

## Effect of adding *Camelia siensies* extract on blood biochemical parameters and liver enzymes in *Carassius auratus* in exposure to heavy metal Cadmium and Mercury

## تأثیر عصاره گیاه چای سبز (*Camellia sinensis*) بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون و آنزیم‌های کبدی ماهی قرمز (*Carassius auratus*) در مواجهه با فلزات سنگین کادمیوم و جیوه

Raha Fadaee Raieni<sup>1\*</sup>, Hamidreza Bidmal<sup>2</sup>, Behzad Eiri<sup>3</sup>, Sepideh Ghani<sup>4</sup>

1. Instructor, Department of Fisheries Sciences and Engineering, Faculty of Natural Resources, University of Jiroft, Jiroft, Iran
2. M.A., Department of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3. M.A. of Aquatic Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
4. M. A., Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

(Received: Sep. 16, 2019 - Accepted: Aug. 17, 2020)

رها فدایی راینی<sup>۱\*</sup>، حمیدرضا بیدمال<sup>۲</sup>، بهزاد ایری<sup>۳</sup>، سپیده غنی<sup>۴</sup>

۱. مربی، گروه شیلات، دانشکده مهندسی منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران
۲. کارشناس شیلات، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳. کارشناس تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
۴. کارشناس، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۲۷)

### Abstract

Recently, plant protection products have become commonly used in aquaculture as immune stimulants to strengthen the fish safety system. Some plants are a rich source of tannins, polysaccharides, alkaloids, flavonoids, saponins, and polyphenols, which have been shown to play different roles, including having antimicrobial effects and strengthening the immune system of fish. In the present study, 150 goldfish (mean weight 135 g) were divided into three groups: control group (T1), metal + extract of green tea (T2) and metal (T3) with three replicates. The optimum dose of extract in fish diet was determined (0.65 mg/kg), sub-lethal concentrations of cadmium (0.5 mg/l) and mercury (0.5 mg/l). In order to study the biochemical parameters of blood, sampling was carried out on days 3, 7, and 14, after exposure to the concentration of heavy metals of cadmium and mercury. The results showed that total protein, cholesterol, glucose and the levels of lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) enzymes were significantly different in treatment of herbal extracts (T2) than other treatments. On the other hand, the values of the mentioned indices in the treatment of metal containing the extract of the plant were significantly higher than other treatments ( $P < 0.05$ ). According to the results, it can be stated that increased the immunity system in fish that fed with plant extract and the biochemical parameters were optimally. Regarding the fact that heavy metals in water resources affect the biochemical parameters of blood of fish, the results of this study suggest that the use of herbal extract increases the fish's physiological capacity against the negative effects of environmental pollutants. Therefore, the use of *Camelia siensies* extract in fish is recommended to increase the physiological capacity and reduce liver damage in the exposure of wastewater and industrial contaminants.

**Keywords:** Extract of *Camellia sinensis*, Gold fish, Heavy metals, Immunity system.

### چکیده

اخیراً در آبی پروری استفاده از ترکیبات گیاهی به‌عنوان محرک‌های ایمنی جهت تقویت سیستم ایمنی ماهیان رایج شده است. برخی گیاهان منبعی غنی از تانن‌ها، پلی‌ساکاریدها، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها و پلی‌پنتیدها هستند که نقش‌های مختلفی از جمله داشتن اثرات ضد میکروبی و تقویت سیستم ایمنی ماهیان برای آنها مشخص شده است. در تحقیق حاضر تعداد ۱۵۰ قطعه ماهی قرمز (میانگین وزن ۱۳۵ گرم) به سه گروه شامل گروه شاهد (T1)، فلز+عصاره گیاه چای سبز (T2) و فلز (T3) با سه تکرار تقسیم شدند. دز بهینه عصاره در جیره غذایی ماهیان (۰/۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا)، غلظت تحت کشنده فلزات سنگین کادمیوم (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و جیوه (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) تعیین گردید. به منظور بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون، نمونه‌برداری در روزهای سوم، هفتم و چهاردهم پس از مواجهه با غلظت تلفیقی فلزات سنگین کادمیوم و جیوه صورت گرفت. نتایج نشان داد پروتئین کل، کلسترول، گلوکز و مقادیر آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP)، در تیمار دریافت‌کننده عصاره گیاهی (T2) تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ( $P < 0.05$ ). به‌طوری‌که مقادیر AST، ALP و LDH در تیمارهای حاوی فلز بیشتر از گروه شاهد می‌باشد ( $P < 0.05$ ). از سوی دیگر مقادیر پروتئین کل، کلسترول و گلوکز در تیمار حاوی فلز که عصاره گیاه دریافت نمودند، نسبت به سایر تیمارها بطور معنی‌داری بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). به‌طوری‌که وجود عصاره در جیره سبب کاهش تأثیر منفی فلز بر شاخص‌های مذکور گردید. بر طبق نتایج اینگونه میتوان بیان نمود که در تیمار دریافت‌کننده عصاره گیاهی، سیستم ایمنی ماهی بهبود یافته و مقادیر شاخص‌های بیوشیمیایی در سطح بهینه بوده است. با توجه به اینکه فلزات سنگین موجود در منابع آبی بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهیان تأثیر منفی می‌گذارند، از نتایج تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد استفاده از عصاره گیاهی سبب افزایش توان فیزیولوژیک ماهی در مقابل اثرات منفی آلاینده‌های زیست‌محیطی گردد. از این‌رو استفاده از عصاره گیاه چای سبز در جیره ماهیان جهت افزایش توان فیزیولوژیک و کاهش آسیب‌های کبدی در مواجهه با پسابها و آلودگی‌های صنعتی پیشنهاد می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** سیستم ایمنی، فلزات سنگین، عصاره گیاه چای سبز، ماهی قرمز.

## مقدمه

تصفیه فاضلاب، هوا، آتشفشان، سوخت نفت، گاز، زغال سنگ، معادن، تجهیزات الکتریکی، رنگ سازی، کاغذ و صنایع و ... وارد منابع آبی می‌گردد (Prasath & Arivoli, 2014).

