



University of Hormozgan



The effect of mercuric chloride (HgCl₂) on growth indices, survival rate, some blood indices and immunity of common carp fry

Mehran Avakh Keysami^{1✉}, Maryam Avakh Keysami², Afshar Zoughi Shalamani¹, Mohammad Rahanandeh¹

1. Aquatics and Fisheries Research Department, Mirzakocheh Khan Fisheries Science Education Unit, Guilan Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.
2. Research Department of Experimental Sciences Education, General Directorate of Education, Gilan Province, Bint Al-Hoda Sadr Educational Campus, Rasht, Iran.

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 2 July 2025

Accepted: 7 August 2025

Published: 9 August 2025

✉Corresponding Author:

dr.keysami@gmail.com

Keywords:

mercuric chloride,
common carp,
blood indices,
immune indices,
growth indices.

ABSTRACT

Monitoring mercuric chloride in aquatic environments is crucial for ensuring water quality and supporting the healthy, sustainable production of fish. This study evaluated the effects of mercuric chloride on growth, nutritional performance, survival, and selected blood and immune indices of common carp (*Cyprinus carpio*) fry in 2022. A total of 900 fry (initial weight 1.23 ± 0.15 g; 100 fry per tank) obtained from a private hatchery in Rasht were distributed across 12 polyethylene tanks (350 L each) and exposed to four treatments: 0% (control), 5%, 25%, and 50% of the 96-hour LC₅₀ (0.89 mg/L) of mercuric chloride, with three replicates per treatment, over an 8-week period. All groups received identical diets. Results showed that the highest weight (17.28 ± 3.22 g) and body length (7.48 ± 1.08 cm) were observed in the control group, significantly exceeding those of the 5%, 25%, and 50% treatments ($p < 0.05$). Growth indices, including specific growth rate and survival rate, decreased significantly in all mercuric chloride-exposed groups compared to controls ($p < 0.05$). Hematological analysis revealed significant reductions in red blood cell counts, hemoglobin concentration, hematocrit, and hematological indices in the exposed groups, with more pronounced effects at higher concentrations. Immune parameters, including immunoglobulin and lysozyme activity, were also significantly suppressed in all mercuric chloride treatments compared to controls ($p < 0.05$). These findings indicate that exposure of common carp fry to mercuric chloride, even at sublethal concentrations, adversely affects growth, survival, hematological status, and immune function. High concentrations near the LC₅₀ markedly exacerbate these effects, underscoring the toxicological risks of mercury contamination in aquaculture environments.



Publisher: University of Hormozgan

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

In addition to natural sources, human activities, industrial and domestic waste, and particularly fossil fuel combustion contribute approximately 2,000–3,000 tons of mercury to the atmosphere annually. Even small amounts of mercury in aquaculture water can be absorbed by fish as methylmercury through the gills and via consumption of contaminated plankton and other aquatic organisms. This study aimed to evaluate the effects of heavy metal mercury on growth, nutrition, survival, and selected blood and immune indices of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) at the Mirza Kuchak Fisheries Science Education Unit and Shalizar Novin Farm in Gilan Province, Iran.

Materials and Methods

A total of 900 common carp fry (initial weight 1.23 ± 0.15 g) were randomly assigned to 12 polyethylene tanks (350 L each) in a completely randomized design with four treatments and three replicates per treatment: treatment 1, control (0% of 96-hour LC50 of mercury); treatment 2, 5% of LC50; treatment 3, 25% of LC50; and treatment 4, 50% of LC50 (0.89 mg/L). Fish were fed identical diets and reared for eight weeks. Growth performance parameters, including weight gain, percentage body weight gain, specific growth rate, feed conversion ratio, and protein efficiency ratio, were calculated. Blood and immune indices—red blood cells (RBC), hematocrit (HCT), hemoglobin (HB), white blood cells (WBC), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), immunoglobulin, and lysozyme activity—were measured from 10 randomly sampled fish per replicate via caudal blood collection following clove extract anesthesia (150 mg/L).

Results

Final weights of carp fry were 17.28 ± 3.22 g (control), 12.63 ± 0.2 g (5%), 11.23 ± 0.3 g (25%), and 10.63 ± 0.35 g (50%). Corresponding body lengths were 7.48 ± 1.8 cm, 6.71 ± 0.58 cm, 5.67 ± 1.8 cm, and 5.11 ± 1.08 cm. The control group showed significantly higher weight and length than all mercury-exposed groups ($p \leq 0.05$), while no significant difference was observed between the 25% and 50% treatments ($p \geq 0.05$). Growth indices, including specific growth rate and survival rate, decreased significantly in all mercury-exposed groups ($p \leq 0.05$). Hematological analysis revealed a significant decline in RBC, HCT, HB, and immune indices (immunoglobulin and lysozyme) in mercury-exposed groups compared to controls ($p \leq 0.05$).

Conclusion

Exposure to mercury significantly impaired growth, survival, nutritional efficiency, hematological parameters, and immune function in common carp fry. Mercury contamination in aquaculture water not only reduces water quality but also accumulates in fish tissues, altering hematological and biochemical parameters. These results highlight the importance of monitoring mercury levels in aquaculture systems to ensure economically viable, healthy, and safe production of common carp.

تأثیر کلرید جیوه ($HgCl_2$) بر شاخص‌های رشد، درصد بازماندگی، برخی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

مهران آوخ کیسمی^۱، مریم آوخ کیسمی^۲، افشار ذوقی شلمانی^۱، محمد رهاننده^۱

۱. گروه آموزش شیلات و آبریان، واحد آموزش علوم شیلاتی میرزا کوچک خان، مرکز تحقیقات گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
۲. بخش تحقیقات گروه آموزشی علوم تجربی، اداره کل آموزش و پرورش استان گیلان، پردیس آموزشی بنت الهدی صدر، رشت، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	اندازه‌گیری کلرید جیوه برای نظارت بر کیفیت آب برای تولید اقتصادی، سالم و بهداشتی ماهی ضروری است. این تحقیق به منظور ارزیابی تأثیر کلرید جیوه بر شاخص‌های رشد، تغذیه، درصد بازماندگی و برخی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهی کپور معمولی (<i>Cyprinus carpio</i>) در سال ۱۴۰۲ انجام شد. ۹۰۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (<i>Cyprinus carpio</i>) که از یک جفت مولد نر و ماده از کارگاه بخش خصوصی در رشت تهیه شده بود با میانگین وزن اولیه 0.15 ± 0.23 گرم (تانک / ۱۰۰ قطعه) بر اساس طرح کاملاً تصادفی در ۱۲ مخزن پلی‌اتیلنی یکسان با حجم ۳۵۰ لیتر تحت تیمارهای ۱ تا ۴ به ترتیب با جیره‌های یکسان و آب حاوی ۰، ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد غلظت LC_{50}^{96h} (0.189 میلی‌گرم در لیتر) فلز جیوه با ۳ تکرار به مدت ۸ هفته پرورش داده شدند. نتایج نشان داد بالاترین میزان وزن (17.28 ± 3.22) گرم و طول بدن (7.48 ± 1.08) سانتی‌متر در تیمار ۱ (شاهد) مشاهده گردید که نسبت به تیمارهای ۲، ۳ و ۴ دارای اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0.05$). همچنین شاخص‌های رشد شامل نرخ رشد ویژه و نرخ بازماندگی در تیمارهای ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد جیوه نسبت به تیمار ۰ درصد کاهش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). نتایج نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای آزمایشی ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد غلظت فلز جیوه در مقایسه با تیمار ۰ درصد روند کاهشی داشته است ($p < 0.05$). در این تحقیق بین تیمارهای ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد در تعداد فاکتورهای خونی شامل گلبول‌های قرمز (RBC)، هماتوکریت (HC)، میزان هموگلوبین، شاخص گلبولی و شاخص‌های ایمنی شامل ایمونوگلوبولین و لیزوزیم در نمونه‌های بچه ماهی کپور معمولی با تیمارهای ۰ درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p < 0.05$)؛ بنابراین قرار گرفتن بچه ماهی کپور معمولی در معرض کلرید جیوه در سطح بالای غلظت LC_{50}^{96h} باعث تغییر در مقدار شاخص‌های خونی، کاهش رشد و درصد بازماندگی این ماهی گردید.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۱	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۱۶	
تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۵/۱۸	
✉ نویسنده مسئول: dr.keysami@gmail.com	
کلیدواژه‌ها: کلرید جیوه، کپور معمولی، شاخص‌های خونی، شاخص‌های ایمنی، شاخص‌های رشد.	



