



## تأثیر غلظت‌های تحت کشنده‌ی فلز مس ( $\text{CuSO}_4$ ) در پارامترهای هماتولوژیک خون قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محبوبه خبازی<sup>۱</sup>، محمد هرسبیج<sup>۱</sup>، سید علی اکبر هدایتی<sup>۲</sup>، محمد حسن گرامی<sup>۳\*</sup>، حامد غفاری فارسانی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

<sup>۲</sup> گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

<sup>۳</sup> باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز

<sup>۴</sup> باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیرات غلظت‌های تحت کشنده‌ی ۰/۱۲۵، ۰/۰۳۵، ۰/۰۷۵ و ۰/۱۵ میلی‌گرم بر لیتر فلز مس بر پارامترهای هماتولوژیک خون قزل‌آلی رنگین‌کمان <i>Oncorhynchus mykiss</i> پی‌ریزی شد. نمونه‌ها با میانگین وزنی حدود $18 \pm 3$ گرم به مدت یک هفته در معرض سولفات مس قرار گرفتند. دمای آب در طی دوره آزمایش $14 \pm 1$ درجه سانتی‌گراد، pH ۷-۸/۵ و سختی کل برابر با ۲۷۰ گرم بر لیتر کربنات کلسیم بود. شمارش کلی گلبول قرمز و سفید (RBC)، شمارش کلی و تفریقی گلبول‌های سفید (WBC) هموگلوبین و اندیس‌های گلبولی (MCV، MCH، MCHC) با روش‌های متداول آزمایشگاهی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج آنالیز پارامترهای خونی نشان داد که سولفات مس بر میزان گلبول‌های قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH، MCHC، نوتروفیل و لنفوسیت تأثیر معنی‌داری داشته است و این در حالی است که تأثیرات در میزان ائوزونوفیل و مونوسیت معنی‌دار نبود. در نهایت این پژوهش نشان داد که فاکتورهای خونی این آبی می‌تواند بیومارکر مناسبی جهت بررسی وجود فلز مس در منابع آبی باشند.
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۹۳/۰۳/۱۱	
اصلاح: ۹۳/۰۶/۱۵	
پذیرش: ۹۳/۰۷/۲۵	
کلمات کلیدی:	
شاخص‌های خونی	
قزل‌آلی رنگین‌کمان	
مس	

### مقدمه

مواد فلزی در سرتاسر پوسته زمین وجود دارند و به علت حلالیت بالا، ماهیان به طور مستقیم با آن‌ها در تماس هستند. اگرچه فلز مس در مقادیر کم برای متابولیسم جانوران و گیاهان عالی لازم است (Zhou and Gitschier, 1997) اما با این حال مضرات و اثرات آسیب‌شناختی مقادیر بیش از حد آن در آبریان اثبات شده است (Mustafa et al., 2012; Grosell et al., 2007). فلز مس اثرات مضر بسیاری بر روی ماهیان دارد. این اثرات سوء شامل کاهش سطح آنزیم گلوکوتایون (Speisky et al., 2009)، افزایش اکسیژن‌های فعال از طریق واکنش فنتون مانند (Prousek, 2007) و یا تعامل با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است (Isani et al., 2013). اطلاعات به دست آمده توسط محققان مختلف بر روی گونه‌های دیگر حاکی از تخریب بافت‌ها توسط سولفات مس است. Kumar (۱۹۸۳) گزارش داد که در صورت مسمومیت ماهی تیلاپیا *Tilapia* با سولفات مس ضایعاتی از جمله پرخونی، نکروز بیضه و آتروفی تخمدان مشاهده می‌شود. همچنین Straus (۲۰۰۳) اظهار داشت که تغییرات

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [m.h.gerami@gmail.com](mailto:m.h.gerami@gmail.com)

هیستوپاتولوژی مس بر روی ماهی *Oreochromis niloticus* شامل خونریزی باله‌ها و پرخونی آبشش‌ها بودند. رستمی بشمن و همکاران (۱۳۷۹)، بیان کردند که ماهیان کپور معمولی در معرض فلز مس قرار گرفته، علایمی نظیر چسبندگی لاملاها، پرخونی و خونریزی، آنوریسم و تلانژیکتازی، نفوذ سلولهای آماسی و هیپرپلازی سلولهای پوششی رشته‌های آبششی را بروز دادند. مطالعات در مورد آسیب شناسی بافت‌های ماهی قزل آلا در برابر سولفات مس نشان داده است که این ماده باعث آنوریسم، چماقی شدن یا خون مردگی در تیغه‌های ثانویه آبشش، خون مردگی در بافت مخاطی و تشکیل واکنول در روده، تورم سلول‌های تخریب بافتی جگر، آسیب به اپیتلیوم از توبول‌های کلیه و یا افزایش فضای بومن، آسیب‌های خفیف به بافت مغز و یا تغییر در ضخامت لایه مزنسفالون در ماهی قزل آلا می‌شود (Al-Bairuty et al., 2013).