ویژگی‌های بیوشیمیایی خون به‌عنوان یکی از مهمترین شاخص‌های وضعیت فیزیولوژیک ماهی قلمداد می‌شود و از سویی شاخص‌های خون شناسی به‌عنوان یکی از مهمترین شاخص‌های تعیین سلامت موجودات زنده در شرایط استرس و همچنین در تعیین اثرات آلاینده‌ها بر موجودات زنده و تعیین شرایط سلامت اکوسیستم‌ها هستند (Guardiola et al., 2014). مطالعات گذشته نشان می‌دهد که قرار گرفتن آبزیان در معرض جیوه می‌تواند موجب تغییرات فاکتورهای هماتولوژیک، ساختار پروتئین و جلوگیری از انتقال گلوکز شود. کادمیوم به‌عنوان یک فلز سنگین، از جمله آلاینده‌های غیرآلی است که با دارا بودن خاصیت اختلال در سیستم درون ریز بدن موجودات زنده منجر به بروز عوارض تولیدمثلی زیادی نیز میگردد. به دلیل رهاسازی کادمیوم از منابع متنوع و فراوان، پراکنش این آلاینده در محیط‌های آبی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Radhakrishnan & Hemalatha, 2010). نیمه عمر طولانی این عنصر، عدم دفع از بدن موجودات زنده و حضور بلند مدت آن در بدن، منجر به بروز صدمات بیولوژیکی فراوانی میگردد. از جمله صدمات ناشی از کادمیوم میتوان به بروز صدمات کبدی، کلیوی، تنفسی، سرطانزایی و صدمات تولید مثلی اشاره نمود (Kumar & Singh, 2010). از این‌رو افزودن عصاره‌های گیاهی و از جمله عصاره گیاه چای سبز که سبب افزایش توان فیزیولوژیکی ماهی در برابر فلزات سنگین و سموم گردد، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

در حال حاضر مسأله عمده در آبی پروری تجاری، بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده برای افزایش رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد. نظر جدیدی که در این رابطه مطرح شده است استفاده از

امروزه در کشورهای صنعتی که از نظر علم و فناوری و در اختیار داشتن داروهای شیمیایی مدرن، پیشرو تلقی می‌شوند، به علت تمایل فزاینده به مصرف داروهای گیاهی و عوارض و آلودگی‌های مختلف داروهای شیمیایی که حتی بر محیط زیست نیز تأثیر گذاشته است، باعث گردیده که مردم کشورهای صنعتی نیز اکنون به گیاه درمانی روی آورده و در آنان میل برگشت به طبیعت بوجود آید.

در بین فلزات سنگین، جیوه فلزی منحصر به فرد است که در طبیعت دارای اشکال فیزیکی و شیمیایی مختلفی می‌باشد. باتوجه به ماهیت شیمیایی جیوه و زمان قرارگرفتن در معرض این فلز میزان تأثیرات جیوه بر موجود زنده متغیر است (Zalups, 2000). همچنین گروهی از سموم که به شدت خطرناک هستند و به صورت گسترده انتشار یافته‌اند شامل ترکیبات جیوه، مس، سرب، کادمیوم، روی و غیره بوده که اثرات متنوعی را روی ماهی دارند (Kasumyan, 2000). فلزات سنگین از دسته عناصری هستند که برای محیط زیست و زیست‌مندان آن سمی می‌باشند. تحقیقات نشان داده‌اند که گیاهان دارویی دارای تأثیر مثبت و بسزایی در جلوگیری از بروز آسیب‌های ناشی از آلاینده‌ها در جانوران می‌باشند.

جیوه از عناصر بسیار سمی در محیط زیست محسوب می‌شود به گونه‌ای که در بین فلزات سنگین بیشترین توجه مطوف به جیوه می‌باشد. جیوه در ردیف عناصری است که در بدن آبزیان بویژه ماهیان، تجمع پیدا می‌کند. همچنین به دلیل سمیت بسیار بالا و دفع بسیار کند در ماهیان از خطرناک‌ترین آلاینده‌های محیطی می‌باشد (Agah et al., 2007). آلودگی جیوه در اکوسیستم‌های آبی رو به افزایش است. با افزایش سطوح آلودگی در زیست بوم‌های آبی، مقادیر آلاینده‌ها به‌ویژه در ماهیان به دلیل اثرات بالقوه بر انسان مورد توجه است (Harakeh et al., 2003). جیوه معمولاً از روش‌های مختلف از قبیل سنگ، خاک،

آبی برگ گیاه کاری (*Murraya koengii*) در جلوگیری از آسیب‌های ناشی از حضور آلاینده‌هایی مانند کادمیوم و مسمومیت ناشی از آن مؤثرند.

تجارت ماهی زینتی در بخش آبی پروری به جهت ارزش بالای آن در صادرات از اهمیت اقتصادی قابل توجهی برخوردار است (Zuanon & Salaro, 2011). ماهی قرمز (*Carassius auratus*) از خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) از لحاظ زیستی و تغذیه ای شبیه کپور معمولی است. این گونه در اندازه کوچک به بلوغ جنسی می‌رسد و لقاح مصنوعی و پرورش لارو نسبتاً آسانی دارد. بنابراین ماهی قرمز به‌عنوان یک مدل مناسب جهت مطالعه تغذیه‌ای در لارو و بچه ماهی کپور ماهیان می‌باشد. برخی از مطالعات اولیه بر اساس نیازهای تغذیه‌ای ماهیان همه چیزخوار گرمابی پایه گذاری شده است (Sales & Janssens, 2003). با توجه به مطالب ذکر شده و اهمیت عصاره های گیاهی و از سوی دیگر با ارزش بودن ماهی قرمز در صنعت پرورش ماهیان زینتی و نیز در نظر گرفتن این ماهی به‌عنوان ماهی مدل و تعمیم نتایج آن به سایر ماهیان، تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره گیاه چای سبز بر بهبود توان فیزیولوژیکی ماهی قرمز در مواجهه با فلز سنگین کادمیوم و جیوه صورت گرفت.

### مواد و روش‌ها

در سال ۱۳۹۷، تعداد ۱۵۰ عدد ماهی قرمز در محدوده وزنی (۱۵۰-۱۰۰ گرم) از مرکز ماهیان زینتی استان گلستان شهرستان گرگان، تهیه شدند و در ۴ عدد تانک با ۳ تکرار (۱۲ عدد ماهی در هر تانک) به مدت دو هفته جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی نگهداری شده و طی این مدت ماهیان با خوراک مصنوعی (۳ درصد وزن بدن) مورد تغذیه قرار گرفتند (Lerner et al., 2007). پس از طی دوره سازگاری، ماهیان در غالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار به همراه یک گروه کنترل مورد آزمایش قرار گرفتند.

ترکیبات گیاهان دارویی در جیره غذایی ماهی و میگو می‌باشد. اخیراً در آبی پروری استفاده از ترکیبات گیاهی به‌عنوان محرک‌های ایمنی جهت تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهیان پرورشی رایج شده است (Ardo et al., 2008; Pratheepa et al., 2010). برخی گیاهان منبعی غنی از تانن‌ها، پلی ساکاریدها، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها و پلی‌پتیدها هستند که نقش‌های مختلفی از جمله داشتن اثرات ضد میکروبی و تقویت سیستم ایمنی ماهیان برای آنها مشخص شده است (Ardo et al., 2008). برگ‌های گیاه چای سبز به‌دلیل داشتن ترکیبات مختلف، دارای اهمیت با اثر تغذیه‌ای و دارویی و تحریک کنندگی بالایی است و مهمترین خواص آن ضد سرطان، ضد التهابی، ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدان و ضد ویروسی اشاره کرد (Babu, 2007). دارای ترکیبات شیمیایی نظیر کافئین، پلی فنول‌ها، ویتامین حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات است. مطالعات تغذیه‌ای نقش کلیدی برخی از مواد مغذی حاوی آنتی‌اکسیدان در سیستم ایمنی بدن ماهی را نشان می‌دهد. مواد مغذی دخیل مربوط به این سیستم شامل پروتئین‌ها، اسیدهای چرب ضروری، پلی‌ساکاریدها، ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان C و E می‌شود (Mir & Agrewala, 2008). از طرفی برجسته‌ترین مواد موجود در چای سبز پلی فنول‌ها می‌باشد، بسیاری از پلی فنول‌ها مانند کاتچین می‌تواند واکنش‌های ایمنی را با تعدیل واکنش‌های ضدالتهابی سیتوکینین‌ها و غیره و یا توسط مواد مؤثره فعال در سلول‌های سیستم ایمنی بدن را تنظیم کنند (Mir & Agrewala, 2008).

