بررسی اثر نیترات سرب بر بافت‌های ماهی کلمه *Rutilus rutilus caspius*

پرشیا محمدزاده [۱]
شهلا جمیلی [۲]

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۲۶
تاریخ تصویب: ۹۳/۲/۲

چکیده

فلزات سنگین از جمله سرب از آلاینده‌های مخرب محیط زیست می‌باشند و می‌توانند اثرات بسیار نامطلوبی بر بافت های بدن موجودات زنده داشته باشند. در این تحقیق اثر نیترات سرب بر برخی از بافت‌های ماهی کلمه Rutilus rutilus caspius مورد بررسی قرار گرفت و به همین منظور تأثیر این آلاینده در غلظت‌های مختلف بر روی این ماهی در شرایط آزمایشگاهی برای مشاهده میزان تغییرات بافتی بررسی شد. نمونه‌ها در آکواریوم در معرض غلظت‌های۰/۱، ۰/۲، ۰/٤ میلی‌گرم بر لیتر نیترات سرب به مدت ٤٦، ۹٦، ۱٤٤، ۱٦۸، ساعت قرار داده شدند. سپس بافت‌های کبد و آبشش آن‌ها جهت تعیین آسیب‌های

[۱] کارشناسی ارشد گروه بیولوژی دریا-دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران
[۲] دانشیار موسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران، تهران
Shahlajamili45@yahoo.com

بافتی از بدن جدا شدند. اسلایدهای آماده شده پس از رنگ‌آمیزی با عدسی ۱۰ و ٤٠ میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد عبارت بودند از: اتساع سینوزوییدی، واکوئوله شدن، پرخونی وخونریزی، پیکنوزه شدن هسته، نکروز هپاتوسیت ها، تجمع هموسیدرین در سلول‌های ملانوماکروفاژ و اسیدوفیلیک شدن سلولها،هجوم لنفوسیتهاونکروز کانونی مشاهده شد و در آبشش ضایعاتی همچون: ادم، فیلامنت ولاملای ثانویه، نکروز سلولی، هایپرتروفی وهایپرپلازی، پرخونی وخونریزی، هجوم سلولهای آماسی، چسبندگی در لاملای ثانویه، تجمع موکوس، تلانژیکتازی، دیسپلازی ومتاپلازی سلول های پوششی به سلول های موکوسی یا مخاطی آب شش و حالت چماقی شدن به صورت دیستال در لاملای ثانویه مشاهده شد هرچه غلظت آلاینده بیشتر باشد این ضایعات شدیدتر شده به این صورت که در غلظت ۰/۱میلی گرم بر لیتر سرب حداقل آسیب بافتی مشاهده شد ولی با افزایش زمان در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ٠/٤ میلی‌گرم بر لیتر سرب حداکثر آسیب بافتی مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: نیترات سرب، ماهی کلمه، بافت کبد، بافت آبشش

مقدمه

در گذشته های دور ماهی کلمه یکی از مهمترین ذخایر دریای خزر را تشکیل می‌داد. حوزه زیست آن در شرق و جنوب شرقی بوده. این گونه یکی از مهمترین مواد غذایی برای فیل ماهی به شمار می رود و از این لحاظ یکی از با ارزشترین ماهیان دریای خزر محسوب می گردد. ماهی کلمه متعلق به خانواده کپورماهیان بوده و گونه مختص ایرانی با نام علمیRutilus rutilus caspicus گزارش شده است.

از عوامل اصلی و مؤثر در کاهش جمعیت این‌گونه می توان بطور مشخص از بهره برداری های بیرویه، صید قاچاق، آلودگی محیط و مناطق تخمریزی آن در ارتباط با آلوده کننده های صنعتی، شهری و همچنین خشک شدن تدریجی مناطق تخم ریزی و زاد و ولد آن در رابطه با پایین رفتن سطح

عمومی آب دریای خزر در سالهای گذشته ذکر کرد. البته در این زمینه عوامل فرعی و مؤثر دیگری نیز موجود می باشند که هر یک به نحوی در کاهش جمعیت این گونه دخالت داشته اند. در مورد صید و بهره برداری بیرویه لازم به ذکر است که اینگونه بهره‌برداری‌ها می‌تواند بر جمعیت هرگونه ماهی حتی گونه‌های مقاوم و با تکثیر و زاد و ولد وسیع فشار آورده و به همراه عوامل اصلی و فرعی دیگری موجبات انفراض تدریجی نسل آنها را فراهم سازد (وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۳).

اما در مورد آلودگی و تخریب محیط زیست و نقش آن در کاهش ذخایر این گونه در دریای خزر شایان ذکر است که آلوده شدن زیستگاه های این ماهیان و مناطق تکثیر و زاد و ولد آنها به مواد آلاینده حاصل از منابع مختلف نظیر واحدها و تأسیسات مختلف تولیدی صنعتی و مسکونی به خصوص در حواشی رودخانه هایی که مسیر و محل مهاجرت ماهی ها به قصد تخم‌ریزی می‌باشند، از عوامل مؤثر و اصلی در نقصان باروری این گونه و نتیجتاً کاهش جمعیت آن بوده است. بنابراین باید با انجام اقدامات مطالعاتی و اجرایی ثمر بخش گامی مؤثر در جهت حفظ ازدیاد این گونه و تقویت جمعیت روبه کاهش آن به عمل آید (پورنگ، ۱۳۷۲).