مقدمه

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، بومی آسیای مرکزی است که طی قرن‌های متمادی در نواحی مختلف جهان گسترش پیدا کرده است و امروزه پرورش آن در سراسر مناطق مستعد جهان مرسوم شده است (Kohlmann *et al.*, 2003). کپور معمولی به دلیل رشد سریع، امکان تکثیر مصنوعی، تغذیه دستی، نگهداری به صورت متراکم و دارا بودن مقاومت بالا در مقابل عوامل فیزیکی و شیمیایی آب از جمله مهم‌ترین ماهیان پرورشی جهان است (Kohlmann *et al.*, 2003). این گونه امروزه بطور گسترده در بسیاری از نقاط دنیا به صورت تک‌گونه‌ای یا کشت توأم با سایر کپور ماهیان پرورش داده می‌شود (Moffitt and Cajas-Cano, 2014). ماهی کپور معمولی همه‌چیزخوار و به‌طور کلی کف‌زی خوار است، همچنین وزن بازاری آن پیش از سن بلوغ به ۴ کیلوگرم هم می‌رسد (Mazid *et al.*, 1997). آلودگی آب با عناصر فلزات سنگین از جمله سرب، جیوه، کادمیوم، مس، روی، آهن و آلومینیوم از مهم‌ترین آلودگی‌های آب محسوب شده که به دو صورت محلول و غیر محلول در منابع آب آبی‌زی پروری وجود دارند و منجر به مسمومیت خونی ماهیان و به دنبال آن، تلفات مستقیم و یا غیرمستقیم مزمن و تغییرات در فیزیولوژی ماهیان می‌شود و کاهش تولید ماهی سالم و بهداشتی می‌گردد (Briffa *et al.*, 2020). از جمله مشکلاتی که محققان برای برخی فلزات سنگین گزارش کرده‌اند آن است که کادمیوم، مس، جیوه، سرب و روی، عبوری سریع در زنجیره غذایی دارند و برای انسان، کادمیوم، جیوه و سرب خطرناک‌ترند (Briffa *et al.*, 2020). اثر کلرید جیوه در غلظت‌های پایین خطرناک‌تر از کادمیوم و روی در غلظت‌های بالا است (El-Greisy and El-Gamal, 2015). به‌طور کلی، عدم تجزیه‌پذیری و مقاومت در برابر تغییرات بیولوژیکی و محیطی باعث می‌شود که بیشتر فلزات در بافت‌های چرب مصرف‌کنندگان، تغلیظ شده و ذخیره شوند که خطر سمی بودن حاد، مزمن و آثار ژنتیکی نامطلوب به همراه دارد (Teunen *et al.*, 2021). فلزات سنگین به علت سمیت و توان تجمع زیستی در گونه‌های مختلف آبی و حتی به دلیل وارد شدن به زنجیره‌های غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشند (Briffa *et al.*, 2020). چنانچه میزان این عناصر به دلایلی از حدود معین فراتر روند، باعث به مخاطره افتادن حیات آبریان و انسان به عنوان مصرف‌کننده آبریان می‌گردد (Teunen *et al.*, 2021; Seibel *et al.*, 2021). جیوه و مشتقات آن به عنوان آلاینده‌های مهم و گسترده در محیط‌های آبی در نظر گرفته شده‌اند. جیوه جذب شده توسط ماهی‌ها و عبور از زنجیره غذایی در ماهی‌ها باعث تجمع زیستی می‌شود. جیوه نه تنها بر محیط آبی تأثیر می‌گذارد، بلکه در انسان نیز تجمع زیستی می‌یابد (Balali-Mood *et al.*, 2021; Briffa *et al.*, 2020; de Oliveira Novaes *et al.*, 2024). مقدار بسیار کمی از جیوه در آب حل شده و تحت تأثیر باکتری‌ها تغییر شیمیایی می‌یابد و به متیل جیوه که شکل سمی‌تر جیوه است، تبدیل می‌شود. متیل جیوه هنگام عبور آب از آبشش‌های ماهی و تغذیه ماهی از ارگانسیم‌های آبی و پلانکتون‌ها، جذب بدن ماهی شده و در عضلات و بافت‌های چرب ماهیان پرورشی که چربی بیشتری دارند تجمع می‌یابد. ماهی‌های بزرگ‌تر و کفزی‌خوار مانند کپور معمولی مقادیر بالاتری از متیل جیوه را جذب می‌کنند (Barakat *et al.*, 2024). در این میان رودخانه‌ها که آب پرورش ماهی کپور معمولی را تأمین می‌کنند ممکن است بیش از حد با این فلز سنگین آزاد شده از پساب‌های خانگی، صنعتی، معدنی و کشاورزی آلوده شوند (Vander Oost *et al.*, 2003). جیوه به عنوان یکی از سمی‌ترین آلاینده‌های آب در نظر گرفته می‌شود و می‌تواند در هر سطحی از موجودات زنده، از جمعیت‌ها و جوامع گرفته تا عناصر سلولی، باعث سمیت شود (Hedayati and Safahieh, 2012; Łuczynska *et al.*, 2018). سمیت یک آلاینده از طریق آزمایش سنجش زیستی ارزیابی می‌گردد که به‌وسیله آن غلظت لازم جهت ایجاد تلفات نیمی از موجودات مورد آزمایش در یک دوره زمانی مشخص (کوتاه و یا بلندمدت) معلوم می‌شود (Lawrence *et al.*, 2020; Witeska *et al.*, 2022). مقدار LC5096 h ساخته (غلظت کشنده ۵۰) برای کلرید جیوه (HgCl₂) در ماهی کپور معمولی (۰/۱۱ ± ۰/۹۳) میلی‌گرم در لیتر بود. این بدان معنی است که در این غلظت HgCl₂، ۵۰ درصد از ماهی کپور معمولی آزمایش‌شده در عرض ۹۶ ساعت از بین می‌رود (Hedayati *et al.*, 2013). حتی در غلظت‌های زیرکشنده، جیوه دارای اثر آلاینده تجمعی است و می‌تواند باعث اختلالات جدی در متابولیسم ماهی مانند رفتار غیرطبیعی، ناهنجاری‌های حرکتی یا بی‌اشتهایی شود. جیوه همچنین ممکن است بر سلول‌های خونی تأثیر بگذارد (Yuan *et al.*, 2017). بر اثر تأثیر مواد سمی اختلالاتی در وظایف عملکرد خون و تعداد سلول‌های خونی

ایجاد می‌شود که نقش مهمی را در تعیین عملکرد سیستم ایمنی ماهیان دارند (Chen *et al.*, 2023). خصوصیات هماتولوژی شاخصی از شرایط طبیعی و غیرطبیعی و یک شاخص مهم سلامت ماهی است (Hlavova, 1993). خون وظایفی از جمله انتقال مواد غذایی، انتقال فرآورده‌های دفعی متابولیک، انتقال مواد دفعی از بافت‌های کبد و کلیه، انعقاد خون، انتقال گازهای تنفسی دارد (Hsu and Guo, 2002). بر اثر تأثیر مواد سمی اختلالاتی در وظایف سلول ایجاد می‌شود (Abdel-Warith *et al.*, 2020). خون در موجودات به‌عنوان یک بافت حیاتی سیال، یک شاخص مهم از وضعیت سلامتی می‌باشد که بخشی از اجزای سلولی آن شامل گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز است (Balali-Mood *et al.*, 2021; Fazio, 2019; Adewumi *et al.*, 2018). از طرف دیگر یکی از مهم‌ترین شواهد سلامتی یک اکوسیستم آبی داشتن دامنه طبیعی پارامترهای خونی توسط ماهی است که می‌تواند به‌عنوان شاخص زیستی مورد استفاده قرار گیرد. خصوصیات خون ماهیان در پاسخ به شرایط زیست‌محیطی واسترس‌های محیطی در تغییر است. خون به‌عنوان یک بافت حیاتی سیال و یک شاخص مهم از وضعیت سلامتی و اثرات محیط‌زیست می‌باشد (Farombi *et al.*, 2007). اغلب سوابق تحقیق انجام‌شده در مورد تأثیر فلزات سنگین بر شاخص‌های خونی بر ماهی آزاد و گربه‌ماهی در مزارع تکثیر و پرورش، انجام‌شده است (Vosylienė, 1999; Verep *et al.*, 2007; Folmar, 1993; Svobodova *et al.*, 1994). نتایج مربوط به تغییرات شاخص‌های خونی ماهی آزاد تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی (فلزات سنگین) می‌تواند در مورد سایر گونه‌های ماهی هم به‌کار رود (Folmar, 1993). با روند رو به رشد پرورش متراکم کپور در استخرهای خاکی در کشور بروز بیماری‌ها و آسیب‌های جدی به تولید این گونه بسیار محتمل است. لذا بررسی و تعیین عوامل کاهش سیستم ایمنی ماهیان در جهت جلوگیری از بیماری‌ها در شرایط پرورش متراکم می‌تواند نقش بسیار مهمی در صنعت آبی‌پروری داشته باشد (Stet *et al.*, 2003). جیوه توانایی ایجاد تغییرات در سطح سلولی را دارد که در پلاکت‌ها و اریتروسیت‌ها مشاهده می‌شوند. این سلول‌ها به‌عنوان نشانگرهای جانشین در آسیب‌های جیوه بر بافت عصبی استفاده می‌شوند. ثابت شده است که پروفایل خون‌شناسی و بیوشیمیایی در ماهی، شاخص حساسی برای ارزیابی متابولیسم ماهی تحت استرس فلزی است. با این حال، هیچ مطالعه‌ای وجود ندارد که تغییر در شاخص‌های خونی و ایمنی کپور معمولی و رابطه آن با شاخص‌های رشد، درصد بازماندگی در صورت مواجهه تنها فلز جیوه را نشان دهد. از طرفی بررسی جداگانه تأثیر جیوه بر گونه‌های مختلف ماهیان برای تعیین تغییرات فیزیولوژیک آن‌گونه به‌دلیل اثرپذیری از شرایط محیط‌زیستی مناطق مختلف ضروری است (Tchounwou *et al.*, 2012)؛ بنابراین در این تحقیق تأثیر فلز سنگین جیوه بر شاخص‌های رشد، درصد بازماندگی، شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مزرعه تلفیقی شالیزار نوین واقع در کیسم از توابع آستانه اشرفیه و در واحد علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان رشت به مدت ۸ هفته در خلال ماه‌های تیر و مرداد ۱۴۰۲ انجام شد. در این تحقیق غلظت کشنده LC_{50}^{96h} فلز جیوه ($HgCl_2$) در ۵۰ درصد از جمعیت بچه ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) در آزمایش جداگانه با ۴ تیمار با غلظت‌های بین ۰/۲۵ تا ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر کلرید جیوه به روش ساکن (Static) و پس از ثبت تلفات ماهی در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت و از نمودار رگرسیون غلظت و تلفات، ۰/۸۹ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید. پس از استخراج مقدار LC_{50}^{96h} فلز جیوه برای بچه ماهی کپور معمولی یک سطح پایین با ۵ درصد غلظت LC_{50}^{96h} (۰/۴۴۵ میلی‌گرم در لیتر) و یک سطح میانه با ۲۵ درصد غلظت LC_{50}^{96h} (۰/۲۲۳ میلی‌گرم در لیتر) و یک سطح بالا معادل ۵۰ درصد غلظت LC_{50}^{96h} فلز جیوه (۰/۴۴۵ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان تیمار و یک سطح معادل ۰ درصد غلظت LC_{50}^{96h} فلز جیوه برای بچه ماهی کپور معمولی به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد (Rand *et al.*, 1995). دوازده مخزن پلی‌اتیلنی یکسان با حجم ۳۵۰ لیتری با ۹۰۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) با میانگین وزن اولیه 0.15 ± 0.23 گرم (تانک/ ۱۰۰ قطعه) که از یک جفت مولد نر و ماده از کارگاه بخش خصوصی تهیه شده بود بر اساس طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار و ۳ تکرار از هر تیمار شامل آب پرورش با ۰ درصد از غلظت LC_{50}^{96h} فلز جیوه (تیمار ۱)، آب پرورش با ۵ درصد از غلظت LC_{50}^{96h} فلز جیوه (تیمار ۲)، آب پرورش با ۲۵ درصد از غلظت LC_{50}^{96h} فلز جیوه (تیمار ۳) و

