بررسی تأثیرات دراز مدت تغییرات pH آب بر شاخصهای خونی بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio* L.)

مهدی قنبری*[1]، منصوره جامی[1]، مهدی نقدی[2] و محسن شهریاری مقدم[1]

[1] زابل، دانشگاه زابل، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، گروه شیلات

[2] نور، دانشگاه تربیت مدرس، پردیس منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

تاریخ دریافت: 86/7/30 تاریخ پذیرش: 87/9/6

چکیده

هدف ازاین مطالعه، بررسی تأثیر تغییرات pH آب (اسیدی و قلیایی)، بر شاخصهای خونی بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio* L.) بود. بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی به مدت 21 روز در آبهایی با pH های اسیدی (5/5 و 6/5) و قلیایی(5/5، 8 و 9) و خنثی (7/2) به عنوان گروه شاهد، نگهداری شدند. در این تحقیق، تغییرات در شکل، اندازه و جمعیت گلبولهای خونی(قرمز و سفید)، همچنین غلظت هموگلوبین و میزان قند خون بچه ماهیان قرار گرفته در مقادیر متفاوتی از pH به عنوان شاخصهای استرس، اندازه گیری و مشخص شد. نتایج نشان دادند که تغییر در pH آب (اسیدی و قلیایی)، سبب بروز تغییرات معناداری($P<0.05$) در شاخصهای خونی بچه ماهیان جهت بروز استرس در آنها گردیده است که به صورت تغییر در شکل، اندازه و تعداد کل گلبولهای قرمز (TECs) و گلبولهای سفید (TLCs) و همچنین تغییر در میزان هموگلوبین وگلوکز خون مشاهده شد. تغییر در پارامترهای خونی بچه ماهیان کپور معمولی بیانگر این امر است که تغییر در pH آب، سبب بر هم خوردن تبادل یونی و فعالیت اسید و باز در آبشش و به دنبال آن تغییر در pH داخلی بدن و بر هم خوردن توازن الکترولیتها و تعادل اسمزی در بدن بچه ماهیان می شود. این امر می تواند سبب افزایش مصرف انرژی در ماهیان، برای رسیدن به شرایط ثابت تعادل حیاتی (Homeostasis) و در نتیجه تحت تأثیر قرار گرفتن سایر فعالیتهای فیزیولوژیک مانند رشد در ماهیان شود.

واژه های کلیدی: شاخصهای خونی، pH، استرس، کپور معمولی (*Cyprinus caprio* L.)

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: 0542-2251521، پست الکترونیک:ghanbari.msc@gmail.com

مقدمه

آبشش اولین سطح تبادلی بین ماهی و محیط اطراف آن برای تبادل گازی، تبادل یونی، تعادل اسید-باز و ترشح آمونیاک است. pH آب نقش مهمی را در نگهداری و تنظیم مایعات بدن ایفا می کند. مهم ترین متابولیت های زائد نیتروژنی، NH_3^- و NH_4^+ می باشند که معمولاً در خون و بافت ماهیان استخوانی به صورت NH_4^+ وجود دارند، اما از اپیتلیوم آبشش به واسطه شیب نفوذی خون به آب به شکل NH_3^- خارج می شود (22 و 28). سمیت آمونیاک در چندین گونه از ماهیان به میزان زیادی بررسی و مطالعه شده است (14 و 21). ثابت شده است که سمیت آمونیاک وابستگی زیادی به حضور یون NH_3^- در محیط دارد و غلظت NH_3^- موجود در آب به طور مستقیم در رابطه با تغییرات pH آب می باشد (5). افزایش یا کاهش در میزان pH آب، سبب اختلال در تنظیم یون، تبادل اسید و باز و ترشح آمونیاک کل (مجموع NH_3^- و NH_4^+) در بدن می شود (7،12،29،31،32). تحقیقات نشان داده اند که ماهی باید برای تأمین اکسیژن مورد نیاز خود نرخ تهویه را در بالاترین مقدار نگه دارد، بنابراین نمی تواند تغییرات