در این ماهی باله پشتی دارای ۳ شعاع سخت و ۸ الی ۱۰ عدد شعاع منشعب می باشد. باله مخرجی دارای پایه ای طویل‌تر شامل ۳ شعاع سخت و ۸ تا ۱۰ عدد شعاع نرم می باشد و فلسها نسبتاً بزرگ هستند.

تعداد فلسهای خط جانبی ۴۷-۴۰ عدد می باشد. تعداد مهره های پشتی معمولاً بین ۳۹ تا ٤١ عدد (در بیشتر مواقع ۳۹ عدد) می‌باشد و مهره های دوم و سوم به سهولت جدا می شوند. عرض بدن ۲۳ تا ٣٦ درصد طول بدن (تاپایه باله دمی) را تشکیل می دهد. دهان نسبتاً کوچک مورب تقریباً انتهایی و فاقد سبیلک می‌باشد. نوک دهان بالایی حاشیه تحتانی چشم ها قرار دارد. ارتفاع سر در ناحیه پشتی جمجمه ۱۵ تا ۱۸ درصد طول بدن است. ارتفاع باله پشتی ١٦ تا ۲۲ درصد طول ساقه دمی همیشه از ارتفاع سر متجاوز می گردد و بین ۱۷ تا ٢٤ درصد طول بدن است. طول باله سینه ای ۱۵ تا ۱۹ درصد، طول باله شکمی ١٤ تا ۱۸ درصد، طول باله پشتی ۱۲ تا ١٦ درصد، طول باله مخرجی ۱۰ تا ١٤ درصد، ارتفاع باله مخرجی ۹ تا ١٤ درصد و طول سر ۲۰ الی ۲۳ درصد طول بدن می باشد. دندانهای حلقی به صورت ٥-٦ و ندرتاً ٥ – ٥ یا ٦ – ٦ می باشند و سطح سایشی گاهی چین خوردگیهایی بسیار اندک دارد. یک کیل (Keel) فلسی در ناحیه پشت باله های شکمی امتداد دارد. طول بدن معمولاً بین ۲۵۰ تا ۳۵۰ میلیمتر و میانگین وزنی آن ۳۰۰ تا ۲۰۰ گرم می باشد.

پرنگ قسمتهای مختلف بدن عبارتست از:

پشت ماهی متمایل به آبی با ترکیبی از رنگهای سبز قهوه ای می باشد. باله‌های شکمی و مخرجی به رنگ نارجی تا قرمز پر رنگ هستند. باله های سینه ای و دم متمایل به قرمز اما قسمت فوقانی باله دمی و پشت تیره می باشند. پهلوها کاملاً نقره ای هستند اما در ماهیان بزرگ متمایل به زرد تا برنزی می باشند. رنگ عنبیه چشم از زرد تا قرمز متغیر است و معمولاً واجد یک خال تیره زیر مردمک چشم می باشند (پورنگ، ۱۳۷۲).

شناسایی آلاینده‌ها و اثر آن بر مکانیسم‌های فیزیولوژیکی از مسائل مهم توکسیکولوژی به شمار می‌رود. فاضلاب‌های صنعتی که وارد رودخانه‌ها و دریا می‌شوند حاوی ترکیبات مختلفی ازسرب می‌باشند. سرب و ترکیبات آن منجر به آلودگی آب شده و اثرات مختلفی در ماهی ایجاد کرده که غلظت مشخصی از آن نهایتاً مرگ ماهی را موجب می‌شود.یکی از مهم‌ترین و کاربردی‌ترین راه‌هایی که می‌توان میزان آلودگی محیط (اکوسیستم‌های آبی) و اثرات سوء آن بر موجودات را مطالعه کرد روش‌های بررسی تغییرات بافتی آبزیان در نتیجه تأثیر فلزات سنگین می‌باشد. هزاران ترکیب شیمیایی که می‌توانند اثرات خطرناک زیادی بر موجودات آب شیرین و دریایی داشته باشند، امروزه به اکوسیستم‌های آبی وارد شده‌اند با توجه به این که، این آلاینده اثرات بسیار مخرب و سویی بر پیکرهٔ اکوسیستم‌های آبی داشته و خسارات جبران ناپذیری را به بار آورده است، لذا بررسی میزان تأثیر سرب بر اکوسیستم‌های آبی و دریایی دارای اهمیّت بالایی می‌باشد. این آلاینده تأثیر بسیار نامطلوبی بر ویژگی‌های اکوسیستمی، میزان تولید مثل موجودات این مناطق، نحوه پراکنش آن‌ها، بقا و به طور کلی حیات، داشته است. این آلاینده بسیار سرطان‌زا و جهش‌زا بوده و امروزه از راه‌های مختلف و به مقادیر بسیار زیادی وارد اکوسیستم‌های آی و دریایی شده است.(سعید محمدزاده باران، ۱۳۸۸)

مطالعات هیستوپاتولوژی؛ روش ارزشمندی برای ارزیابی آثار محیطی آلاینده ها روی ماهیها می باشند. (Adams et al, 1997). در شرایط آزمایشگاهی آلاینده های مختلف باعث ایجاد آسیبهای بافتی مشخصی در اندامهای ماهیها می شوند که با تعیین این نوع آسیبها، از آنها می‌توان به عنوان نشانگر زیستی به منظور بررسی وجود آلاینده ها در اکوسیستمهای طبیعی استفاده کرد (Ribeiro et al , 2002). تأثیرات هیستوپاتولوژی سرب بر اندامهای مختلف نظیر کبد، کلیه، آبشش، اپی تلیوم بویایی و طحال ماهیانی که در آب دارای سرب قرار گرفته‌اند، مطالعه شده است (Filenko et al, 1989 Ribeiro et al, 2002).