آب پرورش با ۵۰ درصد از غلظت LC_{50}^{96h} فلز جیوه (تیمار ۴) ماهی‌دار شدند. منبع تأمین آب مصرفی ماهیان از چاه نیمه عمیق مزرعه تلفیقی شالیزار نوین که بعد از خروج از چاه از برجک با ارتفاع ۳ متری از فیلتر شنی عبور و به حوضچه ذخیره آب وارد شده بود تأمین گردید. بچه ماهیان به منظور سازگاری با شرایط آزمایش به مدت یک هفته بر اساس شرایط مدیریتی یکسان غذادهی و نگهداری شدند. در طول دوره در تمام تکرارها آب ورودی از بالای حوضچه‌های پرورش به صورت بارانی وارد شده و از لوله خروجی واقع در مرکز حوضچه خارج گردید. شرایط نوری برای حوضچه‌ها طبیعی و یکسان بود. هوادهی حوضچه‌ها به وسیله دو دستگاه کمپرسور (هواده) که در ابتدا و انتهای حوضچه‌ها به وسیله لوله پلی اتیلن پرفشار به یکدیگر متصل گردیده بود انجام گردید. بچه ماهیان با غذای تجاری اکستروود ساخت شرکت فرا دانه شهرکرد (جدول ۱) روزانه به میزان ۵-۷ درصد میانگین وزن بدن و در ۲ وعده غذادهی شدند. میزان غذا هر دو هفته یکبار پس از انجام زیست‌سنجی اصلاح گردید. در طول دوره آزمایش هر ۲ هفته یکبار بچه ماهیان به صورت انفرادی با استفاده از ترازوی دیجیتالی ۰/۰۱ گرم توزین و طول کل آن‌ها نیز با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد. به منظور کاهش استرس در زمان نمونه‌برداری، بچه ماهیان با عصاره گل میخک (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بی‌هوش شدند (Bazoogh Hassan Sarai *et al.*, 2019). در طول آزمایش به منظور سنجش دما، اکسیژن محلول و pH از دستگاه دیجیتالی Multi-parameter WTW استفاده شد. این متغیرها به صورت روزانه در تمامی مخازن مورد سنجش قرار گرفت. مقدار نیتريت و آمونیاک آب مخازن به صورت هفتگی و با دستگاه نیتريت و نترات و آمونیاک‌سنج (HI93715، Hanna، تایوان) مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. هدایت الکتریکی، کل جامدات محلول در آب و درصد شوری با دستگاه هدایت سنج (EC متر) قابل حمل مدل HI98192 محصول کمپانی هانا (HANNA) اندازه‌گیری و ثبت شد (Dethloff *et al.*, 1999). جهت حذف غذای خورده نشده و مدفوع ماهیان و جلوگیری از آلودگی، روزانه در دو مرحله کف مخازن با شیلنگ مخصوص سیفون شدند. جهت اندازه‌گیری ترکیبات مواد مغذی جیره از روش‌های استاندارد AOAC (2005) استفاده شد.

جدول ۱. مشخصات غذای مورد استفاده بچه ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) در طول آزمایش

نوع غذا	غذای اکستروود
اندازه خوراک (میلی‌متر)	۰±۲/۲
پروتئین خام (درصد)	۰±۳۸/۶۴
چربی خام (درصد)	۷/۰±۸/۵۲
خاکستر (درصد)	۸/۰±۱/۰۵
انرژی قابل هضم (کیلوکالری/کیلوگرم)	۲۳±۳۲۰۰
فیبر خام (درصد)	۵/۰±۶/۰۴
رطوبت (درصد)	۹/۰±۳/۰۳
فسفر (درصد)	۰/۰±۹۹/۰۲

با استفاده از اعداد و ارقام حاصل از زیست‌سنجی‌های طی دوره پرورش بر اساس رابطه‌های ۱ تا ۶ نتایج مربوط به شاخص کیفی رشد، افزایش وزن، درصد افزایش وزن بدن، میزان ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و میزان کارایی پروتئین محاسبه گردید (Dethloff *et al.*, 1999; Haux and Larsson, 1984):

رابطه ۱

افزایش وزن به گرم = وزن نهایی به گرم - وزن اولیه به گرم

رابطه ۲

درصدافزایش وزن (درصد) = ((وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم)) / وزن اولیه (گرم)) × ۱۰۰

رابطه ۳

ضریب رشد ویژه (درصد) = ((لگاریتم نپری وزن نهایی - لگاریتم نپری وزن اولیه) / مدت زمان پرورش) × ۱۰۰

رابطه ۴

ضریب تبدیل غذایی = مقدار غذای خورده شده (گرم) \ مقدار وزن اضافه شده (گرم)

رابطه ۵

میزان کارایی پروتئین = مقدار وزن اضافه شده (گرم) \ مقدار پروتئین مصرفی (گرم)

رابطه ۶

شاخص کیفی رشد = (وزن تر ماهی (گرم) \ طول کل ماهی (سانتی‌متر) به نمای سه) $\times 100$

پس از اتمام دوره پرورش ماهیان موجود در هر تیمار شمارش و با استفاده از رابطه ۷ درصد بازماندگی هر یک از تیمارها و تکرارها محاسبه شد (Dethloff *et al.*, 1999; Haux and Larsson, 1984):

رابطه ۷

درصد بازماندگی (درصد) = (تعداد ماهیان در انتهای دوره پرورش \ تعداد ماهیان در ابتدای دوره پرورش) $\times 100$

به منظور بررسی شاخص‌های خونی و ایمنی در انتهای دوره تغذیه، خون‌گیری از ماهیان به‌طور تصادفی از هر تکرار ۱۰ ماهی و از ناحیه ساقه دمی پس از بی‌هوشی در عصاره گل میخک (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) با سه تکرار انجام شد (Lawrence *et al.*, 2020). نمونه‌های خون به‌وسیله سرنگ هپارینه گرفته شد و در دمای یخچالی نگهداری شد. نمونه‌های خون همراه با یخ خشک درون یخدان قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل شدند.