محققین مطالعاتی را در ارتباط با تأثیر عصاره‌های گیاهی بر توان فیزیولوژیک آبزیان گزارش نموده‌اند. به‌عنوان مثال، Elmastas et al. (2004) به بررسی تأثیر عصاره گیاه ختمی (*Althaea officinalis*) و فلزات سنگین و تأثیر آن بر آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های بیوشیمیایی خون پرداختند. تحقیق انجام شده توسط Mirta et al. (2012) نشان داد عصاره

تبدیل آن به NAD<sup>+</sup> در طول موج ۳۴۰ نانومتر، لاکتات دهیدروژناز (LDH) پلازما براساس تبدیل پیرووات به لاکتات در طول موج ۳۴۰ نانومتر تعیین گردید. آلکالین فسفاتاز (ALP) براساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نیتروفنول و فسفات در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Moss & Henderson, 1999). سطح پروتئین کل پلازما بر اساس واکنش بایوره و در طول موج ۵۴۰ نانومتر تعیین گردید. مقدار گلوکز پلازما بر اساس روش آنزیمی گلوکز اکسیداز و در طول موج ۵۰۰ نانومتر، سطح کلسترول پلازما نیز به روش آنزیمی و در طول موج ۵۱۰ نانومتر تعیین گردید و براساس میزان جذب نوری OD و فرمول ارائه‌شده در دستورالعمل کیت‌ها محاسبه گردید (Thomas, 1998). تجزیه داده‌ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه واریانس (One Way ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۱) انجام شد و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید.

جدول ۱. اجزای تشکیل‌دهنده جیره غذایی ماهیان قرمز مورد

استفاده در تحقیق حاضر	
درصد	اقلام غذایی
۳۱	پودر ماهی
۲۰	آرد سویا
۱۳	پودر گوشت
۲۴/۸	آرد گندم
۴	روغن ماهی
۵	مکمل معدنی
۰/۰۴۵	مکمل ویتامینه
۲	سلولز
۰/۱۵۵	کولین

جدول ۲. ترکیب شیمیایی جیره غذایی ماهیان قرمز مورد

استفاده در تحقیق حاضر				
ترکیب شیمیایی	پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)	خاکستر خام (درصد)	رطوبت (درصد)
۴۱/۱	۶/۶۰	۱۲/۴	۱۰	

قبل از شروع آزمایش، در مطالعه‌ای دز بهینه خوراکی گیاه چای سبز بر میزان بقا، رشد و سیستم ایمنی با بررسی تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی خون در ماهی قرمز به‌دست آمد (داده‌ها منتشر نشده). پس از تعیین دز بهینه عصاره در جیره غذایی ماهیان (۰/۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا) ماهیان به سه گروه به این صورت دسته‌بندی شدند. در گروه اول ماهیان به مدت دو هفته در معرض غلظت تلفیقی تحت کشنده فلزات سنگین کادمیوم (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و جیوه (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفتند (Alam & Maughan, 1992; Ossana et al., 2009). به منظور تغذیه ماهیان این گروه در طول دوره آزمایشی از جیره تجاری ماهی کپور (۳ درصد وزن بدن) استفاده گردید (جدول‌های ۳ و ۴). ماهیان گروه دوم همزمان با گروه اول در معرض فلزات سنگین آزمایشی قرار گرفتند و با استفاده از جیره غذایی حاوی دز بهینه عصاره گیاه چای سبز تغذیه شدند. تعویض آب در گروه‌های آزمایشی حاوی فلزات سنگین، به صورت روزانه با آب حاوی مقدار مشابه از فلز سنگین مورد نظر انجام شد به طوری‌که غلظت فلز سنگین آزمایشی در مخازن به شکل ثابتی حفظ گردید. همچنین همزمان با گروه‌های آزمایشی که ذکر گردید، یک گروه به‌عنوان گروه شاهد (بدون فلز سنگین و گیاه دارویی) در نظر گرفته شد. تمامی گروه‌های آزمایشی به همراه گروه شاهد در سه تکرار انجام شدند و نمونه‌برداری در روزهای سوم، هفتم و چهاردهم پس از در معرض قرار گرفتن با فلزات سنگین آزمایشی با خون‌گیری از ساقه دم به وسیله سرنگ آغشته به هپارین به منظور انجام آنالیزهای بیوشیمیایی انجام گرفت و سرم آن جداسازی شد و سپس شاخص‌های بیوشیمیایی خون با استفاده از کیت‌های تهیه‌شده از شرکت پارس آزمون و با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل یونیکو آمریکا) گرفت.

میزان فعالیت آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) پلازما براساس مقدار مصرف NADPH و

## نتایج

اختلاف معنی‌داری وجود داشت به طوری که مقدار این شاخص‌ها در تیمار حاوی فلز بیشتر از مقدار آن در تیمار حاوی فلز + عصاره گیاهی بود (جدول ۳).

نتایج حاصل از آنالیز شاخص‌های خون شناسی در روز هفتم پس از در معرض قرارگیری نشان داد مقادیر پروتئین کل، گلوکز، کلسترول و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در بین تیمار شاهد و گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشت ( $P < 0/05$ ) به طوری که وجود عصاره در جیره سبب کاهش تأثیر منفی فلز بر شاخص‌های مذکور گردید. همچنین مشخص گردید در روز چهاردهم، مقادیر آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) در بین گروه شاهد و گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت ( $P > 0/05$ ) (جدول ۴). بر طبق نتایج حاصل از آنالیز شاخص‌های خون شناسی در روز چهاردهم پس از در معرض قرارگیری در جدول ۵ نشان داده شده است. بر طبق نتایج مشخص گردید تمامی شاخص‌های مورد بررسی (پروتئین کل، گلوکز، کلسترول، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH)) در بین تیمار شاهد و گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشت ( $P < 0/05$ )، به طوری که وجود عصاره در جیره سبب کاهش تأثیر منفی فلز بر شاخص‌های مذکور گردید ( $P > 0/05$ ) (جدول ۵).