فلزات سنگین که در اثر فاضلاب‌های صنعتی، شهری و پساب‌های کشاورزی درون منابع آبی انباشته می‌شوند، در برابر تجزیه شدن مقاوم می‌باشند و در بدن آبزیان تجمع می‌یابند. گزارش‌های متفاوتی در مورد تلفات آبزیان به دلیل ورود آلاینده‌های فلزات سنگین به منابع آبی، گزارش شده است (Castro-Gonzalez and Mendez-Armenta, 2008). سولفات مس علاوه بر حضور در فاضلاب‌های صنعتی، از طریق مصرف به عنوان جلبک کش، انگل کش، باکتری کش و قارچ کش در کارگاه‌های پرورشی ماهی، موجب آلودگی آب و ماهی می‌گردند (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۸).

امروزه آبزیان به عنوان سالمترین منابع تغذیه‌ای و پروتئینی بشر، مورد مصرف قرار می‌گیرند. گوشت آبزیان کلسترول پایین و پروتئین بالایی دارد و با وجود اسیدهای چرب غیراشباع با ارزشی نظیر دکوزاهگزانوئیک اسید و ایکوزاپنتانوئیک اسید باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی می‌شود (Ersoy and Çelik, 2009, 2010; Talas and Gulhan, 2009). قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یک گونه‌ی اقتصادی است که به صورت وسیعی در کل جهان تکثیر و پرورش داده می‌شود. این گونه سازگاری بالایی با محیط پرورش داشته و از رشد سریعی برخوردار است. به همین دلیل این گونه جزو متداولترین گونه‌های پرورشی در کل جهان است. مطالعات متعددی بر روی پارامترهای خون شناسی قزل آلا و یا سم شناسی سولفات مس بر روی سایر آبزیان در ایران و دیگر نقاط جهان انجام شده است (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۱؛ رستمی و سلطانی، ۱۳۸۸؛ رستمی بشمن و همکاران، ۱۳۷۹؛ Khabbazi et al., 2011; Li et al., 2011; Isani et al., 2013; Handy et al., 2011a, 2014b). اما با این حال اطلاعات در مورد تاثیر سمیت فلز مس بر روی پارامترهای خونی ماهی قزل‌آلا کمیاب است. بنابراین این پژوهش با هدف بررسی تغییرات در پارامترهای خون شناسی ماهی قزل آلا در مواجهه با فلز مس ( $\text{CuSO}_4$ ) پی ریزی شد.

## مواد و روش‌ها

تعداد ۱۵۵ ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی حدود  $18 \pm 3$  گرم تهیه و پس از انتقال به مرکز آزمایشگاه آبزیان دانشگاه گنبد کاووس به طور تصادفی در ۱۵ آکواریوم شامل یک تیمار شاهد و چهار تیمار با غلظت‌های مختلف سولفات مس (هرکدام در ۳ تکرار) قرار داده شد. ماهیان به منظور سازش با موقعیت جدید به مدت یک هفته نگهداری شدند. به این ترتیب تیمار اول با غلظت ۰/۰۱۲۵، تیمار دوم با غلظت ۰/۰۳۷، تیمار سوم با غلظت ۰/۰۷۵ و تیمار چهارم با غلظت ۰/۱۵ میلی گرم بر لیتر انتخاب شد. غلظت‌های تحت کشنده براساس ۵۰ درصد غلظت کشندگی فلز مس برای قزل آلا تهیه شد (Brown and Dalton, 1970; Herbert and Van Dyke, 1964). غذاهای درطول دوره آزمایش صورت نگرفت. دمای آب در طی دوره آزمایش  $14 \pm 1$  درجه سانتی گراد، pH آب ۷-۸/۵ و سختی کل برابر با ۲۷۰ گرم بر لیتر کربنات کلسیم بود. در طی هفت روز آزمایش، حتی‌المقدور شرایط فیزیکیوشیمیایی را کنترل نموده و تمام شرایط در طی دوره آزمایش یکسان نگهداری شد تا تنها عامل متغیر، دوزهای مختلف آلودگی باشد (Di Giulio and Hinton, 2008).

