

مقاله پژوهشی

اثر سطوح مختلف زیر غلظت کشنده (LC₅₀96h) فلز سنگین روی بر رشد،
بازماندگی و برخی شاخص‌های خونی بچه‌ماهی انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان
(*Oncorhynchus mykiss*)

مهران آوخ کیسمی^{۱*}، مریم آوخ کیسمی^۲، افشار ذوقی شلمانی^۳، محمد رهاننده^۳

DOI: 10.22124/japb.2025.29778.1562

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۳

چکیده

این پژوهش به منظور ارزیابی تاثیر فلز سنگین روی بر شاخص‌های رشد، تغذیه، درصد بازماندگی و برخی شاخص‌های خونی بچه‌ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام گرفت. تعداد ۵۴۰ قطعه ماهی (۲۰/۱۹±۲/۴۵ گرم) به چهار تیمار و سه تکرار (۴۵ قطعه در هر تکرار) تقسیم شدند. تیمارهای ۱ تا ۴ به ترتیب با جیره‌های یکسان و آب حاوی ۰، ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد غلظت LC₅₀96h (۹/۴ میلی‌گرم در لیتر) فلز روی به مدت ۸ هفته پرورش داده شدند. نتایج نشان داد افزودن روی به آب تاثیر معنی‌داری در کاهش درصد بازماندگی بچه‌ماهیان داشت ($P<0/05$). تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای آزمایشی ۲۵ و ۵۰ درصد غلظت فلز روی در مقایسه با تیمار صفر درصد روند کاهشی داشت ($P>0/05$). گلبول‌های سفید در تیمارهای آزمایشی ۲۵ و ۵۰ درصد غلظت فلز روی کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار صفر درصد نشان دادند ($P<0/05$). در تیمار ۵ درصد، گلبول‌های قرمز و سفید نسبت به تیمارهای دیگر افزایش داشتند ($P<0/05$). روی در تیمار ۵ درصد بر متغیرهای رشد و شاخص‌های خونی تاثیر مثبت داشت. بین تیمارهای ۲۵ و ۵۰ درصد در متغیرهای رشد و تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و شاخص‌های گلبولی با تیمارهای ۰ و ۵ درصد، تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P<0/05$). به طور کلی، قرار گرفتن بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در معرض فلز روی در سطح بالای ۵ درصد غلظت LC₅₀96h باعث تغییر در مقدار شاخص‌های خونی، رشد و درصد بازماندگی این ماهی شد. بنابراین نظارت بر کیفیت آب از نظر آلودگی روی، برای تولید اقتصادی و بهداشتی این ماهی ضروری است.

واژگان کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، روی، رشد، درصد بازماندگی، شاخص‌های خونی.

۱- دانشیار گروه شیلات و آبزیان، واحد آموزش علوم شیلاتی میرزا کوچک خان، مرکز تحقیقات گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوفیزیک، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران.

۳- استادیار گروه شیلات و آبزیان، واحد آموزش علوم شیلاتی میرزا کوچک خان، مرکز تحقیقات گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول: dr.keysami@gmail.com

مقدمه

و ذخیره شوند که خطر سمی بودن حاد، مزمن و آثار ژنتیکی نامطلوب را به همراه دارد (Witeska et al., 2022). فلزات سنگین به علت سمیت و توان تجمع زیستی در گونه‌های مختلف آبزی و حتی به دلیل وارد شدن به زنجیره‌های غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. چنانچه میزان این عناصر به دلایلی از حدود معین فراتر روند، باعث به مخاطره افتادن حیات آبزیان می‌شود (Seibel et al., 2021; Teunen et al., 2021). فلزات سنگین از جمله سرب، روی، کادمیم، مس، آهن و آلومینیوم از مهم‌ترین آلودگی‌های آب محسوب می‌شوند که به دو صورت محلول و نامحلول در پساب‌های شهری وجود دارند (Loganathan et al., 2009).

سمیت یک آلاینده از طریق آزمایش سنجش زیستی ارزیابی می‌شود که به وسیله آن غلظت لازم برای 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). فلز روی ماده‌ای است که گسترش زیادی در شکل‌های مختلف در آب‌های شیرین و اکوسیستم‌های آبی دیگر دارد. علاوه بر تهیه وسایل خانگی، برای

گرچه استفاده از فناوری‌های نوین در ارتباط با بهینه‌سازی تغذیه و غذا برای پرورش گونه‌های مهم ماهیان پرورشی اهمیت دارد، اما بهینه‌سازی محیط‌زیست پرورش آبزی در افزایش بهره‌وری و کاهش هزینه تولید از جمله موارد مهم در آبزی‌پروری پایدار است (Maheswaran et al., 2008; Li et al., 2010; Hicks et al., 2019; Mohanty et al., 2019; Majharul Islam et al., 2020; Tacon, 2020). اکوسیستم‌های آبی پیوسته با مشکلاتی مانند آلودگی با آلاینده‌های مختلف روبه‌رو هستند و در بین آنها فلزات سنگین و ترکیبات آنها نقش به‌سزایی در آلودگی دارند که برای سیستم‌های زیست‌محیطی، بیگانه و زیان‌آور هستند و اغلب به آب‌ها رها و وارد زنجیره غذایی اکوسیستم‌های آبی شده و مشکل‌آفرین می‌شوند (FAO, 2020). از جمله مشکلاتی که پژوهشگران برای برخی فلزات سنگین گزارش کرده‌اند آن است که کادمیم، مس، روی، سرب و جیوه، عبوری سریع در زنجیره غذایی دارند (Sheikh and Ahmed, 2016; Witeska et al., 2022). به طور کلی، عدم تجزیه‌پذیری و مقاومت در برابر تغییرات زیستی و محیطی باعث می‌شود که بیشتر فلزات در بافت‌های چرب مصرف‌کنندگان، تجمع یافته

ساخت حشره کش ها، قارچ کش ها، علف کش ها و حتی از بین بردن جلبک ها از ترکیبات روی استفاده می شود. افزایش غلظت روی در سیستم های آبی به دلیل مصرف انسان از غذاهای دریایی منجر به نگرانی هایی در مورد سلامتی انسان شده است (Briffa et al., 2020; Balali-Mood et al., 2021).

