فصلنامه علمی ـ پژوهشی
دورهٔ ۳، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۳، صفحه ۶۷-۵۷

بررسی تغییرات شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1884) در مواجهه با غلظت‌های حاد و تحت حاد کادمیوم

سید علی‌اکبر هدایتی[1*]، امید جعفری[2]، مریم نصراله پورمقدم[3]

۱ـ استادیار، گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
۳ـ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

دریافت: ۹۲/۷/۲۰ پذیرش: ۹۲/۱۲/۲۵

* نویسنده مسئول مقاله: Hedayati@gau.ac.ir

چکیده:

شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) در مواجهه با دو غلظت تحت حاد (۰/۶۵ میلی‌گرم بر لیتر) و حاد (۳/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) کادمیوم طی ۹۶ ساعت در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. نتایج نشان داد که از میان شاخص‌های مورد بررسی هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول‌های قرمز و MCV (Mean Corpuscular Volume)، به‌طور معناداری نسبت به زمان شروع آزمایش (گروه شاهد)، در هر دو غلظت کاهش یافتند ($p<۰/۰۵$) در حالی‌که تعداد گلبول‌های سفید، MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin) و Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)، گلوکز و کورتیزول نسبت به گروه شاهد افزایش معناداری را در هر دو سطح سمیت کم و زیاد ($p<۰/۰۵$) نشان دادند. بررسی‌ها نشان داد که غلظت‌های کادمیوم در مدت کوتاه می‌تواند سبب تغییرات برخی از شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی در ماهی فیتوفاگ شود و برخی از این شاخص‌ها از جمله کورتیزول می‌تواند بیومارکر مناسبی در ردیابی اثرهای کادمیوم در نظر گرفته شود.

کلید واژگان: آلودگی، شاخص‌های خون‌شناسی، فلزهای سنگین، سم‌شناسی

مقدمه

فلزها از راه‌های متفاوتی مانند پساب‌های صنعتی، معادن، فاضلاب‌های شهری، فعالیت‌های کشاورزی و آلودگی هوا وارد محیط آب شده و با تجمع و بزرگ‌نمایی زیستی در آبزیان می‌توانند بر زنجیره‌های غذایی تأثیر بگذارند (Sweety et al., 2008, Zyadah and Abdel-Baky, 2000). فلزهای سنگین پس از ورود به بوم سامانه‌های آبی در بافت‌ها و اندام‌های آبزیان و از جمله ماهیان خوراکی تجمع یافته و سرانجام وارد زنجیره غذایی انسان می‌شوند. از آنجایی‌که ماهی‌ها بخش عمده‌ای از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند، این فلزهای سنگین می‌توانند از طریق تغذیه از ماهیان آلوده وارد بدن انسان شوند. فلزهای سنگین به‌دلیل اثرهای منفی مختلف نظیر کاهش رشد، تغییر رفتار، تغییرات ژنتیکی و نیز مرگ و میر در آبزیان و همچنین به سبب تجمع در زنجیره غذایی سبب ایجاد نگرانی در مصرف ماهی شده‌اند (Deshpande et al., 2011). بنابراین اندازه‌گیری غلظت این فلزها برای تعیین استانداردهای سلامت عمومی و حفاظت از محیط زیست دریایی اهمیت دارد. در میان فلزهای سنگین، کادمیوم یکی از آلوده‌کننده‌های محیط‌های آبی محسوب می‌شود، که در مقادیر بحرانی و خطرناک در سامانه‌های آبی یافت می‌شود (Sweety et al., 2008). کادمیوم از طریق منابع طبیعی مانند هوازدگی سنگ‌ها و آتش‌فشان‌ها و همچنین به‌وسیله منابع انسان‌ساز مانند صنایع آهن و فولاد وارد اکوسیستم‌های آبی می‌شود. این عنصر فلزی غیرضروری است که نقشی در واکنش‌های بیوشیمیایی بدن موجودات زنده ایفا نمی‌کند، بنابراین اثرهای آلایندگی بیشتری نسبت به دیگر فلزهای سنگین دارد و می‌تواند سبب مسمومیت موجودات آبزی حتی در غلظت‌های پایین شود به نحوی که کادمیوم به‌عنوان یکی از سمی‌ترین آلاینده‌های آب معرفی شده است (Sikorska and Wolnicki, 2006; GT, Wilson, (1992. کادمیوم در ماهیان موجب تغییر رشد در بسیاری از گونه‌ها، تجمع یافتن در اندام‌های حیاتی، تغییر شاخص‌های خونی، آسیب غده بین کلیوی، تغییرات مقادیر هورمون‌هایی مانند کورتیزول و اختلال در تنظیم اسمزی می‌شود (Reid and McDonald, 1988; Brucka-Jastrzebska and Protawicki, 2005; Asagba et al., 2008).

طی دهه گذشته استفاده از مارکرهای زیستی و کاربرد آن‌ها به‌عنوان ابزار پردازشگر زیستی جهت ارزیابی خطر برای موجودات آبزی و خاکزی در محیط‌های آلوده به‌خصوص در محیط‌های آبی گسترش پیدا کرده است (Gernhofeh et al., 2001). ماهی به‌عنوان یک موجود آبزی با اهمیت برای ارزیابی اثر آلاینده‌های محیطی در بوم‌سامانه‌های آبی در نظر گرفته می‌شود. ماهی در بالاترین نقطه زنجیره غذایی آبی قرار گرفته است و توانایی بزرگ‌نمایی زیستی فلزهای سنگین را حتی در غلظت‌های پایین موجود در محیط دارد (Bhagwant and Bhikagee, 2000). روش‌های بیوشیمیایی و سنجش شاخص‌های خونی از جمله شاخص‌های زیستی مهمی بوده که در ارزیابی وضعیت سلامت ماهی به‌طور گسترده استفاده می‌شوند (Bhagwant and Bhikagee, 2000). تغییرات شاخص‌های خونی به‌عنوان شاخص‌های بیولوژیک اغلب به تغییرات فیزیولوژیکی و محیطی وابسته‌اند، بنابراین در شرایطی که ماهیان در معرض استرس‌هایی همچون آلاینده‌های فلزهای سنگین قرار می‌گیرند، تغییرات در برخی از شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی آن‌ها انتظار می‌رود (Sweety et al., 2008; Cicik and Engin 2005). همچنین کورتیزول و گلوکز به‌عنوان شاخص‌های فیزیولوژیک در بررسی استرس‌های وارد شده بر ماهیان مطرح هستند که در شرایط استرس مقدار آن‌ها افزایش می‌یابد (Kubilay and

(Vlukay, 2002). هورمون کورتیزول نقش بسیار مهمی در متابولیسم انرژی، تبادل یونی و پاسخ به استرس دارد (Wendelaar Bonga, 1993).