نمونه‌های خون به‌وسیله دستگاه سانتریفیوژ (مدل labofuge ساخت شرکت Heraeus sepatch آلمان) با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم جدا شده با سمپلر در تیوپ‌های اپیندورف در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های خونی استحصال شده پس از سانتریفیوژ و تهیه سرم جهت ارسال به آزمایشگاه در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

شاخص‌های خونی و ایمنی شامل گلبول قرمز (RBC)، هموگلوبین (HB)، هماتوکریت (HCT)، تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، متوسط حجم گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) در خون با استفاده از رابطه‌های زیر اندازه‌گیری شدند (Witeska *et al.*, 2022). مقدار هموگلوبین به روش استاندارد سیانومت هموگلوبین و پس از مخلوط نمودن ۰/۰۲ میلی‌لیتر خون با ۵ میلی‌لیتر محلول درابکین (معرف سیانومت هموگلوبین) و پس از گذشت ۱۰ دقیقه از زمان مخلوط نمودن نمونه به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (Jenway, 6105، انگلستان) اندازه‌گیری و برحسب گرم در دسی لیتر محاسبه گردید (Atamanalp *et al.*, 2011; Feldman *et al.*, 2000).

مقدار هماتوکریت به روش متداول میکروهماتوکریت با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت و سانتریفیوژ نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ میکروهماتوکریت صورت گرفت. شمارش کلی گلبول‌های قرمز ماهی به روش دستی و با استفاده از لام هموسیستمتر نئوبار صورت گرفت. برای این کار و برای رقیق نمودن نمونه از محلول رقیق کننده نات - هریک استفاده شد تعداد سلول شمارش شده در ضریب رقت یعنی عدد ۱۰۰۰۰ ضرب گردید و تعداد گلبول‌های قرمز در میلی‌لیتر مکعب خون محاسبه شد (Celik *et al.*, 2013; Thrall *et al.*, 2004). شاخص گلبولی یعنی حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از رابطه‌های ۸ و ۹ محاسبه گردید (Abdel-Warith *et al.*, 2020).

رابطه ۸

تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب) / $10 \times$ هماتوکریت (درصد) = MCV (میکرومتر مکعب یا فمتولیترا)

رابطه ۹

تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب) / $10 \times$ هموگلوبین (گرم در دسی لیتر) = MCH (پیکو گرم)
 هماتوکریت (درصد) / $100 \times$ هموگلوبین (گرم در دسی لیتر) = MCHC
 شمارش کلی گلبول‌های سفید به روش مستقیم (هماسیتومتر) با رقیق کردن خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق‌کننده نات -
 هریک صورت گرفت. سپس تعداد کل گلبول‌های سفید در میلی‌متر مکعب خون با استفاده از رابطه ۱۰ محاسبه (Celik et al., 2013; Thrall et al., 2004).
 رابطه ۱۰

$50 \times$ تعداد کل گلبول‌های سفید شمارش شده در ۴ مربع بزرگ) = تعداد کل گلبول‌های سفید

جهت اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین (IgM) از روش ایمونوتوربیدی متری است. به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل 2100-VIS ساخت شرکت Unico آمریکا) با طول موج ۳۴۰ نانومتر استفاده شد (Thrall et al., 2004). همچنین اندازه‌گیری سطوح لیزوزیم در سرم خون با استفاده از سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodeikticus* و با کمک روش نورسنجی و دستگاه اسپکتروفوتومتر اسپکتروفوتومتر (6105، Jenway، انگلستان) انجام شد (Islam et al., 2020). به‌منظور تعیین غلظت ایمونوگلوبولین کل از روش Witeska و همکاران (۲۰۲۴) استفاده گردید.

برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها در تیمارها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها برای مقایسه آماری تیمارها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) و برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. در صورت نرمال نبودن داده‌ها جهت مقایسه تیمارها از آزمون Kruskal Wallis و به‌منظور مقایسه بین گروه‌ها از آزمون Mann-Whitney استفاده گردید. کلیه آزمون‌های آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام و نتایج به‌صورت (انحراف معیار \pm میانگین) گزارش گردید.

نتایج

مقادیر متغیرهای فیزیکی و شیمیایی آب محل آزمایش در طول دوره پرورش شامل اکسیژن محلول در آب ($5.0 \pm 71/23$) میلی‌گرم در لیتر، اکسیژن محلول خروجی ($5.0 \pm 48/11$) میلی‌گرم در لیتر، دمای آب (29.54 ± 0.19) درجه سانتی‌گراد، دمای هوا (31.44 ± 0.21) درجه سانتی‌گراد، ضریب هدایت الکتریکی (3 ± 394 میکرو زیمنس بر سانتی‌متر)، کل جامدات محلول در آب (11 ± 11) میلی‌گرم در لیتر، شوری (۰ درصد)، pH ($8.0 \pm 26/01$)، به دست آمد که فاقد اختلاف معنی‌دار بین تیمارها با یکدیگر و تیمارها با شاهد بود ($P \geq 0.05$).

نتایج به‌دست‌آمده از تأثیر فلز سنگین جیوه بر شاخص‌های رشد، تغذیه و درصد بازماندگی بچه ماهی کپور معمولی به شرح جدول ۱ بود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق در انتهای دوره آزمایش، از نظر درصد بازماندگی بین تیمار ۱ با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$) (جدول ۲). وزن نهایی بدن بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای ۱ تا ۴ به ترتیب $17/28 \pm 3/22$ ، $12/63 \pm 0/20$ ، $11/0 \pm 23/30$ و $10/63 \pm 0/35$ گرم بود. بالاترین میزان وزن بدن در دوره ۸ هفته پرورش در تیمار شاهد مشاهده گردید که نسبت به تیمارهای ۲، ۳ و ۴ دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.05$). طول نهایی بدن بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای ۱ تا ۴ به ترتیب $7/1 \pm 48/08$ ، $6/0 \pm 71/58$ و $5/1 \pm 67/08$ سانتی‌متر بود که در دوره پرورش از نظر تأثیر غلظت‌های مختلف درصد جیوه بر طول ماهیان پرورشی اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای ۱ با ۲ و ۳ و ۴ مشاهده شد ($P < 0.05$). بالاترین میزان وزن و طول بدن در تیمار ۱ (شاهد) مشاهده گردید که نسبت به تیمارهای ۲، ۳ و ۴ دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.05$). شاخص کیفی رشد بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای ۱ تا ۴ به ترتیب $1/0 \pm 15/009$ ، $1/0 \pm 18/008$ ، $1/0 \pm 15/009$ ، $1/0 \pm 13/01$ و $1/11 \pm 0/007$ درصد بود. بالاترین میزان شاخص وضعیت در دوره ۸ هفته پرورش در تیمار شاهد مشاهده شد.

ضریب تبدیل غذایی جیره غذایی مورد استفاده برای بچه ماهی کپور معمولی در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب $1/10 \pm 0/01$ ، $1/3 \pm 0/01$ ، $1/0 \pm 8/004$ ، $2/0 \pm 0/06$ بود. در ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای آزمایشی ۲، ۳ و ۴ در مقایسه با تیمار ۱ اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0/05$). فقط تیمارهای ۳ و ۴ باهم اختلاف معنی‌داری نداشت ($0/05$). در مقدار وزن و طول نهایی بچه ماهیان بین تیمار ۲۵ و ۵۰ درصد باهم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p \geq 0/05$). همچنین شاخص‌های رشد شامل نرخ رشد، نرخ رشد ویژه و نرخ بازماندگی در تیمارهای ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد جیوه با تیمار ۰ درصد اختلاف معنی‌دار داشت ($p < 0/05$).

درصد افزایش وزن بدن بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای ۱ تا ۴ به ترتیب $163 \pm 1/04$ ، $161/60 \pm 0/76$ ، $154 \pm 1/52$ و $146/50 \pm 1/75$ درصد بود. درصد افزایش وزن بدن در طی دوره بررسی، بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشت ($0/05$). نرخ رشد ویژه طی این مدت بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). بالاترین میزان پروتئین مصرفی در تیمار ۱ مشاهده گردید که با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). درصد بازماندگی طی این مدت بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). بالاترین میزان درصد بازماندگی در تیمار ۱ مشاهده گردید که با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0/05$) (جدول ۲).

جدول ۲. مقایسه شاخص‌های رشد تیمارهای مختلف طی دوره پرورش بچه ماهی کپور معمولی (*C. carpio*).

تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	متغیرهای رشد
$1/21 \pm 1/15^a$	$1/27 \pm 1/14^a$	$1/24 \pm 1/11^a$	$1/23 \pm 1/18^a$	وزن اولیه بدن (گرم)
$1/0 \pm 63/35^c$	$1/10 \pm 23/30^c$	$1/2/0 \pm 63/20^b$	$1/7/3 \pm 28/22^a$	وزن نهایی بدن (گرم)
$2/81 \pm 0/32$	$2/77 \pm 0/41$	$2/69 \pm 0/36$	$2/77 \pm 0/43$	طول اولیه بدن (سانتی‌متر)
$5/1 \pm 11/08^c$	$5/1 \pm 67/08^c$	$6/0 \pm 71/58^b$	$7/1 \pm 48/08^a$	طول نهایی بدن (سانتی‌متر)
$1/0 \pm 11/007^c$	$1/0 \pm 13/01^b$	$1/0 \pm 15/009^b$	$1/0 \pm 18/008^a$	شاخص کیفی رشد
$2/0 \pm 0/106^a$	$1/0 \pm 8/004^a$	$1/0 \pm 4/01^b$	$1/0 \pm 10/01^c$	ضریب تبدیل غذایی
$146/1 \pm 50/75^d$	$1 \pm 154/52^c$	$161/0 \pm 60/76^b$	$1 \pm 163/04^a$	درصد افزایش وزن بدن (%)
$1/0 \pm 183/01^d$	$1/0 \pm 346/01^c$	$1/0 \pm 502/004^b$	$1/0 \pm 905/006^a$	نرخ رشد ویژه (%)
$2/0 \pm 153/02^c$	$2/0 \pm 295/02^b$	$2/0 \pm 392/011^b$	$2/0 \pm 621/01^a$	پروتئین مصرفی (%)
$74/1 \pm 00^c$	$760/1 \pm 00^c$	$88/1 \pm 00^b$	$99/1 \pm 00^a$	درصد بازماندگی (%)

حروف غیر همسان انگلیسی در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ($p < 0/05$)

نتایج به‌دست‌آمده از تأثیر فلز سنگین جیوه بر شاخص‌های شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهی کپور معمولی به شرح جدول ۳ بود. نتایج مربوط به تأثیر فلز جیوه بر تعداد گلبول‌های قرمز و سفید ماهی نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای آزمایشی ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد غلظت فلز جیوه در مقایسه با تیمار ۰ درصد روند کاهشی داشته است ($p < 0/05$). در این تحقیق بین تیمارهای ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد در تعداد فاکتورهای خونی شامل گلبول‌های قرمز (RBC)، هماتوکریت (HCT)، میزان هموگلوبین، شاخص گلبولی و شاخص‌های ایمنی شامل ایمونوگلوبولین و لیزوزیم در نمونه‌های بچه ماهی کپور معمولی با تیمار ۰ درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p < 0/05$).

تیمار شاهد بیشترین مقدار Igm را نسبت به تیمارهای دیگر داشت و همچنین مقدار ایمونوگلوبولین در تیمار شاهد نسبت به دیگر تیمارها بیشتر بود. مقدار فاکتور لیزوزیم در تیمار شاهد بیشترین مقدار را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p < 0.05$) (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه شاخص‌های خونی و ایمنی تیمارهای مختلف طی دوره پرورش ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) پس از قرار گرفتن در معرض فلز جیوه به مدت ۸ هفته

فاکتورهای خونی	واحد اندازه گیری	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
گلبول‌های سفید (WBC)	تعداد در میکرو لیتر ($\times 10^3$)	753 ± 1123^a	726 ± 351^b	516 ± 251^c	512 ± 175^c
گلبول‌های قرمز (RBC)	تعداد در میکرو لیتر ($\times 10^6$)	15466 ± 2516^a	14061 ± 6252^b	14016 ± 8251^c	11333 ± 8434^d
هماتوکریت (HCT)	(%)	30.00 ± 1.00^a	28.33 ± 0.58^b	27.00 ± 1.00^c	26.95 ± 1.00^c
هموگلوبین (Hb)	(g/dl)	6.03 ± 0.15^{cd}	5.70 ± 0.10^{bc}	5.25 ± 0.25^a	4.93 ± 0.28^a
میزان متوسط هموگلوبین گلبولی	(pg)(MCH)	37.95 ± 8.12	37.53 ± 0.46	37.33 ± 0.47	36.80 ± 0.10
حجم متوسط گلبولی (MCV)	(fl)	192.67 ± 4.51^a	189.72 ± 3.95^b	184.33 ± 3.51^c	182.00 ± 1.73^c
غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی قرمز (MCHC)	(g/dl)(%)	20.13 ± 0.23^a	20.10 ± 0.17^b	19.99 ± 0.29^c	19.47 ± 0.23^d
IgM	(mg/dl)	48.67 ± 4.04^a	41.00 ± 5.29^b	32.33 ± 4.93^c	31.28 ± 3.95^c
ایمونوگلوبولین	(mg/ml)	16.67 ± 0.15^a	15.97 ± 0.32^a	15.23 ± 0.31^{bc}	14.06 ± 0.23^c
لیزوزیم	(u/ml/min)	30.33 ± 2.08^a	30.11 ± 2.06^a	29.33 ± 2.08^b	27.33 ± 2.52^b

حروف غیر همسان انگلیسی در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$)

بحث

در این تحقیق مقدار LC5096h ۹۶ ساعته (غلظت کشنده ۵۰ درصد) برای کلرید جیوه (HgCl₂) در ماهی کپور معمولی در آزمایش جداگانه ۰/۸۹ میلی گرم در لیتر بدست آمده بود که قبلاً نیز مقدار LC50 96h ۹۶ ساعته (غلظت کشنده ۵۰) برای کلرید جیوه (HgCl₂) در ماهی کپور معمولی (۰/۹۳) میلی گرم در لیتر گزارش گردیده بود (Hedayati et al., 2013). این تفاوت در غلظت کشنده ۵۰ درصد شاید به متفاوت بودن وزن ماهی‌ها و شرایط محیطی و فیزیکی شیمیایی آب در زمان اجرا آزمایش‌ها مربوط باشد. در خصوص اثر سمیت فلز جیوه و غلظت کشنده LC50 96h جیوه بر انواع ماهیان گزارش‌های متفاوتی ارائه شده است (Verep et al., 2007; Vieira et al., 2009; Hedayati and Safahieh, 2012; Sadeghi and Imanpour, 2015; Rahimikia et al., 2016; Yuan et al., 2017; Barakat et al., 2024; de Oliveira et al., 2024). از این رو اختلافاتی از نظر نوع و گونه ماهی مورد مطالعه، فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی، وزن ماهی و شرایط محیطی با در نظر گرفتن شرایط یکسان در دوره زمانی آزمایش وجود دارد. در این آزمایش‌ها افزایش تعداد لکوسیت‌ها بیشتر در ساعت‌های اول واکنش استرس به سمیت فلزات سنگین مشاهده می‌شود، زمانی که ماهی سعی می‌کند تغییرات شاخص‌های خونی را بازگرداند، اما بعداً کاهش تعداد لکوسیت‌ها مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده تضعیف سیستم ایمنی است. تغییرات شکلی در سلول‌های خونی (نسبت درصد گلبول‌های قرمز

طبیعی، آسیب‌دیده، تغییر شکل یافته، متلاشی شده قدیمی و نسبت درصد اشکال مختلف لکوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها) یکی از نشانه‌های اثر سمی شیمیایی بر ماهی است که منجر به تلفات می‌گردد (Witeska, 2005; Verep *et al.*, 2007).