قابل ملاحظه ای را در تهویه در پاسخ به تغییرات pH از خود نشان دهد (30). اگر چه چندین مطالعه، رفتار ماهی را در رابطه با دامنه وسیعی از فاکتورهای محیطی بررسی کرده اند، اما اطلاعات کمی در مورد تأثیر تغییرات pH آب بر فیزیولوژی ماهیان در دسترس است (20) و دانسته های کمی در این زمینه موجود می باشد. مطالعات انجام شده بر روی تأثیر دراز مدت قرار گرفتن در pH های مختلف، بر روی تنظیم یونی و ترشح آمونیاک در ماهیان آب شیرین به طور زیادی محدود به آزاد ماهیان از قبیل ماهی قزل آلای رنگین کمان می باشد.

بین ماهیان پرورشی، ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* L.) برای پرورش از سهولت بالایی برخوردار می باشد و در مقابل تنگناهای محیطی، مقاومت بیشتری نسبت به سایر ماهیان پرورشی دارد (1). دامنه مناسب pH برای پرورش ماهی کپور معمولی 8/5-7/5 می باشد (2) و pH آب در اکثر استخرهای پرورش ماهی کپور در همین دامنه می باشد. در بعضی مواقع ورود زیاد مواد آلی از قبیل کودهای آلی و مکملهای غذایی که برای افزایش میزان تولید در واحد سطح استفاده می شوند، سبب تغییراتی در میزان اسیدیته آب و به موجب آن ایجاد استرس در ماهیان می شوند. از آنجایی که تغییر در میزان اسیدیته آب بر روی ترشح مواد زائد نیتروژنی، تنظیم یون، و تنظیم مایعات بدن و همچنین فیزیولوژی و رشد ماهی تأثیر گذار است (5، 6 و 10)، به نظر می رسد که این تغییر بتواند بر فاکتورهای خونی ماهیان نیز تأثیرگذار باشد. از این رو در این مطالعه تغییرات در شکل، اندازه و جمعیت گلبولهای خونی، همچنین غلظت هموگلوبین و میزان قند خون ماهیان قرار گرفته در مقادیر متفاوتی از pH به عنوان شاخصهای استرس در بچه ماهیان کپور معمولی اندازه گیری و مشخص شد.

مواد و روشها

ماهیان انگشت قد کپور معمولی (میانگین وزن 10/3±2/9) از استخر پرورش ماهی در ایستگاه تحقیقاتی شیلات-زابل تهیه گردید و در کیسه های پلاستیکی 5 لیتری که با نسبت یک به دو با آب مورد استفاده در کارگاه و اکسیژن پر شده بود، به آزمایشگاه منتقل شدند. فرآیند سازگاری تحت شرایط نرمال (2±23 درجه سانتی گراد) به مدت دو هفته در تانکهای 400 لیتری انجام گرفت. بچه ماهیان در طول دوره آزمایش با غذای تجاری، 2 بار در روز تا حد سیری تغذیه می شدند و در این مدت تعویض آب به صورت یکبار در روز انجام می گرفت. آب مورد استفاده در طول آزمایش، از همان منبع مورد استفاده (چاه نیمه ها) در کارگاه پرورش مرکز تحقیقات شیلات بود. آب پس از سه روز هوادهی در تانکهای ذخیره در آزمایشات مورد استفاده قرار می گرفت. پارامترهای کیفی آب ذخیره شده در شروع آزمایش طبق روشهای استاندارد اندازه گیری و ثبت شد (3) (جدول 1).

