Fisheries 4, 172-163. (In Persian)

Naz, S., Hussain, R., Ullah, Q., Chatha, A. M. M., Shaheen, A., Khan, R. U., 2021. Toxic effect of some heavy metals on hematology and histopathology of major carp (*Catla catla*). Environmental Science and Pollution Research 28(6), 6533-6539.

Nekoubin, H., Gharedaashi, E., Imanpour, M. R., Montajami, S., 2012. Determination of LC50 of Lead Nitrate and Copper Sulfate in Caspian Roach (*Rutilus rutilus caspicus*). Walailak Journal of Science and Technology 9(4), 333-40.

Nunes, B., 2011. The use of cholinesterases in ecotoxicology. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 212, 29-59.

Oner, M., Atli, G., Canli, M., 2009. Effects of metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures on some enzymatic and non-enzymatic indicators in the liver of *Oreochromis niloticus*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 82(3), 317-321.

Park, J., Yoo, E.J., Shin, K., Depuydt, S., Li, W., Appenroth, K. J., Han, T., 2021. Interlaboratory Validation of Toxicity Testing Using the Duckweed Lemna minor Root-Regrowth Test. Biology 11(1), 37.

Pan, K., Wang, W. X., 2012. Trace metal contamination in estuarine and coastal environments in China. Science of the Total Environment 421, 3-16.

Palaniappan, P.R., Karthikeyan, S., 2009. Bioaccumulation and depuration of chromium in the selected organs and whole body tissues of freshwater fish Cirrhinus mrigala individually and in binary solutions with nickel. Journal of Environmental Sciences 21(2), 229-236.

Pirsaheb, M., Azadi, N.A., Miglietta, M.L., Sayadi, M.H., Blahova, J., Fathi, M. and Mansouri, B., 2019. Toxicological effects of transition metal-doped titanium dioxide nanoparticles on goldfish (Carassius auratus) and common carp (*Cyprinus carpio*). Chemosphere, 215, 904-915.

Pratush, A., Kumar, A., Hu, Z., 2018. Adverse effect of heavy metals (As, Pb, Hg, and Cr) on health and their bioremediation strategies: a review. International Microbiology 21(3), 97-106.

Stoskopf, M.K., 1993. Clinical pathology, In: Fish Medicine (ed. by M.K. Stoskopf), pp. 113-131. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 882 p.

Simmons, A., 1997. Hematology. UK: Simmons, Butterworth- Heinemann. 507.

Samim, A. R., Vaseem, H., 2021. Assessment of the potential threat of nickel (II) oxide nanoparticles to fish *Heteropneustes fossilis* associated with the changes in haematological, biochemical and enzymological parameters. Environmental Science and Pollution Research 28(39), 54630-54646.

Sayadi, M. H., Kharkan, J., Shekari, H., Rezaei, A., 2023. Acute toxicity and histopathological changes in gill and intestine of *Gambusia holbrook*i (Girard, 1859) fish exposed to paraquat at different pH, hardness and temperatures. Journal of Natural Environment 76(1), 133-147. (In Persian)

Sayadi, M.H., Pavlaki, M.D., Loureiro, S., Martins, R., Tyler, C.R., Mansouri, B., Kharkan, J. and Shekari, H., 2022. Co-exposure of zinc oxide nanoparticles and multi-layer graphenes in blackfish (*Capoeta fusca*): evaluation of lethal, behavioural, and histopathological effects. Ecotoxicology 31,425-439.

Sayadi, M. H., Mansouri, B., Shahri, E., Tyler, C.R., Shekari, H., Kharkan, J., 2020. Exposure effects of iron oxide nanoparticles and iron salts in blackfish (*Capoeta fusca*): Acute toxicity, bioaccumulation, depuration, and tissue histopathology. Chemosphere 247, 125900.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

Sayadi, M. H., Pavlaki, M. D., Martins, R., Mansouri, B., Tyler, C. R., Kharkan, J., Shekari, H., 2021. Bioaccumulation and toxicokinetics of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) co-exposed with graphene nanosheets (GNs) in the blackfish (*Capoeta fusca*). Chemosphere 269, 128689.

Theodorakis, C.W., D'surney, S.J., Bickham, J.W., Lyne, T.B., Bradley, B.P., Hawkins, W.E., Shugart, L.R., 1992. Sequential expression of biomarkers in bluegill sunfish exposed to contaminated sediment. Ecotoxicology 1(1), 45-73.

Verma, A. K., Prakash, S., 2019. Impact of arsenic on haematology, condition factor, hepatosomatic and gastrosomatic index of a fresh water cat fish, *Mystus vittatus*. International Journal on Biological Sciences 10(2), 49-54.

Vilella, S., Ingrosso, L., Lionetto, M. G., Schettino, T., Zonno, V., Storelli, C., 2000. Effect of cadmium and zinc on the Na+/H+ exchanger present on the brush border membrane vesicles isolated from eel kidney tubular cells. Aquatic toxicology 48(1), 25-36.

Witeska, M., Jezierska, B., 2003. The effects of environmental factors on metal toxicity to fish (review). Fresenius Environmental Bulletin 12(8), 824-829.

Witeska, M., Kondera, E., Szczygielska, K., 2011. The effects of cadmium on common carp erythrocyte morphology. Polish Journal of Environmental Studies 20(3), 783-788.

Yalsuyi, A.M., Hedayati, A., Vajargah, M.F., Mousavi-Sabet, H., 2017. Examining the toxicity of cadmium chloride in common carp (*Cyprinus carpio*) and goldfish (*Carassius auratus*). Journal of environmental treatment techniques 5(2), 83-86.

Yokota, S.; Nakamura, K., Kamata, R., 2019. A comparative study of nickel nanoparticle and ionic nickel toxicities in zebrafish: histopathological changes and oxidative stress. The Journal of Toxicological Sciences 44(11), 737-751.

Yang, J.L., Chen, H.C., 2003. Effects of gallium on common carp (*Cyprinus carpio*): acute test, serum biochemistry, and erythrocyte morphology. Chemosphere 53(8), 877-882.

Yousefi, M., Abtahi, B., Kenari, A.A., 2012. Hematological, serum biochemical parameters, and physiological responses to acute stress of Beluga sturgeon (*Huso huso*, Linnaeus 1785) juveniles fed dietary nucleotide. Comparative Clinical Pathology 21(5), 1043-1048.

Younis, E.M., Abdel-Warith, A.A., Al-Asgah, N.A., 2012. Hematological and enzymatic responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* during short and long term sublethal exposure to zinc. African Journal of Biotechnology 11(19), 4442-4446.

Zulfahmi, I., Rahmi, A., Muliari, M., Akmal, Y., Paujiah, E., Sumon, K.A., Rahman, M. M., 2021. Exposure to Lead Nitrate Alters Growth and Haematological Parameters of Milkfish (*Chanos chanos*). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 107(5), 860-867.

Zhou, X., Li, M., Abbas, K., Wang, W., 2009. Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. Fish Physiology and Biochemistry 35(3), 435-441.

Archive of SID.ir