در این تحقیق اهداف زیر دنبال می‌شود:

۱- بررسی تأثیر سرب بر بافت آبششی ماهی کلمه.

۲- بررسی تأثیر سرب بر بافت کبدی ماهی کلمه.

مواد و روش‌ها

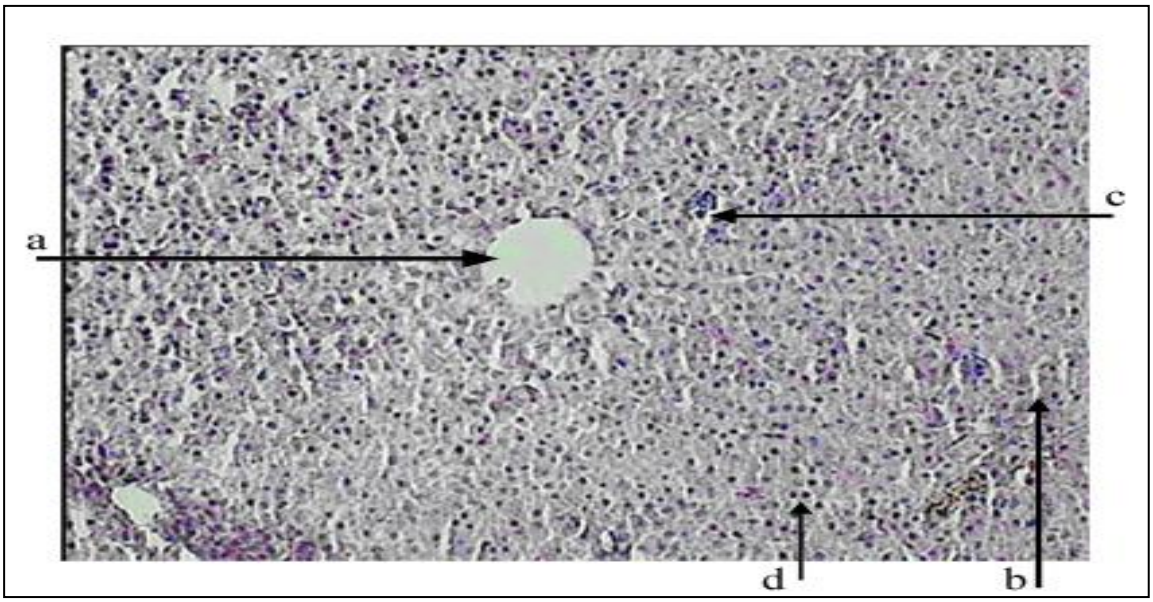
تعداد ۲۰۰ قطعه ماهی کلمه از ایستگاه تحقیقات شیلات روستای قره سو واقع در بندر ترکمن تهیه و به آکواریوم آزمایشگاه منتقل گردیدند. این ماهیان به مدت ۷ روز در آکواریوم در آب سالم نگهداری شدند تا با شرایط جدید سازش یابد.

از غلظتهای ۰/۱و ۰/۲، ۰/٤ میلی گرم بر لیتر سرب سه تیمار تهیه شد. به علاوه یک آکواریوم شاهد نیز تهیه گردید. تمام مسائل کاهش استرس نیز رعایت شد. از هر ۱۰ آکواریوم بعد از گذشت ٤۸ ساعت، ۳ قطعه ماهی برداشت شد. همین عمل بعد از زمانهای ۹٦، ۱٤٤و۱٦۸ساعت نیز انجام گردید. بلافاصله بعد از برداشت هر ماهی در زمان‌های مشخص شده ابتدا کبد و سپس آبشش ماهی جدا گردید. سپس در لوله هایی که حاوی محلول فرمالین ۱۰٪ برای فیکس کردن نمونه ها بود قرار گرفت. ۲٤ ساعت بعد فرمالین دوم سپس شستشو با آب و سپس آنها را در الکل قرارمیدهیم تا زمانی که نمونه‌ها اماده تحویل به دستگاه پاساژشوند. مراحل آبگیری (dehydration)، شفاف‌سازی (clearing) و آکندگی به پارافین مذاب (Impregnation) بافتها در دستگاه پاساژ انجام شد و سپس مرحله قالب‌گیری (Embedding) انجام گردید. از بافت‌ها توسط دستگاه میکروتوم (LEICA RM2255) برش‌هایی به ضخامت ٦ میکرون تهیه و با استفاده از میکروسکوپ نوری با مورد بررسی و تجزیه تحلیل قرار گرفت. بافتهای تهیه شده در آزمایشگاه هیستوپاتولوژی دانشکده دامپزشکی مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج

در دوزهای مورد مطالعه (mg/l ۰/۱و ۰/۲، ۰/٤) محلول نیترات سرب آسیبهای زیادی به سلول های آبشش و کبد وارد شد که این آسیبها در دوز ۰/۱ حداقل بوده و با افزایش دوز شدت می‌یابند. هر چه مدت زمان در معرض قرار گرفتن سرب نیز افزایش یابد تأثیرات تخریبی وارد بر بافتها افزایش می‌یابد.