جدول 1- پارامترهای کیفی آب در شروع آزمایش

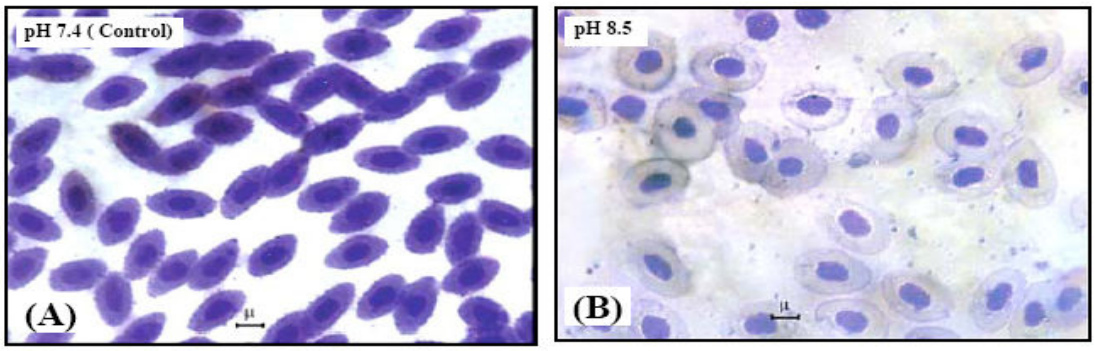
پارامتر ها	دامنه
pH	7/3-7/4
درجه حرارت	30-32 ºC
قلیائیت کل	118-132 mg CaCO3 . l-1
سختی کل	122-136 mg CaCO3. L-1
D.O	5/6-6/3 mg.l-1
کلراید	0/4-10/8mg.l-1
آمونیاک کل	0/01-0/02mg.l-1
نیتریت	<0/01 mg.l-1

یک محلول ذخیره از بیکربنات سدیم و اسید استیک گلاسیال با سدیم استات 4 درصد به ترتیب برای ایجاد pH های اسیدی و قلیایی در آب مورد استفاده قرار گرفت.

میزان pH با استفاده از یک pH متر (Elico, L1-120) اندازه گیری و تعیین می شد. تعویض آب در تانکهای مورد استفاده در آزمایش به طور روزانه با خارج کردن فضولات ماهیان و غذاهای خورده نشده و تنظیم pH انجام می گرفت. قبل از تعویض آب، محلولهای مادر اسیدی و قلیایی مورد نیاز به آب ذخیره شده در تانکهای جداگانه برای ایجاد pH های مورد نیاز 5/5، 6/5، 8، 8/5 و 9 اضافه می شدند. تعویض آب در ساعات اولیه صبح (10-9) به میزان 90 درصد انجام می گرفت و در ادامه تنظیم نهایی میزان pH با اضافه کردن محلولهای مادر اسیدی و قلیایی به تانکها صورت می پذیرفت. به منظور جلوگیری از ایجاد هرگونه استرس، تعویض آب به آرامی انجام می گرفت و تانکها در طول دوره آزمایش بطور دائم هوادهی می شدند.

برای تعیین محدوده کشندگی در یک آزمایش، ابتدا بچه ماهیان کپور معمولی در تانکهایی با مقادیر مختلف اسیدیته (4، 5، 5/5، 7/5، 8/5، 9 و 9/5) قرار گرفتند. آزمایش در 3 تکرار انجام گرفت. نتایج نشان داد که هیچکدام از بچه ماهیان نتوانستند در اسیدیته های 5،4 و 9/5 زنده بمانند. بنابراین دامنه اسیدیته 5/5 تا 9 را برای مطالعه فاکتورهای خونی بچه ماهیان در نظر گرفته شد. در مرحله بعد، تعداد 10 عدد از بچه ماهیان به آکوآریوم های 60 لیتری شیشه ای با pH های مشخص منتقل گردید. نمونه های شاهد نیز در آب با pH برابر 7/4 قرار گرفت. طول مدت آزمایش 21 روز و با سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد.

پس از 21 روز نمونه های خون از بچه ماهیان از هر تکرار برای اندازه گیری فاکتورهای خونی گرفته شد. نمونه های خون از قسمت کناری باله سینه ای تهیه و سپس با ماده ضد انعقاد خون (10 گرم EDTA در 100 میلی لیتر آب مقطر) مخلوط گردید و بلافاصله به تیوبهای میکروسانتریفیوژ منتقل گردید. در ادامه آزمایشات، تعداد کل گلبولهای قرمز (TECs)، هماتوکریت، هموگلوبین(Hb) و گلبولهای سفید (TLCs) شمارش و اندازه گیری شد. برای سنجش قند خون از روش اورتوتولوئیدین استفاده شد و میزان قند خون با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 640 نانومتر سنجش گردید (1). برنامه (V. PC-SAS 6.12) برای انجام آنالیزهای آماری در سطح 0/05 مورد استفاده قرار گرفت. داده های خام با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل گردید و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2003 استفاده شد.