پس از صید ماهیان و بیهوش کردن آنان توسط محلول پودر گل میخک، خونگیری با روش قطع ساقه دم با لوله‌ی موئینه انجام پذیرفت. سپس پارامترهای هماتولوژیک خون شامل شمارش کلی گلبول قرمز (RBC)، شمارش کلی گلبول سفید (WBC) به روش هموسیتومتر با استفاده از لام نئوبار و محلول رقیق کننده‌ی نات‌هریک (Nath-Herrick)، هماتوکریت به روش

میکروهماتوکریت، هموگلوبین به روش سیان‌مت‌هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC اندازه‌گیری شدند (Decie and Lewis, 1991). همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل لنفوسیت، ائوزونوفیل، نوتروفیل و لنفوسیت نیز پس از تهیه‌ی گسترش خون و رنگ آمیزی با گیسما با شمارش یکصد گلبول سفید و تعیین درصد هریک از گلبول‌های سفید صورت گرفت (خواجه و همکاران، ۱۳۸۹). پس از بررسی نتایج آنالیز پارامترهای خونی، اطلاعات توسط نرم‌افزار SPSS 18 و آنالیز آماری One-Way ANOVA و تست توکی در سطح اطمینان ۵ درصد ( $P \leq 0.05$ )، آنالیز شدند. جهت رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار اکسل ۲۰۰۷ استفاده شد.

## نتایج

تغییرات ایجاد شده در پارامترهای خون شناسی ماهیان در معرض قرار گرفته‌ی سولفات مس در غلظت‌های متفاوت به مدت یک هفته، در جدول ۱ به نمایش در آمده است. به جز پارامتر مونوسیت و ائوزونوفیل، مابقی پارامترها اختلاف معنی داری را بین غلظت‌های مختلف نشان دادند ( $P \leq 0.05$ ). با توجه به جدول ۱، پارامترهای WBC یک سیر صعودی را نسبت به گروه شاهد داشته در حالی که RBC یک سیر صعودی و سپس نزولی را نشان داد. همچنین MCH و MCHC در دوزهای ۰/۰۳۷، ۰/۰۷۵ و ۰/۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. تغییرات میزان MCV به این شکل بود که در سه دوز ۰/۰۳۷، ۰/۰۷۵ و ۰/۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر، کاهش و در دوز ۰/۰۳۷ میلی‌گرم در لیتر، افزایش نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. در ادامه نیز شمارش گلبول‌های سفید خون نشان داد که تعداد لنفوسیت‌ها در هر چهار دوز کاهش معنی دار و تعداد نوتروفیل‌ها افزایش معنی داری را نسبت به گروه شاهد دارا بودند. به این شکل که با افزایش دوز سولفات مس تعداد لنفوسیت کاهش و تعداد نوتروفیل افزایش یافت (جدول ۱).

جدول ۱. پارامترهای خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مواجهه با ۴ غلظت از سولفات مس. هر کدام از مقادیر میانگین  $\pm$  انحراف معیار هستند.

پارامترهای خونی	شاهد	۰/۰۳۷ mg/l	۰/۰۷۵ mg/l	۰/۱۲۵ mg/l	۰/۱۵ mg/l
RBC* ( $10^6 \text{ mm}^3$ )	۰/۱۱ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۲۵ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۳۱ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۴۵ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۱۴ $\pm$ ۰/۰۵
WBC* ( $10^3 \text{ mm}^3$ )	۲۰۴/۰۳ $\pm$ ۲/۸	۲۰۸/۹۳ $\pm$ ۱/۹	۲۱۵/۶۳ $\pm$ ۵/۰۲	۲۲۳ $\pm$ ۳/۰۵	۲۴۱/۰۷ $\pm$ ۲/۵۶
MCH* ( $10^{-5} \text{ pg}$ )	۳۹۳/۷ $\pm$ ۱۵/۶۴	۱۹۶/۹۳ $\pm$ ۹/۹۷	۱۹۶/۹۳ $\pm$ ۷/۴۶	۱۳۳/۹۶ $\pm$ ۴/۷۵	۸۵۷/۳۱ $\pm$ ۳۷/۶۰
MCHC* (%)	۲۱۶/۵ $\pm$ ۴/۸۶	۱۰۳/۴۶ $\pm$ ۵/۸۱	۹۱/۳ $\pm$ ۳/۶۷	۷۳/۸۳ $\pm$ ۴/۲	۴۷۶/۶۶ $\pm$ ۲۷/۱۵
MCV* (%)	۱۹۶/۸۱ $\pm$ ۴/۰۲	۱۹۱/۸۶ $\pm$ ۲/۴	۲۰۶/۰۶ $\pm$ ۶/۳۵	۱۸۵/۳ $\pm$ ۵/۸۳	۱۸۶/۹۳ $\pm$ ۲/۴۹
هموگلوبین* (g/100ml)	۵/۲۰ $\pm$ ۰/۱۷	۵/۴۶ $\pm$ ۰/۳۲	۶/۱۳ $\pm$ ۰/۱۵	۶/۲ $\pm$ ۰/۲	۷/۴۳ $\pm$ ۰/۳۲
هماتوکریت* (%)	۲/۳۶ $\pm$ ۰/۱۱	۴/۸ $\pm$ ۰/۳۶	۶/۵ $\pm$ ۰/۳۴	۸/۵ $\pm$ ۰/۶	۱/۸ $\pm$ ۰/۳۲
لنفوسیت* (%)	۷۳/۶۶ $\pm$ ۱/۱۵	۷۱/۳۳ $\pm$ ۱/۱۵	۷۰/۶۶ $\pm$ ۱/۱۵	۶۷ $\pm$ ۱	۶۴/۳۳ $\pm$ ۱/۵۲
مونوسیت (%)	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷	۱ $\pm$ ۰	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷	۱ $\pm$ ۱	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷
ائوزونوفیل (%)	۲/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷	۲/۳۳ $\pm$ ۱/۵۲	۲/۶۶ $\pm$ ۰/۵۷	۱/۳۳ $\pm$ ۱/۵۲	۰/۶۶ $\pm$ ۰/۵۷
نوتروفیل* (%)	۲۱/۳۳ $\pm$ ۱/۱۵	۲۳/۶۶ $\pm$ ۱/۱۵	۲۵/۳۳ $\pm$ ۱/۱۵	۳۰/۶۶ $\pm$ ۱/۵۲	۳۳/۶۶ $\pm$ ۰/۵۷