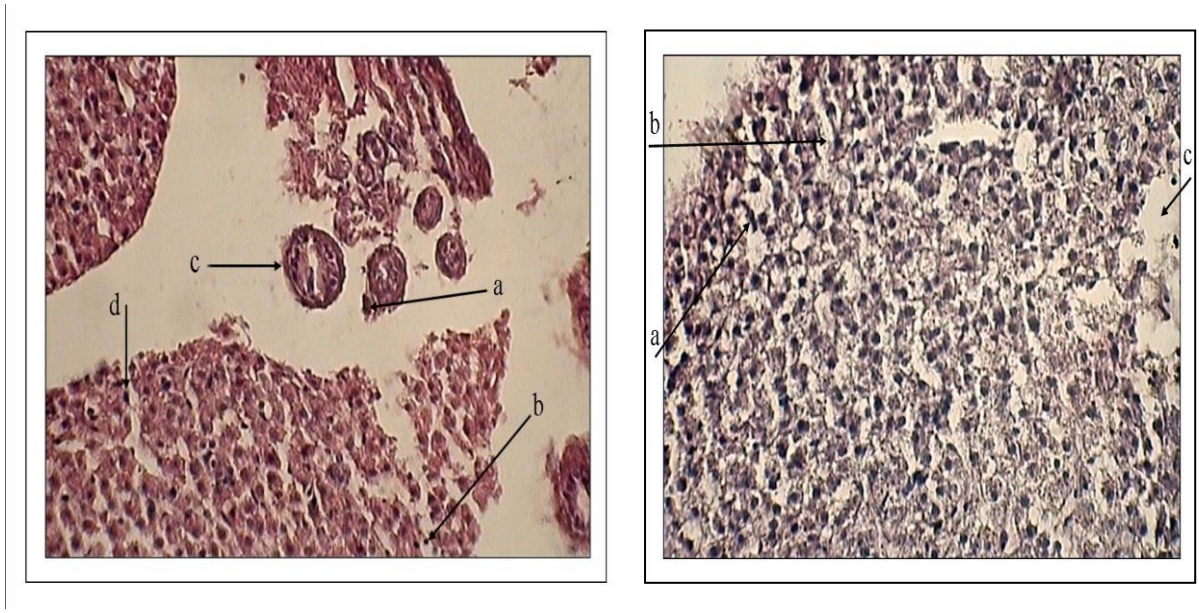
طی ۱٦۸ ساعت در بافت کبدی نمونه های شاهد تقریباً هیچ اختلالی مشاهده نشد. هسته‌ها به طور منظم در بافت پراکنده و فاصله سینوزوئیدی نرمال مشاهده شد.



شکل ۱.تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی شاهد (۴۰۰ x) a- ورید مرکز لبولی (central vein) b- سینوزوئید c- هسته d- هپاتوسیت

نتایج مطالعه حاضر در بافت کبدی نمونه های تیمار:

۱) اتساع سینوزوئیدی و پرخونی ۲) آتروفی و نکروز سلولهای کبدی ۳) التهاب و آماس در بافت کبدی (هجوم لنفوسیت‌ها و سلولهای آماسی) ٤) رسوب هموسیدرین

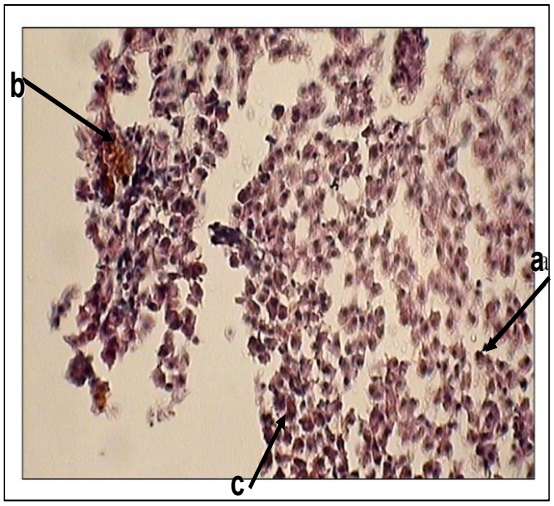


شکل ۲. بافت کبدی نمونه های تیمار با غلظت ۰/۴ میلی گرم بر لیتر

شکل۳. افت کبدی نمونه های تیمار با غلظت ۰/٤ میلی گرم بر لیتر طی ۱٦۸ساعت (٤۰x)

طی ٤۸ ساعت (٤۰x) a- نکروز b- اتساع سینوزوئیدها c- بافت کبدی نمونه های تیمار با غلظت ۰/٤ میلی گرم بر لیتر طی ۱٦۸ساعت (٤۰x)