اگرچه اغلب مطالعات انجام شده درباره تاثیر فلزات سنگین بر شاخص های خونی بر روی ماهی آزاد (*Salmo salar*) و گربه ماهی (*Silurus glanis*) در مزارع تکثیر و پرورش، انجام شده است (Vosyliene, 1999)، اما نتایج مربوط به تغییرات شاخص های خونی ماهی آزاد تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی (فلزات سنگین) می تواند در مورد گونه های دیگر ماهی هم به کار رود (Folmar, 1993). در بررسی اثر مخلوط ۵ فلز سنگین (مس، روی، نیکل، کروم و آهن) بر روی ماهی قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه کوتاه مدت، مشخص شد که حساس ترین شاخص های خونی (غلظت گلوکز، هموگلوبین و هماتوکریت) با توجه به مدت زمان قرارگیری در معرض آن، تغییر کرد. به این صورت که با در معرض قرارگیری طولانی مدت (از ۱۰ روز تا ۳ ماه)، ماهی به غلظت های پایین مخلوط عادت کرد، اما تغییرات شاخص های خونی در غلظت های بالا (Svobodova et al., 1994; Vosyliene, 1999). هنگام ارزیابی اثر کل روی و سرب بر شاخص های خونی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، اثر هم افزایی این فلزات بر تعداد گلبول های قرمز، غلظت هموگلوبین و درصد لنفوسیت ها و نوتروفیل ها مشاهده شد (Tishanova and Ilieva, 1994). قرار گرفتن طولانی مدت (۲۷ روز) سوف (*Perca fluviatilis*) در معرض مخلوط فلزات سنگین (روی، مس، سرب، کادمیوم و جیوه) باعث کاهش سهم هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، حجم متوسط گلبول قرمز و افزایش گلوکز بسته به غلظت مخلوط شد. البته این مخلوط فلزات سنگین هیچ تاثیری بر تعداد گلبول های سفید خون نداشت. در حالی که تعداد کمتر لنفوسیت ها در خون سوف ساکن در آب های طبیعی آلوده به مخلوط فلزات سنگین با ترکیب مشابه به دست آمد (Larsson et al., 1984). در مطالعه ای دیگر، غلظت بالای روی (نزدیک به LC₅₀) باعث کاهش غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت در خون ماهی کپور معمولی شد. در مطالعات طولانی مدت، در حالی که گربه ماهی (*Clarias batrachus*) در معرض ۳۰ میلی گرم در لیتر روی قرار داده شد، هیچ تغییری در

دستخوش تغییر می‌شود، همچنان وجود دارد (Tchounwou et al., 2012). بنابراین در این پژوهش تاثیر فلز سنگین روی بر شاخص‌های رشد، تغذیه، درصد بازماندگی و شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه تلفیقی شالیزار نوین واقع در روستای کیسم از توابع شهرستان آستانه اشرفیه و در واحد علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان رشت به مدت ۸ هفته انجام شد. به این صورت که ۵۴۰ قطعه بچه‌ماهی انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزن اولیه $20/19 \pm 2/45$ گرم بر اساس طرح کاملاً تصادفی در ۱۲ مخزن پلی‌اتیلنی یکسان با حجم ۳۵۰ لیتر (هر وان ۴۵ قطعه) توزیع شدند و در چهار تیمار (با سه تکرار) شامل آب پرورش بدون فلز روی (تیمار ۱، شاهد)، آب پرورش با ۵ درصد از غلظت LC_{50} فلز روی (تیمار ۲)، آب پرورش با ۲۵ درصد از غلظت LC_{50} فلز روی (تیمار ۳) و آب پرورش با ۵۰ درصد از غلظت LC_{50} فلز روی (تیمار ۴) قرار گرفتند. منبع تامین آب مصرفی ماهیان از چاه نیمه عمیق مزرعه تلفیقی

شاخص‌های خونی مشاهده نشد (Svobodova et al., 1994; Kori-Siakpere and Ubogu, 2008). با این حال، بر اساس مطالعات دیگر، پس از قرار گرفتن یک روزه کپور معمولی در معرض غلظت‌های کشنده روی، تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین در خون افزایش یافت، اما تعداد کل گلبول‌های سفید تغییر نکرد (Tishanova and Ilieva, 1994).

با این وجود، سمیت حاد ۹۶ ساعته با ۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر روی، باعث کاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید خون ماهی کپور شد. این به دلیل کاهش قابل توجه در تعداد لنفوسیت‌های کوچک بود، در حالی که مقدار نوتروفیل‌ها افزایش یافت (Svobodova et al., 1994). با این حال، در مطالعات سمیت حاد، مشخص شد که قرار گرفتن در معرض روی باعث افزایش تعداد گلبول‌های سفید در خون سگ‌ماهی (*Scyliorhinus canicula*) شد (Torres et al., 1986).

با وجود سوابق مطالعاتی مشابهی که در گونه‌های متنوع گزارش شد، اما با توجه به این که هر گونه ماهی یک الگو خاص خونی دارد، ضرورت بررسی جداگانه گونه‌های مختلف ماهیان برای تعیین ویژگی‌های فیزیولوژیکی آن گونه که در شرایط محیط زیستی مناطق مختلف

شرایط مدیریتی یکسان غذایی و نگهداری شدند. در طول دوره در تمام تکرارها آب ورودی از بالای حوضچه‌های پرورش به صورت بارانی و پیوسته وارد شده و از لوله خروجی واقع در مرکز حوضچه خارج شد. 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 پر فشار به یکدیگر متصل شده بودند، انجام شد. بچه ماهیان با غذای تجاری اکستروود شماره‌های FFT1 و FFT2 (فرادانه، ایران) روزانه به میزان ۷ درصد میانگین وزن بدن و در چهار وعده غذایی شدند. میزان غذا هر دو هفته یکبار پس از انجام زیست‌سنجی اصلاح شد. در طول دوره آزمایش هر ۲ هفته یک بار بچه ماهیان به صورت انفرادی با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و طول استاندارد آنها نیز با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد. به منظور کاهش استرس در زمان نمونه‌برداری، بچه ماهیان با عصاره گل میخک (۱۰۰ میلی گرم در لیتر) بیهوش شدند. با استفاده از داده‌های به دست آمده از زیست‌سنجی‌های ابتدا و انتهای دوره و از طریق رابطه‌های ۱ تا ۵ شاخص‌های رشد شامل شاخص وضعیت (CF)، درصد افزایش وزن بدن شالیزار نوین بود. میزان اکسیژن محلول در آب، درصد اشباع اکسیژن محلول در آب، دمای آب، ضریب هدایت الکتریکی، مواد جامد محلول در آب، درصد شوری و pH هر ۱۰ روز یک بار اندازه‌گیری شد. دما و pH به وسیله دستگاه pH متر (WTW، آلمان)، اکسیژن محلول با اکسیژن متر (YSI، V5، آمریکا)، هدایت الکتریکی، کل مواد جامد محلول در آب و درصد شوری با دستگاه هدایت‌سنج (EC متر) قابل حمل (Hanna، HI98192، تایوان) اندازه‌گیری و ثبت شد (Dethloff et al., 1999).

