

Study of some hematological indices of the gray mullet (*Mugil cephalus*) in response to environmental concentrations of the heavy metal lead

Hajirezaee, S.^{1*}

1- Department of Fisheries Sciences and Engineering, Faculty of Natural Resources, University of Jiroft, Jiroft, Iran

Received: 13 January 2025

Accepted: 12 March 2025

Abstract

Introduction: Pollution of inland and marine waters is one of the most important environmental problems, mainly due to industrial, agricultural, and human activities and their wastewater discharge into aquatic environments. In recent decades, heavy metal pollution has attracted the attention of toxicological and environmental studies due to its high persistence, high bioaccumulation, and toxic effects on aquatic organisms. In this regard, lead is one of the heavy metals that has entered aquatic environments in large quantities due to industrial activities. In the aquatic environment, lead is absorbed and accumulated by aquatic organisms, which can negatively affect all vital aspects of these organisms, such as growth, immunity, metabolism, and osmotic regulation. Grey mullet is a fish susceptible to heavy metal contamination due to their omnivorous diet and near-bed habitat. Therefore, physiological and hematological changes in this fish may reflect the impact of the environment, especially pollutants, on this species. Blood indices are widely used in toxicological studies to determine the physiological responses of fish to environmental changes. Although several hematological studies have reported heavy metal contamination in fish, little information is available on gray mullet. Therefore, considering the economic and ecological importance of gray mullet and its sensitivity to heavy metal contamination, the present study aimed to investigate the effect of environmental lead concentration on the hematological status of this species.

Materials and Methods: Mullet fish were collected from coastal estuaries of Chabahar Bay and transferred to the aquaculture department of the Off-shore Fisheries Research Center under aeration and distributed in 500 L polyethylene tanks containing seawater with a salinity of 35 g/L for a 10-day acclimation period. After the acclimation period and, after weighing the fish (28.2 ± 3.1 g), twelve 40 L tanks containing seawater (with a salinity of 35 g/L) were stocked at a density of 10 fish per tank. Fish were exposed to different doses of lead nitrate [Pb(NO₃)₂] at ambient concentrations of 5, 15, and 25 µg/L (MERCK Co.) for 96 h in three replicates. After 96 hours of exposure, blood samples were collected by cutting the caudal peduncle of the fish (due to the small size of the fish and to obtain the maximum amount of blood) in heparinized tubes and used for the analysing blood parameters. Hematocrit index

(Hct) was measured using the microhematocrit method, in which blood samples were first centrifuged ($12000 \times g$, 5 min) and then the volumetric ratio of the sediment phase of blood cells to the total blood volume was calculated. Hemoglobin (Hb) concentration was measured using the methemoglobin method at a wavelength of 540 nm. A hemocytometer was also used to determine the number of red and white blood cells under a light microscope.

Results and Discussion: The fish were exposed to environmental concentrations of lead nitrate ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) of 5, 15, and 25 $\mu\text{g/L}$ for 96 hours and their blood parameters were determined. According to the results, there was no significant change in blood parameters between the control group and the group exposed to 5 $\mu\text{g/L}$ of lead ($p > 0.05$). However, at higher concentrations (15 and 25 $\mu\text{g/L}$), significant decreases in hematocrit (Hct), red blood cell count (RBC), hemoglobin (HB), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular volume (MCV), and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) were observed ($p < 0.05$). In contrast, the white blood cell (WBC) count significantly increased in fish exposed to 15 and 25 $\mu\text{g/L}$ lead, indicating a stress response ($p < 0.05$).

Conclusion: The results of the present study indicated that lead exposure may impair immune function and oxygen transport in fish and make them more sensitive to environmental stressors. Also, these results suggested that hematological parameters can be biomarkers of heavy metal pollution in aquatic environments.

Keywords: gray mullet, *Mugil cephalus* heavy metals, pollution, lead, fish, hematology.

* Corresponding Author: soheillrezaee66@gmail.com

"مقاله پژوهشی"

تغییرات برخی شاخص‌های خونی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در پاسخ به غلظت‌های محیطی فلز سنگین سرب