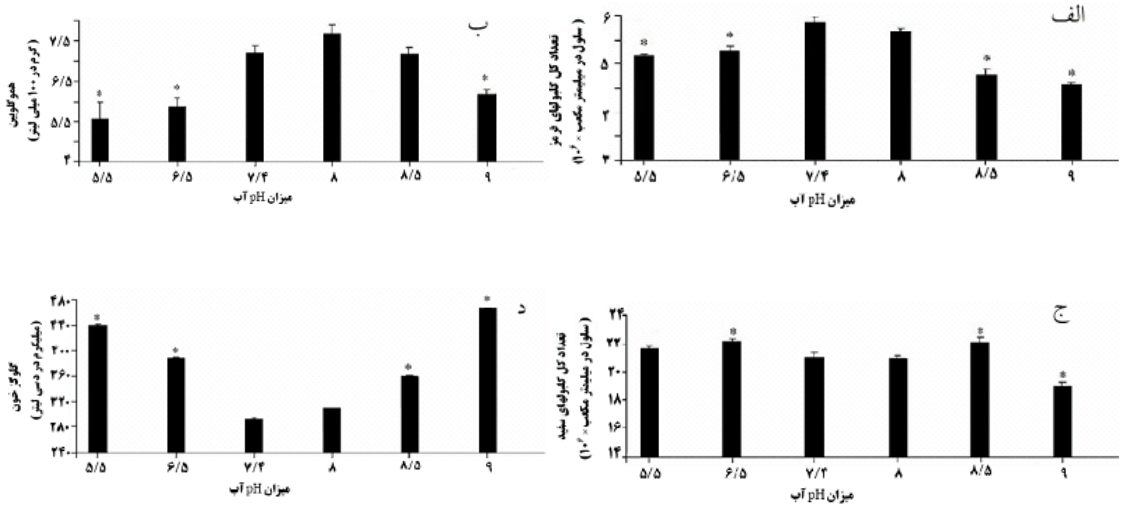


تصویر 1- گسترش خونی بچه ماهیان کپور قرار گرفته در اسیدیته های مختلف: (A) گروه شاهد، (B) بچه ماهیان در اسیدیته 8/5؛ بعضی از گلبولهای قرمز دچار تورم شده اند و بعضی از آنها تخریب و غشاء پلاسمایی آنها از هم گسیخته شده اند.

نتایج

بررسی رفتار بچه ماهیان در آب با pH های مختلف نشان داد که بچه ماهیان قرار گرفته در pH های 5/5، 8/5 و 9

رفتارهای عصبی به صورت شنای نامنظم و شنا کردن به پهلو را از خود نشان دادند. گلبولهای قرمز بچه ماهیان گروه شاهد در تصویر (A–1) دیده می شود. مطالعات سیتولوژیکی بروز تورم در تعدادی از گلبولهای قرمز بچه ماهیان قرار گرفته در pH های 8/5 و 9 را نشان داد (تصویر B–1). همانطور که دیده می شود، در برخی از این گلبولها ساختار غشا متلاشی شده و غشای پلاسمایی پاره و از هم گسیخته شده است. همچنین تعدادی گلبول قرمز نابالغ، ماکروفاژ، نوتروفیل ها و لنفوسیت ها که در گسترش خونی بچه ماهیان قرار گرفته در pH های 8/5 و 9 دیده شد. نتایج بررسی شاخصهای خونی نشان داد که قرار گرفتن در هر دو شرایط اسیدی و قلیایی سبب ایجاد کاهش در گلبولهای قرمز بچه ماهیان متناسب با تغییرات pH آب شد (نمودار 1–الف). قرار گرفتن در pH های 5/5، 6/5، 8/5 و 9 سبب بروز کاهش معناداری ($P<0.05$) در تعداد گلبولهای قرمز (TECs) گردید. بیشترین میزان کاهش در pH برابر 9 و به میزان 22 درصد مشاهده گردید. کاهش معناداری ($P<0.05$) در میزان هموگلوبین در pH های 5/5، 6/5 و 9 مشاهده شد. این کاهش در pH های 5/5 و 9 به ترتیب به میزان 54 درصد و 23 درصد نسبت به نمونه های شاهد بود (نمودار 1–ب). تعداد کل گلبولهای سفید (TLCs) در بچه ماهیان قرار گرفته در pH های اسیدی افزایش یافت که این افزایش در pH برابر 6/5 بصورت معناداری ($P<0.05$) نسبت به گروه شاهد بود. در pH های قلیایی افزایش معنی داری در تعداد گلبولهای سفید در pH برابر 8/5 و سپس کاهش معنی داری ($P<0.05$) در میزان این گلبولها در pH برابر 9 روی داد. بررسی میزان قند خون در بچه ماهیان نشان داد که میزان گلوگز خون به طور معنی داری ($P<0.05$) در بچه ماهیان قرار گرفته در آب با pH های اسیدی و قلیایی متناسب با تغییرات pH افزایش پیدا کرد (نمودار 1–ج). بیشترین درصد افزایش گلوگز خون در شرایط اسیدی 50 و در شرایط قلیایی 58 بود.