ماهی فیتوفاگ (*H. molitrix*) یکی از گونه‌های با اهمیت اقتصادی از خانواده کپور ماهیان در مزارع پرورش ماهیان گرمابی بوده و درصد قابل توجهی از صیدهای آبی در کشور ایران را تشکیل می‌دهد. بنابراین مصرف بالای این ماهی به‌طور مستقیم بر سلامت انسان تأثیرگذار است. با توجه به موارد ذکر شده و تأثیر فلزهای سنگین بر پیکره‌های آبی و ماهی‌ها، مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی فیتوفاگ در غلظت‌های کشنده و تحت کشنده فلز کادمیوم صورت پذیرفت.

۲- مواد و روشها

۲-۱ نمونه‌برداری

برای انجام این تحقیق تعداد ۸۴ عدد بچه ماهی کپور نقره‌ای با وزن متوسط ۲۰±۰/۶۴ گرم و متوسط طولی ۱۱±۰/۷۵ سانتی‌متر از مرکز کارگاه پرورش ماهی در علی‌آباد گلستان خریداری و به سالن ونیرو شهید ناصر فضلی برآبادی واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند.

۲-۲ تیماربندی

برای تیماربندی ماهی‌ها ابتدا به مدت یک هفته زمان سازگاری برای ماهی‌ها در یک تانک به حجم ۴۰۰ لیتر در نظر گرفته شد و تمام ماهیان با استفاده از جیره‌های تجاری دو بار در روز غذادهی شدند. سپس ماهی‌ها در تانک‌های ۴۰۰ لیتری (چهار تیمار به همراه سه تکرار، در مجموع ۱۲ تانک و ۷ ماهی در هر تانک) در مدت زمان‌های صفر (شروع آزمایش، به‌عنوان گروه شاهد)، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت در معرض غلظت‌های زیاد و کم کلرید کادمیوم ($۱۰Lc_{50}$ ٪ و $۵۰Lc_{50}$٪) که به‌ترتیب برابر با ۳/۲۵ و ۰/۶۵ میلی‌گرم بر لیتر است، قرار گرفتند.

۲-۳ عوامل خون‌شناسی و بیوشیمیایی

برای تهیه نمونه خون، در روز آخر آزمایش ماهی‌ها با غلظت ۲۰۰ppm عصاره گل میخک بیهوش شدند. از هر تانک تمامی ماهی‌ها برای تهیه نمونه‌های خون استفاده شد. نمونه‌های خون از ناحیه دمی با استفاده از سرنگ حاوی هپارین تهیه و به‌سرعت داخل یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (Beutler et al., 2001). برای شمارش گلبول‌های سفید و قرمز، نمونه‌های خون با محلول هایم رقیق‌سازی شده و سپس با محلول گیمسا با نسبت رقت ۱ به ۲۰ (برای گلبول سفید) و ۱ به ۲۰۰ (برای گلبول قرمز) رنگ‌آمیزی شدند و در نهایت سلول‌ها با استفاده از لام هموسایتومتری زیر میکروسکوپ نوری شمارش شدند. (Stevens, 1997). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در گسترش‌های خونی (smear) رنگ شده با گیمسا انجام شد. (Beutler et al., 2001). درصد هماتوکریت در فاصله کوتاهی پس از خون‌گیری با استفاده از سانتریفیوژ (پنج دقیقه در دور ۱۰۰۰۰rpm) در لوله‌های میکروهماتوکریت محاسبه شد (Goldenfarb et al., 1971). پس از پایان سانتریفوژ با استفاده از خط‌کش هماتوکریت طول ستون گلبول‌های قرمز اندازه‌گیری شده و هماتوکریت قرائت گردید (Rogers et al., 2003). اندازه‌گیری میزان هموگلوبین (mg/l Hb) از روش سیانومت هموگلوبین با استفاده از کیت تجاری زیست شیمی انجام پذیرفت. در این روش به پنج میلی‌لیتر محلول درابکین ۲۰ میکرولیتر خون اضافه گردید. محلول حاصل کاملاً مخلوط شده و در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا

تمام اشکال هموگلوبین به سیانومت هموگلوبین تبدیل شود. سپس محلول حاصل به مدت ۶ دقیقه در ۳۵۰۰ g سانتریفوژ شده و محلول رویی برای اندازه‌گیری هموگلوبین برداشت شد. سپس برای تهیه استاندارد به پنج میلی‌لیتر درابکین ۲۰ میکرولیتر محلول استاندارد (با غلظت هموگلوبین معین) اضافه شد. جذب نوری استاندارد و مجهول را در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت و با استفاده از رابطه زیر میزان هموگلوبین نمونه محاسبه گردید (Crestani et al., 2006).

$$\text{غلظت هموگلوبین بر حسب گرم در دسی لیتر} = \frac{\text{جذب نوری استاندارد} \times \text{غلظت استاندارد}}{\text{جذب نوری نمونه خون مورد آزمایش}}$$

شاخص‌های اریتروسیت شامل میانگین حجم گویچه‌ها برحسب میلی‌لیتر (M.C.V)، میانگین هموگلوبین گویچه‌ها بر حسب پیکوگرم(M.C.H) و میانگین غلظت هموگلوبین گویچه‌ها به‌صورت درصد (M.C.H.C) با استفاده از سلول‌های قرمز خونی، هماتوکریت و هموگلوبین تخمین زده شدند (Ramesh et al., 2014).