سعید حاجی رضائی*

۱- گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۴

چکیده

تغییرات شاخص‌های خونی ماهی در پاسخ به آلودگی فلزات سنگین می‌تواند شاخصی از تغییرات محیطی در رابطه با این نوع آلاینده‌ها باشد. سرب به عنوان یک فلز بسیار سمی عمدتاً از طریق فعالیت‌های صنعتی وارد آب‌ها شده و پس از تجمع زیستی باعث مسمومیت ماهی می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی اثرات قرار گرفتن در معرض سرب بر خون‌شناسی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) بعنوان یک گونه ماهی مهم از نظر اکولوژیکی و اقتصادی انجام شد. ماهی‌ها به مدت ۹۶ ساعت در معرض غلظت‌های محیطی نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$) یعنی ۵، ۱۵ و ۲۵ میکروگرم در لیتر قرار گرفتند و شاخص‌های خونی آنها سنجش شدند. طبق نتایج، تغییر معنی‌داری در شاخص‌های خونی بین گروه کنترل و غلظت ۵ میکروگرم در لیتر سرب وجود نداشت ($p > 0.05$). با این حال، در غلظت‌های بالاتر (۱۵ و ۲۵ میکروگرم در لیتر)، کاهش قابل توجهی در هماتوکریت (Hct)، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، هموگلوبین (HB)، میانگین هموگلوبین کورپوسکولار (MCH)، میانگین حجمی کورپوسکولار (MCV) و میانگین غلظت هموگلوبین کورپوسکولار (MCHC) مشاهده شد ($p < 0.05$). در مقابل، تعداد گلبول‌های سفید خون (WBC) به طور قابل توجهی در ماهیان مواجه شده با ۱۵ و ۲۵ میکروگرم در لیتر سرب افزایش یافت، که نشان دهنده پاسخ به استرس می‌باشد ($p < 0.05$). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که قرار گرفتن در معرض سرب ممکن است عملکرد ایمنی و انتقال اکسیژن در ماهیان را مختل کند و آنها را در برابر عوامل استرس‌زای محیطی حساس‌تر کند. همچنین، این نتایج حاکی از آن است که شاخص‌های خونی می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی آلودگی فلزات سنگین در محیط‌های آبی در نظر گرفته شوند.

کلمات کلیدی: فلزات سنگین، آلودگی، سرب، ماهی کفال خاکستری، خون‌شناسی

مقدمه

آلودگی آب‌های داخلی و دریایی یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست محیطی می‌باشد که عمدتاً در نتیجه فعالیت‌های صنعتی، کشاورزی و انسانی و تخلیه پساب آنها به محیط‌های آبی رخ می‌دهد (Irfan and Alatawi, 2019; Häder *et al.*, 2020; Saravanan *et al.*, 2024). در دهه‌های اخیر، آلودگی ناشی از فلزات سنگین به دلیل پایداری بالا، تجمع زیستی بالا و اثرات سمی آن بر موجودات آبی، توجه مطالعات سم‌شناسی و زیست محیطی را به خود جلب کرده‌است (Baby *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2022).

در این راستا، سرب یکی از فلزات سنگینی می‌باشد که در اثر فعالیت‌های صنعتی به مقدار زیادی وارد محیط‌های آبی شده‌است (Al Mazed *et al.*, 2022; Das *et al.*, 2022). در محیط آبی، سرب توسط موجودات آبی جذب و تجمع می‌یابد که می‌تواند بر تمام جنبه‌های حیاتی این موجودات مانند رشد، ایمنی، متابولیسم و تنظیم اسمزی تأثیر منفی بگذارد (Paul *et al.*, 2014; Kaya and Akbulut, 2015; Lee *et al.*, 2019). فلزات سنگین، به ویژه سرب، به دلیل حضور در سطوح تغذیه‌ای متنوع در شبکه غذایی آب، می‌توانند به عنوان شاخص‌های زیستی آلودگی مطرح باشند (Authman *et al.*, 2015). ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)، یکی از ماهیان مهم اقتصادی در مناطق ساحلی، مصب‌ها و تالاب‌های دریای عمان و خلیج فارس می‌باشد. این ماهی وابسته به بستر بوده و می‌تواند طیف وسیعی از شوری و تغییرات محیطی را تحمل کند (Hosseini Aghuzbeni *et al.*, 2017; Jasim *et al.*, 2022). همچنین، کفال خاکستری به دلیل رژیم غذایی همه چیزخواری و زیست در نزدیکی بستر بیشتر در معرض آلودگی فلزات

سنگین قرار دارد. بنابراین تغییرات فیزیولوژیکی و خونی در این ماهی می‌تواند بازتابی از تأثیر محیط، به ویژه آلاینده‌ها، بر این گونه باشد (Stancheva *et al.*, 2013; Jasim *et al.*, 2022; Monier *et al.*, 2023). شاخص‌های خونی به طور گسترده در مطالعات سم‌شناسی برای تعیین پاسخ‌های فیزیولوژیکی ماهی به تغییرات محیطی استفاده می‌شود (Witeska *et al.*, 2023). در این راستا، شاخص‌هایی مانند هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، میانگین هموگلوبین کورپوسکولار، میانگین غلظت هموگلوبین کورپوسکولار، میانگین حجمی کورپوسکولار و تعداد گلبول‌های سفید خون می‌توانند تصویری از وضعیت سلامت عمومی ماهی ارائه دهند. علاوه بر این، تغییرات در داده‌های خونی می‌تواند نشان دهنده وضعیت فیزیولوژیکی و ایمنی، استرس و سایر ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی ناشی از آلاینده‌های محیطی باشد (Docan *et al.*, 2018).