در این پژوهش از غلظت کشنده LC₅₀96h فلز روی در ۵۰ درصد از جمعیت بچه ماهیان قزل آلاي رنگين کمان که در آزمایش جداگانه ۹/۴ میلی گرم در لیتر به دست آمده بود، استفاده شد. پس از تعیین مقدار LC₅₀96h فلز روی برای بچه ماهی انگشت‌قد ماهی قزل آلاي رنگين کمان، یک سطح پایین با ۵ درصد غلظت LC₅₀، یک سطح میانه با ۲۵ درصد غلظت LC₅₀ و یک سطح بالا معادل ۵۰ درصد غلظت LC₅₀ فلز روی به عنوان تیمارهای آزمایشی و یک تیمار شاهد بدون فلز روی، در نظر گرفته شد (Rand et al., 1995). قبل از تیمار بندی، بچه ماهیان به منظور سازگاری با شرایط آزمایش به مدت یک هفته بر اساس

تکرارها محاسبه شد (Haux and Larsson, 1984; Dethloff et al., 1999).

رابطه ۶:

$$SR(\%) = (N_i / N_f) \times 100$$

N_i : تعداد ماهی در ابتدای دوره؛ N_f : تعداد ماهی در پایان دوره.

به منظور بررسی شاخص‌های خونی، در انتهای دوره آزمایش به طور تصادفی از هر تکرار ۱۰ ماهی انتخاب شد و پس از بیهوشی در عصاره گل میخک (۱۵۰ میلی گرم در لیتر) خون‌گیری به وسیله سرنگ هیپارینه از سیاهرگ ساقه دمی انجام شد و نمونه‌های خون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد. سپس نمونه‌های خون همراه با یخ خشک درون یخدان به آزمایشگاه بهداشت آبزیان مرکز آموزش عالی علوم شیلاتی میرزا کوچک خان منتقل شدند (Atamanalp et al., 2011).

مقدار هموگلوبین (Hb) به روش استاندارد سیانومت هموگلوبین اندازه‌گیری شد. برای این کار، پس از مخلوط کردن ۰/۰۲ میلی لیتر خون با ۵ میلی لیتر محلول درابکین (معرف سیانومت هموگلوبین) و گذشت ۱۰ دقیقه از زمان مخلوط کردن، مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر

(BWG)، میزان ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و میزان کارایی پروتئین (PER) محاسبه شد (Haux and Larsson, 1984; Dethloff et al., 1999).

رابطه ۱:

$$CF = (W / L^3) \times 100$$

W : وزن ماهی (گرم)؛ L : طول ماهی (سانتی‌متر).

رابطه ۲:

$$BWG(\%) = [(W_f - W_i) / W_i] \times 100$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم).

رابطه ۳:

$$SGR(\%/day) = [(\ln W_f - \ln W_i) / t] \times 100$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم)؛ t : طول دوره پرورش (روز).

رابطه ۴:

$$FCR = F / (W_f - W_i)$$

F : غذای مصرف شده (گرم)؛ W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم).

رابطه ۵:

$$PER = (W_f - W_i) / P$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم)؛ P : پروتئین مصرف شده (گرم).

پس از اتمام دوره پرورش، بچه‌ماهیان موجود در هر تیمار شمارش و با استفاده از رابطه ۶ درصد بازماندگی (SR) هر یک از تیمارها و

- رابطه ۷: $MCV (fL) = [PCV / RBC (per\ million)] \times 10$
- رابطه ۸: $MCH (pg) = [Hb / RBC (per\ million)] \times 10$
- رابطه ۹: $MCHC (\%) = (Hb / PCV) \times 100$
- شمارش کلی گلبول‌های سفید (WBC) با استفاده از لام هموسیترومتر و با رقیق کردن خون به نسبت ۱ به ۲۰ با محلول رقیق‌کننده نات-هریک صورت گرفت. سپس تعداد کل گلبول‌های سفید در میلی‌متر مکعب خون با استفاده از رابطه ۱۰ محاسبه (Thrall et al., 2004; Celik et al., 2013).
- رابطه ۱۰: $WBC (mm^{-3}) = \Sigma W_i \times 50$
- ΣW_i : مجموع گلبول‌های سفید شمارش شده در چهار مربع بزرگ حاشیه‌ای لام.
- داده‌های آماری به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد. کلیه محاسبات آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) برای مقایسه واریانس تیمارها و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan, Multiple Range Test) برای بررسی وجود
- (Unico, 2100-VIS, آمریکا) اندازه‌گیری شد و میزان هموگلوبین بر حسب گرم در دسی‌لیتر از منحنی استاندارد محاسبه شد (Feldman et al., 2000; Atamanalp et al., 2011).
- مقدار هماتوکریت یا PCV (Packed Cell Volume) با روش متداول میکروهماتوکریت، با استفاده از لوله‌های موئین و سانتریفوژ نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از میکروسانتریفوژ (Labofuge, Heraeus Sepatch, آلمان) صورت گرفت.
- شمارش کلی گلبول‌های قرمز (RBC) ماهی با استفاده از لام هموسیترومتر نئوبار صورت گرفت. برای این کار، ابتدا نمونه‌های خون با محلول رقیق‌کننده نات-هریک (Natt-Herrick) رقیق شدند و سپس تعداد گلبول‌های قرمز در ۵ مربع متوسط از مربع بزرگ مرکزی شمارش و در ضریب ۱۰۰۰۰ ضرب شد تا تعداد گلبول‌های قرمز در میلی‌لیتر مکعب خون به دست آید (Thrall et al., 2004; Celik et al., 2013).
- شاخص‌های گلبولی یعنی حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) با استفاده از رابطه‌های ۷ تا ۹ محاسبه شد (Thrall et al., 2004).

یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها استفاده شد. درصد اطمینان ۹۵ درصد برای معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

مقادیر متغیرهای فیزیکوشیمیایی آب محل آزمایش در طول دوره پرورش شامل اکسیژن محلول در آب 7.97 ± 0.05 میلی‌گرم در لیتر، درصد اشباع اکسیژن محلول در آب 82.6 ± 0.6 درصد، دمای آب 14 ± 1 درجه سانتی‌گراد، ضریب هدایت الکتریکی 394 ± 3 میکروزیمنس بر سانتی‌متر، کل مواد جامد محلول در آب 11 ± 1 میلی‌گرم در لیتر، شوری صفر درصد و pH 8.01 ± 0.01 به دست آمد که فاقد اختلاف معنی‌دار بین تیمارها با یکدیگر و با شاهد بود ($P > 0.05$).