نمودار 1. تغییرات شاخصهای خونی بچه ماهیان کپور قرار گرفته در pH های مختلف: (الف) تعداد کل گلبولهای قرمز، (ب) غلظت هموگلوبین، (ج) تعداد کل گلبولهای سفید، (د) میزان گلوکز خون. *علامت ستاره نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه شاهد در سطح 0/05 می باشد.

بحث

تورم گلبولهای قرمز تنها در بچه ماهیان قرار گرفته در آب با pH های قلیایی مشاهده شد. افزایش اندازه در گلبولهای قرمز در نتیجه مکانیسم افزایش ظرفیت تنظیمی سلول می باشد که این امر در نتیجه فعال شدن پمپ Na^+/H^+ به همراه پمپ Cl^-/HCO_3^- در غشای گلبولهای قرمز (RBC)

می باشد (4،26). همچنین می توان بیان کرد که تورم گلبولهای قرمز می تواند ناشی از ورود اجباری آب به همراه ورود یون Na^+ به داخل این سلولها (RBC) باشد (13 و 32). کاهش در تعداد کل کل گلبولهای قرمز (TECs) و محتوای هموگلوبین (Hb) در ماهیان قرار گرفته در شرایط مختلف اسیدی و قلیایی، نشان دهنده کاهش ظرفیت حمل اکسیژن بود (5، 6، 11، 15، 19و 24). کاهش ظرفیت حمل اکسیژن در نتیجه تغییر شکل و تحلیل رفتن تعدادی از گلبولهای قرمز که در pH های 5/5، 6/5 و 9 مشاهده گردید، می تواند بواسطه افزایش میل ترکیبی و ظرفیت حمل اکسیژن توسط هموگلوبین و همچنین افزایش در تولید گلبولهای قرمز جبران گردد. مشاهده افزایش تعداد گلبولهای قرمز نابالغ در بچه ماهیان قرار گرفته در pH های 5/5، 8 و 8/5 (داده ها نشان داده نشده) نشان دهنده این مطلب است که احتمالاً این تغییر یک مکانیسم جبران کننده میزان اکسیژن در طول استرس در pH های میانی در این ماهیان می باشد (8) که در pH های خیلی بالا (9) و خیلی پایین (5) دیده نمی شود.

کاهش متناوب محتوای هموگلوبین در شرایط اسیدی و قلیایی، بیانگر این امر است که احتمالاً در نتیجه تغییرات pH آب، یک استرس تنفسی در بچه ماهیان کپور بروز یافته که به موجب این استرس، تغییراتی در میزان هموگلوبین در آنها به وجود آمده است. کاهش تعداد کل گلبولهای قرمز (TECS)، هماتوکریت و غلظت هموگلوبین (Hb) نشان داد که گلبولهای قرمز بواسطه فرآیند لکوسیتوزیز (Leucocytosis) تجزیه و در ادامه چروکیده شده و تحیل رفته اند. همچنین رقیق شدن خون (Haemodiluion) در نتیجه اختلال در فعالیت اسمزی اپیتلیوم های آبشش (Osmoregulation) (5، 10 و 27) نیز می تواند علت دیگری برای کاهش در محتوای هموگلوبین و گلبولهای قرمز باشد.