به عنوان مثال، مشاهده شده است که قرارگرفتن ماهی در معرض سرب می‌تواند با کاهش ظرفیت حمل اکسیژن هموگلوبین، ایمنی را مختل کند (Javed and Usmani, 2015; Ahmed *et al.*, 2022). فلزات سنگین با ایجاد استرس اکسیداتیو عملکرد سلول‌های خونی را مختل می‌کنند و عمدتاً باعث کم‌خونی می‌شوند (Shahjahan *et al.*, 2022). با ایجاد اختلال در تولید و عملکرد سلول‌های خونی مانند هموگلوبین، ظرفیت حمل اکسیژن کاهش می‌یابد و در نتیجه عملکرد متابولیک و سیستم ایمنی ضعیف می‌شود که به نوبه خود می‌تواند ماهی‌ها را نسبت به عوامل بیماری‌زا حساس‌تر کند (Shahjahan *et al.*, 2022). بنابراین، تغییرات خونی می‌تواند به عنوان یک هشدار اولیه در

شرایط کیفی آب، روزانه ۸۰ درصد آب مخازن تعویض شدند.

تست مواجهه

پس از یک دوره تغذیه ۳ روزه با رژیم غذایی تجاری، ماهیان به مدت ۹۶ ساعت در سه تکرار در معرض دوزهای مختلف نیترات سرب $[Pb(NO_3)_2]$ در غلظت‌های محیطی ۵، ۱۵ و ۲۵ میکروگرم در لیتر (MERCK Co.) قرار گرفتند (Bazzi, 2015). یک گروه بدون مواجهه نیز به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. غلظت‌های مختلف سرب با رقیق کردن استوک در آب شیرین ضد عفونی شده با کلر همراه با هوادهی و مخلوط کردن تهیه شدند. در طول دوره مواجهه، ماهی دو بار در روز تا حد اشتها تغذیه شدند.

نمونه‌گیری خون و آنالیز شاخصهای خونی

پس از ۹۶ ساعت مواجهه، نمونه‌های خون با برش ساقه دمی ماهی (به دلیل کوچک بودن ماهی و برای به دست آوردن حداکثر مقدار خون) در لوله‌های هپارینه شده جمع آوری و برای آنالیز پارامترهای خونی مورد استفاده قرار گرفتند. شاخص هماتوکریت (Hct) با استفاده از روش میکروهماتوکریت اندازه‌گیری شد، که در آن نمونه‌های خون ابتدا $(12000 \times g)$ ، مدت ۵ دقیقه) سانتریفیوژ شدند و سپس نسبت حجمی فاز رسوب سلول‌های خونی به حجم کل خون محاسبه شد. غلظت هموگلوبین (Hb) با استفاده از روش مت‌هموگلوبین در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. همچنین از هموسیتومتر برای تعیین تعداد گلبول‌های قرمز و سفید زیر میکروسکوپ نوری

مورد آلودگی محیط با فلزات سنگین باشد. لذا درک این تغییرات برای ارزیابی خطرات زیست محیطی و به ویژه ارائه راه حل‌های مناسب ضروری می‌باشد. اگرچه مطالعات خونی متعددی در مورد آلودگی فلزات سنگین در ماهی گزارش شده‌است (Javed and Usmani, 2015; Ahmed et al., 2022)، ولی اطلاعات کمی در مورد کفال خاکستری در دسترس می‌باشد. بنابراین با توجه به اهمیت اقتصادی و اکولوژیکی ماهی کفال خاکستری و حساسیت آن به آلودگی فلزات سنگین، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر غلظت سرب محیطی بر وضعیت خونی این گونه انجام شد. مطالعه حاضر می‌تواند درک ما را از اثرات سمی سرب بر سلامت ماهی افزایش دهد و داده‌های ارزشمندی را برای مطالعات پایش محیطی ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش

ماهی کفال از خورهای ساحلی خلیج چابهار جمع آوری و تحت شرایط هوادهی به بخش آبی‌پروری مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور منتقل و در مخازن پلی اتیلن ۵۰۰ لیتری حاوی آب دریایی با شوری ۳۵ گرم/لیتر برای یک دوره سازگاری ۱۰ روزه توزیع شدند. در طول دوره سازگاری، ماهی‌ها با رژیم غذایی تجاری (شرکت بیضا ۲۱ شامل: ۵۵٪ پروتئین خام، ۱۱٪ چربی خام، ۳۰٪ کربوهیدرات، ۴٪ فیبر خام) تا حد اشتها تغذیه شدند. پس از دوره سازگاری و پس از توزین ماهیان (28.2 ± 3.1 گرم)، ۱۲ مخزن ۴۰ لیتری حاوی آب دریا (با شوری ۳۵ گرم/لیتر) با تراکم ۱۰ ماهی در هر مخزن ذخیره شدند. همچنین برای حفظ

استفاده شد. علاوه بر این، از فرمول‌های زیر برای تعیین سایر شاخص‌های خونی استفاده شد:

- میانگین هموگلوبین کورپوسکولار (MCH) = غلظت هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)/تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون/میکرولیتر)
- میانگین غلظت هموگلوبین کورپوسکولار (MCHC) = [غلظت هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)/هماتوکریت] $\times 100$
- میانگین حجمی کورپوسکولار (MCV) = [هماتوکریت/تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون/میکرولیتر)] $\times 10$

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های خونی به صورت فایل اکسل ذخیره و سپس جهت بررسی تفاوت بین تیمارها توسط نرم افزار SPSS ورژن ۱۶ تحلیل شدند. از تست کولموگروف-اسمیرنوف برای بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. داده‌های درصدی با فرض غیر نرمال بودن توسط مسیر ARCSIN تبدیل و سپس آنالیز شدند. وجود تفاوت در گروه‌های تیمار با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه در سطح معنی‌داری ۰.۰۵ انجام و سپس میانگین‌ها توسط تست توکی مقایسه شدند.

نتایج

شاخص‌های خونی کفال خاکستری در ماهیان تیمار شده با سرب در جدول ۱ ارائه شده است. تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های خونی بین گروه کنترل (۰ میکروگرم در لیتر) و گروه ۵ میکروگرم در لیتر مشاهده نشد ($p > 0.05$). با این حال، در غلظت‌های بالاتر (۱۵ و ۲۵ میکروگرم در لیتر)، تغییرات قابل توجهی مشاهده شد ($p < 0.05$). سطح هموگلوبین با افزایش غلظت سرب به تدریج کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). در حالی که گروه کنترل و ۵ میکروگرم در لیتر مقادیر

هموگلوبین مشابهی را نشان دادند (به ترتیب 8.5 ± 0.4 و 8.4 ± 0.3 گرم/دسی لیتر) ($p > 0.05$). همچنین کاهش معنی‌داری در گروه‌های ۱۵ میکروگرم در لیتر (5.5 ± 0.5 گرم/دسی لیتر) و ۲۵ میکروگرم در لیتر (5.2 ± 0.4 گرم/دسی لیتر) مشاهده شد ($p < 0.05$). الگوی مشابهی در سطوح همتوکریت مشاهده شد که از 42 ± 2.1 درصد در گروه کنترل به 28.6 ± 2.3 درصد در گروه ۲۵ میکروگرم در لیتر کاهش یافت ($p < 0.05$). شمارش گلبول‌های قرمز نیز کاهش معنی‌داری در ماهیان مواجه شده نشان داد، زیرا از $2.5 \pm 0.2 \times 10^6$ در گروه شاهد به $1.4 \pm 0.2 \times 10^6$ در بالاترین غلظت سرب کاهش یافتند ($p < 0.05$). شاخص MCV، MCH و MCHC نیز در پاسخ به ۱۵ و ۲۵ میکروگرم در لیتر سرب به طور قابل توجهی کاهش یافتند ($p < 0.05$). در مقابل، تعداد گلبول‌های سفید خون روند افزایشی را در غلظت‌های بالاتر سرب نشان دادند ($p < 0.05$). سطوح گلبول‌های سفید بین گروه کنترل و تیمار ۵ میکروگرم در لیتر نسبتاً پایدار بود، اما افزایش قابل توجهی در غلظت‌های ۱۵ ($8.2 \pm 0.7 \times 10^3$) و ۲۵ ($10.5 \pm 0.8 \times 10^3$) میکروگرم در لیتر سرب مشاهده شد ($p < 0.05$).