\* بیانگر اختلاف معنی‌دار بین مقادیر ( $P < 0.05$ )

## بحث

مسمومیت با فلز مس در گزارش‌های مختلفی آمده است. در واقع سمیت مس در حد گرم تا پایین تر از آن در حد میکروگرم در لیتر، به اثبات رسیده است (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۸). فلزات سنگین در غلظت‌های پایین‌تر در بافتهای ماهی تجمع می‌یابند در حالی که غلظت‌های بالا باعث مرگ و میر در ماهیان می‌شود (Heath, 1995). تغییرات در خصوصیات کمی و کیفی سلولهای خونی زمانی رخ می‌دهد که یک عامل ناهنجار سیر طبیعی را به هم بزند (Landis and Yu, 2004). در واقع تغییر در پارامترهای خونی (تعداد RBC، میزان غلظت هموگلوبین و هماتوکریت) نشان دهنده‌ی دومین سطح پاسخ موجود زنده به

عامل تحریک کننده هستند (Rogers *et al.*, 2003). آنالیزهای آماری نشان داد که میزان RBC خون گروه شاهد به طور معنی‌داری با سه تیمار دیگر تفاوت دارد. Thomas and Egee (1998) اظهار داشتند که حمل و نقل اکسیژن ( $O_2$ ) و دی‌اکسید کربن ( $CO_2$ ) در خون، به طور ظریف و پیچیده‌ای به وضعیت اسید و باز و الکترولیت سلول‌های قرمز خون وابسته است. به همین دلیل کاهش در تعداد RBC می‌تواند باعث محدودیت‌های تنفسی شود. در واقع یکی از دلایل تغییر در تعداد RBC در خون، تجمع گلبول‌های قرمز در آبشش ماهیان در معرض استرس ناشی از آلاینده می‌باشد که سبب کاهش تعداد آنها در خون می‌شود (Narain and Srivastava, 1989). البته مشاهده‌ی کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌تواند ناشی از مرگ آنها در معرض آلاینده باشد (Kudirat-Adeyemo, 2007). همچنین در مطالعه دیگری توسط Lopez (1995) با موضوع تعیین اثر pH در سمیت کادمیوم، بیان شد که رقیق شدن خون نیز می‌تواند عاملی برای کاهش تعداد گلبول قرمز خون باشد. البته تغییرات میزان RBC در این تحقیق به صورت افزایشی و سپس در دوز آخر با کاهش ناگهانی همراه بود که ممکن است به این دلیل باشد که در سه دوز اولیه از فلز مس، ماهی قزل آلا تحت تأثیر قرار گرفته و با افزایش تولید گلبول‌های قرمز خون سعی در افزایش تنفس در برابر محرک خارجی را داشته است ولی در دوز آخر که غلظت فلز مس افزایش پیدا می‌کند، به تدریج فلز مس باعث تخریب گلبول‌های قرمز شده است. Çiftçi و همکاران (2008)، اظهار داشتند که در شرایط هایپوکسی در اثر سمیت با فلزات، به دلیل محدودیت‌های تنفسی، بافت‌های تولیدکننده‌ی گلبول‌های قرمز نظیر طحال، تولید گلبول قرمز کرده و آنها را وارد چرخه‌ی گردش خون می‌کنند. نتایج نشان داد که میزان هموگلوبین و هماتوکریت در تیمارهای مورد بررسی نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بودند با این تفاوت که میزان هماتوکریت همچون RBC یک سیر افزایش و سپس کاهش، و میزان هموگلوبین یک سیر افزایشی را داشته است. نتایج مشابه در تحقیقات دیگر با هدف بررسی تأثیر فلز مس بر پارامترهای خونی دیگر آبزیان نشان می‌دهد که در غلظت‌های بالاتر از ۰/۱۵ میلی‌گرم بر لیتر فلز مس (تیمار چهارم)، میزان RBC، هموگلوبین و هماتوکریت کاهش می‌یابد (Singh, *et al.