نتایج به دست آمده از تاثیر فلز سنگین روی بر شاخص‌های رشد، تغذیه، درصد بازماندگی و شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول‌های ۱ و ۲ آمده است. با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، در انتهای دوره آزمایش، از نظر درصد بازماندگی بین تیمارهای ۱ و ۲ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$)، اما بین تیمارهای ۱ و ۲ با

تیمارهای ۳ و ۴ تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$)؛ جدول ۱). بالاترین میزان وزن بدن در دوره ۶۰ روزه پرورش در تیمار ۲ مشاهده شد که نسبت به تیمارهای ۳ و ۴ دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.05$)، اما با تیمار ۱ اختلاف معنی‌دار نداشت ($P > 0.05$)؛ جدول ۱). از نظر تاثیر غلظت‌های مختلف روی بر طول بچه‌ماهیان پرورشی، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ۱ و ۲ با ۳ و ۴ مشاهده شد ($P < 0.05$) و تنها تیمارهای ۳ و ۴ با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند ($P > 0.05$)؛ جدول ۱). بالاترین میزان شاخص وضعیت در پایان دوره پرورش، در تیمار ۲ مشاهده شد که با تیمار ۱ اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$)؛ جدول ۱). در ضریب تبدیل غذایی جیره مورد استفاده برای بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، بین تیمارهای آزمایشی ۱، ۳ و ۴ در مقایسه با تیمار ۲ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$). فقط تیمارهای ۳ و ۴ با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$)؛ جدول ۱). درصد افزایش وزن بدن بچه‌ماهیان در طی دوره بررسی، بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). اما در تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$)؛ جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه شاخص های رشد تیمارهای مختلف طی دوره پرورش ماهی قزل آلائی رنگین کمان (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

متغیرهای رشد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
وزن اولیه (گرم)	$20/10 \pm 2/85^a$	$20/30 \pm 3/15^a$	$20/18 \pm 2/65^a$	$20/20 \pm 2/18^a$
وزن نهایی (گرم)	$53/20 \pm 0/15^b$	$56/90 \pm 0/20^a$	$50/55 \pm 0/30^c$	$48/71 \pm 0/35^c$
طول استاندارد نهایی (سانتی متر)	$16/8 \pm 0/05^a$	$17/7 \pm 0/03^a$	$16/3 \pm 0/03^b$	$16/2 \pm 0/05^b$
شاخص وضعیت	$1/15 \pm 0/009^a$	$1/18 \pm 0/008^a$	$1/13 \pm 0/010^a$	$1/11 \pm 0/007^a$
ضریب تبدیل غذایی	$1/08 \pm 0/004^b$	$1/16 \pm 0/006^a$	$1/02 \pm 0/010^b$	$1/00 \pm 0/010^b$
درصد افزایش وزن بدن (%)	$161/60 \pm 0/76^b$	$163/00 \pm 0/04^a$	$154/00 \pm 0/52^c$	$146/50 \pm 0/75^c$
نرخ رشد ویژه (% در روز)	$1/502 \pm 0/004^b$	$1/905 \pm 0/006^a$	$1/346 \pm 0/010^c$	$1/183 \pm 0/010^d$
کارایی پروتئین (%)	$2/392 \pm 0/011^b$	$2/621 \pm 0/010^a$	$2/295 \pm 0/020^c$	$2/153 \pm 0/020^d$
درصد بازماندگی (%)	$99/00 \pm 1^a$	$99/00 \pm 1^a$	$89/00 \pm 1^b$	$89/00 \pm 1^b$

تیمار ۱: آب پرورشی بدون فلز روی؛ تیمار ۲: دارای ۵ درصد غلظت LC₅₀96h روی در ب؛ تیمار ۳: دارای ۲۵ درصد غلظت LC₅₀96h روی در آب؛ تیمار ۴: دارای ۵۰ درصد غلظت LC₅₀96h روی در آب. حروف غیرهمسان لاتین در هر ردیف نشانه اختلاف معنی دار است ($P < 0/05$).

جدول ۲: مقایسه شاخص های خونی تیمارهای مختلف طی دوره پرورش ماهی قزل آلائی رنگین کمان پس از قرار گرفتن در معرض روی به مدت ۸ هفته (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
WBC ($\times 10^3/\mu L$)	$6/47 \pm 4/0^b$	$8/68 \pm 0/63^a$	$5/74 \pm 0/62^c$	$5/56 \pm 0/37^c$
RBC ($\times 10^6/\mu L$)	$0/99 \pm 0/12^b$	$1/02 \pm 0/04^a$	$0/88 \pm 0/06^c$	$0/86 \pm 0/07^c$
هماتوکریت (%)	$41/66 \pm 4/05^b$	$48/11 \pm 3/43^a$	$40/00 \pm 3/52^c$	$39/69 \pm 1/97^c$
هموگلوبین (g/dL)	$4/05 \pm 0/34^a$	$7/59 \pm 0/38^c$	$5/01 \pm 0/43^b$	$3/73 \pm 0/32^{ab}$
MCH (pg)	$53/17 \pm 2/56^b$	$55/07 \pm 2/46^a$	$50/07 \pm 2/16^c$	$49/01 \pm 1/47^c$
MCV (fL)	$525/68 \pm 75/80^b$	$586/84 \pm 36/27^a$	$486/14 \pm 56/25^c$	$400/38 \pm 52/19^c$
MCHC (%)	$11/05 \pm 0/92^b$	$20/07 \pm 2/46^a$	$9/55 \pm 2/58^c$	$8/77 \pm 0/53^d$

تیمار ۱: آب پرورشی بدون فلز روی؛ تیمار ۲: دارای ۵ درصد غلظت LC₅₀96h روی در ب؛ تیمار ۳: دارای ۲۵ درصد غلظت LC₅₀96h روی در آب؛ تیمار ۴: دارای ۵۰ درصد غلظت LC₅₀96h روی در آب. WBC: گلبول های سفید؛ RBC: گلبول های قرمز؛ MCH: میزان متوسط هموگلوبین گلبولی؛ MCV: حجم متوسط گلبولی؛ MCHC: غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی. حروف غیرهمسان لاتین در هر ردیف نشانه اختلاف معنی دار است ($P < 0/05$).

مشاهده شد که نسبت به تیمارهای دیگر دارای اختلاف معنی دار بود ($P < 0/05$ ؛ جدول ۲).