نتایج حاصل از آنالیز شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهیان در جدول‌های ۳، ۴، ۵ و شکل‌های ۱ تا ۶ ارائه گردیده است. همچنین تغییرات این شاخص‌ها در روزهای سوم، هفتم و چهاردهم پس از مواجهه با فلزات سنگین در شکل‌های ۱ تا ۶ آورده شده است. نتایج نشان داد شاخص‌های بیوشیمیایی خون (پروتئین کل، کلسترول، گلوکز) و مقادیر آنزیم‌های LDH، AST و ALP، در تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند ( $P < 0/05$ ). به طوری که مقادیر این شاخص‌ها در تیمار حاوی فلز که عصاره گیاهی دریافت نمودند، نسبت به گروه شاهد و گروه حاوی عصاره گیاه، بیشتر گزارش گردید. بر طبق نتایج تحقیق حاضر مشاهده گردید مقادیر LDH و ALP، AST در تیمارهای حاوی فلز بیشتر از گروه شاهد می‌باشد ( $P < 0/05$ ). در پژوهش حاضر آنالیز شاخص‌های خون شناسی، در روز سوم نمونه‌برداری نشان‌دهنده تغییرات معنی‌داری در پروتئین کل و کلسترول بود ( $P < 0/05$ )، اما مقدار گلوکز تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی مختلف و تیمار شاهد نشان نداد ( $P > 0/05$ ). همچنین در روز سوم نمونه‌برداری بین گروه شاهد و گروه‌های آزمایشی دیگر، مقادیر آنزیم‌های LDH و ALP، AST

جدول ۳. مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی خون در روز سوم پس از مواجهه با غلظت تلفیقی فلزات سنگین کادمیوم و جیوه در ماهی قرمز

منابع تغییر	پروتئین کل (g/dl)	کلسترول (mg/dl)	گلوکز (mg/dl)	ALP (U/L)	LDH (U/L)	AST (U/L)
شاهد (T1)	4/2 ± 0/11 <sup>a</sup>	90/8 ± 11/4 <sup>a</sup>	85/39 ± 5/9 <sup>a</sup>	85/63 ± 7/1 <sup>a</sup>	77/12 ± 18/8 <sup>a</sup>	65/42 ± 11/7 <sup>a</sup>
گروه فلز + عصاره (T2)	9/2 ± 0/10 <sup>b</sup>	240/5 ± 18/19 <sup>b</sup>	93/64 ± 6/6 <sup>a</sup>	130/39 ± 11/1 <sup>b</sup>	110/20 ± 21/9 <sup>b</sup>	121/72 ± 17/1 <sup>b</sup>
گروه فلز (T3)	10/94 ± 0/14 <sup>b</sup>	275/9 ± 18/77 <sup>b</sup>	99/93 ± 7/1 <sup>a</sup>	141/11 ± 9/8 <sup>b</sup>	227/55 ± 23/6 <sup>c</sup>	129/89 ± 14/5 <sup>b</sup>

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ( $P < 0/05$ ).

جدول ۴. مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی خون در روز هفتم پس از مواجهه با غلظت تلفیقی فلزات سنگین کادمیوم و جیوه در ماهی قرمز

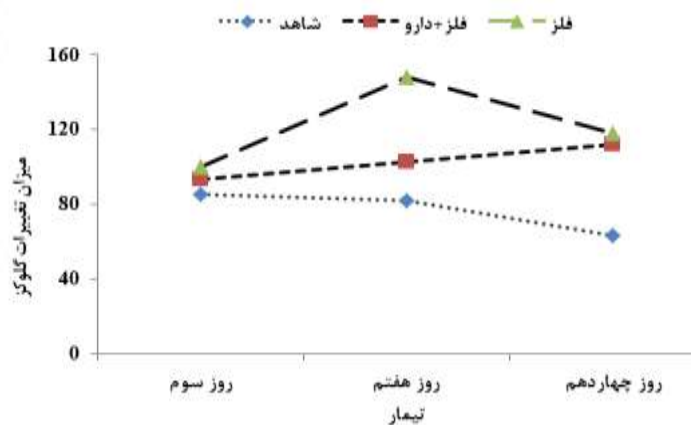
منابع تغییر	پروتئین کل (g/dl)	کلسترول (mg/dl)	گلوکز (mg/dl)	ALP (U/L)	LDH (U/L)	AST (U/L)
شاهد (T1)	4/9 ± 0/88 <sup>a</sup>	96/2 ± 14/35 <sup>a</sup>	81/99 ± 6/1 <sup>a</sup>	93/52 ± 8/8 <sup>a</sup>	111/41 ± 18/9 <sup>a</sup>	58/88 ± 11/1 <sup>a</sup>
گروه فلز + دارو (T2)	7/67 ± 0/57 <sup>b</sup>	189/9 ± 19/32 <sup>b</sup>	102/49 ± 5/9 <sup>b</sup>	100/22 ± 9/1 <sup>a</sup>	99/59 ± 19/5 <sup>a</sup>	81/93 ± 19/2 <sup>b</sup>
گروه فلز (T3)	13/11 ± 0/23 <sup>c</sup>	204/4 ± 20/11 <sup>b</sup>	147/88 ± 6/5 <sup>c</sup>	120/19 ± 7/3 <sup>a</sup>	156/12 ± 20/3 <sup>a</sup>	189/48 ± 25/6 <sup>c</sup>

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ( $P < 0/05$ ).

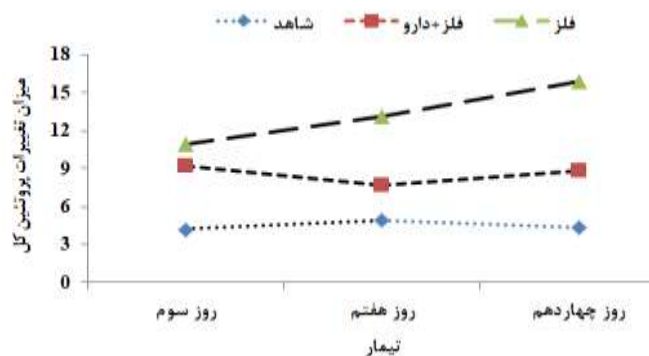
**جدول ۵.** مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی خون در روز چهاردهم پس از مواجهه با غلظت تلفیقی کادمیوم و جیوه در ماهی قرمز

منابع تغییر	پروتئین کل (g/dl)	کلسترول (mg/dl)	گلوکز (mg/dl)	ALP (U/L)	LDH (U/L)	AST (U/L)
شاهد (T1)	۴/۳±۱/۵ <sup>a</sup>	۹۸/۴±۱۰/۹ <sup>a</sup>	۶۳/۱۱±۵/۹ <sup>a</sup>	۷۷/۹۰±۱۱/۱ <sup>a</sup>	۱۰۶/۱۱±۱۸/۸۸ <sup>a</sup>	۵۵/۲۳±۱۶/۱ <sup>a</sup>
گروه فلز + دارو (T2)	۸/۷۹±۱/۹ <sup>b</sup>	۱۳۶/۹±۱۸/۵۷ <sup>b</sup>	۱۱۲/۲۴±۸/۹ <sup>b</sup>	۱۲۳/۳۱±۱۴/۱ <sup>ab</sup>	۱۱۷/۸۲±۱۹/۳۳ <sup>a</sup>	۹۴/۷۹±۱۸/۸ <sup>b</sup>
گروه فلز (T3)	۱۵/۸۶±۱/۰ <sup>c</sup>	۱۹۹/۱±۱۶/۸۹ <sup>c</sup>	۱۱۷/۹۵±۷/۸ <sup>b</sup>	۱۳۱/۱۱±۱۲/۶ <sup>b</sup>	۱۶۸/۸۵±۲۲/۳۸ <sup>b</sup>	۱۶۷/۵۸±۱۹/۱ <sup>c</sup>