*, 2008; Goel and Sharma, 1987, 1985). عموماً تغییرات هموگلوبین و هماتوکریت در ارتباط با تغییرات RBC است. Singh و Sirvastava (2010)، اظهار داشتند که تغییر در میزان هموگلوبین می‌تواند به سبب تغییر در تعداد گلبول‌های قرمز باشد. از آنجا که هموگلوبین در داخل گلبول‌های قرمز است پس اختلالات گلبول‌های قرمز می‌تواند در آن تأثیر بگذارد. به عنوان مثال کاهش هموگلوبین می‌تواند ناشی از پاره شدن گلبول قرمز باشد (Olodade and Ogini, 2010). علاوه بر این Banaee و همکاران (2008)، بیان کردند عواملی که باعث تغییر در اندازه یا تعداد گلبول‌های قرمز می‌شوند، می‌توانند باعث تغییر در میزان هماتوکریت شوند و اگر آلاینده‌ای توانایی ایجاد تأثیر در گلبول‌های قرمز ارگانیک را داشته باشد، هماتوکریت خون آن نیز کاهش می‌یابد و سنجش آن می‌تواند در تشخیص بیماری مؤثر باشد. همچنین Gill و Pant (1985)، بیان داشتند که میزان سلول‌های ساخته شده‌ی اندام‌های تولیدکننده‌ی گلبول‌های قرمز، در تعیین میزان هماتوکریت تأثیر مستقیم دارند. در نهایت می‌توان سیر کاهشی افزایشی هماتوکریت را به همین سیر در پارامتر RBC نسبت داد. کاهش هماتوکریت ماهیان در مواجهه با فلز مس در *Ciprinus Carpio* (Dhanapakiam and Ramasamy, 2001)، فلز کادمیوم در *Anguilla rostrata* (Gill *et al.*, 1993) و سرب در *Tinca tinca* (Shah, 2006) گزارش شده است.

تعداد گلبول‌های سفید موجود در خون به دلیل برخی بیماری‌ها یا محرک‌ها ممکن است کاهش یا افزایش یابد (Banaee *et al.*, 2008). نتایج بیانگر اختلاف معنی‌دار بین دو نوع از گلبول‌های سفید (لنفوسیت و نوتروفیل) است (جدول ۱). همچنین میزان کلی گلبول‌های سفید نشانگر افزایش آنها در تیمارهای مورد بررسی است. Remyła و همکاران (۲۰۰۸)، بیان کرد زمانی که ماهی در برابر استرس قرار می‌گیرد، سیستم ایمنی بدن خود را در مواجهه با آلاینده تقویت می‌کند و با شرایط سازگار می‌شود. تغییرات در تعداد گلبول‌های سفید خون نشانگر تخریب در عملکرد اندام‌های تولید آنها نظیر کلیه یا طحال؛ و یا نشانگر ابتلا به برخی از بیماری‌های عفونی است. Al-Bairuty و همکاران (2013) تخریب بافت پوششی سلول‌های لوله‌ای کلیه (Renal tubule) و تغییر در فضای بومن (the Bowman's space) را در مواجهه ماهی قزل آلا با فلز مس گزارش کردند. Kosai و همکاران (2009)، اظهار داشتند که ۷ روز مواجهه‌ی ماهی *Oreochromis niloticus* با ۴۶ میلی‌گرم بر لیتر فلز مس باعث تورم لوله‌های توبولار، آتروفی گلومرول و نکروز بافت کلیوی شد. اگر لنفوسیت از حد طبیعی آن پایین‌تر رود، نشان دهنده‌ی