بحث

ویژگی‌های خون‌شناختی شاخصی از شرایط طبیعی و غیرطبیعی و یک شاخص مهم سلامت ماهی است (Hlavova, 1993). خون وظایفی از جمله انتقال مواد غذایی، انتقال فراورده‌های دفعی متابولیک، انتقال مواد دفعی از بافت‌های کبد و کلیه، انعقاد خون و انتقال گازهای تنفسی دارد (Guo and Hsu, 2002). می‌توان گفت که به دلیل تاثیر مواد سمی اختلالاتی در وظایف آن ایجاد می‌شود (Abdel-Warith et al., 2020). درباره اثر سمیت فلز روی و غلظت کشنده $LC_{50}96h$ بر روی انواع ماهیان گزارش‌های متفاوتی ارائه شده است (Fazio, 2019). از این رو اختلافاتی از نظر نوع و گونه ماهی مورد مطالعه، شاخص‌های فیزیکوشیمیایی، وزن ماهی و شرایط محیطی با در نظر گرفتن شرایط یکسان در دوره زمانی آزمایش وجود دارد. خون در موجودات به عنوان یک بافت حیاتی سیال، یک شاخص مهم از وضعیت سلامتی است که بخشی از اجزای سلولی آن شامل گلبول‌های سفید و قرمز است (Adewumi et al., 2018; Fazio, 2019;)

نرخ رشد ویژه طی این مدت بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). در بین تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$ ؛ جدول ۱). بالاترین میزان پروتئین مصرفی در تیمار ۲ مشاهده شد که با تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/05$), اما با تیمار ۱ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$ ؛ جدول ۱). بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان بالاترین تعداد گلبول‌های سفید را در تیمار ۲ داشتند که نسبت به تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$ ؛ جدول ۲). در تعداد گلبول‌های قرمز پس از ۸ هفته قرارگیری بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در معرض فلز روی، بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$ ؛ جدول ۲). از نظر میزان هماتوکریت در طی این دوره بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$ ؛ جدول ۲). بالاترین میزان هموگلوبین در تیمار ۲ مشاهده شد که نسبت به تیمارهای دیگر دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0/05$ ؛ جدول ۲). بالاترین میزان MCV نیز در تیمار ۲ مشاهده شد که با تیمارهای دیگر دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0/05$). بالاترین میزان MCHC در تیمار ۲

کاهش در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ درصد از LC₅₀ ایجاد شد که مفهوم آن تاثیر منفی در غلظت‌های بالا است. یافته‌های مطالعات انجام شده در ارتباط با تاثیر فلز روی بر شاخص‌های خونی ماهیان پرورشی، اثر سوء فلز روی را بر سلول‌های خونی ماهی در صورت قرار گرفتن طولانی مدت ماهی در معرض فلز روی تایید کرده‌اند (Cazenave et al., 2005; Hong et al., 2020). بر اساس مطالعات، این تاثیرات می‌تواند به واسطه ایجاد استرس و اختلال در سیستم ایمنی به دلیل قرار گرفتن ماهی در معرض غلظت فلز مورد نظر باشد. اثر فلز روی بر شاخص‌های خونی در غلظت‌های بالا مسمومیت و کم خونی را به دنبال دارد. فلز روی می‌تواند موقعیتی ایجاد کند که با قرار گرفتن مداوم در معرض آن حتی در غلظت‌های کمتر از سطوح حاد کشنده منجر به تاثیرات مضر و شدید نیز شود (Witeska, 2005). نتایج مطالعات در ماهیان آب شیرین شامل گربه‌ماهی *Clarias lazera* و تیلاپیی *Tilapia zillii* نشان داد که قراگیری در معرض غلظت‌های ۲۲ تا ۳۲ میلی‌گرم در لیتر فلز روی به مدت ۹۶ ساعت، منجر به کاهش سطح هموگلوبین و هماتوکریت شد (Hilmy et al., 1987) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. مطالعات انجام شده در

Balali-Mood et al., 2021). در این مطالعه تحت تاثیر آلودگی فلز روی، در مقدار شاخص‌های خونی شامل گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و شاخص‌های گلبولی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P < 0.05$). بالاترین میزان در برخی از شاخص‌های مربوط به گلبول‌های قرمز مانند هموگلوبین، MCHC و MCH در تیمار ۲ بود که نشان‌دهنده تاثیر مثبت این ماده در غلظت ۵ درصد بر روی گلبول‌های قرمز خونی ماهی است. شاید غلظت ۵ درصد باعث تحریک جذب مواد مغذی شده باشد که در تحریک بافت‌های خون‌ساز مثل کلیه قدامی و طحال به خون‌سازی تاثیر داشت و یا با مکانیسم‌های ناشناخته باعث افزایش طول عمر گلبول‌های قرمز و کاهش تخریب گلبول‌های سفید و قرمز خون شده است (Mishra and Srivastava, 1979; Ololade and Ogini, 2009; Ciji and Bijoy Nandan, 2014; Shokr, 2015; Javed et al., 2016). بالاترین میزان شاخص‌های هماتوکریت و میزان گلبول‌های قرمز نیز در تیمار ۲ مشاهده شد. همچنین در هر دو سلول خونی ماهی تغییراتی رو به افزایش در غلظت پایین فلز روی (۵ درصد از LC₅₀) و

به استرس در ماهیان، فعال شدن محور هیپوتالاموس است که منجر به افزایش ترشح کورتیزول می‌شود. کورتیزول ذخایر انرژی را به حرکت در می‌آورد و به حفظ تعادل یونی کمک می‌کند. ترشح کورتیزول در اثر انواعی از محرک‌های استرس‌آور از جمله کیفیت نامناسب آب مانند وجود فلزات سنگین افزایش می‌یابد. افزایش کورتیزول به صورت مداوم باعث تلفات در اثر افزایش حساسیت به بیماری‌ها، کاهش میزان رشد، افزایش یا کاهش تولید گلبول‌های سفید و سرکوب دستگاه ایمنی می‌شود (Naz et al., 2021). تغییرات شاخص‌های خونی (تعداد گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین، درصد هماتوکریت و غلظت گلوکز) می‌توانند پاسخ‌های ثانویه موجود زنده به محرک‌ها باشند. قرار گرفتن کوتاه مدت در معرض غلظت‌های پایین فلزات سنگین عمدتاً باعث افزایش شاخص‌های خونی می‌شود و این شروع واکنش استرس ناشی از مواد شیمیایی در ماهیان است. واکنش استرس ماهی باعث عدم تعادل اسمزی و تغییراتی در سیستم تنظیمی تبادل یونی می‌شود که می‌تواند pH خون را کاهش دهد و حجم گلبول‌های قرمز و متعاقباً درصد هماتوکریت را افزایش دهد (Ciji and Bijoy Nandan, 2014; Shokr, 2015; Javed et