ثابت شده است که گلبولهای سفید نقش مهمی در تنظیم فعالیتهای ایمنی در موجودات زنده دارند (18). از پاسخهای ایمنی بدن ماهیان در طی دوره استرس، افزایش تعداد کل گلبولهای سفید (TLCs) به لحاظ تحریک فرآیند لکوپویتیک (Leucopuitic) و افزایش رهاسازی گلبولهای سفید به جریان خون می باشد (9). تحقیقات انجام شده در زمینه بررسی مکانیسم استرس در ماهیان نشان داده است که استرس سبب تحریک میزان کاتکولامین های پلاسما در ماهی می گردد (16). آزاد شدن کاتکولامین ها، آدرنالین و نورآدرنالین، سبب افزایش فرایند تبدیل گلیکوژن کبد به گلوکز در جهت تأمین انرژی بیشتر مورد نیاز بدن در زمان استرس می گردد (23). تغییر سطح گلبولهای سفید (TLCs) و افزایش سطح گلوکز خون در مطالعه حاضر، افزایش میزان استرس را در کپور معمولی، در نتیجه تغییرات میزان pH آب، بیان می کند (17)، که به احتمال زیاد در نتیجه اختلال در توازن اسید و باز و همچنین اختلال در فعالیتهای تنفسی و تنظیم یونی در طی قرار گرفتن در معرض تغییرات pH می باشد (4 و 25). بچه ماهیان کپور معمولی در جهت تعدیل اثر تغییرات pH آب، افزایش تعداد کل گلبولهای سفید (TLCs) و افزایش سطح گلوکز خون را از خود بروز دادند. با وجود افزایش در سطح گلوکز خون در pH های 5/5 و 9، تعداد گلبولهای سفید در این pH ها کاهش یافت، که احتمالاً این امر در نتیجه افزایش میزان استرس در تغییرات زیاد pH و به موجب آن، تضعیف بیشتر پروسه لکوپویزیز (Leucopoiesis) می باشد (4). بروز چنین حالتی، حساسیت بالای کپور معمولی را به نوسانات شدید pH آب بیان می کند. همچنین تعداد کاهش قابل توجه در تعداد کل گلبولهای سفید (TLCs) و افزایش بیشتر در گلوکز خون به ویژه در pH های بالای آب را می توان به افزایش میزان استرس در نتیجه قابلیت انباشتگی آمونیاک در بدن ماهی نسبت داد (31 و 33).

در مطالعه حاضر تغییر در فاکتورهای خونی بچه ماهیان کپور معمولی قرار گرفته در آب با pH های مختلف نشان دهنده اختلال در فعالیتهای تنظیم یونی و تنفسی این ماهیان

است که این امر سبب افزایش مصرف انرژی در ماهیان برای رسیدن به شرایط ثابت تعادل حیاتی (Homeostasis) و به دنبال آن تحت تأثیر قرار گرفتن سایر فعالیتهای فیزیولوژیک مانند رشد جاندار می شود.

منابع

1. حافظ امینی، پ. ؛ ش. عریان. و ک. پریور.1382. بررسی اثرات ناشی از استرس کلرور سدیم روی قند خون و هورمون کورتیزول در ماهی کپور معمولی(*Cyprinus carpio* L.). مجله علمی شیلات ایران، سال دوازدهم، شماره 3، پاییز 1382. صفحات 35 تا 42.

2. سانتانام، ر. ؛ ن. ساکاماران و پ. ناتاراجان،1384. پرورش آبزیان در آبهای شیرین. ترجمه:غ. رفیعی. انتشارات دانشگاه تهران. 218 صفحه.

3. APHA, AWWA, WPCF, 1989. Standard Methods for the Examination of Water and WasteWater, 17th edition. American Public Health Association, Washington, DC, pp. 10–203.