نکروز کانونی یا نکروز فوکال

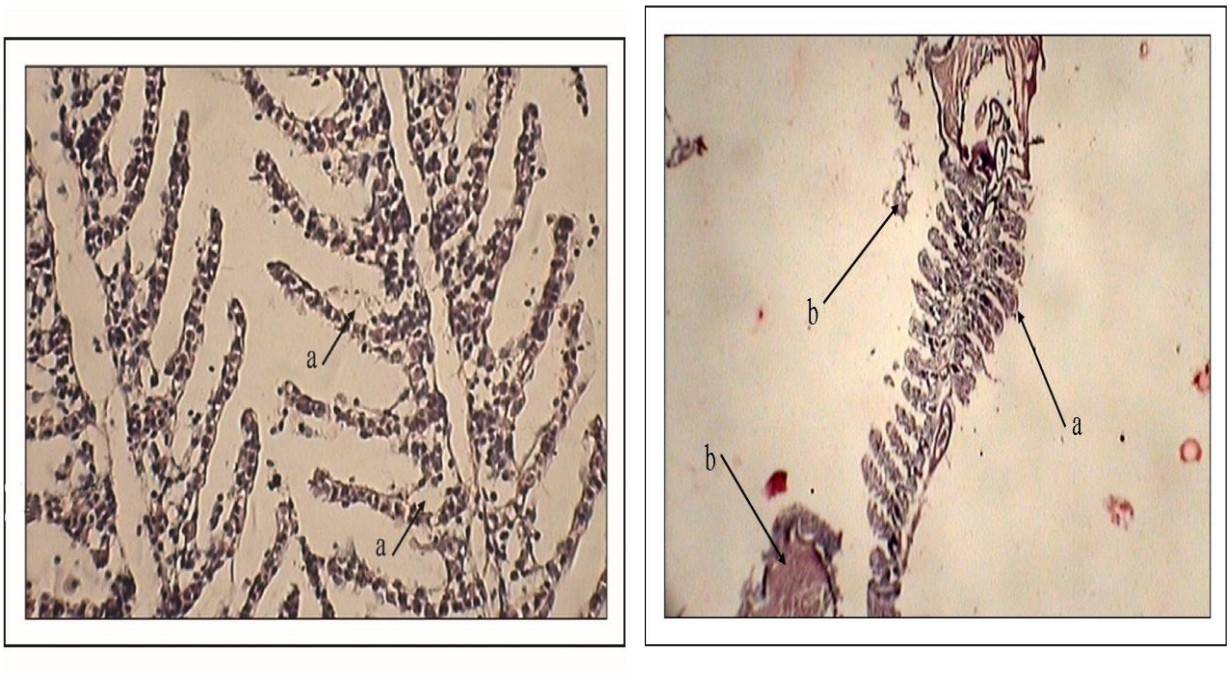


شکل۴.بافت کبدی نمونه های تیمار با غلظت ۰/۴ میلی گرم بر لیتر طی ۱۶۸ساعت (۴۰x) a- نکروز
b_ رسوب هموسیدرین c_ اتصال سینوزوئیدها

نتایج حاصل از بررسی بافت آبششی نمونه های شاهد طی ۱٦۸ ساعت در بافت آبشش نمونه های شاهد تقریباً هیچ اختلالی مشاهده نشد.

شکل۵.تصویر میکروسکوپی بافت آبشش نمونه شاهد (۱۰X)

نتایج مطالعه حاضر در بافت آبششی
۱) ادم ۲) هایپرتروفی و هایپرپلازی ۳) نکروز سلول ها ٤) پرخونی ٥) خونریزی و تجمع موکوس ٦) فیوژن ۷) EGCs(Eosinophylic Granular Cells) ۷) دیسپلازی و متاپلازی ۸) تلانژیکتازی