$$\text{میانگین حجم گویچه‌ها}\ (fl) = \frac{\text{هماتوکریت}(\%) \times 10}{\text{تعداد گلبول‌های قرمز}(10^6\ \text{cell}/\text{mm}^3)}$$

$$\text{میانگین غلظت هموگلوبین گویچه‌ها}\ (g/dl) = \frac{\text{میزان هموگلوبین}(g/dl) \times 100}{\text{هماتوکریت}(\%)}$$

$$\text{میانگین هموگلوبین گویچه‌ها}\ (Pg) = \frac{\text{میزان هموگلوبین}(g/dl) \times 10}{\text{تعداد گلبول‌های قرمز}(10^6\ \text{cell}/\text{mm}^3)}$$

همچنین برای سنجش گلوکز سرم خون از روش Glucose Oxidase و دستگاه اتوآنالایزر (مدل RA-1000، شرکت Technicon، ساخت کشور آمریکا) استفاده شد. تعیین مقادیر هورمون کورتیزول به روش RIA با استفاده از دستگاه گاماکانتر (مدل LKB، ساخت کشور فنلاند) و به‌کارگیری کیت هورمونی کاوشیار انجام شد.

۲-۴ آنالیز آماری

آنالیز آماری داده‌ها برای پی بردن به اثر فلز کادمیوم بر شاخص‌های خونی ماهی فیتوفاگ با تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد (Zar, 1984). آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS19 انجام گردید. همچنین ضریب همبستگی پیرسون (r) بین شاخص‌های مختلف خونی و بیوشیمیایی در هر دو سطح فلز کادمیوم با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۹ Ver. محاسبه گردید. مقادیر نشان داده شده بیانگر میانگین± انحراف معیار هستند ($\bar{X} \pm SD$).

۳- نتایج

۳-۱ تأثیر فلز کادمیوم بر شاخص‌های خون‌شناسی

بررسی‌های حاصل از تأثیر فلز کادمیوم بر شاخص‌های خونی ماهی فیتوفاگ نظیر هموگلوبین و هماتوکریت نشان داد که در اثر عملکرد این فلز در هر دو غلظت کم و زیاد بین تمامی تیمارهای آزمایشی از نظر آماری کاهش معناداری در سطوح هموگلوبین و هماتوکریت خون در سطح ۵ درصد ایجاد شد (p<۰/۰۵)، به‌طوری که بیشترین میزان هموگلوبین و هماتوکریت در هر دو غلظت کم و زیاد، در زمان شروع آزمایش و کمترین میزان آن در نقطه زمانی ۹۶ ساعت بودند (جداول ۱ و ۲). همچنین هر دو غلظت کم و زیاد فلز کادمیوم موجب تغییرات معنادار در تعداد گلبول های سفید و قرمز خون شدند (p<۰/۰۵)، به گونه‌ای که با گذشت زمان گلبول‌های سفید افزایش و گلبول‌های قرمز کاهش یافتند (جداول ۱ و ۲). همچنین شاخص‌های هماتولوژی به لحاظ ضریب همبستگی پیرسون ارتباط معناداری را با یکدیگر در سطح ۱ درصد در نرم‌افزار SPSS Ver. 19 نشان دادند.

جدول ۱ تأثیر فلز کادمیوم در غلظت کم بر شاخص‌های خونی ماهی فیتوفاگ.

شاخص‌ها / زمان	Hb (g/dl)	Hct (%)	W.B.C (cell/mm^3)	R.B.C (10^{6}cell/mm^3)	M.C.V (fl)	M.C.H (Pg)	M.C.H.C (g/dl)	Neut (mm^3)	Lymph (mm^3)
شروع آزمایش	۷٫۶۱±۰٫۰۷^a	۲۷٫۹۶±۰٫۱۵^a	۶۵۴۶٫۶۶±۲۲۰٫۳۰^d	۲٫۲۱±۰٫۰۰^a	۱۲۶٫۲۶±۰٫۶۶^a	۳۳٫۴۷±۰٫۸۰^b	۲۶٫۵۰±۰٫۵۰^c	۷٫۳۳±۰٫۵۷^a	۹۲٫۳۳±۰٫۵۷^a
۲۴ ساعت	۷٫۲۷±۰٫۱۲^b	۲۲٫۷۶±۰٫۷۷^b	۱۱۱۳۰±۴۲۱٫۵۴^c	۱٫۸۱±۰٫۱۰^b	۱۲۵٫۷۱±۱۰٫۸۴^a	۴۰٫۱۱±۲٫۲۰^a	۳۱٫۹۷±۱٫۴۸^b	۸٫۶۶±۰٫۵۷^a	۹۱٫۳۳±۰٫۵۷^a
۴۸ ساعت	۶٫۲±۰٫۱۱^c	۱۸٫۷۰±۰٫۳۳^c	۱۴۶۲۰±۲۸۸٫۴۴^b	۱٫۶۰±۰٫۰۵^c	۱۱۶٫۴۸±۲٫۱۳^{ab}	۳۸٫۶۳±۲٫۰۷۲^a	۳۳٫۱۵±۱٫۱۹^b	۸٫۳۳±۰٫۵۷^a	۹۱٫۶۶±۰٫۵۷^a
۹۶ ساعت	۵٫۹۳±۰٫۰۹^d	۱۵٫۸۳±۰٫۰۷^d	۱۶۲۶۳٫۳۳±۲۰۹٫۸۴^a	۱٫۴۹±۰٫۰۷^c	۱۰۶٫۴۱±۵٫۴۷^b	۳۹٫۸۸±۱٫۴۷^a	۳۷٫۵۰±۰٫۷۱^a	۷±۱٫۷۳^a	۹۳±۱٫۷۳^a

* حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنادار است.

مقادیر مشاهده شده در جدول بیانگر میانگین ± خطای انحراف معیار است.