4. Cossins, A.R., Gibson, J.S., 1997. Volume sensitive transport systems and volume homeostasis in vertebrate red blood cells. J. Exp. Biol. 200, 343–352.

5. Das, P.C., Ayyappan, S., Jena, J.K., Das, B.K., 2004a. Acute toxicity of ammonia and its sub-lethal effects on selected haematological and enzymatic parameters of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). Aquacult. Res. 35, 134–143.

6. Das, P.C., Ayyappan, S., Jena, J.K., Das, B.K., 2004b. Nitrite toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.): acute toxicity and sub-lethal effect on selected haematological parameters. Aquaculture 235 (1–4), 633–644.

7. Evans, D.H., Piermarini, P.M., Choe, K.P., 2005. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid– base regulation, and excretion of nitrogenous waste. PHysiol. Rev. 85, 97–177.

8. Gill, T.S., Pande, J., Tewari, H., 1991. Haemopathological changes associated with experimental adicarb poisoning in fish (*Puntius conchonius* Ham.). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 47, 628–633.

9. Harikrishnan, R., Nisha Rani, M. and Balasundaram, C. 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbaltreatment for *Aeromonas hydrophila* infection. Aquaculture 221, 41–50

10. Jeney, Zs., Nemcsok, J., Jeney, G., Olah, J., 1992. Acute effect of sublethal ammonia concentrations on common carp (*Cyprinus carpio*): I. Effect of ammonia on adrenaline and noradrenaline levels in different organ. Aquaculture 104, 139–148.

11. Jensen, F.B., 2003. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. Comp. Biochem. Physiol. 135A, 9–24.

12. Jensen, F.B., Brahm, J., 1995. Kinetics of chloride transport across fish red blood cell membranes. J. Exp. Biol. 198, 2237–2244.

13. Jensen, F.B., Lecklin, T., Busk, M., Bury, N.R., Wilson, R.W., Wood, C.M., Grosell, M., 2002. Physiological impact of salinity increase at organism and red blood cell levels in the European flounder (*Platichthys fleus*). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 274, 159–174.

14. Lemarie, G., Dosdat, A., Coves, D., Dutto, G., Gasset, E., Person, G., 2004. Effect of chronic ammonia exposure on growth of Europian seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquacul. 229. 479-491.

15. Martinez, C.B.R., Souza, M.M., 2002. Acute effects of nitrite on ion regulation in two neotropical fish species. Comp. Biochem. Physiol. 133A, 151–160.

16. Mazeud, M.M., Mazeud, I., 1981. Adrenergic response to stress in fish. In: Pickering, A.D. (Ed.), Stress and Fish. Academic Press, London, pp. 49–75 .

تشکر و قدردانی: نگارندگان بر خود لازم می دانند در اینجا از زحمات دکتر جعفر سیف آبادی به جهت کمک در ویرایش مقاله به عنوان ناظر علمی و همچنین آقای مهندس محمد قنبری به جهت مشاوره در محاسبات آماری این تحقیق تشکر به عمل آورند.

17. Salama. A. and Nikinmaa. M.1988. The Adrenergic responses of carp (*Cyprinus carpio*) red cells: Effects of P_{O2} and pH. J. exp. Biol. 136, 405-416

18. Santhakumar, M., Balaji, M., Ramudu, K., 1999. Effect of sub-lethal concentration of monocrotophos on erythropoietic activity and certain haematological parameters of fish *Anabus testudineus* (Bloch). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 63, 379–384.

19. Sawhney, A.K., Johal, M.S., 2000. Erythrocyte alterations induced by malathion in *Channa punctatus* (Bloch). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 64, 398–405.

20. Scott, D. M., Lucas, M. C., Wilson, R. W.,2005. The effect of high pH on ion balance, nitrogen excretion and behaviour in freshwater fish from an eutrophic lake: A laboratory and field study. Aquatic Toxico. 73 , 31–43

21. Siikavuopio, S.I., & Saether, B.S., 2006. Effect of cronic nitrite exposue on growth in juvenile Atlantic cod, *Gadus morhua*. Aquacul. 255, 351-356.

22. Smutna, M., Vorlova, L., Svobodova, Z., 2002. Pathobiochemistry of ammonia in the internal environment of fish (Review) Acta Vet. Brno 71, 169–181.