نقص در سیستم ایمنی بدن است و ماده‌ی مخرب وارد شده به بدن می‌تواند ذخیره لنفوسیت بدن را کاهش دهد (Banaee *et al.*, 2008). کاهش میزان لنفوسیت در مواجهه با فلز مس در آبزیان توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است (Mazon *et al.*, 2002; Mishara and Srivastava, 1980; Dick and Dixton, 1985; Svobodová *et al.*, 1994). وظیفه‌ی نوتروفیل‌ها فاگوسیتوز عامل خارجی است (Barnhoorn, 1996). در واقع علت افزایش آنها می‌تواند به دلیل مقابله با عامل خارجی (فلز مس) باشد. Banaee و همکاران (2008)، بیان کردند که اکثر عفونت‌ها باعث افزایش نوتروفیل و نوتروفیلی شدن خون (neutrophilia) می‌شوند. میزان این افزایش نشان دهنده‌ی شدت عفونت است. همچنین مسمومیت‌ها و بیماری‌های شدید، مانند نارسایی کلیه باعث نوتروفیلی شدن می‌شوند (Holland *et al.*, 1997).

در مجموع این تحقیق نشان داد که غلظت تحت‌کشنده‌ی فلز مس تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای خون شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد. فلز مس به صورت اکسید مس (CuSo4) در طبیعت وجود دارد که به طور عمده جهت کنترل جلبک‌ها در آبروی پروری و نیز درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده می‌شود (Griffin and Mitchell, 2007, Isani *et al.*, 2013). البته ذکر این نکته قابل توجه است که pH و سختی آب دو عامل اصلی در میزان سمیت فلز مس هستند (Lloyd, 2006; Howarth and Sprague, 1978; Yim and Kim, 2006; Mount, 1966; Howarth and Sprague, 1978; Kim and Yim, 2006). بیان کردند که این پدیده به دلیل تأثیر بیولوژیکی نفوذپذیری غشای سلولی است. به این صورت که با افزایش سختی آب، جذب یونهای کلسیم و منیزیم توسط غشا بیشتر شده و در نتیجه نفوذپذیری یونهای فلزات کاهش می‌یابد. بنابراین، نتایج این آزمایش با سختی کل برابر با ۲۷۰ گرم بر لیتر کربنات کلسیم مورد تأیید می‌باشد.

## منابع

- رستمی، م.، سلطانی، م. ۱۳۸۸. مطالعه‌ی اثرات بافتی دوز مزمن سولفات مس بر برخی اندام‌های ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی. سال شصت و چهارم، شماره ۳، صفحات ۱۹۸-۱۹۳.
- خواجه، غ.، مصباح، م.، نیک‌مهر، ص.، سبزواری زاده، م. ۱۳۸۹. مطالعه پارامترهای خون شناسی ماهی شیریت (*Barbus grypus*) پرورشی. مجله تحقیقات دامپزشکی. سال شصت و پنجم، شماره ۳، صفحات ۲۲۴-۲۱۷.
- رحیمی، م.، سوداگر، م.، اورجی، ح.، حسینی، س. ع.، تقی زاده، و. ۱۳۹۱. تأثیر ویتامین C بر پارامترهای خونی، رشد و پاسخ به استرس دمایی در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله تحقیقات دامپزشکی. سال شصت و هفتم، شماره ۴، صفحات ۳۸۰-۳۷۳.
- رستمی بشمن، م.، سلطانی، م.، ساسانی، ف. ۱۳۷۹. مطالعه‌ی اثرات هیستوپاتولوژی برخی از فلزات سنگین (سولفات مس، سولفات روی و سولفات جیوه-کلرور کادمیوم) بر بافتهای ماهی کپور معمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی. سال پنجاه و پنجم، شماره ۴، صفحات ۳-۱.

- Al-Bairuty, G.A., Shaw, B.J., Handy, R., Henry, T. 2013. Histopathological effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on the organs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology. 126: 104-115.
- Banaee, M., Mirvagefei, A.R., Rafei, G.R., Majazi Amiri, B. 2008. Effect of sub-lethal diazinon concentration on blood plasma biochemistry. International Journal of Environmental Research. 2(2): 189- 198.
- Barnhoorn, I.E.J. 1996. Effects of manganese on the haematology of *Oreochromis mossambicus* and the bioaccumulation of metals in *Labeo umbratus*. M.Sc. Thesis, Rand Afrikaans University. 68 p.
- Brown, V.M., Dalton, R.A. 1970. The acute lethal toxicity to rainbow trout of mixtures of copper, phenol, zinc and nickel. Journal of Fish Biology. 2(3): 211-216.
- Castro-Gonzalez, M.I., Mendez-Armenta, M. 2008. Heavy metals: Implications associated to fish consumption. Environmental Toxicology and Pharmacology. 26: 263-71.
- Çiftçi, N., Cıçık, B., Erdem, C., Ay, O. 2008. Effects of lead concentration on sera parameters and hematocrit levels in *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758). Journal of Fisheries Sciences. 2(4): 616-622.
- Decie, S.I.V., Lewis, S.M. 1991. Practical Hematology. 7<sup>th</sup> edition. Churchill Livingstone, London/Melbourne/New York. 629 P.