در این تحقیق مقادیر مختلف آلودگی کلرید جیوه در میزان هماتوکریت خون بین تیمار ۲ و ۳ و ۴ تغییر ایجاد نمود. از آنجایی که میزان هماتوکریت خون نشان‌دهنده تعداد و اندازه سلول‌های قرمز خونی است (Hedayati and Safahieh, 2012; Łuczyńska *et al.*, 2018)، لذا کاهش آن میتواند باعث تضعیف کار آبی ظرفیت خونی و اکسیژن‌رسانی در این ماهیان شده باشد (Yuan *et al.*, 2017). در تحقیق حاضر مقدار گلبول‌های سفید نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). نتایج نشان داد که تیمارهای ۳ و ۴ با کاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید مواجه بود که می‌تواند باعث کاهش سطح ایمنی ماهیان تیمار گردد. نتایج این تحقیق نشان داد که مقدار IgM در تمامی تیمارها نسبت به شاهد کمتر بود. حتی جیوه با کمترین غلظت خود در تیمار ۲ توانسته بود سطح ایمنی ماهیان تحت تیمار را کاهش دهد. متیل جیوه و کلرید جیوه در سطح سلولی سمی هستند، متیل جیوه فعالیت ماکروفاژ (مانند مهاجرت و فاگوسیتوز) را در سطوح پایین مهار می‌کند (Akter *et al.*, 2008). مقدار لیزوزیم تیمارهای این تحقیق نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری داشت و این امر نشان داد که جیوه باعث کاهش مقدار این آنزیم در خون ماهیان گردید. نتایج این تحقیق بیانگر تغییرات معنی‌داری در سطح ایمونوگلوبولین ماهیان تیمار نسبت به شاهد بود ($p < 0.05$). در این بین تیمار ۴ کمترین مقدار سطح ایمونوگلوبولین را در بین تیمارهای دیگر نشان داد. لیزوزیم نیز از آنزیم‌های مهم خونی است که دارای خواص ضد باکتریایی و ضد ویروسی است. این آنزیم با شکستن دیواره باکتری‌ها باعث تخریب و عدم تکثیر سلولی آن‌ها می‌شود (Witeska, 2005). در این تحقیق تحت تأثیر آلودگی فلز جیوه در تعداد فاکتورهای خونی شامل گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، میزان هموگلوبین، شاخص‌های گلبولی در نمونه‌های بچه ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p < 0.05$). بالاترین میزان در برخی از فاکتورهای مربوط به گلبول‌های قرمز خونی شامل هموگلوبین، MCHC و MCH در تیمار شاهد بود که نشان‌دهنده تأثیر منفی این ماده بر روی گلبول‌های قرمز خونی ماهی بود. شاید جیوه مانع جذب برخی املاح غذایی که در تحریک بافت‌های خون‌ساز مثل کلیه قدامی و طحال به خون‌سازی تأثیر داشته‌اند شده باشد و یا باعث کاهش طول عمر گلبول‌های قرمز و افزایش تخریب گلبول‌های سفید و قرمز خونی گردیده باشد (Sadeghi and Imanpour, 2015; Javed *et al.*, 2016; Yuan *et al.*, 2017; Barakat *et al.*, 2024; de Oliveira *et al.*, 2024). همچنین بالاترین میزان فاکتورهای هماتوکریت و غلظت متوسط گلبولی و میزان گلبول‌های قرمز در تیمار ۱ مشاهده شد. همچنین در این تحقیق در هر دو سلول خونی ماهی تغییراتی رو به کاهش در غلظت‌های ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد از LC5096 h ایجاد شد و مفهوم آن تأثیر منفی آلودگی جیوه بود. یافته‌های تحقیقات انجام‌شده در ارتباط با تأثیر فلز جیوه بر شاخص‌های خونی ماهیان پرورشی، تأثیر سوء فلز جیوه بر سلول‌های خونی ماهی را در صورت قرار گرفتن طولانی‌مدت ماهی در معرض فلز جیوه تأیید نموده است (Sadeghi and Imanpour, 2015; Hong *et al.*, 2020). هنگام ارزیابی اثر جیوه بر شاخص‌های رشد و خونی کپور، اثر هم‌افزایی این فلزات بر کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و درصد لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها مشاهده شد (Verep *et al.*, 2007; Vieira *et al.*, 2009; Hedayati and Safahieh, 2012; Sadeghi and Imanpour, 2015; Rahimikia *et al.*, 2016; Yuan *et al.*, 2017; Barakat *et al.*, 2024; de Oliveira *et al.*, 2024). در تحقیقی دیگر، غلظت بالای جیوه (نزدیک به LC5096 h) باعث کاهش غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت در خون ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) شد.

بر اساس تحقیقات انجام‌شده می‌توان گفت که این تأثیرات می‌تواند به واسطه ایجاد استرس و اختلال در سیستم ایمنی به دلیل در معرض قرار گرفتن ماهی با غلظت فلز موردنظر باشد (Witeska, 2005; Naz *et al.*, 2021). نتایج تحقیق در ماهیان آب شیرین شامل کپور معمولی، ماهی کپور نقره‌ای و گربه‌ماهی (*Clarias gariepinus*) در مدت ۹۶ ساعت و در معرض فلز جیوه منجر به کاهش سطح هموگلوبین و هماتوکریت گردید که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (Guedenon *et al.*, 2012; Abedi *et al.*, 2012; Hedayati *et al.*, 2013; Rahimikia *et al.*, 2016). مطالعات انجام‌شده در ماهیان مختلف نشان می‌دهد که فلزات سنگین ممکن است شاخص‌های خونی را در هر دو نوع سلول خونی تغییر دهد (Witeska, 2005; Barakat *et al.*, 2024; de Oliveira *et al.*, 2024). در این تحقیق فلز جیوه باعث کاهش مقادیر هماتوکریت گردید. می‌توان اشاره کرد

که کاهش در میزان هماتوکریت و هموگلوبین به همراه کاهش و تغییر شکل سلول‌های خونی نشانگر واضحی از کم‌خونی در ماهی است (Guedenon *et al.*, 2012; Hedayati *et al.*, 2013). افزایش گلبول‌های سفید خون در پاسخ به عوامل استرس‌زای مختلف شامل عفونت‌ها و محرک‌های شیمیایی از جمله سمیت فلزات سنگین می‌باشد (Li *et al.*, 2010; Hong *et al.*, 2020). بنابراین افزایش یا کاهش تعداد سلول‌های سفید خون یک واکنش طبیعی به مواد شیمیایی مانند جیوه است که تأثیر بر سیستم ایمنی تحت شرایط سمی دارد (Maheswaran *et al.*, 2008; Javed *et al.*, 2016). کاهش غلظت هموگلوبین در خون که معمولاً به دلیل تأثیر فلزات سمی بر آتشش‌ها ایجاد می‌شود و همچنین کاهش اکسیژن نیز نشان‌دهنده کم‌خونی یا تأیید تغییرات منفی رخ داده در ماهی است (Li *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2023).

نتایج به‌دست‌آمده از بررسی شاخص‌های رشد، تغذیه، درصد بازماندگی بچه ماهی کپور معمولی تأثیر منفی آلودگی فلز سنگین جیوه را نشان داد. آلودگی‌های فلزات سنگین برای ماهی استرس‌زا است و مهم‌ترین ویژگی پاسخ به استرس در ماهیان، فعال شدن محور هیپوتالاموس است که منجر به افزایش ترشح کورتیزول می‌شود. کورتیزول ذخایر انرژی را به حرکت درمی‌آورد و به حفظ تعادل یونی کمک می‌کند. ترشح کورتیزول در اثر انوعی از محرک‌های استرس‌آور از جمله کیفیت نامناسب آب نظیر وجود فلزات سنگین افزایش می‌یابد. با افزایش کورتیزول به‌صورت مداوم باعث تلفات در اثر افزایش حساسیت به بیماری‌ها، کاهش میزان رشد، افزایش و کاهش تولید گلبول‌های سفید، سرکوب دستگاه ایمنی می‌شود (Naz *et al.*, 2021). از طرف دیگر تغییرات در شاخص‌های خونی ناشی از آلاینده‌های مختلف باعث تغییرات برگشت‌ناپذیری در گردش خون، تشکیل خون و سیستم ایمنی بدن ماهی می‌گردد که منجر به کاهش درصد رشد و درصد بازماندگی ماهی‌ها می‌شود (Seibel *et al.*, 2021). در تحقیقی مشابه اثرات سمی کلرید جیوه بر لارو کپور معمولی تأثیر زیادی بر مراحل مختلف رشد در دوره جنینی داشت که منجر به کاهش کیفیت و کمیت بچه ماهیان گردید (Jeziarska *et al.*, 2009; El-Greisy and El-Gamal, 2015). نتایج مشابهی توسط چندین محقق به دست آمد. Lugowska (۲۰۰۵) تأثیر کلرید جیوه روی لارو کپور معمولی را بررسی کرد و شکستگی‌های ستون فقرات، فقدان دم و ناهنجاری‌های بدن را مشاهده کرد که باعث می‌شد لاروها قادر به شنا و تغذیه نباشند و در نهایت پس از جذب کیسه زرده بمیرند. در این راستا، برخی ناهنجاری‌ها مانند انحناهای ستون فقرات توسط Jeziarska و همکاران (۲۰۰۹) روی لارو کپور معمولی مشاهده شد. علاوه بر این، کلرید جیوه باعث کاهش میزان تفریح و افزایش میزان ناهنجاری‌ها در مراحل اولیه لاروی شامل ناهنجاری در کیسه زرده و انحناهای شکم در لارو تازه از تخم درآمده پس از قرار گرفتن در معرض غلظت بالای ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر HgCl₂ گردید (Barakat *et al.*, 2024). نتایج مشابهی توسط Witeska و Lugowska (۲۰۰۴) و El-Greisy and El-Gamal (۲۰۱۵) نیز گزارش گردید که تأخیر در از تخم بیرون آمدن تخم‌های کپور معمولی را ناشی از تأثیر کلرید جیوه بر وضعیت فیزیولوژیکی لاروها دانستند.