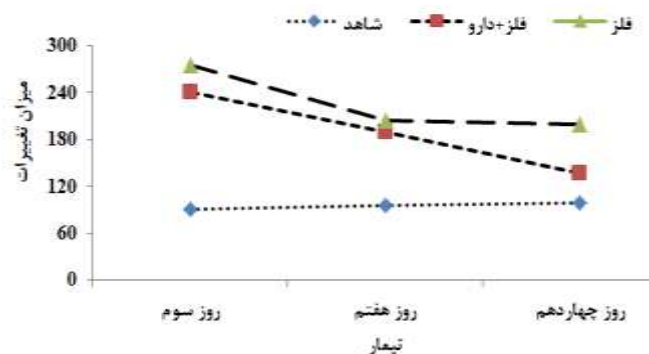
حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).



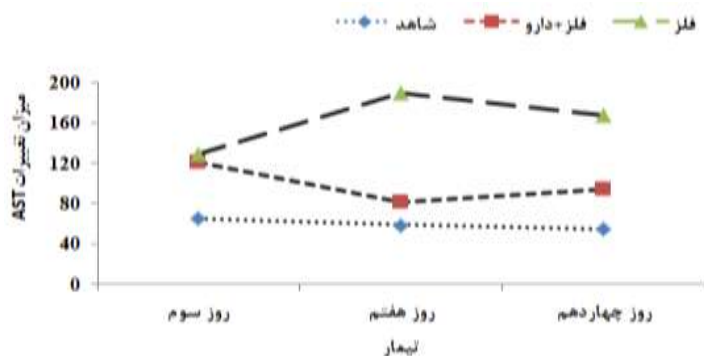
**شکل ۱.** تغییرات روند گلوکز خون ماهی قرمز در روزهای مختلف نمونه‌برداری



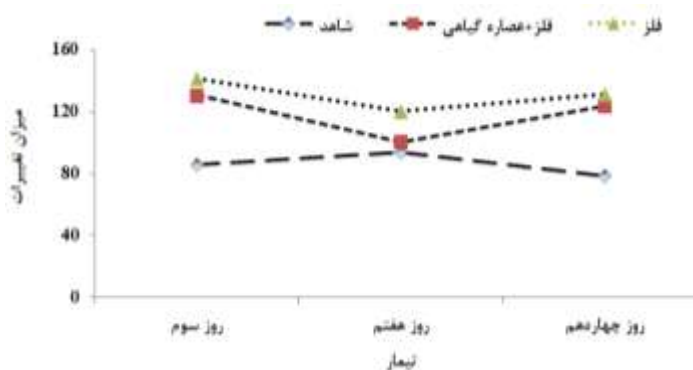
**شکل ۲.** تغییرات روند پروتئین کل خون ماهی قرمز در روزهای مختلف نمونه‌برداری



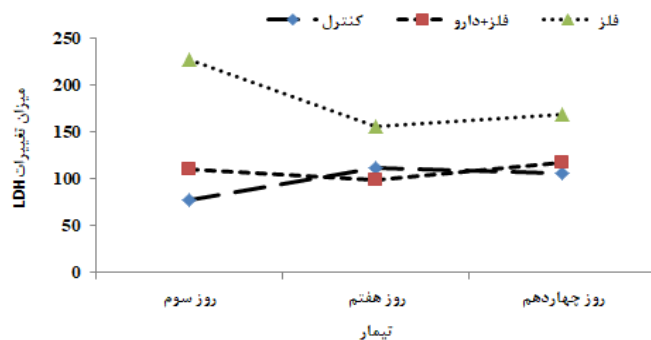
**شکل ۳.** تغییرات روند کلسترول خون ماهی قرمز در روزهای مختلف نمونه‌برداری



شکل ۴. تغییرات روند AST خون ماهی قرمز در روزهای مختلف نمونه‌برداری



شکل ۵. تغییرات روند ALP خون ماهی قرمز در روزهای مختلف نمونه‌برداری



شکل ۶. تغییرات روند LDH خون ماهی قرمز در روزهای مختلف نمونه‌برداری

به رشد مطلوب، سلامت و بقای آبی شود. گیاهان دارویی دارای ترکیبات مختلفی از جمله مولکولهایی با خواص محرک ایمنی می‌باشند که باعث تقویت سیستم ایمنی همورال و سلولی می‌شوند (Brufau et al., 2015). پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی می‌تواند تحت تأثیر محرک‌های ایمنی گیاهی مانند عصاره گیاه چای سبز قرار گیرد. مطالعه حاضر فرصت استفاده از عصاره گیاه چای سبز که موجب بهبود توان

### بحث و نتیجه‌گیری

آبی پروری یکی از فعالیت‌های اقتصادی مهم در بسیاری از کشورها است. بنابراین توسعه اقدامات مؤثر برای بهبود وضعیت سلامت آبزیان با استفاده از اثر ضد باکتریایی و یا ویروسی محرک‌های ایمنی در رژیم غذایی می‌تواند مفید واقع شود (Muiswinkel, 2008). یکی از استراتژی‌های اصلی در حال توسعه استقرار یک رژیم تغذیه‌ای مناسب می‌باشد که منجر

تحت تأثیر عصاره های گیاهی موجود است. در تحقیق حاضر، نتایج نشان داد شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهیان پس از مواجهه با غلظت تلفیقی فلزات سنگین جیوه و کادمیوم نشان داد که حضور عصاره در تیمار T2 سبب کاهش مقادیر پروتئین کل، کلسترول، گلوکز، آلکالین فسفاتاز (ALP)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) گردید که حاکی از تأثیر مثبت عصاره چای سبز بر بهبود توان فیزیولوژیکی ماهی قرمز می‌باشد. همچنین بر طبق نتایج مقادیر ذکر شده در تیمار T3 آزمایشی بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بوده است ( $P < 0.05$ ، جدول‌های ۳ تا ۵).

سطح پروتئین‌های خون از مهمترین عوامل خون می‌باشند که یکی از شاخص‌های مکانیسم دفاعی هومورال محسوب می‌شوند و به‌عنوان یک شاخص بالینی در ارزیابی سلامت و وضعیت استرس در گونه‌های آبزیان مطرح می‌باشند (Peyghan *et al.*, 2014). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن عصاره گیاه چای سبز سبب بهبود مقادیر این شاخص‌ها گردیده است (شکل ۲). در مطالعه Nejad Moghadam *et al.* (2017) مشخص گردید میزان پروتئین کل با توجه به روند افزایشی تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را از خود نشان نداد. همچنین در مطالعه Binaii *et al.* (2014) نیز این وضعیت مشاهده گردید. البته باید توجه داشت که تفسیر تجزیه و تحلیل پارامترهای خونی به‌دلیل اختلاف درون و برون‌گونه‌ای ماهیان بسیار مشکل است. اختلافاتی از قبیل روش‌های نمونه‌برداری و آزمایشگاهی، اندازه، جنس ماهی، تراکم جمعیت و شرایط استرس می‌توانند بر تفسیر نتایج تأثیر بگذارند (Peyghan *et al.*, 2014). به نظر می‌رسد که علاوه بر عوامل محیطی و گونه ماهی مدت زمان استفاده از عصاره گیاهی نیز می‌تواند منجر به اختلافات در شاخص‌های مورد بررسی شود.