جدول ۱: شاخص‌های خونی ماهی کفال خاکستری در مواجهه با نیترات سرب

Table 1: Hematology Parameters of Grey Mullet Fish Exposed to Pb(NO₃)₂

Parameter	Control	5 µg/L	15 µg/L	25 µg/L
Haemoglobin (Hb) (g/dL)	8.5 ± 0.4 ^a	8.4 ± 0.3 ^a	6.8 ± 0.5 ^b	5.2 ± 0.4 ^c
Hematocrit (Hct) (%)	42 ± 2.1 ^a	41.5 ± 2.0 ^a	35.2 ± 2.5 ^b	28.6 ± 2.3 ^c
RBC (10 ⁶ /µL)	2.5 ± 0.2 ^a	2.45 ± 0.2 ^a	1.9 ± 0.3 ^b	1.4 ± 0.2 ^c
MCV (fL)	168 ± 5 ^a	167 ± 6 ^a	158 ± 7 ^b	151 ± 6 ^b
MCH (pg)	34.0 ± 1.2 ^a	33.8 ± 1.1 ^a	30.5 ± 1.5 ^b	26.4 ± 1.3 ^c
MCHC (g/dL)	20.2 ± 0.8 ^a	20.1 ± 0.7 ^a	19.3 ± 0.1 ^b	19.2 ± 0.3 ^b
WBC (10 ³ /µL)	6.5 ± 0.6 ^c	6.6 ± 0.5 ^c	8.2 ± 0.7 ^b	10.5 ± 0.8 ^a

بحث

در مطالعه حاضر، پاسخ‌های خونی کفال خاکستری پس از قرار گرفتن در معرض غلظت‌های محیطی سرب برای درک بهتر اثرات سمی فلزات سنگین بر روی گونه‌های ماهی که از کف تغذیه می‌کنند مورد سنجش قرار گرفت. یافته‌های این مطالعه اثرات نامطلوب بر روی شاخص‌های خونی ماهی در غلظت‌های مواجهه بالا یعنی ۱۵ و ۲۵ میکروگرم در لیتر را نشان داد. در این رابطه، ما کاهش قابل توجهی در Hb، Hct، RBC، MCH، MCHC و MCV مشاهده کردیم. این نتایج با مطالعات دیگر اثرات فلزات سنگین بر روی شاخص‌های خونی لای ماهی، *Tinca tinca* (Shah and Altindag, 2004)، ماهی کپور، *Cyprinus carpio* (Brucka-Jastrzębska and Protasowicki, 2005)، گربه ماهی آفریقای شمالی، *Clarias gariepinus* (Stanley et al., 2010)، ماهی مریگال، *Cirrhinus mrigala* (Parthipan and Muniyan, 2013) و ماهی کپور، *C. carpio* (Khalesi et al., 2017) منطبق بود. کاهش قابل توجه هموگلوبین ماهیان مواجهه شده ممکن است ظرفیت حمل اکسیژن خون را مختل کند، که این می‌تواند منجر به کاهش متابولیسم هوازی و استرس فیزیولوژیکی عمومی در ماهی شود (Ahmed et al., 2022). مشخص شده است که سرب

از طریق مهار آنزیم آمینو لوولینیک اسید دهیدراتاز که نقش اصلی را در یوستنتر ملکول "هم" بازی می‌کند، در سنتز هموگلوبین اختلال ایجاد می‌نماید (Dongre et al., 2011; Ray, 2016). به طور مشابه، میزان هماتوکریت در غلظت‌های ۱۵ و ۲۵ میکروگرم سرب کاهش معنی‌داری نشان داد. از آنجایی که هماتوکریت نشان دهنده نسبت گلبول‌های قرمز خون به حجم خون می‌باشد، بنابراین، کاهش سطح آن ممکن است به دلیل کاهش تعداد گلبول‌های قرمز یا اختلال در سنتز گلبول‌های قرمز باشد. این ممکن است به افزایش تخریب گلبول‌های قرمز به دلیل آسیب اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین نسبت داده شود (Ahmed et al., 2022; Naz et al., 2023). این نتیجه ممکن است توسط نتایج تعداد گلبول‌های قرمز پشتیبانی شود، زیرا تعداد آنها به طور قابل توجهی از $2.5 \pm 0.2 \times 10^6$ در گروه کنترل به $1.4 \pm 0.2 \times 10^6$ در غلظت ۲۵ میکروگرم در لیتر سرب کاهش یافت. کاهش هموگلوبین و هماتوکریت بیانگر وضعیت کم‌خونی ماهیان تیمار شده با سرب می‌باشد، همانطور که قبلاً در سایر ماهیان در معرض فلزات سنگین گزارش شده است (Ahmed et al., 2022). MCV، MCHC، MCH نیز در پاسخ به غلظت‌های بالای سرب یعنی ۱۵ و ۲۵ میکروگرم در لیتر کاهش معنی‌داری نشان دادند. کاهش MCV و