ماهیان مختلف نشان می‌دهد که فلزات سنگین ممکن است شاخص‌های خونی را در هر دو نوع سلول خونی تغییر دهد (Basha and Usha, 2003; Witeska, 2005). در این مطالعه فلز روی باعث کاهش مقادیر هماتوکریت شد. کاهش در میزان هماتوکریت و هموگلوبین به همراه کاهش و تغییر شکل سلول‌های خونی می‌تواند نشانگر واضحی از کم‌خونی در ماهی باشد (Flos et al., 1987; Haikal Adhim et al., 2017). افزایش گلبول‌های سفید خون در پاسخ به عوامل استرس‌زای مختلف شامل عفونت‌ها و محرک‌های شیمیایی از جمله سمیت فلزات سنگین رخ می‌دهد (Christensen and Faindt-Poeschi, 1978; Li et al., 2010). بنابراین افزایش یا کاهش تعداد سلول‌های سفید خون یک واکنش طبیعی به مواد شیمیایی مانند روی است که تحت شرایط سمی بر سیستم ایمنی تأثیر دارد (Kori-Siakpere and Ubogu, 2008).

نتایج به دست آمده از بررسی شاخص‌های رشد، تغذیه، درصد بازماندگی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، تأثیر منفی آلودگی فلز سنگین روی را در غلظت‌های بالاتر از ۵ درصد نشان داد. آلودگی‌های فلزات سنگین برای ماهی استرس‌زا است و مهم‌ترین ویژگی پاسخ

درصد گلبول‌های قرمز طبیعی، آسیب دیده، تغییر شکل یافته، متلاشی شده قدیمی و نسبت درصد اشکال مختلف گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها) یکی از نشانه‌های اثر سمی مواد شیمیایی بر روی ماهی است (Witeska, Verep et al., 2007; Verep et al., 2005). این تغییرات در شاخص‌های خونی ناشی از آلاینده‌های مختلف باعث تغییرات برگشت‌ناپذیری در گردش خون، تشکیل خون و سیستم ایمنی بدن ماهی می‌شود که منجر به کاهش درصد بازماندگی ماهی‌ها می‌شود (Seibel et al., 2021).

در این مطالعه، آلودگی فلز روی در غلظت‌های بالاتر از ۵ درصد LC_{50} بر شاخص‌های رشد تاثیر منفی داشت. فلزات سنگین در کاهش سطح ایمنی، کاهش مقاومت به عوامل بیماری‌زا و کاهش عملکرد رشد نقش دارند (Tishanova and Ilieva, 1994; Dhanapakiam and Ramasamy, 2001; Atamanalp et al., 2011). فلزات سنگین در آبی‌پروری باعث کاهش سطح اشتها، کاهش میزان غذای مصرف شده و نرخ رشد در گونه‌های پرورشی می‌شود. مهم‌ترین تاثیر فلزات سنگین افزایش بیماری و افزایش ضریب تبدیل غذایی با رسوب بافتی در آبی‌پروری است. از طرف دیگر فلزات سنگین حتی بر روی کیفیت گوشت آبزیان

(al., 2016). با این حال، این شاخص به دلایل دیگر نیز می‌تواند تغییر کند. تحت استرس، آبی‌نفرین ترشح شده باعث انقباض طحال می‌شود و گلبول‌های قرمز از این اندام به خون آزاد می‌شوند. تعداد بیشتر آنها به ترتیب سهم هماتوکریت را افزایش می‌دهد. غلظت بالای فلزات سنگین یا قرار گرفتن طولانی مدت ماهی در معرض غلظت‌های کشنده آنها معمولاً باعث کاهش شاخص‌های یاد شده در بالا می‌شود. کاهش تعداد گلبول‌های قرمز یا درصد هماتوکریت نشان دهنده بدتر شدن وضعیت ماهی و کم‌خونی در حال توسعه است. کاهش غلظت هموگلوبین در خون که معمولاً به دلیل تاثیر فلزات سمی بر روی آبشش‌ها ایجاد می‌شود و همچنین کاهش اکسیژن نیز نشان دهنده کم‌خونی یا تایید تغییرات منفی رخ داده در ماهی است (Christensen and Faindt-, Poeschi, 1978; Li et al., 2010). افزایش تعداد گلبول‌های سفید بیشتر در روزهای اول واکنش استرس به سمیت فلزات سنگین مشاهده می‌شود، زمانی که ماهی سعی می‌کند تغییرات شاخص‌های خونی را بازگرداند، اما بعداً کاهش تعداد گلبول‌های سفید مشاهده می‌شود که نشان دهنده تضعیف سیستم ایمنی است. تغییرات شکلی در سلول‌های خونی (نسبت

تغذیه شده اثرات منفی دارند (Farombi et al., 2007; Briffa et al., 2020; Balali-Mood et al., 2021).

در مجموع، می‌توان بیان داشت که قرار گرفتن بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه در معرض فلز سنگین روی در سطح بالای ۵ درصد غلظت $LC_{50}96h$ باعث تغییر در سطح شاخص‌های خونی، رشد و درصد بازماندگی این ماهی شد. آلودگی فلز روی در این مطالعه منجر به کاهش سطح ایمنی، کاهش مقاومت به عوامل بیماری‌زا، کاهش عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد. بر اساس نتایج این مطالعه، سطح فلز روی در آب پرورش باید زیر ۵ درصد غلظت $LC_{50}96h$ بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد. آلودگی آب به فلز سنگین روی علاوه بر کاهش کیفیت آب سبب تجمع این فلز در آبی پرورشی می‌شود. فلزات سنگین در بافت و خون ماهیان تجمع پیدا می‌کنند و سبب تغییر شاخص‌های

خون‌شناختی و بیوشیمیایی ماهیان می‌شود که نتایج این پژوهش به خوبی این موضوع را تایید می‌کند. از طرف دیگر تجمع فلزات سنگین در ماهیان سبب ورود این فلزات به زنجیره غذایی انسان می‌شود که سلامتی انسان را به خطر می‌اندازد. بنابراین، برای تولید اقتصادی ماهی سالم و بهداشتی ضروری است که از عدم آلودگی آب پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به فلز روی اطمینان حاصل کرد.