Shahsavani *et al.* (2003) طی بررسی تأثیر

فیزیولوژیکی را در ماهی قرمز ارائه می‌نماید. بسیاری از مواد مؤثره که در داروها به‌کار گرفته می‌شوند را می‌توان از گیاهان استخراج نمود. امروز استفاده از گیاهان به‌عنوان دارو موضوعی نیست که به کشورهای معدودی اختصاص داشته باشد، بلکه بسیاری از کشورهای از جمله کشورهای پیشرفته صنعتی از این گیاهان، داروهای فرموله شده به‌بازار عرضه می‌کنند و یا مواد مؤثره خالص این گیاهان را در اختیار شرکت‌های دارویی جهت تولید دارو قرار می‌دهند و بدین وسیله سهم عمده‌ای از صادرات خود را به این امر اختصاص می‌دهند.

خون یکی از اجزای فعال دخیل در تبادل گازهای تنفسی بین بدن و محیط زیست آبی و کمک به سوخت و ساز بدن می‌باشد. به این دلیل شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم به‌طور عمده به‌عنوان شاخص شرایط فیزیولوژیکی یا پاسخ به استرس تحت کشنده در ماهی مطرح می‌باشند (Belanger *et al.*, 2001). سطح گلوکز تحت تأثیر تغییر عوامل داخلی و خارجی قرار می‌گیرد. این موضوع به‌عنوان شاخص بیوشیمیایی، میزان نرمال بودن وضعیت فیزیولوژیک ماهی را توضیح می‌دهد. بررسی میزان گلوکز خون سریع‌ترین و مقرون به‌صرفه‌ترین روش ارزیابی وضعیت استرس در ماهی می‌باشد (Nafisi Bahabadi *et al.*, 2014). شاخص‌های خون شناختی ماهی تابع تغییرات محیطی می‌باشد. عواملی مانند بیماری، استرس، شرایط تغذیه‌ای، آلودگی و... در تغییر شاخص‌های خونی مؤثر می‌باشند (Ghiraldelli *et al.*, 2006). اجزای خون یک روش قابل اعتماد برای توصیف شرایط طبیعی ماهی سالم می‌باشد و با تجزیه و تحلیل سلول‌های خونی وضعیت بیماری را می‌توان شناسایی کرد (Anderson, 2003). از سوی دیگر، شاخص‌های خون شناسی می‌تواند به‌عنوان شاخص سم شناسی در ماهیان در نظر گرفته شود (Sancho *et al.*, 2000). با این حال اطلاعات اندکی در رابطه با پاسخ هماتولوژیک ماهی در معرض فلزات سنگین و



پروتئین و گلوکز سرم خون ماهی کاهش یافت که در تحقیق حاضر مشخص گردید عصاره چای سبز قادر است تأثیر فلزات سنگین را کاهش دهد (جدول‌های ۳ تا ۵). Jahanbin *et al.* (2011a) افزایش معنی‌دار گلوکز را در معرض جیوه مشاهده نمودند. همچنین Hedayati (2012) با بررسی اثر سمیت جیوه بر پاسخ ایمنی ماهی باس دریایی، افزایش معنی‌دار گلوکز و کاهش غیرمعنی‌دار پروتئین را گزارش نمودند. همانطور که مشخص گردیده است، گلوکز نقش مهمی در تأمین انرژی زیست‌محیطی و تبدیل آنها به انرژی شیمیایی (ATP) دارد که در شروع می‌تواند به‌عنوان انرژی مکانیکی بیان شود. در شرایط نامطلوب، سلول‌های کرومافین، هورمون‌های کاتکولامین، آدرنالین و نورآدرنالین را به خون ترشح می‌کنند. این هورمون‌های استرس به همراه کورتیزول می‌توانند تولید گلوکز را با روش‌های گلیکونئوزنزیم و گلیکونئوزنزیم افزایش دهند. فلزات سنگین، مقدار گلوکز خون را به دلیل گلیکونئولیز گسترده و سنتز گلوکز از آمینواسیدها و پروتئین‌های اضافی بافت کبدی افزایش می‌دهند (Almeida *et al.*, 2001). Barton *et al.* (2002) با بررسی اثر استرس حاد بر مقدار گلوکز سالمون ساک-آی، افزایش گلوکز را مشاهده نمودند.

Hoseini *et al.* (2014) نشان دادند مواجهه با منگنز سبب افزایش آلکالین فسفاتاز سرم خون در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) گردید. Beltran *et al.* (2017) اثر پودر پوست لیمو را با دوزهای ۱/۵ و ۳/۵ درصد بر روی عملکرد سیستم ایمنی ماهی شانک در یک دوره ۳۰ روزه آزمایش نمودند. نتایج آنها نشان داد که در ماهیان تغذیه شده با پودر پوست لیمو عملکرد سیستم ایمنی بهبود یافت. Prasath & Arivoli (2014) کاهش مقدار پروتئین خون ماهی کپور هندی (*Catla catla*) را در معرض دوزهای تحت کشنده فلز جیوه گزارش نمودند. در مطالعه ای دیگر، Jahanbin و همکاران (2011a)

ماده شوینده (شامپو) بر شاخص‌های خون شناسی ماهی قرمز (*Carassiu sauratus*) دریافتند که تعداد گلبول‌های قرمز ماهی در معرض این آلاینده افزایش می‌یابد که می‌تواند ناشی از استرس شیمیایی محیط باشد که برای تأمین اکسیژن مورد نیاز، موپیزان گلبول قرمز خون افزایش می‌یابد. همچنین در تحقیق حاضر وجود فلز سبب استرس در ماهی قرمز گردید ولیمن و عصاره گیاه توانست تا حدود قابل توجهی از تأثیر منفی فلز بر شاخص‌های خون شناسی ماهی بکاهد.

نتایج مطالعه Ghasemi *et al.* (2017) نشان دادند افزودن زردچوبه باعث کاهش معنی‌دار سطح این آنزیم‌ها در سرم خون ماهی کپور پس از مواجهه با سولفات مس گردید که در تطابق با یافته‌های تحقیق حاضر می‌باشد. در تحقیق حاضر نیز جود عصاره چای سبز سبب کاهش معنی‌دار غلظت آنزیم‌های کبدی پس از مواجهه با فلزات سنگین کادمیوم و جیوه در مقایسه با تیمار فاقد عصاره گردید ( $P < 0.05$ ).