MCH می‌تواند نشان‌دهنده کاهش اندازه گلبول‌های قرمز خون در ماهیان بیمار شده با سرب باشد، که مشخصه کم‌خونی میکروسیتیک می‌باشد (Ahmed et al., 2022; Naz et al., 2023). علاوه بر این، کاهش معنی‌داری در مقادیر MCHC را در غلظت‌های بالای سرب مشاهده شد، که احتمالاً نشان می‌دهد که غلظت هموگلوبین در واحد حجم گلبول‌های قرمز تحت‌تأثیر سرب قرار گرفته است، که بیشتر وقوع کم‌خونی در ماهیان بیمار شده با سرب را تایید می‌کند. در تطابق با نتایج ما، مطالعاتی وجود دارد که نشان می‌دهد قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین می‌تواند مورفولوژی و عملکرد گلبول قرمز را تغییر می‌دهد (Witeska et al., 2011; Quyet and Dung, 2023). بر خلاف گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های سفید روند افزایشی را در پاسخ به غلظت‌های بالای سرب نشان دادند. در این راستا، گلبول‌های سفید به طور قابل توجهی از 6.5×10^3 در گروه کنترل به 10.5×10^3 در $25 \mu\text{g/L}$ میکروگرم در لیتر سرب افزایش یافت. این افزایش ممکن است نشان‌دهنده پاسخ ایمنی به استرس ناشی از سرب باشد. لکوسیتوز اغلب با استرس فیزیولوژیکی و واکنش‌های التهابی در ماهیان مواجه شده با فلزات سنگین همراه است (Javed and Usmani, 2013; Javed and Usmani, 2014). بنابراین، افزایش تعداد گلبول‌های سفید مشاهده شده در مطالعه حاضر ممکن است نشان‌دهنده واکنش سیستم ایمنی برای مقابله با سمیت فلزات سنگین با افزایش تکثیر لکوسیت‌ها باشد. به طور کلی، اختلالات قابل توجه مشاهده شده در شاخص‌های خونی را می‌توان به مکانیسم‌های متعددی از جمله استرس اکسیداتیو، تداخل با متابولیسم آهن و اختلال در سیستم ایمنی ناشی از سرب نسبت داد.

استرس اکسیداتیو به غشای گلبول‌های قرمز آسیب می‌رساند و منجر به همولیز می‌شود. استرس اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین می‌تواند عملکرد سلولی را مختل کرده و باعث آپوپتوزیس (مرگ سلولی) در سلول‌های پیش‌ساز گلبول‌های قرمز شود (Ahmed et al., 2022). فلزات سنگین می‌توانند با متابولیسم آهن و سنتز ملکول "هم" از طریق اختلال در آنزیم‌های آمینو لوولینیک اسید دهیدراتاز و فروکلاتاز، که برای بیوسنتز مولکول "هم" ضروری هستند، تداخل ایجاد کنند (Woods, 2023). همچنین، افزایش تعداد گلبول‌های سفید در ماهیان در معرض ممکن است یک پاسخ جبرانی به آسیب اکسیداتیو و التهاب ناشی از سرب باشد. مطالعه حاضر می‌تواند از منظر اکولوژیکی و زیست‌محیطی حائز اهمیت باشد، زیرا حساسیت ماهی کفال (به عنوان یک گونه وابسته به عمق و بستر دریا) به فلزات سنگین می‌تواند نشان‌دهنده خطر بالقوه آلودگی فلزات سنگین در محیط‌های آبی باشد. تغییرات در شاخص‌های خونی می‌تواند به عنوان نشانگرهای زیستی ارزشمند برای ارزیابی عوامل استرس‌زای محیطی و سطوح آلودگی در اکوسیستم‌های آبی عمل کند. بنابراین تغییرات خونی مشاهده شده در کفال خاکستری در این مطالعه، وضع مقرراتی برای پایش و کاهش آلودگی فلزات سنگین در محیط‌های آبی را ضروری می‌کند.

سپاسگزاری

از حمایت‌های همه افراد در انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌نمایم.