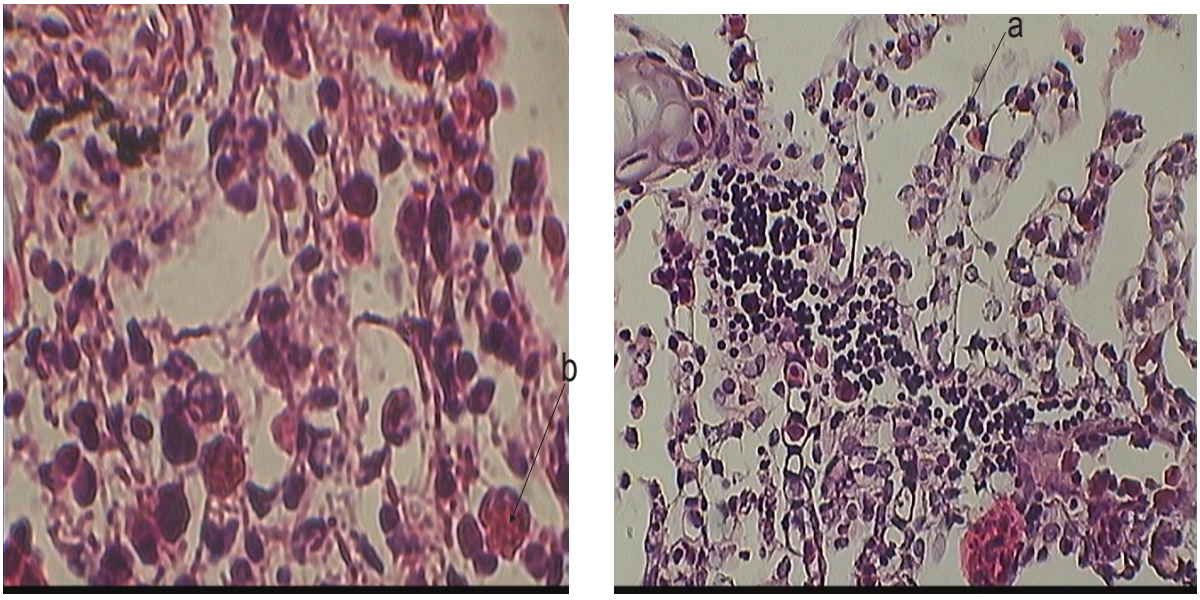


شکل۶.بافت آبشش نمونه های تیمار با غلظت ۰/۲ میلی گرم بر لیتر

شکل۷.بافت آبشش نمونه های تیمار با غلظت۰/۴

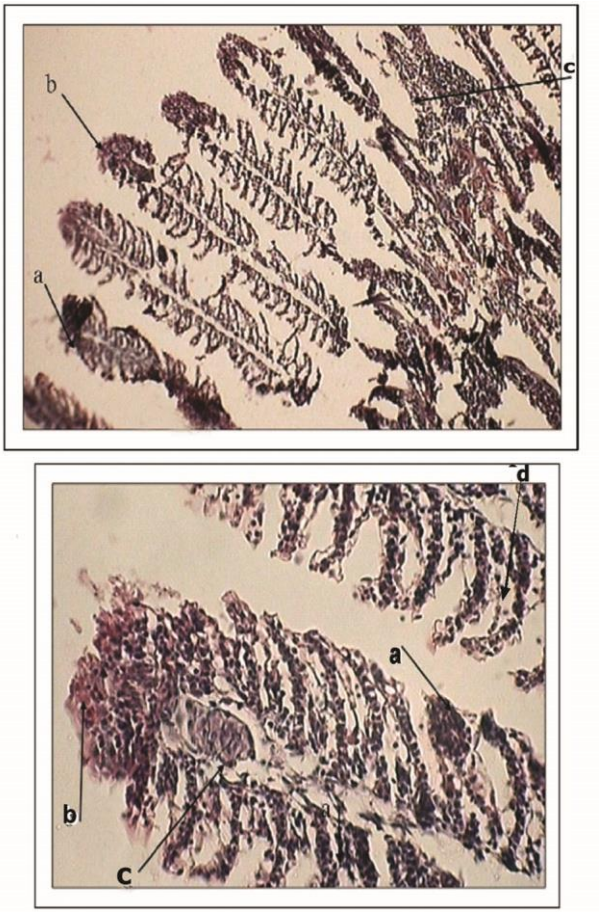
طی ۹۶ ساعت a- گرزی شدن ناحیه دیستال b- خونریزی (۴۰X) میلی گرم بر لیتر طی۱۶۸ ساعت

a- ادم



شکل۸. بافت آبشش نمونه های تیمار با غلظت۰/۴

شکل۹. بافت آبشش نمونه های تیمار با غلظت۰/۴ میلی گرم بر لیتر طی148 ساعت a- سلولهای موکوسی (100x) میلی گرم بر لیتر طی148 ساعت a- EGCs (100x)



شکل۱۰. بافت آبشش نمونه های تیمار با غلظت ۰/۴میلی گرم بر لیتر طی۱۶۸
شکل۱۱.بافت آبشش نمونه های تیمار با غلظت ۰/۴میلی گرم بر لیتر
ساعتa- تلانژیکتازی b- موکوس c- کندروسیت ها (۴۰X)
طی ۱۴۴ساعتa- هایپرپلازی و هایپرتروفی b- نکروز
d_ادم
C- خونریزی وسیع و نفوذ سلولهای آماسی (۱۰X)

بحث

آلودگی محیط زیست یکی از مسائل متداول در دنیا میباشد که فلزات سنگین از موارد بسیار مهم این آلودگی به شمار میرود پیشرفت های صنعتی منجر به نشر آلاینده ها در اکوسیستم می‌شوند (Diagomanolin *et.al*,2004) .

سرب باعث تخریب یا تغییر شکل بافت های کبدی و آبششی ماهی شده و با توجه به افزایش غلظت سرب و زمان تحت تاثیر قرار

گرفتن میزان آسیب بافتی افزایش می یابد که نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز فرضیات فوق را تأیید می کند . به این صورت که مطالعات بافت شناسی روی کبد و آبشش ماهی کلمه که تحت تیمار سرب با غلظت ۰/۱ppm در دمای آب ۲۱ درجه سانتیگراد قرار گرفته بودند نشان داده که آسیب وارده به ان پس از گذشت ٤٨ ساعت قابل تشخیص است.این در حالی است که عوارض ناشی از تیمار سرب با ۰/۲ ppm و۰/٤ بسیار شدیدتر بوده است.

نتایج مطالعه حاضر روی آبشش ماهی کلمه ادم فیلامنت و لاملاهای ثانویه که با جدا شدن سلول های پوششی آبشش از غشا پایه قابل مشاهده بود . هایپرتروفی (باد کردن سلول های پوششی) هایپرپلازی (افزایش سلول های پوششی) که باعث می شود فضای بین دو لاملای ثانویه پر شود و به همدیگر بچسبند که همان پدیده فیوژن یا چسبندگی نامیده می شوند که پدیده مورد نظر باعث شده در تبادل اکسیزن اختلال ایجاد شود.