در مطالعه حاضر، مقادیر گلوکز به‌عنوان شاخص استرس جهت ارزیابی واکنش استرس در معرض شرایط فلزات سنگین سمی شامل جیوه و کادمیوم اندازه‌گیری شدند. Vinodhini & Narayanan (2009) افزایش معنی‌دار گلوکز خون ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) را در معرض فلزات سنگین مشاهده نمودند که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. Jahanbin *et al.* (2011a) با بکارگیری عصاره گیاه چوبک (*Acanthophyllum bracteatum*) جهت بهبود سلامت ماهی سالمون آتلانتیک در معرض جیوه و القای آن در آب گزارش کردند شاخص‌های هماتولوژیک در تیمار جیوه نسبت به گروه شاهد بیشتر بود که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد (جدول ۵).

در مطالعه‌ای دیگر Ranjana و Peyush (2011) شاخص‌های خون شناسی ماهی کپور را تحت فلز روی بررسی کردند و به این نتیجه دست یافتند که

سطح کلسترول خون و فعالیت‌های حمایت‌کنندگی کبد و آنزیم‌های کبدی باشد ( Abd El-Gawad & Ramzy, 2013).

اندازه‌گیری مقادیر آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) شاخص‌های مناسبی جهت تعیین آسیب‌های کبدی می‌باشد. در تحقیق حاضر وجود عصاره چای سبز سبب بهبود تأثیر فلز بر آنزیم‌های مذکور گردید. Elmastas *et al.* (2004) به بررسی تأثیر عصاره گیاه ختمی (*Althaea officinalis*) و فلزات سنگین و تأثیر آن بر آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های بیوشیمیایی خون پرداختند. نتایج این محققین نشان داد استفاده از تیمارهای آزمایشی منجر به کاهش گلوکز و کلسترول خون و آنزیم‌های LDH، AST و ALP گردید و پروتئین بدن ماهی افزایش یافت.

به‌طورکلی، با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر میتوان اینگونه بیان نمود که عصاره گیاه چای سبز با تحت تأثیر قرار دادن برخی از پارامترهای خونی می‌تواند سبب بهبود عملکرد فیزیولوژیک بدن (به‌ویژه در غلظت ۰/۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا) شود. از سوی دیگر حضور فلزات سنگین و از جمله کادمیوم و جیوه سبب کاهش توان فیزیولوژیک ماهی شده و سیستم ایمنی ماهی را کاهش می‌دهند. از این رو با توجه به نتایج تحقیق حاضر، پیشنهاد می‌گردد از عصاره‌های گیاهی و از جمله عصاره گیاه چای سبز در جیره غذایی ماهیان، به منظور ارتقاء پاسخ‌های ایمنی ماهیان، استفاده گردد. در این خصوص تحقیقات بیشتری جهت روشن‌شدن مکانیسم عمل عصاره چای سبز میزان دوز مناسب همچنین طول دوره پرورش مورد نیاز است.

نیز کاهش مقدار پروتئین خون ماهی سالمون آتلانتیک را که در معرض فلز سنگین جیوه قرار گرفته بودند، گزارش نمودند. این نکته قابل ذکر می‌باشد که پروتئین‌ها داراری عملکرد مهمی در متابولیسم سلول هستند. کاتابولیسم پروتئین‌ها نقش مهمی در تولید انرژی بدن در ماهیان ایفا می‌نماید. در اکوسیستم‌های آلوده پروتئین‌ها مکانیزم فیزیولوژیکی با نقش مهم تأمین انرژی جهت مقابله با وضعیت استرسی تشکیل می‌دهند. کاهش مقدار پروتئین ممکن است به علت شکست پروتئین به آمینواسید در معرض فلزات سنگین (مانند جیوه و کادمیوم) باشد (Shakoori *et al.*, 2004). در تحقیق حاضر مقدار پروتئین کل، پس از در معرض قراردادن ماهیان با فلزات سنگین در روزهای مختلف نمونه‌برداری (روزهای سوم، هفتم و چهاردهم)، افزایش یافت که این امر را می‌توان به حضور عصاره گیاه در جیره‌های آزمایشی نسبت داد و همچنین اختلاف را می‌توان احتمالاً به دلیل اندازه‌گیری پروتئین کل سرمی در تحقیق حاضر دانست (شکل ۲).

مشخص گردیده است که استفاده از گیاهان دارویی مانند گیاه چای سبز با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا هم از طریق داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بالا و هم از طریق چلاته‌کردن فلزات کادمیوم و جیوه در بافت و خون می‌تواند از بدن در برابر مسمومیت حمایت کند (Mir & Agrewala, 2008). با توجه به اثرات درمانی و پیشگیری‌کننده گیاه چای سبز که در مطالعات مختلف گزارش شده است میتوان نتایج حاصل را توجیه کرد. این اثرات میتواند به دلیل وجود ترکیبات مختلف از جمله پلی‌ساکاریدها که کاهش دهنده قند خون اند، پکتین به‌عنوان کاهش‌دهنده

## REFERENCES

Abd El-Gawad, H.; Ramzy, M.E. (2013), Purification and characterization of toxic waste in the aquatic environment using common carp, *Cyprinus carpio*.

Journal of Natural Resources and Development; 3: 27-34.

Agah, H.; Leermakers, M.; Elskens, M.; Fatemi, S.M.R.; Baeyens, W. (2007).

- Total mercury and methyl mercury concentrations in fish from the Persian Gulf and the Caspian Sea. *Journal of water, air, and soil pollution*; 181: 95-105.
- Alam, M.K.; Maughan, O.E. (1992). The effect of malathion, diazinon, and various concentrations of zinc, copper, nickel, lead, iron, and mercury on fish. *Biological Trace Element Research*; 34(3): 225-236.
- Almeida, J.A.; Novelli, E.L.B.; Dal-Pai Silva, M.; Alves-Junior, R. (2001). Environmental cadmium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environmental Pollution*; 114: 169-175.
- Anderson, D.P. (2003). *Disease of Fishes*. Narendra Publishing House Delhi; Pp. 22-73.
- Ardo, L.; Yin, G.; Xu, P.; Varadi, L.; Szigeti, G.; Jeney, Z.; Jeney, G. (2008). Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophyla*. *Aquaculture*; 275: 26-33.
- Babu, P.V.A.; Sabitha, K.E.; Srinivasan, P.; Shyamaladevi, C.S. (2007). Green tea attenuates diabetes induced Maillard-type fluorescence and collagen cross-linking in the heart of streptozotocin diabetic rats. *Pharmacological Research*; 55: 433-440.
- Barton, B.A. (2002). Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*; 42: 517-525.
- Belanger, J.M.; Son, J.H.; Laugero, K.D.; Moberg, G.P.; Dorochoy, S.I.; Lankford, S.E.; Cech, J.J. (2001). Effects of short-term management stress and ACTH injections on plasma cortisol levels in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture*; 203: 165-176.
- Binaii, M.; Ghiasi, M.; Farabi, M.; Pourgholam, R.; Fazli, H.; Safari, R.; Alavi, E.; Taghavi, M.; Bankehsaz, Z. (2014). Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). *Fish and Shellfish Immunology*; 36: 46-51.
- Brufa, J.; Esteve, E.; Tarradas, J. (2015). Review of immune stimulator substances/agents that are susceptible of being used as feed additives: mode of action and identification of end-points for efficacy assessment. *External Scientific assessment*; 16: 1-267.
- Elmastas, D.; Ozturk, L.; Gokce, I.; Erenler, R.; Aboul-Enein, H. (2004). Determination of Antioxidant Activity of Marshmallow Flower (*Althaea officinalis* L.). *Analyt Lett*; 37(9): 1859-1869.
- Ghasemi, A.; Mazandarani, M.; Sodagar, M.; Hosseini, S.M. (2017). The effects of *curcuma longa* on reducing the liver and kidney damage caused by exposure to copper sulfate in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fisheries, Natural Resources*; 70(2): 147-138.
- Ghiraldelli, L.; Martins, M.L.; Yamashita, M.M.; Jeronimo, G.T. (2006). Ectoparasites influence on the hematological parameters of Nile tilapia and carp cultured in the State of Santa Catarina, South Brazil. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*; 1: 270-276.
- Guardiola, F.A.; González-Párraga, P.; Meseguer, J.; Cuesta, A.; Esteban, M.A. (2014). Modulatory effects of deltamethrin-exposure on the immune status, metabolism and oxidative stress in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shell fish Immunology*; 36: 120-129.
- Harakeh, S.; Sabra, N.; Kassak, K.; Doughan, B.; Sukhan, C. (2003). Mercury and arsenic levels among Lebanese dentists: A call for action. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; 70: 629-635.