منابع

1. Ahmed, I., Zakiya, A. and Fazio, F., 2022. Effects of aquatic heavy metal intoxication on the level of hematocrit and hemoglobin

- Biochemical effects of lead exposure on systolic and diastolic blood pressure, heme biosynthesis and hematological parameters in automobile workers of north Karnataka (India). *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 26(4), pp.400-406. DOI: 10.1007/s12291-011-0159-6
10. Häder, D.P., Banaszak, A.T., Villafañe, V.E., Narvarte, M.A., González, R.A. and Helbling, E.W., 2020. Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications. *Science of the Total Environment*, 713, pp.136586. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.136586
 11. Hosseini Aghuzbeni, S.H., Hajirezaee, S., Matinfar, A., Khara, H. and Ghobadi, M., 2017. A preliminary study on polyculture of western white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) with mullet (*Mugil cephalus*): an assessment of water quality, growth parameters, feed intake efficiency and survival. *Journal of Applied Animal Research*, 45(1), pp.247-251. DOI: 10.1080/09712119.2016.1150845
 12. Irfan, S. and Alatawi, A.M.M., 2019. Aquatic ecosystem and biodiversity: a review. *Open Journal of Ecology*, 9(1), pp.1-13. DOI:10.4236/oje.2019.91001
 13. Jasim, S.A., Golgouneh, S., Jaber, M.M., Indiaminov, S.I., Alsaikhan, F., Hammid, A.T., Mustafa, Y.F., Karim, Y.S., Sultan, M.O. and Norbakhsh, M., 2022. Effects of short-term exposure to the heavy metal, nickel chloride (NiCl₂) on gill histology and osmoregulation components of the gray mullet, *Mugil cephalus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 258, pp.109361. DOI: 10.1016/j.cbpc.2022.109361
 14. Javed, M. and Usmani, N., 2013. Haematological indices of *Channa punctatus* as an indicator of heavy metal pollution in waste water aquaculture pond, Panethi, India. *African Journal of Biotechnology*, 12(5), pp.520-525. DOI: 10.5897/AJB12.2115
 15. Javed, M. and Usmani, N., 2014. Assessment of heavy metals (Cu, Ni, Fe, Co, Mn, Cr, Zn) in rivulet water, their accumulations and alterations in in fishes: a review. *Frontiers in Environmental Science*, 10, pp.1-19. DOI: 10.3389/fenvs.2022.919204
 2. Al Mazed, M., Rahman, Md. A. and Ahmed, Sk.I., 2022. A review on effects of heavy metals on aquatic animals and public health significance. *Veterinary Sciences: Research and Reviews*, 8(2), pp.96-104. DOI:10.17582/journal.vsr/2022/8.2.96.104
 3. Authman, M.M., Zaki, M.S., Khallaf, E.A. and Abbas, H.H., 2015. Use of fish as bio-indicator of the effects of heavy metals pollution. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 6(4), pp.1-13. DOI: 10.4172/2155-9546.1000328
 4. Baby, J., Raj, J.S., Biby, E.T., Sankarganesh, P., Jeevitha, M. V., Ajisha, S.U. and Rajan, S.S., 2010. Toxic effect of heavy metals on aquatic environment. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 4(4), pp.939-952. DOI: 10.4314/ijbcs.v4i4.62976
 5. Bazzi, A., 2015. Determining the level of heavy metal pollution in surface sediments of the Gulf of Chabahar. *Iranian Journal of Health and Environment*, 8(1), pp.45-56 DOI:10.22038/jreh.2022.62272.1469 [In Persian]
 6. Brucka-Jastrzębska, E. and Protasowicki, M., 2005. Effects of cadmium and nickel exposure on haematological parameters of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 35(1), pp.29-38. DOI: 10.3750/AIP2005.35.1.04
 7. Das, S., Mandal, S., Dhara, H. and Chatterjee, P.N., 2022. Dietary amelioration of lead toxicity in fish-A review. *Indian Journal of Animal Health*, 61(2), pp.173-189. DOI:10.36062/ijah.2022.spl.03422
 8. Docan, A., Grecu, I. and Dediu, L., 2018. Use of hematological parameters as assessment tools in fish health status. *Journal of Agrolimentary Processes and Technologies*, 24, pp.317-324. DOI: 10.36062/ijah.2022.spl.03422
 9. Dongre, N.N., Suryakar, A.N., Patil, A.J., Ambekar, J.G. and Rath, D.B., 2011.