جدول ۲ تأثیر فلز کادمیوم در غلظت زیاد بر شاخص‌های خونی ماهی فیتوفاگ.

شاخص‌ها / زمان	Hb (g/dl)	Hct(%)	W.B.C (cell//mm^3)	R.B.C (10^{6}cell/mm^3)	M.C.V (fl)	M.C.H (Pg)	M.C.H.C (g/dl)	Neut (mm^3)	Lymph (mm^3)
شروع آزمایش	۷٫۶۱±۰٫۰۷ ^{a}	۲۷٫۹۶±۰٫۱۵ ^{a}	۶۵۴۶٫۶۶±۲۲۰٫۳۰ ^{d}	۲٫۲۱±۰٫۰۰ ^{a}	۱۲۶٫۲۶±۰٫۶۶ ^{a}	۳۳٫۴۷±۰٫۸۰ ^{b}	۲۶٫۵۰±۰٫۵۰ ^{c}	۷٫۳۳±۰٫۵۷ ^{a}	۹۲٫۳۳±۰٫۵۷ ^{a}
۲۴ ساعت	۷٫۰۲±۰٫۱۳ ^{b}	۲۱٫۱۸±۰٫۶۰ ^{b}	۱۲۰۶۶٫۶۶± ۲۵۱٫۶۶^c	۱٫۸۲±۰٫۰۷ ^{b}	۱۱۶٫۲۸±۴٫۱۳ ^{a}	۳۸٫۵۲±۰٫۹۸ ^{a}	۳۳٫۱۴±۱ ^{b}	۱۰±۱ ^{a}	۹۰±۱ ^{a}
۴۸ ساعت	۶٫۵۳±۰٫۱۲ ^{c}	۱۸٫۹۶±۰٫۱۳ ^{c}	۱۴۸۲۶٫۶۶± ۵۵۱٫۴۸^b	۱٫۶۵±۰٫۰۴ ^{c}	۱۱۴٫۹۵±۲٫۷۵ ^{ab}	۳۹٫۶۲±۱٫۷۲ ^{a}	۳۴٫۴۶±۰٫۸۸ ^{b}	۱۰٫۳۳±۰٫۵۷ ^{a}	۸۹٫۶۶±۰٫۵۷ ^{a}
۹۶ ساعت	۵٫۶۸±۰٫۰۶ ^{d}	۱۵٫۷۲±۰٫۲۰ ^{d}	۱۶۶۳۳٫۳۳± ۲۹۴٫۸۴^a	۱٫۴۴±۰٫۰۶ ^{c}	۱۰۹٫۳۶±۵٫۹۴ ^{b}	۳۹٫۵۰±۲٫۰۶ ^{a}	۳۶٫۱۲±۰٫۰۷ ^{a}	۷±۱ ^{a}	۹۳±۱ ^{a}

* حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده نبود اختلاف معنادار است.

مقادیر مشاهده شده در جدول بیانگر میانگین ± خطای انحراف معیار است.

شاخص‌های اریتروسیتی (MCV, MCH, MCHC) از دیگر شاخص‌هایی بوده که در این مطالعه به دقت بررسی شد. بررسی‌ها نشان داد که فلز کادمیوم در هر دو غلظت کم و زیاد دارای اثر معنادار بر شاخص‌های اریتروسیتی بوده است ($p<۰/۰۵$). از میان شاخص‌های اریتروسیتی شاخص MCV با گذشت زمان کاهش ولی شاخص‌های MCH و MCHC به‌طور معناداری افزایش یافتند. شایان ذکر است که شاخص MCV در غلظت زیاد، ۲۴ ساعت پس از گذشت زمان آزمایش نسبت به زمان آغازین دچار کاهش ناگهانی شده و پس از آن با یک الگوی منظمی کاهش یافته است در صورتی‌که این شاخص در غلظت کم از نقطه زمانی ۴۸ ساعت به بعد کاهش ناگهانی را نشان داد (جداول ۱ و ۲). همچنین نتایج حاصل از بررسی پیوستگی بین شاخص‌های اریتروسیتی بر اساس ضریب همبستگی پیرسون بیانگر ارتباط معنادار($p<۰/۰۵$) بین این شاخص‌ها بود (جدول ۴).

۳-۲ نتایج شمارش افتراقی گلبول سفید

شمارش افتراقی گلبول سفید مانند نوتروفیل و لنفوسیت نشان داد که فلز کادمیوم بر این شاخص‌ها نیز در غلظت کم و زیاد اثر معناداری ندارد (p>۰/۰۵). در هر دو سطح فلز کادمیوم (۳/۲۵ و ۰/۶۵ میلی‌گرم بر لیتر) ابتدا مقدار نوتروفیل نسبت به گروه تیمار شاهد رو به افزایش گذاشته ولی در روز آخر میزان آن کاهش یافت و به تبع آن، میزان لنفوسیت با گذشت زمان کاهش و سپس در مرحله زمانی ۹۶ ساعت رو به افزایش گذاشت (جداول ۱ و ۲). لازم به ذکر است که نوتروفیل و لنفوسیت همبستگی بالایی را با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون در سطح یک درصد در نرم‌افزار SPSS Ver. 19 نشان دادند (جدول ۴).

سطح گلوکز در اثر فلز کادمیوم در هر دو غلظت کم و زیاد به‌طور معناداری افزایش یافت. همچنین این فلز در هر دو غلظت کم و زیاد باعث ایجاد تغییرات معناداری در سطح کورتیزول خون در تیمارهای آزمایشی شد (p<۰/۰۵). در تیمارهای حاوی غلظت کم فلز کادمیوم سطح کورتیزول خون با گذشت زمان افزایش معناداری پیدا کرد؛ در حالی‌که سطح کورتیزول خون در غلظت بالای فلز مذکور ابتدا به سرعت افزایش و سپس با گذشت زمان از مرحله ۴۸ ساعت به بعد، به‌شدت کاهش یافت (جدول ۳). گلوکز و کورتیزول با یکدیگر همبستگی معناداری را در آزمون ضریب همبستگی پیرسون نشان ندادند (جدول ۴).