پرخونی، خونریزی، گرزی شدن تیغه های آبششی در منطقه دیستال، و بوجود آمدن سلول های EGCS (سلول های گرانوله دارای دانه های قرمز رنگ) در نقاط دیستال لاملاهای ثانویه دیده شد که نشان دهنده تحریک سلول ها می باشند .در نمونه ها تلانزیکتازی دیده شد، دیسپلازی و متاپلازی سلول های پوششی و تبدیل آنها به سلول های مخاطی، نکروز سلول های پیلار و کلراید، واکوئوله شدن و تورم سیتوپلاسم سلول های اپی تلیال فیلامنتها که همراه لا گرانوله شدن سیتوپلاسم بود.نفوذ سلول های اماسی و هجوم لنفوسیت ها نیز دیده شد

موضوعی دیگر نیز تحت عنوان بررسی تأثیر آلومینیوم بر روی بافت آبششی ماهی کلمه توسط گرویی (١٣٨٦) انجام شده که در این تحقیق تعیین غلظت نیمه کشنده سولفات آلومینیوم به عنوان ماده آلاینده در pH اسیدی و تأثیر سمیت حاد آن ماده بر بافت آبشش ماهی کلمه مورد بررسی قرار گرفته است.

با بررسی بافت های آبششی آسیب های بافتی بین بافت آبشش ماهیانی که در معرض غلظت های مختلف آلومینیوم قرار گرفته، از قبیل هایپرتروفی، هایپرپلازی، افزایش سلول های مخاطی و ترشحات آنها، پرخونی، خونریزی، آنوریسم، آماس و نکروز بافتی مشاهده شد (گرویی، ١٣٨٦) .

موضوعی تحت عنوان مطالعه انباشتگی جیوه و ضایعات بافتی آنها در کلیه و آبشش ماهی کفال طلایی توسط (خدابنده و همکارانش١٣٨٤) انجام شد. در این تحقیق تعداد ۲۰ قطعه بچه ماهی به وزن ۱/۵ تا ۲ گرم از ساحل دریای خزر صید شده و در غلظت های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۳۵۰ppb کلرید

جیوه محلول در آب منتقل شدند و تحت بررسی بافتی قرار گرفتند . تغییرات حاصل در آبشش ها شامل نکروز شدید و هیپرپلازی می باشد و در کلیه آسیب های مشاهده شده شامل گشاد شدگی گلومرولی و واکوئله شدن سلول های کلیوی بوده است. موضوعی تحت عنوان تغییرات بافت شناسی در کبد و آبشش در ماهی senegalensis Sole در معرض مس انجام شد که نشان داد این ماهی در معرض غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر SO4CU برای ۷ روز نگهداشته شد در کبد قطره های چربی زیادی در مقایسه با گونه های شاهد مشاهده شد تخریب جزیی در میکروویلی و آندوتلیال و سینوزوئید در کبد مشاهده شد نتایج این مطالعه تغییرات بافتی را حتی در غلظت زیر کشنده فلزات سنگین در محیط آبزی نشان داد (Arellano,1998).

در آزمایشی که ماهی کپور معمولی در معرض مقادیر زیادی از کبالت قرار میگیرد، سلول های ناحیه میانی فیلامنت، تخریب شده به نحوی که قابل تشخیص نبوده و در لبه های سطحی آنها تغییراتی به وجود می آمد، و تولید موکوس در این سلول ها افزایش می یافت، افزایش تولید موکوس، بسیار مشخص و واضح بود.هرچه غلظت سم افزایش می یافت تولید موکوس بیشتر میشد که در تحقیق حاضر نیز افزایش موکوس در سطح فیلامنتها قابل رویت است به خصوص در روز هفتم در دوز ۰/٤.

در ماهیانی که در معرض مقادیر کمی سم قرار گرفته بودند، سلول های موکوسی در انتهای سلول بین سلول های اپیتلیال ظریف قرار داشتند بعد از پارگی سلول های موکوسی مخاط خود را به داخل آب ترشح کرده، که این مخاط از سطح فیلامنتها و لاملاها می گذشت .از دیگر تغییرات ظاهری که در ماهیانی که در معرض استرس قرار گرفته اند به میزان بسیار زیاد دیده شده است به عنوان مثال تغییر در سلول های اپی تلیال به شکل غیر طبیعی بود .در تحقیق حاضر نیز این تغییر به شکل دیسپلازی و متاپلازی سلول های پوششی(سلول های اپی تلیال) به سلول های مخاطی مشاهده شد (ساراکرمی، ۱۳۸٤) .

در مجموع تغییرات مشاهده شده در بافت‌های آبشش ماهی در شرایط مختلف استرس، برای تعیین رابطه آنها با تغییرات مشاهده شده ایجاد شده از سم در متابولیسم بسیار ارزشمند می باشد

در ارتباط با تغییرات متعدد بیوشیمیایی که در اثر کبالت و به طور کلی استرس در ماهی کپور معمولی رخ می دهد، آزمایشات بافت شناسی وبررسیهای آسیب شناسی سلولی میتوانند اطلاعات زیادی در زمینه تاثیر این فلز سنگین فراهم آورند.تغییرات بافتی که معمولا در ماهی و در جهت برگشت به حالت طبیعی رخ می دهند شامل تخلیه گلیکوژن

کبدی، کاهش وزن طحال، تحلیل رفتن مخاط معده و تغییر خصوصیات طبیعی بافت آبشش وسلولهای کلراید هستند تغییرات آسیب شناسی در بافتها نظیر هایپرتروفی بافت بین کلیوی تحلیل رفتن مخاط معده و تغییرات سلولی در طحال نیز دئر ماهی در تحت استرس رخ میدهد که البته مربوط به حالات مزمن می باشند (Hauut & Oglesby, 1979) .