22. Parthipan, P. and Muniyan, M., 2013. Effect of heavy metal nickel on hematological parameters of fresh water fish, *Cirrhinus mrigala*. *Journal of Environment and Current Life Science*, 1, pp.46-55.
23. Paul, N., Chakraborty, S. and Sengupta, M., 2014. Lead toxicity on non-specific immune mechanisms of freshwater fish *Channa punctatus*. *Aquatic Toxicology*, 152, pp.105-112. DOI: 10.1016/j.aquatox.2014.03.017
24. Quyet, D.H. and Dung, P.T., 2023. Morphological Alterations of Fish Erythrocytes as Their Response to Environmental Conditions. *HAYATI Journal of Biosciences*, 30(4), pp.711-715. DOI: 10.4308/hjb.30.4.711-715
25. Ray, R.R., 2016. Haemotoxic effect of lead: a review. *Zoological Society*, 69, pp.161-172. DOI: 10.1007/s12595-015-0160-9
26. Saravanan, P., Saravanan, V., Rajeshkannan, R., Arnica, G., Rajasimman, M., Gurunathan, B. and Pugazhendhi, A., 2024. Comprehensive review on toxic heavy metals in the aquatic system: sources, identification, treatment strategies, and health risk assessment. *Environmental Research*, 258, pp.119440. DOI: 10.1016/j.envres.2024.119440
27. Shah, S.L. and Altindag, A., 2004. Hematological Parameters of Tench (*Tinca tinca* L.) after Acute and Chronic Exposure to Lethal and Sublethal Mercury Treatments. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 73(5), pp.911-918. DOI: 0.1007/s00128-004-0513-y
28. Shahjahan, M., Taslima, K., Rahman, M. S., Al-Emran, M., Alam, S.I. and Faggio, C., 2022. Effects of heavy metals on fish physiology—a review. *Chemosphere*, 300, pp.134519. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.134519
29. Stancheva, M., Makedonski, L. and Petrova, E., 2013. Determination of heavy metals (Pb, Cd, As and Hg) in Black Sea grey mullet (*Mugil cephalus*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19(1), hematology of fish *Channa punctatus*. *African Journal of Biotechnology*, 13(3), pp.492-501. DOI: 10.5897/AJB2013.13131
16. Javed, M. and Usmani, N., 2015. Impact of heavy metal toxicity on hematology and glycogen status of fish: a review. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 85, pp.889-900. DOI: 10.1007/s40011-014-0404-x
17. Kaya, H. and Akbulut, M., 2015. Effects of waterborne lead exposure in mozambique tilapia: oxidative stress, osmoregulatory responses, and tissue accumulation. *Journal of Aquatic Animal Health*, 27(2), pp.77-87. DOI: 10.1080/08997659.2014.1001533
18. Khalesi, M.K., Abedi, Z., Behrouzi, S. and Eskandari, S.K., 2017. Haematological, blood biochemical and histopathological effects of sublethal cadmium and lead concentrations in common carp. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 20(2), pp.141-150. DOI: 10.15547/bjvm.965
19. Lee, J.W., Choi, H., Hwang, U.K., Kang, J.C., Kang, Y.J., Kim, K.I. and Kim, J.H., 2019. Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 68, pp.101-108. DOI: 10.1016/j.etap.2019.03.010
20. Monier, M.N., Soliman, A.M. and Al-Halani, A.A., 2023. The seasonal assessment of heavy metals pollution in water, sediments, and fish of grey mullet, red seabream, and sardine from the Mediterranean coast, Damietta, North Egypt. *Regional Studies in Marine Science*, 57, pp.102744. DOI: 10.1016/j.rsma.2022.102744
21. Naz, S., Hussain, R., Guangbin, Z., Chatha, A.M.M., Rehman, Z.U., Jahan, S., Liaquat, M. and Khan, A., 2023. Copper sulfate induces clinico-hematological, oxidative stress, serum biochemical and histopathological changes in freshwater fish rohu (*Labeo rohita*). *Frontiers in Veterinary Science*, 10, pp.1-17. DOI: 10.3389/fvets.2023.1142042

- pp.30-34.
30. Stanley, O.N. and Omerebele, U.A., 2010. Changes in the hematological parameters of *Clarias gariepinus* exposed to lead poisoning. *Journal of Fisheries International*, 5(4), pp.72-76. DOI: 10.3923/jfish.2010.72.76
 31. Wang, Y., Li, Q., Yun, X., Zhou, J. and Wang, J., 2022. A review on the ecotoxicological effects of heavy metals on aquatic organisms. *Journal of Environmental and Earth Sciences*, 6(2), pp.148-161. DOI: 0000-0003-1483-333X
 32. Witeska, M., Kondera, E. and Szczygielska, K., 2011. The Effects of Cadmium on Common Carp Erythrocyte Morphology. *Polish Journal of Environmental Studies*, 20(3), pp.783-788.
 33. Witeska, M., Kondera, E. and Bojarski, B., 2023. Hematological and hematopoietic analysis in fish toxicology—a review. *Animals*, 13(16), pp.1-13. DOI: 10.3390/ani13162625
 34. Woods, J.S., 2023. Effects of metals on the hematopoietic system and heme metabolism. *Toxicology of Metals*, 1, pp.939-958.