تشکر و قدردانی

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

منابع

- Abdel-Warith A.W.A., Younis E.M., Al-Asghar N.A., Abd-Elkader M.O. and Elsayed E.A. 2020.** Effects of sub-lethal lead nitrate and copper sulfate concentrations on haematological parameters during long-term exposure in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Scientific and Industrial Research, 79: 437–441.
- Adeyemi B., Germaine Akinola Ogunwole G.A., Akingunsole E., Falope O.C. and Eniade A. 2018.** Effects of sub-lethal toxicity of chlorpyrifos and DD force pesticides on haematological parameters of *Clarias gariepinus*. International Research Journal of Public and Environmental Health, 5: 62–71. doi: 10.15739/irjpeh.18.010
- Atamanalp M., Aksakal E., Kocaman E.M., Ucar A., Şisman T. and Turkez H. 2011.** The alterations in the haematological parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, exposed to cobalt chloride. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 17: 73–76. doi: 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: 1–19 (643972). doi: 10.3389/fphar.2021.643972
- Basha S.P. and Usha R.A. 2003.** Cadmium induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (tilapia). Ecotoxicology and Environmental Safety, 56(2): 218–221. doi: 10.1016/s0147-6513(03)00028-9
- Briffa J., Sinagra E. and Blundell R. 2020.** Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. Heliyon, 6(9): 1–26 (e04691). doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04691
- Cazenave J., Wunderline D.A., Hufd A.C. and Biston A. 2005.** Haematological parameters in a neotropical fish, *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) captured from pristine and polluted water. Hydrobiologia, 537: 25–33.
- Celik E.S., Kaya H., Yilmaz 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. doi: 10.5897/AJB12.1408
- Christensen G.M. and Faindt-Poeschi B.A. 1978.** Cells and certain physiochemical properties of brook trout (*Salvelinus*

- fontinalis*) blood. Journal of Fish Biology, 12: 147–158.
- Ciji P.P. and Bijoy Nandan S. 2014.** Toxicity of copper and zinc to *Puntius parrah* (Day, 1865). Marine Environment Research, 93: 38–46. doi: 10.1016/j.marenvres.2013.11.006
- 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: 415–423. doi: 10.1007/pl00006614
- Dhanapakiam P. and Ramasamy V. 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: 105–111. doi: 10.3923/jfas.2015.337.346
- FAO. 2020.** The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization, Italy. 151P.
- 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: 158–165. doi: 10.3390/ijerph2007040011
- Fazio F. 2019.** Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. Aquaculture, 500: 237–242. doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2018.10.030
- Feldman B.F., Zinkl J.G. and Jain N.C. 2000.** Schalm's Veterinary Hematology. Blackwell, UK. 1344P.
- Flos R., Tort L. and Balacch J. 1987.** Effects of zinc sulphate on haematological parameters in the dogfish (*Scyliorhinus canicula*) and influence off Ms222. Marine Environmental Research, 21(4): 289–298. doi: 10.1016/0141-1136(87)90051-1
- Folmar J.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: 337–375. doi: 10.1002/ETC.5620120216
- Guo Y.L. and Hsu P.C. 2002.** Antioxidant nutrients and lead toxicity. Toxicology, 180: 33–44. doi: 10.1016/s0300-483x(02)00380-3
- Haikal Adhim M., Zainuddin A., Putranto T., Irawan B. and Soegianto A. 2017.** Effect of sub-lethal lead exposure at different salinities on osmoregulation and haematological changes in tilapia, *Oreochromis niloticus*. Archives of Polish Fisheries, 25(3): 173–185. doi: 10.1515/aopf-2017-0017

- Haux C. and Larsson A. 1984.** Long-term sublethal physiological effects on rainbow trout, *Salmo gairdneri*, during exposure to cadmium and after subsequent recovery. *Aquatic Toxicology*, 5(2): 129–142. doi: 10.1016/0166-445X(84)90004-3
- Hicks C.C., Cohen P.J., Graham N.A.J., Nash K.L., Allison E.H. and D'lima C. 2019.** Harnessing global fisheries to tackle micro-nutrient deficiencies. *Nature*, 574: 95–98. doi: 10.1038/s41586-019-1592-6
- Hilmy A.M., El-Domiaty N.A., Daabees A.Y. and Abdel Latife H.A. 1987.** Some physiological and biochemical of zinc toxicity in two freshwater fishes, *Clarias lazera* and *Tilapia zilli*. *Comparative Biochemistry and Physiology (C)*, 87(2): 297–301. doi: 10.1016/0742-8413(87)90011-9
- Hlavova V. 1993.** References values of the haematological indices in grayling (*Thymallus thymallus* Linnaeus). *Comparative Biochemical and Physiology*, 105(3): 525–532. doi: 10.1016/0300-9629(93)90429-8
- Hong Y., Liao W., Yan Z.F., Bai Y.C., Feng C.I. and Xu Z.X. 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: 1–12. doi: 10.1155/2020/9010348
- Javed M., Ahmad I., Ahmad A., Usmani N. and Ahmad M. 2016.** Studies on the alterations in haemological indices, micronuclei induction and pathological marker enzyme activities in *Channa punctatus* (spotted snakehead) Perciformes, Channidae exposed to the thermal power plant effluent. *Springer Plus*, 5: 1–9 (761). doi: 10.1186/s40064-016-2478-9
- Kori-Siakpere O. and Ubogu E.O. 2008.** Sublethal haematological effects of zinc on the freshwater fish, *Heteroclinus* sp. (Osteichthyes: Clariidae) African. *Journal of Biotechnology*, 7(12): 2068–2073. doi: 10.5897/AJB07.706
- Larsson A., Haux C., Sjobeck M.L. and Lithner G. 1984.** Physiological effects of an additional stressor on fish exposed to a simulated heavy-metal-containing effluent from a sulfide ore smeltery. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 8: 118–128. doi: 10.1016/0147-6513(84)90055-1
- Lawrence M.J., Raby G.D., Teffer A.K., Jeffries K.M., Danylchuk A.J. and Eliason E.J. 2020.** Best practices for non-lethal blood sampling of fish via the caudal vasculature. *Journal of Fish Biology*, 97: 4–15. doi: 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): 2666–2691. doi: 10.3390/ijerph7062666
- Loganathan G.V., Watkins E.W. and Kibler D.F. 2009.** Sizing storm-water detention basins for pollutant removal. *Journal of Environmental Engineering*, 120: 1380–1399. doi: 10.1061/(ASCE)0733-9372(1994)120:6(1380)
- Maheswaran R., Devapaul A., Muralidharan S., Velmurugan B. and Ignacimuthu S. 2008.** Haematological studies of freshwater fish, *Clarias batrachus* (L.) exposed to mercuric chloride. *International Journal of Integrative Biology*, 2: 49–54. doi: 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 M.D. 2020.** Acute effects of chromium on hemato-biochemical parameters and morphology of erythrocytes in striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *Toxicology Reports*, 7: 664–670. doi: 10.1016/j.toxrep.2020.04.016
- Mishra S. and Srivastava A.K. 1979.** Hematology as index of sublethal toxicity of zinc in a freshwater teleost. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 22(4-5): 695–698. doi: 10.1007/bf02027009
- Mohanty B.P., Mahanty A., Ganguly S., Mitra T., Karunakaran D. and Anandan R. 2019.** Nutritional composition of food fishes and their importance in providing food and nutritional security. *Food Chemistry*, 293: 561–570. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.11.039
- 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 International*, 28(6): 6533–6539. doi: 10.1007/s11356-020-10980-0
- Ololade I.A. and Oguni O. 2009.** Behavioural and haematological effect of zinc on African catfish, *Clarias gariepinus*. *International Journal of Fish Aquaculture*, 1: 22–27.
- Rand G.M., Strauss S., Petrocelli S., R. and Rand M.R. 1995.** *Fundamental of Aquatic of Toxicology Effects. Environmental Fate and Risk Assessment.* Tylor Francis, USA. 1125P. doi: 10.1201/9781003075363
- Seibel H., Bassmann B. and Rebl A. 2021.** Blood will tell: What hematological analyses can reveal about fish welfare. *Frontiers in Veterinary Science*, 30(8): 1–21 (616955). doi: 10.3389/fvets.2021.616955
- Sheikh Z.A. and Ahmed I. 2016.** Seasonal changes in haemato-