۳-۳ تأثیر فلز کادمیوم بر شاخص‌های بیوشیمیایی

جدول ۳ تأثیر سطوح فلز کادمیوم بر شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی فیتوفاگ در غلظت زیاد

شاخص‌ها / زمان	گلوکز (mg/dl) (غلظت کم)	کورتیزول(ng/ml) (غلظت کم)	گلوکز (mg/dl) (غلظت بالا)	کورتیزول (غلظت بالا)
شروع آزمایش	۴۴,۶۶±۱,۵۲ b	۱۷,۲۷±۰,۴۰ c	۴۴,۶۶±۱,۵۲ b	۱۷,۲۷±۰,۴۰ c
۲۴ ساعت	۴۶,۶۶±۰,۵۷ b	۴۳,۳۳±۴,۰۴ b	۵۱,۳۳±۱,۵۲ b	۵۸,۳۳±۲,۰۸ b
۴۸ ساعت	۵۰,۳۳±۱,۵۲ a	۸۴±۱۲,۲۸ a	۶۱,۳۳±۲,۵۱ a	۹,۴۰±۸,۵۰ a
۹۶ ساعت	۴۵,۶۶±۱,۵۲ b	۱۰۲±۲۰,۲۲ a	۵۳,۶۶±۱,۵۲ b	۸,۷۶±۹,۴۷ a

* حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده نبود اختلاف معنادار است.

مقادیر مشاهده شده در جدول بیانگر میانگین ± خطای انحراف معیار است.

جدول ۴ نتایج حاصل از آنالیز پیوستگی بین شاخص‌های مورد بررسی بر اساس ضریب همبستگی پیرسون.

		لنفوسیت	نوتروفیل	M.C.H.C	M.C.H	M.C.V	Hct	Hb	R.B.C	W.B.C	کورتیزول	گلوکز
زمان	همبستگی پیرسون	۰,۳۳۹	-۰,۲۳۸	۰,۹۳۹**	۰,۹۵۷*	-۰,۸۲۷**	-۰,۹۵۰**	-۰,۹۲۳**	-۰,۸۹۱**	۰,۹۲۶**	۰,۹۱۵**	۰,۱۵۲
	معناداری(دو طرفه)	۰,۲۸۰	۰,۴۵۷	۰,۰۰۰	۰,۰۴۰	۰,۰۰۱	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۶۳۷
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
گلوکز	همبستگی پیرسون	-۰,۳۲۸	۰,۴۴۳	۰,۲۶۰	۰,۲۲۶	-۰,۲۳۰	-۰,۳۹۲	-۰,۴۲۴	-۰,۳۹۶	۰,۴۳۳	۰,۳۲۲	۱
	معناداری(دو طرفه)	۰,۲۹۸	۰,۱۴۹	۰,۴۱۴	۰,۴۸۱	۰,۴۷۱	۰,۲۰۸	۰,۱۷۰	۰,۲۰۲	۰,۱۶۰	۰,۳۰۷	
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲

کورتیزول	همبستگی پیرسون	۰,۳۲۵	-۰,۲۱۶	۰,۸۸۹**	۰,۶۶۴*	-۰,۷۱۴**	-۰,۹۴۹**	-۰,۹۴۱**	-۰,۹۳۳**	۰,۹۵۲**	۱	۰,۳۲۲
	معناداری(دو طرفه)	۰,۳۰۳	۰,۵۰۱	۰,۰۰۰	۰,۰۱۸	۰,۰۰۹	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰		۰,۳۰۷
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
W.B.C	همبستگی پیرسون	۰,۱۳۴	-۰,۰۱۱	۰,۹۳۷**	۰,۷۲۴**	-۰,۷۳۱**	-۰,۹۹۱**	-۰,۹۵۳**	-۰,۹۷۸**	۱	۰,۹۵۲**	۰,۴۳۳
	معناداری(دو طرفه)	۰,۶۷۸	۰,۹۷۳	۰,۰۰۰	۰,۰۰۸	۰,۰۰۷	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰		۰,۰۰۰	۰,۱۶۰
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
R.B.C	همبستگی پیرسون	-۰,۱۲۳	-۰,۰۰۱	-۰,۹۱۶**	-۰,۸۳۱**	۰,۵۹۹*	۰,۹۶۱**	۰,۹۰۹**	۱	-۰,۹۷۸**	-۰,۹۳۳**	-۰,۳۹۶
	معناداری(دو طرفه)	۰,۷۰۳	۰,۹۹۷	۰,۰۰۰	۰,۰۰۱	۰,۰۳۹	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰		۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۲۰۲
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
Hb	همبستگی پیرسون	-۰,۱۸۴	۰,۰۹۲	-۰,۸۴۶**	-۰,۵۲۸	۰,۷۷۵**	۰,۹۵۰**	۱	۰,۹۰۹**	-۰,۹۵۳**	-۰,۹۴۱**	-۰,۴۲۴
	معناداری(دو طرفه)	۰,۵۶۷	۰,۷۷۷	۰,۰۰۱	۰,۰۷۸	۰,۰۰۳	۰,۰۰۰		۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۱۷۰
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
Hct	همبستگی پیرسون	-۰,۱۸۷	۰,۰۷۱	-۰,۹۶۳**	-۰,۶۹۵*	۰,۷۹۵**	۱	۰,۹۵۰**	۰,۹۶۱**	-۰,۹۹۱**	-۰,۹۴۹**	-۰,۳۹۲
	معناداری(دو طرفه)	۰,۵۶۰	۰,۸۲۵	۰,۰۰۰	۰,۰۱۲	۰,۰۰۲		۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۲۰۸
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
M.C.V	همبستگی پیرسون	-۰,۳۲۰	۰,۲۵۱	-۰,۷۹۰**	-۰,۱۹۰	۱	۰,۷۹۵**	۰,۷۷۵**	۰,۵۹۹*	-۰,۷۳۱**	-۰,۷۱۴**	-۰,۲۳۰
	معناداری(دو طرفه)	۰,۳۱۱	۰,۴۳۰	۰,۰۰۲	۰,۵۵۵		۰,۰۰۲	۰,۰۰۳	۰,۰۳۹	۰,۰۰۷	۰,۰۰۹	۰,۴۷۱
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
M.C.H	همبستگی پیرسون	۰,۰۵۷	۰,۰۷۹	۰,۷۴۸**	۱	-۰,۱۹۰	-۰,۶۹۵*	-۰,۵۲۸	-۰,۸۳۱**	۰,۷۲۴**	۰,۶۶۴*	۰,۲۲۶
	معناداری(دو طرفه)	۰,۸۵۹	۰,۸۰۸	۰,۰۰۵		۰,۵۵۵	۰,۰۱۲	۰,۰۷۸	۰,۰۰۱	۰,۰۰۸	۰,۰۱۸	۰,۴۸۱
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
	همبستگی پیرسون	۰,۲۷۷	-۰,۱۴۷	۱	۰,۷۴۸**	-۰,۷۹۰**	-۰,۹۶۳**	-۰,۸۴۶**	-۰,۹۱۶**	۰,۹۳۷**	۰,۸۸۹**	۰,۲۶۰
	معناداری(دو طرفه)	۰,۳۸۴	۰,۶۴۸		۰,۰۰۵	۰,۰۰۲	۰,۰۰۰	۰,۰۰۱	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰	۰,۴۱۴
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
نوتروفیل	همبستگی پیرسون	-۰,۹۶۶**	۱	-۰,۱۴۷	۰,۰۷۹	۰,۲۵۱	۰,۰۷۱	۰,۰۹۲	-۰,۰۰۱	-۰,۰۱۱	-۰,۲۱۶	۰,۴۴۳
	معناداری(دو طرفه)	۰,۰۰۰		۰,۶۴۸	۰,۸۰۸	۰,۴۳۰	۰,۸۲۵	۰,۷۷۷	۰,۹۹۷	۰,۹۷۳	۰,۵۰۱	۰,۱۴۹
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
لنفوسیت	همبستگی پیرسون	۱	-۰,۹۶۶**	۰,۲۷۷	۰,۰۵۷	-۰,۳۲۰	-۰,۱۸۷	-۰,۱۸۴	-۰,۱۲۳	۰,۱۳۴	۰,۳۲۵	-۰,۳۲۸
	معناداری(دو طرفه)		۰,۰۰۰	۰,۳۸۴	۰,۸۵۹	۰,۳۱۱	۰,۵۶۰	۰,۵۶۷	۰,۷۰۳	۰,۶۷۸	۰,۳۰۳	۰,۲۹۸
	تعداد کل	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲

** نشان‌دهنده همبستگی معنادار در سطح ۱ درصد است.

* نشان‌دهنده همبستگی معنادار در سطح ۵ درصد است.

بحث

خون ماهی حساسیت بالایی نسبت به استرس‌های ایجاد شده به‌وسیله فلزات سنگین دارد (Sancho et al., 2000)، بنابراین تغییرات خون‌شناسی می‌تواند به‌عنوان شاخص مسمومیت ماهیان با فلزهای سنگین نظیر کادمیوم در نظر گرفته شود. در این تحقیق تأثیر فلز کادمیوم بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهی فیتوفاگ پس از قرار گرفتن در معرض فلز کادمیوم در دو غلظت کم (۰/۶۵ قسمت در میلیون) و زیاد (۳/۲۵ قسمت در میلیون) بررسی شد. در طول دوره آزمایش میزان هموگلوبین و هماتوکریت خون در هر دو غلظت کم و زیاد نسبت به زمان آغاز آزمایش به‌طور معناداری کاهش یافتند. سم موجب کاهش سطوح هموگلوبین و هماتوکریت از طریق اختلال در فرایندهای خون‌سازی و تسریع فروپاشی گلبول‌های قرمز خون می‌شود (Rao Panduranga et al., 1990; Powell and Perry 1997; Simoek et al. 2006; Banaee et al., 2008). تجزیه گلبول‌های قرمز به‌دلیل استرس‌های ناشی از فلزات سنگین ممکن است بیش از حد افزایش یابد و منجر به کاهش هموگلوبین و هماتوکریت خون ماهی شوند (Kori-siakpere et al., 2008). سطح گلبول‌های قرمز خون ماهیان در مواجه با شرایط سخت کاهش می‌یابد. شرایط کم‌خونی اغلب به‌صورت میزان کم گلبول‌های قرمز و سطوح هموگلوبین خون هنگام روبه‌رو شدن ماهی با آلاینده‌های زیست محیطی بیان می‌شود (Ramesh, 2001). همان‌طور که در این مطالعه نشان داده شد، میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت خون نیز در هر دو سطح غلظت کم و زیاد در سطح ۵ درصد به‌طور معناداری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). کاهش مشاهده شده در شاخص‌های خونی نشان از اثر سمی فلز کادمیوم دارد که هم بر متابولیسم و هم بر فعالیت‌های خون‌سازی ماهی فیتوفاگ تأثیرگذار است. یکی از مراکز خون‌سازی در ماهیان مراکز ملانوماکروفاژی است که اغلب در کلیه، کبد و طحال ماهیان یافت می‌شود که کادمیوم می‌تواند باعث دژنره شدن و از بین رفتن لوله‌های گلومرول و آسیب به مراکز خون‌سازی شود. در مطالعه‌ای بر روی ماهی سرماری (*Channa punctatus*) نشان داده شد که عنصر روی منجر به ایجاد اختلال در بافت گلومرول‌های کلیه و تخریب بافت‌های خون‌ساز کلیه شده و منجر به کاهش سلول‌های خونی و کاهش ایمنی غیراختصاصی در ماهیان می‌شود (Anees, 1978). کاهش فعالیت آلکالین فسفاتاز در کبد و کلیه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تحت تأثیر فلزهای سنگین گزارش شده است (Mc Geer et al., 2000). افزایش گلبول‌های سفید خون به تولید متالوتیونین‌ها در کبد و آزادسازی آن‌ها به خون برای اتصال با یون‌های فلزهای سنگین ارتباط دارد (Mc Geer et al., 2000). افزایش قابل توجه میزان گلبول‌های سفید خون بیانگر وضعیت سمیت خونی گسترده بوده که برای کنترل وضعیت استرس‌زا است. در بررسی شاخص‌های اریتروسیتی کاهش در میزان شاخص MCV به‌صورت معنادار مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). نسبت بالای سلول‌های قرمز نارس در گردش خون ماهی از جمله دلایلی است که در خصوص کاهش مشاهده شده در شاخص MCV در این آزمایش می‌توان به آن اشاره کرد. افزایش معنادار ($p<۰/۰۵$) شاخص MCH نیز می‌تواند به دلیل افزایش در میزان سلول‌های اریتروسیت نابالغ کوچک باشد که حاوی هموگلوبین کمتری در خون به دلیل هایپرپلازی مکان‌های تولید کننده اریتروسیت می‌باشند (Ferrando and Moliner, 1991). همچنین نتایج حاصل از این تحقیق افزایش معنادار در میزان شاخص MCHC را پس از قرارگیری در معرض کادمیوم با گذشت زمان به‌خوبی نشان داد