در تحقیقات مشابهی آلودگی کلرید جیوه بر شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی تأثیر منفی داشت، فلزات سنگین در کاهش سطح ایمنی، کاهش مقاومت به عوامل بیماری‌زا، کاهش عملکرد رشد نقش دارند (Dhanapakiam and Ramasamy, 2001; Atamanalp *et al.*, 2011; Barakat *et al.*, 2024; Witeska, 2005). در تحقیقات گذشته فلزات سنگین در آبی‌پروری باعث کاهش سطح اشتها، کاهش میزان غذای مصرف‌شده و نرخ رشد در گونه‌های پرورشی گردید. مهم‌ترین تأثیر فلزات سنگین افزایش بیماری و افزایش ضریب تبدیل غذایی با رسوب بافتی در آبی‌پروری بود. از طرف دیگر فلزات سنگین حتی بر کیفیت گوشت آبزیان تغذیه‌شده اثرات منفی داشت (Balali-Mood *et al.*, 2021; Briffa and Blundell, 2020; Farombi *et al.*, 2007). تحقیقات نشان داده است که برخی از آلودگی‌های فلزات سنگین مثل جیوه نقش مهمی در مدیریت آبی‌پروری داشته و کار آبی تغذیه، عملکرد رشد و مقاومت ماهیان را در مقابل بیماری‌ها کاهش می‌دهد (Barakat *et al.*, 2024).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مواجهه کلرید جیوه با غلظت‌های ۰،۵، ۲۵ و ۵۰ درصد غلظت LC_{50}^{96h} (۰/۸۹ میلی‌گرم در لیتر) با بچه ماهی کپور معمولی باعث تغییر در سطح شاخص‌های خونی، ایمنی، رشد، تغذیه و درصد بازماندگی این ماهی گردید. آلودگی فلزی جیوه در این تحقیق منجر به کاهش سطح ایمنی، کاهش مقاومت به عوامل بیماری‌زا، کاهش عملکرد رشد بچه ماهی کپور معمولی گردید. از طرف دیگر تجمع فلزات سنگین در ماهیان سبب ورود این فلزات به زنجیره غذایی انسان به‌واسطه تغذیه از ماهی می‌شود که می‌تواند سلامتی انسان را به خطر اندازد بنابراین، برای تولید اقتصادی ماهی سالم و بهداشتی ضروری است که از عدم آلودگی آب پرورش بچه ماهی کپور معمولی به فلز جیوه اطمینان حاصل کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان در انجام تحقیق و نگارش این مقاله از همکاری و مساعدت کارکنان آزمایشگاه میکروبیولوژی واحد آموزش علوم شیلاتی میرزا کوچک خان و کارگاه مزرعه تلفیقی شالیزار نوین و معاونت تکثیر و پرورش آبزیان اداره کل شیلات استان گیلان بهره‌مند گردیده‌اند که بدین‌وسیله قدردانی می‌گردد.

References

- Abdel-Warith, A.W.A., Younis, E.S.M., Al-Asgah, N.A., Abd-Elkader, M.O. and Elsayed, E.A., 2020. Effects of sub-lethal lead nitrate and copper sulfate concentrations on hematological parameters during long-term exposure in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Scientific & Industrial Research*, 79 (5), pp. 437–441.
- Abedi, Z., Khalesi, M., Kohestan Eskandari, S. and Rahmani, H., 2012. Comparison of lethal concentrations (LC_{50-96h}) of $CdCl_2$, $CrCl_3$, and $Pb(NO_3)_2$ in common carp (*Cyprinus carpio*) and Sutchi Catfish (*Pangasius hypophthalmus*). *Iranian Journal of Toxicology*, 6(18), pp.672–680. (In Persian).
- Adewumi, B., Ogunwole, G.A., Akingunsola, E., Falope, O.C. and Eniade, A., 2018. Effects of sub-lethal toxicity of chlorpyrifos and DDforce pesticides on haematological parameters of *Clarias gariepinus*. *International Research Journal of Public and Environmental Health*, 5(5), pp. 62–71. <http://dx.doi.org/10.15739/irjpeh.18.010>
- Akter, M.S., Ahmed, M.K., Akhand, M.A. and Islam, M.M., 2008. Acute toxicity of arsenic and mercury to fresh water climbing perch, *Anabas testudineus* (Bloch). *World journal of Zoology*, 3(1), pp.13-18.
- AOAC., 2005. Official Methods of Analysis (18th ed.). Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists International.
- Atamanalp, M., Aksakal, E., Kocaman, E.M., Ucar, A., Sisman, T. and Turkez, H., 2011. The alterations in the hematological parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, exposed to cobalt chloride. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(1). 17: S73–S76. <http://dx.doi.org/10.9775/kvfd.2010.3393>
- Balali-Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M.R. and Sadeghi, M., 2021. Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Frontiers in pharmacology*, 12, p.643972. <https://dx.doi.org/10.3389/fphar.2021.643972>
- Barakat, R.O., El Gamal, S.A. and Elgamal, A.E.H.E., 2024. Toxic Effects of Mercuric Chloride ($HgCl_2$) on the Common Carp (*Cyprinus carpio*) Larvae and Recovery Using Selenium and Vitamins. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 28(3), pp.1043-1062. <https://dx.doi.org/10.21608/ejabf.2024.361144>
- Bazoogh Hassan Sarai, D., Tizkar, B., Avakh, M. and Ahmadi, H., 2020. Effect of stocking density on growth and survival indices of common carp fry (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) in fiberglass ponds, *Journal of Animal Environment*, 12(4), pp.285-292. <https://dx.doi.org/10.21608/ejabf.2024.361144.10.22034/AEJ.2020.131170> (In Persian).
- Briffa, J., Sinagra, E. and Blundell, R., 2020. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 6(9). e04691. <https://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691>

- Celik E. S., Kaya H., Yılmaz S., Akbulut M. and Tulgar A. 2013. Effects of zinc exposure on the accumulation, haematology and immunology of Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *African Journal of Biotechnology*, 12(7): 744-753. <https://dx.doi.org/10.5897/AJB12.1408>
- Chen, C.Z., Chai, Y., Wang, Y.J., Li, P., Liu, L. and Li, Z.H., 2023. Physiological and molecular responses in the silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) larvae after acute mercury exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(17), pp.49760-49770. <https://dx.doi.org/10.1007/s11356-023-25842-8>
- de Oliveira Novaes, E., de Oliveira, A.T., Araruna, L.T., de Souza, J.S., de Pinho, J.V., de Almeida Rodrigues, P., Vieira, I.R.S. and Conte-Junior, C.A., 2024. Mercury Levels in the Worldwide Farmed Fish: A Systematic Review. *Biological Trace Element Research*, pp.1-15. <https://dx.doi.org/10.1007/s12011-024-04493-x>
- Dethloff, G.M., Schlenk, D., Khan, S. and Bailey, H.C., 1999. The effects of copper on blood and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 36, pp.415-423. <https://dx.doi.org/10.1007/pl00006614>
- Dhanapakiam, P. and Ramasamy, V.K., 2001. Toxic effects of copper and zinc mixtures on some haematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio* (Linn). *Journal of Environmental Biology*, 22(2), pp.105-111. <https://dx.doi.org/10.3923/jfas.2015.337.346>
- El-Greisy, Z.A. and El-Gamal, A.H.A., 2015. Experimental studies on the effect of cadmium chloride, zinc acetate, their mixture and the mitigation with vitamin C supplementation on hatchability, size and quality of newly hatched larvae of common carp, *Cyprinus carpio*. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 41(2), pp.219-226. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2015.03.007>
- Farombi, E.O., Adelowo, O.A. and Ajimoko, Y.R., 2007. Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. *International journal of environmental research and public health*, 4(2), pp.158-165. <https://dx.doi.org/10.3390/ijerph2007040011>
- Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture*, 500, pp.237-242. <https://dx.doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2018.10.030>
- Feldman B.F., Zinkl J.G. and Jain N.C., 2000. Schalm's Veterinary Hematology, Blackwell Pub, 5th edition, ISBN-13: 978-0683306927.1344 p.
- Folmar, L.C., 1993. Effects of chemical contaminants on blood chemistry of teleost fish: a bibliography and synopsis of selected effects. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 12(2), pp.337-375.
- Guedenon, P., Edorh, A.P., Houunkpatin, A.S.Y., Alimba, C.G., Ogunkanmi, L.A., Nwokejiegbe, E.G. and Boko, M., 2012. Acute toxicity of mercury (HgCl₂) to African Catfish, *Clarias gariepinus*. *Res. J. Chem. Sci.* 2(3), 41-45.
- Haux, C. and Larsson, Å., 1984. Long-term sublethal physiological effects on rainbow trout, *Salmo gairdneri*, during exposure to cadmium and after subsequent recovery. *Aquatic toxicology*, 5(2), pp.129-142. [https://dx.doi.org/10.1016/0166-445X\(84\)90004-3](https://dx.doi.org/10.1016/0166-445X(84)90004-3)
- Hedayati, A. and Safahieh, A., 2012. RETRACTED: Serum hormone and biochemical activity as biomarkers of mercury toxicity in the yellowfin seabream *Acanthopagrus latus*. *Toxicology and Industrial health*, 28(4), pp.306-319. <https://dx.doi.org/10.4172/2161-0495.1000156>(in Persian).
- Hedayati, A., Jahanbakhshi, A., Shaluei, F. and Kolbadinezhad, S.M., 2013. Acute toxicity test of mercuric chloride (HgCl₂), lead chloride (PbCl₂) and zinc sulphate (ZnSO₄) in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Clinical Toxicology*, 3, pp.156-163. <https://dx.doi.org/10.4172/2161-0495.1000156> (in Persian).
- Hedayati, A., Jahanbakhshi, A., Shaluei, F. and Kolbadinezhad, S.M., 2013. Acute toxicity test of mercuric chloride (HgCl₂), lead chloride (PbCl₂) and zinc sulphate (ZnSO₄) in common carp (*Cyprinus carpio*). <https://dx.doi.org/10.4172/2161-0495.1000156>