- logical parameters of snow trout *Schizothorax plagiostomus* (Heckel 1838). International Journal of Fauna and Biological Studies, 3(6): 33–38.
- Shokr E.A.M. 2015.** Effect of zinc on hematology and biochemistry of Nile tilapia. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(3): 1943–1950. doi: 10.1016/J.JTEMB.2020.126507
- Svobodova Z., Vykusova B. and Machova J. 1994.** The effects of pollutants on selected haematological and biochemical parameters in fish. P: 39–52. In: Muller R. and Lloyd R. (Eds.). Sublethal Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish. Food and Agriculture Organization of the United Nations by Fishing News Books, UK.
- Tacon A.G.J. 2020.** Trends in global aquaculture and aquafeed production: 2000–2017. Reviews in Fisheries Science and Aquaculture, 28(1): 43–56. doi: 10.1080/23308249.2019.1649634
- Tchounwou P.B., Yedjou C.G., Patlolla A.K. and Sutton D.J. 2012.** Heavy metal toxicity and the environment. P: 133–164. Luch A. (Ed.). Molecular, Clinical and Environmental Toxicology, Vol. 3: Environmental Toxicology. Springer, USA. doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4_6
- Teunen L., De Jonge M., Malarvannan G., Covaci A., Belpaire C. and Focant J. 2021.** Effect of abiotic factors and environmental concentrations on the bioaccumulation of persistent organic and inorganic compounds to freshwater fish and mussels. The Science of the Total Environment, 799: 1–13 (149448). doi: 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, USA. 618P.
- Tishanova V. and Ilieva N. 1994.** Joint influence of Zn and Pb on some haematological indices of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). Annual Scientific Studies, 83: 119–123.
- Torres P., Tort L., Planas J. and Flos R. 1986.** Effects of confinement stress and additional zinc treatment on some blood parameters in the dogfish (*Scyliorhinus canicula*). Comparative Biochemistry and Physiology (C), 83: 89–92. doi: 10.1016/0742-8413(86)90017-4
- Verep B., Bešli 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, 10(7): 1098–1102. doi: 10.3923/pjbs.2007.1098.1102
- Vosyliene M.Z. 1999.** The effect of heavy metal mixture on haemato-

- logical parameters of rainbow trout. P: 295–298. In: Lovejoy D.A. (Ed.). Heavy Metals in Environment. An Integrated Approach. Springer, USA. doi: 10.1080/13921657.1999.10512290
- Witeska M. 2005.** Stress in fish haematological and immunological effects of heavy metals. *Electronic Journal of Ichthyology*, 1: 35–41.
- Witeska M., Kondera E., Lugowsk K. and Bojarsk B. 2022.** Haematological methods in fish- not only for beginners. *Aquaculture*, 547: 1–17 (737498). doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737498



Research Paper

Effect of different levels of sub-lethal concentration (LC₅₀96h) of heavy metal zinc on growth, survival and some hematological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerling

Mehran Avakh Keysami^{1*}, Maryam Avakh Keysami², Afshar Zoughi Shalmani³,
Mohammad Rahanandeh³

DOI: 10.22124/japb.2025.29778.1562

Received: February 2025

Accepted: June 2025

Abstract

This study was conducted to evaluate the effect of heavy metal zinc on growth, nutrition, survival rate and some blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. A total of 540 fish (20.19±2.45g) were divided into four treatments and three replicates (45 fish per replicate). Treatments 1 to 4 were reared with identical diets and water containing 0, 5, 25 and 50% of LC₅₀96h concentration (9.4mg/L) of zinc for 8 weeks, respectively. The results showed that adding zinc to water had a significant effect on reducing the survival rate of fingerlings ($P<0.05$). The number of red blood cells in the experimental treatments of 25 and 50% of zinc concentration decreased compared to the treatment of 0% ($P>0.05$). White blood cells in the experimental treatments of 25 and 50% zinc concentration showed a significant decrease compared to the 0% treatment ($P<0.05$). In the 5% treatment, red and white blood cells increased compared to the other treatments ($P<0.05$). Zinc had a positive effect on growth variables and blood indices in the 5% treatment. There was a significant difference between the 25 and 50% treatments in growth variables and the number of red blood cells, hematocrit, hemoglobin and red blood cell indices with the 0 and 5% treatments ($P<0.05$). In general, exposure of rainbow trout fingerlings to zinc at a level above 5% LC₅₀96h caused changes in the amount of blood indices, growth and survival rate of this fish. Therefore, monitoring water quality in terms of zinc pollution is essential for the economic and hygienic production of this fish.

Key words: Rainbow Trout, Zinc, Growth, Survival Rate, Hematological Indices.

1- Associate Professor in Aquatics and Fisheries Department, Mirzakocheh Khan Fisheries Science Education Unit, Guilan Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

2- M.Sc. Student in Biophysics, Department of Biology, Kharazmi University, Karaj, Iran.

3- Assistant Professor in Aquatics and Fisheries Department, Mirzakocheh Khan Fisheries Science Education Unit, Guilan Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

*Corresponding Author: dr.keysami@gmail.com