- Dhanapakiam, P., Ramasamy, V.K. 2001. Toxic effects of copper and zinc mixtures on some haematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio* (L.). *Journal of Environmental Biology*. 22(2): 105-111.
- Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. 2008. *The Toxicology of Fishes*. Taylor and Francis. 9: 319-884.
- Dick, P.T., Dixon, D.G. 1985. Changes in circulating blood cell levels of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, following acute and chronic exposure to copper. *Journal of Fish Biology*. 26: 475-484.
- Ersoy, B., Çelik, M. 2009. Essential elements and contaminants in tissues of commercial pelagic fish from the Eastern Mediterranean Sea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 89: 1615-1621.
- Ersoy, B., Çelik, M. 2010. The essential and toxic elements in tissues of six commercial demersal fish from Eastern Mediterranean Sea. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 1377-1382.
- Gill, T.S., Leitner, G., Porta, S., Epple, A. 1993. Response of plasma cortisol to environmental cadmium in the eel, *Anguilla rostrata* LeSueur. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 104(3): 489-495.
- Gill, T.S., Pant, J.C. 1985. Erythrocytic and leucocytic responses to cadmium poisoning in a freshwater fish *Puntius conchonius* Ham. *Environmental Research*. 30: 327-337.
- Goel, K.A., Sharma, S.D. 1987. Some haematological characteristics of *Clarias batrachus* under metallic stress of arsenic. *Comparative Physiology & Ecolog*. 12: 63-66.
- Goel, K.A., Gupta, K., Sharma, M.L. 1985. Haematological characteristic of *Heteropneustes fossilis* under the stress of zinc. *Indian Journal of Fisheries*. 36: 186-188.
- Griffin, B.R., Mitchell, A.J. 2007. Susceptibility of channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), to *Edwardsiella ictaluri* challenge following copper sulphate exposure. *Journal of Fish Diseases*. 30: 581-585.
- Grosell, M., Blanchard, J., Brix, K.V., Gerdes, R. 2007. Physiology is pivotal for interactions between salinity and acute copper toxicity to fish and invertebrates. *Aquatic Toxicology*. 84: 162-172.
- Handy, R.D., Al-Bairuty, G., Al-Jubory, A., Ramsden, C.S, Boyle, D., Shaw, B.J., Henry, T.B. 2011. Effects of manufactured nanomaterials on fishes: a target organ and body systems physiology approach. *Journal of Fish Biology*. 79: 821-853.
- Heath, A.G. 1995. *Water pollution and fish physiology*. CRC Press Inc. Florida, USA. 359 p.
- Herbert, D.W.M., Van Dyke, J.M. 1964. The toxicity to fish to mixtures of poisons. Part II. Copper-ammonia and zinc-phenol mixtures. *Annals of Applied Biology*. 53:415-421.
- Holland, M.M., Steven, M., Gallin, J.I. 1997. Disorders of Granulocytes and Monocytes. In: Fauci, A.S. (eds.), *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York, McGraw-Hill. 2800 P.
- Howarth, R.S., Sprague, J.B. 1978. Copper lethality to rainbow trout in waters of various hardness and pH. *Water Research*. 12: 455-462.
- Isani, G., Letizia Falcioni, M., Barucca, G., Sekar, D., Andreani, G., Carpenè, E., Falcioni, G. 2013. Comparative toxicity of CuO nanoparticles and CuSO<sub>4</sub> in rainbow trout. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 97: 40-46.
- Khabbazi, M., Harsij, M., Hedayati, S.A.A., Gholipour, H., Gerami, M.H., Ghafari-Farsani, H. 2014a. Effect of CuO nanoparticles on some hematological indices of rainbow trout *oncorhynchus mykiss* and their potential toxicity. *Nanomedicine Journal*. 2(1): 67-73.
- Khabbazi, M., Harsij, M., Hedayati, S.A.A., Gerami, M.H., Ghafari-Farsani, H. 2014b. Histopathology of rainbow trout gills after exposure to copper. *Iranian Journal of Ichthyology*. 1(3): 191-196.
- Kosai, P., Jiraungkoorskul, W., Thammasunthorn, T., Jiraungkoorskul, K. 2009. Reduction of copper-induced histopathological alterations by calcium exposure in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Toxicology Mechanisms and Methods*. 19: 461-467.
- Kudirat Adeyemo, O. 2007. Haematological profile of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) exposed to lead. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 7: 163-169.
- Kumar, V.G.S. 1983. Effect of heavy metal pollution on growth, carotenoid content and bacterial flora in fish. *Current Science*. 81: 819-827.
- Landis, W.G., Yu, M. 2004. *Introduction to environmental toxicology*. CRC Press. 509 p.
- Li, Z., Velisek, J., Zlabek, V., Grabic, R., Machova, J., Kolarova, J., Li, P., Randak, T. 2011. Chronic toxicity of verapamil on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects on morphological indices, hematological parameters and antioxidant responses. *Journal of Hazardous Materials*. 185(2-3): 870-880.