(p<۰/۰۵) که می‌تواند به‌دلیل عارضه کم‌خونی همولیتیک اسفیروسیتوزیز یا عارضه همولیز خارج رگی باشد (Sobecka, 2001). در مواجهه با استرس، گلوکز به سرعت افزایش یافته و اثرهای مخربی بر ماهیان می‌گذارد. در مطالعه‌ای بر روی ماهی کپور بیان شد که رابطه مثبتی بین افزایش غلظت فلز کادمیوم در محیط و افزایش میزان گلوکز سرم این ماهی وجود دارد که در این امر کورتیزول با تحریک پدیده گلیکولیز و تبدیل اسید لاکتیک به گلوکز در کبد از منابع پروتئین و چربی موجب افزایش گلوکز سرم خون می‌شود (Cicik and Engin, 2005). نتایج تحقیق حاضر بیانگر افزایش قند خون (Hyperglycemia) یا افزایش گلوکز خون در هر دو محیط بود. در تحقیق حاضر، میزان کورتیزول در غلظت کم کادمیوم دارای روند افزایشی تقریباً یکنواختی بوده ولی این حالت در غلظت زیاد از زمان ۴۸ ساعت به بعد مشاهده نشده و به‌سرعت کاهش یافت که این نوسانات افزایش و کاهشی در کورتیزول در اثر موارد مختلف مانند میزان بیهوشی و سرحال بودن ماهی، استرس‌های ناشی از سرکشی و دیگر موارد می‌تواند رخ دهد. در شرایط استرس هورمون آدرنو کورتیکوتروپیک آزاد شده (ACTH) از هیپوفیز به بخش قدامی کلیه رفته و با تحریک سلول‌های بین کلیوی باعث ترشح کورتیزول و افزایش غلظت آن در خون می‌شود (Kubilay and Vlukay, 2002). افزایش نوتروفیل و مونوسیت و کاهش لنفوسیت طی دوره قرارگیری ماهی *Oreochromis aureus* در معرض استرس‌های متفاوت نیز تأیید شده است (Silveira- Coffigny et al., 2004). شایان ذکر است که نوتروفیل فعالیت‌های فاگوسیتی دارد و این موضوع دلیلی برای افزایش درصد آن‌ها طی دوره در معرض استرس قرارگیری بیان می‌شود. این افزایش در میزان نوتروفیل، *Neutrophilia* نامیده می‌شود. در بروز التهاب به‌دلیل تقاضای زیاد افزایش نوتروفیل، سلول‌های نابالغ نوتروفیل از کلیه به جریان خون رها می‌شوند. (Lermen et al., 2004). در پایان با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان بیان کرد که کادمیوم در هر دو سطح استرس حاد و مزمن دارای اثرهای متعدد خونی و بیوشیمیایی بر ماهی فیتوفاگ بوده و در کوتاه مدت به‌شدت سمی است و می‌توان از این شاخص‌ها به‌عنوان بیومارکرهای ردیابی اثرهای کادمیوم بر سلامت ماهی و در نهایت اکوسیستم استفاده کرد.

منابع

Asagba, S. O., Eriyamremu, G. E. and Igberaese, M. E. 2008. Bioaccumulation of cadmium and its biochemical effects on selected tissues of the catfish (*Clarias gariepinus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 34: 61-69.

Anees, M. A. 1978. Hematologikal abnormality in the fresh water teleost, *Channa punctatus* exposed to sublethal and chornic level of three organophosphorus insecticide, Hnt. International *Journal of Ecology and Environmental Sciences*, 4: 53-60.

Banaee, M., Mirvagefei, A. R. Rafei, G. R. and Majazi, A. B. 2008. Effect of sublethal diazinon concentration on blood plasma biochemistry. *International Journal of Environmental Research*, 2(2): 189-198.

Beutler, E., Lichtman, M. A. Coller, B.S. and Seligsohn, U. 2001. Williams Hematology, 6th ed. McGraw-Hill Professional, USA.

Bhagwant, S. and 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: 9-20.

Brucka-Jastrzebska, E. and Protawicki, M. 2005. Effects of cadmium and nickel exposure on haematologocal parameters of common carp, *Cyprinus carpio*. *Acta Ichthyology et Piscatoria*, 35(1): 29-38.

2004. Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 239: 497-507.

McGeer, J. C., Szebedinszky. Ch., Gordon Mc Donald, D. and Wood, C. M. 2000. Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. 1: Iono-regulatory disturbance and metabolic costs, *Aquatic Toxicology*, 50: 231-243.

Powell, D. M., and Perry, F. S. 1997. Respiratory and acid-base pathophysiology of hydrogen peroxide in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*). *Aquatic Toxicology*, 37: 99-112.

Ramesh, M., Sankaran, M., Veera-Gowtham, V. and Poopal, R. K. 2014. Hematological, biochemical and enzymological responses in an Indian major carp Labeo rohita induced by sublethal concentration of waterborne selenite exposure. *Chemico-Biological Interactions*, 207: 67-73.