- Hlavová, V., 1993. Reference values of the haematological indices in grayling (*Thymallus thymallus* Linnaeus). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 105(3), pp.525-532. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(93\)90429-8](https://doi.org/10.1016/0300-9629(93)90429-8)
- Hong, Y.J., Liao, W., Yan, Z.F., Bai, Y.C., Feng, C.L., Xu, Z.X. and Xu, D.Y., 2020. Progress in the research of the toxicity effect mechanisms of heavy metals on freshwater organisms and their water quality criteria in China. *Journal of chemistry*, 2020(1), p.9010348. 1–12. <https://dx.doi.org/10.1155/2020/9010348>
- Hsu, P.C. and Guo, Y.L., 2002. Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology*, 180(1), pp.33-44. [https://dx.doi.org/10.1016/s0300-483x\(02\)00380-3](https://dx.doi.org/10.1016/s0300-483x(02)00380-3)
- Islam, S.M., Rohani, M.F., Zabed, S.A., Islam, M.T., Jannat, R., Akter, Y. and Shahjahan, M., 2020. Acute effects of chromium on hemato-biochemical parameters and morphology of erythrocytes in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. *Toxicology Reports*, 7, pp.664-670 <https://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.04.016>
- Iwama, G. and Nakanishi T., 1996. The fish immune system. Academic Press, London. Chapter 3: innate Immunity in fish, 73-114.
- Javed, M., Ahmad, I., Ahmad, A., Usmani, N. and Ahmad, M., 2016. Studies on the alterations in haematological indices, micronuclei induction and pathological marker enzyme activities in *Channa punctatus* (spotted snakehead) perciformes, channidae exposed to thermal power plant effluent. *SpringerPlus*, 5, pp.1-9. <https://dx.doi.org/10.1186/s40064-016-2478-9>
- Jezińska, B., Ługowska, K. and Witeska, M., 2009. The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). *Fish physiology and biochemistry*, 35(4), pp.625-640. <https://dx.doi.org/10.1007/s10695-008-9284-4>
- Kohlmann, K., Gross, R., Murakaeva, A. and Kersten, P., 2003. Genetic variability and structure of common carp (*Cyprinus carpio*) populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Aquatic Living Resources*, 16, pp.421-431. [https://dx.doi.org/10.1016/S0990-7440\(03\)00082-2](https://dx.doi.org/10.1016/S0990-7440(03)00082-2)
- Lawrence, M.J., Raby, G.D., Teffer, A.K., Jeffries, K.M., Danylchuk, A.J., Eliason, E.J., Hasler, C.T., Clark, T.D. and Cooke, S.J., 2020. Best practices for non-lethal blood sampling of fish via the caudal vasculature. *Journal of Fish Biology*, 97(1), pp.4-15. <https://dx.doi.org/10.1111/jfb.14339>
- Li, P., Feng, X. and Qiu, G., 2010. Methylmercury exposure and health effects from rice and fish consumption: a review. *International journal of environmental research and public health*, 7(6), pp.2666-2691. <https://dx.doi.org/10.3390/ijerph7062666>
- Łuczyńska, J., Paszczyk, B. and Łuczyński, M.J., 2018. Fish as a bioindicator of heavy metals pollution in aquatic ecosystem of Pluszne Lake, Poland, and risk assessment for consumer's health. *Ecotoxicology and environmental safety*, 153, pp.60-67. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.01.057>
- Maheswaran, R., Devapaul, A., Muralidharan, S., Velmurugan, B. and Ignacimuthu, S., 2008. Haematological studies of fresh water fish, *Clarias batrachus* (L.) exposed to mercuric chloride. *International Journal of Integrative Biology*, 2(1), pp.49-54. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737498>
- Majharul Islam S. M., Rohani M. F., Zabed S. A., Islam M. T., Jannat R., Akter Y. and Shahjahan MD. 2020. Acute effects of chromium on hemato-biochemical parameters and morphology of erythrocytes in striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *Toxicology Reports* 7: 664–670. <https://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.04.016>
- Mazid, M.A., Zaher, M., Begum, N.N., Ali, M.Z., Nahar, F., 1997. Formulation of cost-effective feeds from locally available ingredients for carp polyculture system for increased production. *Aquaculture* 151, pp.71-78. [https://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01504-9](https://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01504-9)
- Moffitt, C. M., Cajas-Cano, L., 2014. Blue growth: the 2014 FAO state of world fisheries and aquaculture. *Fisheries* 39(11), pp. 552-553. <https://doi.org/10.1080/03632415.2014.966265>
- Naz, S., Hussain, R., Ullah, Q., Chatha, A.M.M., Shaheen, A. and 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, pp.6533-6539. <https://dx.doi.org/10.1007/s11356-020-10980-0>
- Rahimikia, E., Vali, S., Akbary, P. and Jahanbakhshi, A., 2016. Determination of lethal concentration of mercuric chloride (HgCl₂), chloride lead (PbCl₂) and zinc chloride (ZnCl₂) in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Experimental animal Biology*, 5(1), pp.23-29.(in Persian)
- Rand, G.M. ed., 1995. *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment*. CRC press. Washington D. C. USA. 1125 p.
- Sadeghi, A., & Imanpour, M. R. (2015). Acute toxicity of mercuric chloride (HgCl₂), lead chloride (PbCl₂) and zinc sulfate (ZnSO₄) on silver dollar fish (*Metynnis fasciatus*).
- Seibel, H., Baßmann, B. and Rebl, A., 2021. Blood will tell: what hematological analyses can reveal about fish welfare. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, p.616955. <https://dx.doi.org/10.3389/fvets.2021.616955>
- Svobodova, Z., Vykusova, B., Machova, J., Müller, R. and Lloyd, R., 1994. Sublethal chronic effects of pollutants on freshwater fish. *R. Muller ir R. Lloyd. Lugano*, pp.39-52.
- Tacon, A.G., 2020. Trends in global aquaculture and aquafeed production: 2000–2017. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 28(1), pp.43-56. <https://dx.doi.org/10.1080/23308249.2019.1649634>
- Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K. and Sutton, D.J., 2012. Environmental toxicology. *Molecular, clinical and environmental toxicology, Experientia Supplementum*, 3, pp.133-164. https://dx.doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6
- Teunen, L., De Jonge, M., Malarvannan, G., Covaci, A., Belpaire, C., Focant, J.F., Blust, R. and Bervoets, L., 2021. Effect of abiotic factors and environmental concentrations on the bioaccumulation of persistent organic and inorganic compounds to freshwater fish and mussels. *Science of the total environment*, 799, p.149448. <https://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149448>
- Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., DeNicola D.B., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A. and Weiser G. 2004. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Willey, 2004, ISBN: 0781768500, 9780781768504, 618 p.
- Vander Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N.P., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), pp.57-149. [https://dx.doi.org/10.1016/s1382-6689\(02\)00126-6](https://dx.doi.org/10.1016/s1382-6689(02)00126-6)
- Verep, B., Beşli, E.S., Altinok, I. and Mutlu, C., 2007. Assessment of mercuric chloride toxicity on rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*) and chubs (*Alburnoides bipunctatus*). *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 10(7), pp.1098-1102. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.1098.1102>
- Vieira, L.R., Gravato, C., Soares, A.M.V.M., Morgado, F. and Guilhermino, L., 2009. Acute effects of copper and mercury on the estuarine fish *Pomatoschistus microps*: linking biomarkers to behaviour. *Chemosphere*, 76(10), pp.1416-1427. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.06.005>
- Vosyliënė, M.Z., 1999. The effect of heavy metals on haematological indices of fish (survey). *Acta Zoologica Lituanica*, 9(2), pp.76-82. <https://doi.org/10.1080/13921657.1999.10512290>
- Witeska, M. and Lugowska, K., 2004. The effect of copper exposure during embryonic development on deformations of newly hatched common carp larvae, and further consequences. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities. Series Fisheries*, 7(2)
- Witeska, M., 2005. Stress in fish-hematological and immunological effects of heavy metals. *Electronic journal of ichthyology*, 1(1), pp.35-41.
- Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K. and Bojarski, B., 2022. Hematological methods in fish—Not only for beginners. *Aquaculture*, 547, p.737498. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737498>
- Yuan, D., Huang, L., Zeng, L., Liu, S., He, Z., Zhao, M., Feng, J. and Qin, C., 2017. Acute toxicity of mercury chloride (HgCl₂) and cadmium chloride (CdCl₂) on the behavior of freshwater fish,

Percocypris pingi. *International Journal of Aquaculture and Fishery Sciences*, 3(3), pp.066-070. <https://dx.doi.org/10.17352/2455-8400.000031>