- Hedayati, A. (2012). Effect of marine mercury toxicity on immunological responses of seabream. *Asian Journal of Animal Sciences*; 6(1): 1-12.
- Hoseini, S.M.; Hedayati, A.; Mirghaed, A.T.; Ghelichpour, M. (2016). Toxic effects of copper sulfate and copper nanoparticles on minerals, enzymes, thyroid hormones and protein fractions of plasma and histopathology in common carp (*Cyprinus carpio*). *Experimental and Toxicologic Pathology*; 68(9): 493-503.
- Jahanbin, K.; Gohari, A.R.; Moini, S.; Djomeh, Z.E.; Masi, P. (2011a). Isolation, structural characterization and antioxidant activity of a new water-soluble polysaccharide from *Acanthophyllum bracteatum* roots. *International Journal Biological Macromolecules*; 49: 567-572.
- Kumar, P.; Singh, A. (2010). Cadmium toxicity in fish: An overview. *GERF Bulletin of Biosciences*; 1: 41-47.
- Lerner, D.T.; Bjornsson, B.T.; McCormick, S.D. (2007). Effects of aqueous exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) on physiology and behavior of smolt development of Atlantic salmon. *Aquatic Toxicology*; 81: 329-336.
- Mir, M.A.; Agrewala, J.N. (2008). Dietary polyphenols in modulation of the immune system. In: Vassallo N, editor. *Polyphenols and health: new and recent advances*. Nova Science Publishers; 23: 245-272.
- Mitra, E.; Ghosh, K.; Ghosh, A.; Mukherjee, D.; Chattopadhyay, A.; Dutta, S.; Kumar, P.; Sanjib, B. (2012). Protective effect of aqueous Curry leaf (*Murraya koenigii*) extract against cadmium-induced oxidative stress in rat heart. *Food Chem. Toxicol*; 50: 1340-1353.
- Moss, D.V.; Henderson, A.R. (1999). *Clinical enzymology* In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R., and *Textbook of Clinical Chemistry*. (3rd ed.). Philadelphia: W.B. Saunders Company; 11:617-721.
- Muiswinkel, V. (2008). A history of fish immunology and vaccination I. The early days. *Fish and Shellfish Immunology*; 25: 397-408.
- Nafisi Bahabadi, M.; Banaee, M.; Taghiyan, M.; Nematdoust Haghi, B. (2014). Effects of dietary administration of yarrow extract on growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Aquatic Biology*; 2(5): 275-285.
- Nejad Moghadam, S.H.; Imanpour, M.R.; Jafari, A.; Safari, R. (2018). Evaluation of the effect of *Urtica dioica* hydroalcoholic extract on some biochemical indices of *Carassius auratus*. *Journal of Environmental Ecology*; 10(2): 196-189.
- Ossana, N.A.; Eissa, B.L.; Bettina, B.; Salibian, A. (2009). Short communication: Cadmium bioconcentration and genotoxicity in the common carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal of Environment and Health*; 3(3): 302-309.
- Peyghan, R.; Khadjeh, G.H.H.; Enayati, A. (2014). Effect of water salinity on total protein and electrophoretic pattern of serum proteins of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Veterinary Research Forum*; 5: 225-229.
- Prasath, P.M.D.; Arivoli, S. (2014). Biochemical study of freshwater fish *Catla catla* with reference to mercury chloride. *Iranian Journal of Environmental Health Science Engineering*; 5: 109-116.
- Pratheepa, V.; Ramesh, S.; Sukumaran, N. (2010). Immunomodulatory effect of *Aegle marmelos* leaf extract on freshwater fish *Cyprinus carpio* infected by bacterial pathogen *Aeromonas hydrophila*. *Pharmaceutical Biology*; 48(11): 1224-1239.
- Radhakrishnan, M.V.; Hemalatha, S. (2010). Sublethal toxic effects of

- cadmium chloride to liver of Freshwater Fish *Channa striatus* (Bloch.). *Zoologica*; 2(1): 54-56.
- Ranjana, S.; Peyush, P. (2011). Effect of heavy metal on biochemical and hematological parameters in *Cyprinus carpio* and its use as a bioindicators of pollution stress. *Journal of Ecophysiology and Occupational Health*; 11: 21-28.
- Sales, J.; Janssens, G.P.J. (2003). Nutrient requirements of ornamental fish. *Aquatic Living Resources*; 16: 533-540.
- Sancho, E.; Ceron, J.J.; Ferrando, M.D. (2000), Cholinesterase activity and hematological parameters as biomarkers of *sublethal molinate* exposure in *Anguilla anguilla*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 46(1): 81-86.
- Shahsavani, D.; Mehri, V.; Nazari, K. (2003). The study of the effect of anionic detergent (shampoo) on the hematological parameters in the goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Animal Science and Aquaculture Research and Development*; 61: 99- 104.
- Shakoori, A.R.; Iqbal, M.J.; Mughal, A.L.; Ali, S.S. (2004). Biochemical changes induced by inorganic mercury on the blood, liver and muscles of freshwater Chinese carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring*; 4(3): 81-92.
- Thomas, L. (1998). *Clinical laboratory diagnostics*. (1<sup>st</sup> ed.), Frankfurt, THBook Verlagsgesellschaft. 1727p.
- Vesogh, G.H.; Mostageer, B. (1995). *Freshwater fish*. Press Tehran University of Iran. 317 P.
- Vinodhini, R.; Narayanan, M. (2009). The impact of toxic heavy metals on the hematological parameters in common carp (*Cyprinus Carpio*). *Iranian Journal of Environmental Health, Science and Engineering*; 6(1): 23-8.
- Zalups R.K. (2000). Molecular interactions with mercury in the kidney. *Pharmacological Reviews*; 52(5): 54-72.