Ramesh, M. 2001. Toxicity of copper sulfate on some haematological parameters of freshwater teleost *Cyprinus carpio* var. communis. *Journal of the Indian Fisheries Association*, 28: 131-136.

Rao, P. D., Ram B. B., Srinivasa, R. K. and Durga, P. Y. V. K. 1990. Haematological effects in fishes from complex polluted waters of Visakhapatnam harbour. *Marine Environmental Research*, 30: 217-231.

Reid, S. D. and McDonald, D. G. 1988. Effects of Cd, Cu, and low pH on Ion fluxes in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Canadian. *Journal of Fishieries and Aquatic Sciences*, 45: 244-253.

Rogers, J. T., Richards, J. G. and Wood, C. M. 2003. Ionoregulatory disruption as the acute toxic mechanism for lead in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 64: 215-234.

Sancho, E., Ceron, J. J. and Ferrando, M. D. 2000. Cholinesterase activity and hematological parameters as biomarkers of sublethal molinate exposure in *Anguilla anguilla*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46: 81-86.

Sikorska, J. and Wolnicki, J. 2006. Cadmium toxicity to Rudd (*Scardinus erythrophthalmus*) (L) larvae after short-term exposure. *Archive of Polish Fisherise*, 14: 15-27.

Cicik, B. and 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). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences,* 29: 113-117.

Crestani, M., Menezes C., Glusczak, L., Miron, D., Lazzari, R., Duarte, M., Morsch, V., Pippi A. and Vieira V. 2006. Effects of Clomazone Herbicide on hematological and some parameters of protein and carbohydrate metabolism of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65: 48-55.

Deshpande, A. S., Zade, S. B. and Sitre, S. R. 2011. Histopathological changes in the gill architecture of *Labeo rohita* from the pond adjacent to thermal power station, Koradi, Nagpur, India. *Journal of Applied and Natural Science*, 3(2): 284-286.

Ferrando, H.D., and Moliner, E.A. 1991. Effect of lindane on the blood of a fresh water fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 47: 465-470.

Gernhofer, M., Pawert, M. and Schramm, M. 2001. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* (Formerly *Journal of Aquatic Ecosystem Health*), 8: 241-260.

Goldenfarb, P. B., Bowyer, F. P., Hall, T. and Brosious, E. 1971. Reproductibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology,* 56: 35-39.

Kori-Siakpere, O. and Oghoghene, U. E. 2008. Sublethal haematological effects of zinc on the freshwater fish, *Heteroclarias sp*. (Osteichthyes: *Clariidae*). *African Journal of Biotechnology*, 7: 2068-2073.

Kubilay, A. and Vlukay, G. 2002. The effect of acute stress on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Turkish Journal of Zoology*, 26: 249-254.

Lee, R. G., Foerster, J., Jukens, J., Paraskevas, F., Greer, J. P. and Rodgers, G. M. 1998. Wintrobe's Clinical Hematology, 10th ed. Lippincott Williams and Wilkins, New York, USA.

Lermen, C. L., Lappe, R., Crestani, M., Vieira, V. P., Gioda, C.R., Schetinger, M. R. C., Baldisseretto, B., Moraes, G. and Morsch, V. M.

hematological and biochemical responses in freshwater teleost fish *Catla catla*. *Fish physiology and Biochemistry*, 34: 169-174.

Wendelaar Bonga, S. E. 1993. Endocrinology. In: Evans, D. H. (ed), *The Physiology of Fishes*. CRC press. pp: 469-503.

Wilson, R.W. 1992. Trace elements and organic compounds in the spring River basin of southeastern Kansas. U.S. Fish and Wildlife Service. Contaminant Report No. R6/505M/91. Manhattan. KS. 60 p.

Zar, J. H. 1984. Bioststistical analysis, 2nd edition. Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, New York, USA, 718 p.

Zyadah, M. A., and Abdel-Baky, T. E. 2000. Toxicity and bioaccumulation of copper, zinc, and cadmium in some aquatic organisms. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 64: 740-747.

Silveira, C. R., Prieto, T. A. and Ascencio, V. F. 2004. Affects of different stressors in haematological variables in cultured *Oreochromis aureus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* Part C, 139: 245-250.

Simoek, K. S., Kenan, K., Ural, M. S., Unal, I. and Murat, P. 2006. Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis L.*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86: 99-105.

Sobecka, E. 2001. Changes in the iron leveling the organs and tissues of wells catfish, *Silurus glanis L.* caused by nickel. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 31(2): 127-143.

Stevens, M. L. 1997. Fundamentals of Clinical Hematology. WB Saunders, Philadelphia, PA.

Sweety, R. R., Sajwan, K. S., and Kumar, K. S. 2008. Influence of zinc on cadmium induced

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 3, No. 1, Spring 2014

Study on the hematological and biochemical change of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1884) during acute and sub-acute exposure of cadmium

Aliakbar Hedayati[1*], Omid Jaafari[2], Maryam Nasrolah Pourmoghadam[3]

1- Assistant Prof., Fisheries Department, Faculty of Fishery and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan

2- M.Sc. student, Fisheries Department, Faculty of Fishery and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan

3- M.Sc. student, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj

Received: 12.10.2013 Accepted: 16.3.2014

*Corresponding author: Hedayati@gau.ac.ir

Abstract:

The effect of cadmium on hematological and biochemical indices of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) exposed to subacute (0.65ppm) and acute (3.25ppm) concentrations for 96-h test period was assessed. The results showed that Hb, Hct, RBC and MCV significantly decreased in low concentration of cadmium ($p<0/05$), while MCH, MCHC, WBC, glucose and cortisol were significantly ($p<0/05$) higher than control group in both low and high concentrations. This study reveals that some hematological and biochemical indices of silver carp, such as cortisol, can be used as suitable biomarkers in tracing Cd^{2+} contamination within water bodies.

Keywords: Aquatic ecosystems, Heavy metals, Hematological parameters, Toxicology