- Lloyd, R. 1965. Factors that affect the tolerance of fish to heavy metal poisoning. *Biological Problems in Water Pollution, Third Seminar, 1962 U.S. Public Health Services Publicatio. No. 999-WP-25.* pp. 181-187.
- Lopez, N.C. 1995. Changes in the hematological characteristics of *Oreochromis niloticus* exposed to sublethal levels of cadmium. *Science Diliman. 7:* 22-29.
- Mazon, A.F., Monterio, E.A., Pinherio, G.H.D., Fernandes, M.N. 2002. Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. *Brazilian Journal of Biology. 62(4A):* 621-631.
- Mishara, S., Srivastava, A.K. 1980. The acute toxic effects of copper on the blood of a teleost. *Ecotoxicology and Environmental Safety. 4:* 191-194.
- Mount, D.I. 1966. The effect of total hardness and pH on acute toxicity of zinc to fish. *Water, Air, & Soil Pollution. 10:* 49-56.
- Mustafa, S.A., Davies, S.J., Jha, A.N. 2012. Determination of hypoxia and dietary copper mediated sub-lethal toxicity in carp, *Cyprinus carpio*, at different levels of biological organisation. *Chemosphere. 87:* 413-422.
- Narain, A.S., Srivastava, P.N. 1989. Anemia in the freshwater teleost, *Heteropneustes fossilis*, under the stress of environmental pollution. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 43:* 627-634.
- Prousek, J. 2007. Fenton chemistry in biology and medicine. *Pure and Applied Chemistry. 79:* 2325–2338.
- Remyla, S.R., Ramesh, M., Sajwan, K.S., Senthil Kumar, K. 2008. Influence of zinc on cadmium induced haematological and biochemical responses in a freshwater teleost fish *Catla catla*. *Fish Physiology and Biochemistry. 34:* 169-174.
- Rogers, J.T., Richards, J.G. Wood, C.M. 2003. Ionoregulatory disruption as the acute toxic mechanism for lead in the rainbow trout. *Aquatic Toxicology. 64(2):* 215-34.
- Shah, S.L. 2006. Hematological parameters in tench *Tinca tinca* after short term exposure to lead. *Journal of Applied Toxicology. 26:* 223-228.
- Singh, D., Nath, K., Trivedi, S.P., Sharma, Y.K. 2008. Impact of copper on haematological profile of freshwater fish, *Channa punctatus*. *Journal of Environmental Biology. 29(2):* 253-257.
- Singh, N.N., Srivastava, A.K. 2010. Haematological parameters as bioindicators of insecticide exposure in teleosts. *Ecotoxicology. 19:* 838-854
- Speisky, H., Gómez, M., Burgos-Bravo, F., López-Alarcón, C., Jullian, C., Olea-Azar, C., Aliaga, M.E. 2009. Generation of superoxide radicals by copper-glutathione complexes: redox-consequences associated with their interaction with reduced glutathione. *Bioorganic & Medicinal Chemistry. 17:* 1803-1810.
- Straus, D. 2003. The acute toxicity of copper to blue tilapia in dilutions of settled pond water. *Aquaculture. 219:* 233-240.
- Svobodová, Z., Vykusova, B., Machova, J. 1994. The effects of pollutants on selected haematological and biochemical parameters in fish. In: Müller, R., Lloyd, R. (eds.), *Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish*. Fishing New Books, London. 384 P.
- Talas, Z.S., Gulhan, M.F. 2009. Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety. 72:* 1994–1998.
- Thomas, S., Egee, S. 1998. Fish Red Blood Cells: Characteristics and Physiological Role of the Membrane Ion Transporters. *Comparative Biochemistry and Physiology. 119A:* 79-86.
- Yim, J.H., Kim, S.D. 2006. Effects of hardness on acute toxicity of metal mixtures using *Daphnia magna*. *Journal of Hazardous Materials. 138:* 16-21.
- Zhou, B., Gitschier, J. 1997. HCTR1: A human gene for copper uptake identified by complementation in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 94:* 7481-7486.