23. Sriwastava, U.M.S., Srivastava, D.K., 1985. Effect of urea stress on fish. In: Trivedy, R.K., Goel, K. (Eds.), Current Pollution Researches in India. Environmental Publication, Karad, India.

24. Stormer, J., Jensen, F.B., Rankin, J.C., 1996. Uptake of nitrite, nitrate and bromide in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*: effects on ionic balance. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 53, 1943–1950.

25. Ultsch, G.R., Ott, M.E., Heisler, N., 1981. Acid base and electrolyte status in carp (*Cyprinus carpio*) exposed to low environmental pH. J. Exp. Biol. 93, 65–80.

26. Weaver, Y.A., Kiessling, K., Cossins, A.R., 1999. Responses of the Na^+/H^+ exchanger of European flounder red blood cells to hypertonic, β-adrenergic and acidotic stimuli. J. Exp. Biol. 202, 21–32.

27. Wedemeyer, G.A., McLeay, D.J., Goodyear, C.P., 1984. Assessing the tolerance of fish and fish population to environmental stress. The problems and methods of monitoring. In: Cairns, W.V., Hodson, P. V., Nriagu, J.O. (Eds.), Contaminant Effects on Fisheries. John Wiley and Sons Inc, New York, pp. 164–195.

28. Wilkie, M.P., 2002. Ammonia excretion and ureah and ling by fish gills: present understanding and future research challenges. J. Exp. Zool. 293, 284–301.

29. Wilkie, M.P., Wood, C.M., 1991. Nitrogenous waste excretion, acid–base regulation and ionoregulation in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) exposed to extremely alkaline water. Physiol. Zool. 64, 1069–1086.

30. Wilkie, M.P., Wood, C.M., 1996. The adaptation of fish to extremely alkaline environments. Comp. Biochem. Physiol. 113B, 665–673.

31. Wilkie, M.P., Wright, P.A., Iwama, G.K., Wood, C.M., 1993. The physiological responses of the Lahontan cutthroat trout (*Onchorhynchus clarki* henshawi), a resident of highly alkaline Pyramid lake (pH 9.4) to challenge at pH 10. J. Exp. Biol. 175, 173–194

32. Wood, C.M., 1989. The physiological problems of fish in acid waters. In: Morris, R., Taylor, E.W., Brown, D.J.A. (Eds.), Acid Toxicity and Aquatic Animals. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 125–152.

33. Wright, P.A., Wood, C.M., 1985. An analysis of branchial ammonia excretion in the freshwater rainbow trout: effect of environmental pH change and sodium uptake blockade. J. Exp. Biol. 114, 329–353.

The investigation of long-term effects of water pH changes on haematological parameters in fingerlings of common carp (*Cyprinus carpio* L.)

Ghanbari M.*[1], Jami M. [1], Naghdi M. [2], and Shahriyari moghaddam M.[1]

[1] Fishery Dept., Institute of Hamun International Wetland, Zabol University; Zabol, I.R. of IRAN

[2] Fishery Dept., Faculty of Natural Resources & Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor

Abstract

The aim of this study was to examine the the effect of water pH changes on certain haematological parameters of fingerlings of common carp (*Cyprinus carpio* L.), in water with different pH (acidic & alkaline). Fingerlings of common carp subjected to acidic (pH 5.5, 6.5) and alkaline (pH 8.0, 8.5 and 9.0) water for 21 days. Control groups were maintained at neutral pH. In this study changes in shape, size and population of blood cell also hemoglobin concentration and blood glucose of fishes were determined as stress indexes. Result showed that exposure to both acidic and alkaline water exerted stress in fish and considerably affected the haematology of fingerlings of common carp. The changes in hematological parameters of common carp fingerlings indicated that the change in water pH might have caused the ion regulatory and acid–base disturbances originating at the gill leading to the altered internal pH, electrolyte and osmotic balances that imply an increase in energy consumption to restore homeostasis instead of other physiological functions and weight gain and growth.

Keywords: Haematology, pH, Stress, Common carp (*Cyprinus carpio*)