در تحقیق حاضر انسداد عروق مشروب کننده سلول ها و آسیب به غشا سلولی و ثبات یونی، آسیب به تنفس هوازی سلول ها، آسیب به ATPase و اختلال در فسفوریلاسیون سلولی و اختلال در تولید ATP و اختلال در سنتز پروتئین های آنزیمی و ساختمانی این مکانیسم ها به همراه اثرات بیومولوکولی فلز سرب و در نتیجه تغییرات بیوشیمیایی درون سلولی، تغییرات مورفولوژیکی در سلول ایجاد می کنند.

در تاثیر سمی کبالت بر آبشش ماهی کپور معمولی با افزایش غلظت کبالت مصرفی حجم موکوس و سلول های موکوسی در سطح آبشش زیاد شده است هایبرتروفی سلول های پوششی لاملاهای ثانویه، ضخیم شدن (گرزی شدن) لاملاهای ثانویه و چسبندگی شدید لاملاهای ثانویه به همراه پرخونی و اتساع عروق و خونریزی مشاهده گردید .

در ارتباط با آسیب های وارده به آبشش ها باید هایپرپلازی سلول های اپیتلیوم لاملاهای اولیه و ثانویه را ذکر کرد.هرچه بر غلظت کبالت افزوده میشد بر شدت هایپرپلازی سلول ها افزوده میگردید. چسبندگی لاملاهای ثانویه که به دنبال هایپرپلازی لاملاها رخ می‌دهد موجب چسبندگی محکم تعدادی از مویرگهای موجود در بین سلول های پوششی هایپرپلازی میگردد وبا ایجاد هیپوکسی و اختلال در گردش خون آبشش باعث افزایش فشار خون موضعی می شود و در آخر تکثیر سلولی و افزایش غلظت موکوس به همراه از دست دادن خصوصیات موکوپلی ساکاریدی موکوس، همگی باعث به هم چسبیدن کانونی لاملاهای ثانویه شده و ایجاد یک لاملای مشبک را می نماید که باعث اشکال در تنفس می گردد (کرمی، ۱۳۸٤) .

موضوعی تحت عنوان آسیب شناسی متیل جیوه در بچه کپور ماهیان توسط ادوارد دولین در سال ۲۰۰۵ در استرالیا بررسی شد که در این تحقیق کپور ماهیان تازه به دنیا آمده در آزمایشگاه در شرایط خاص تحت تأثیر متیل جیوه واقع شده و مورد بررسی قرار گرفتند. نتیجه این بررسی ها سمیت حاد جیوه را اثبات کرده و تأثیر منفی آن را بر روی تولیدات پروتئینی، رشد، تقسیمات میتوزی نشان داده است (Devlin, 2006).

موضوعی دیگر تحت عنوان تاثیر تجمع سدیم وکادمیوم در بافت و ارگان‌های Oreochromis niloticus نشان داد که کادمیوم تغییرات پاتولوزیکی در کبد و مغز

وسیستم عصبی وآبشش وسیستم اسکلتی نشان می دهد(Cicik,2003) .

در موضوعی دیگر تحت عنوان تجمع فلزات سنگین در اندام های ماهی کپور *Cyprinus carpio* نشان داد که تجمع فلزات سنگین در ابشش وکبد به ترتیب Cd>Pb> Ni و pb>cd تجمع سرب وکادمیوم افزایش معنی داری را در بافت‌های ماهی کپور نشان داد (Vinodhini et al,2008).

در مطالعات حاضر نیز تراکم سرب در بافت کبد و تغییرات مخرب بافتی در نمونهٔ کبد گونهٔ (*Rutilus rutilus*) مشاهده شد بررسی های انجام شده تا کنون نشان میدهد که کبد می تواند اندیکاتور مناسبی برای نشان دادن الودگی فلزات سنگین بخصوص در غلظت های بالا در اکوسیستم های آبی باشد .

در بافت شناسی بافت های کبدی و آبششی در (*Clarias gariepinus*) در معرض سرب نیز درجه ای از تخریب در کبد وآبشش ها در غلظت های مختلف فلزات سنگین مشاهده شد (Olaifa et al,2004) .

در تحقیقی بر روی توزیع فلزات سنگین در بافتهای ماهی آب شیرین در lithuanin بیشترین تجمع فلزات سنگین در کبد پیدا شد (Staniskiene,2006) .

موضوعی تحت عنوان آسیب شناسی کبد در زندگی طبیعی ماهی ها در نتیجه ی افزایش جیوه توسط دمتریورالدوآ۳ و همکارانش در سال ۲۰۰۶ در اسپانیا بررسی شد که در این تحقیق :

چندین نوع از ماهی های رودخانه ی سینیسا واقع در شمال شرقی اسپانیا که سطح بالایی از جیوه در آن وجود دارد جمع آوری شده و مورد مطالعه آسیب شناسی بافتی قرار گرفتند که تحلیل آسیب شناسی نمونه های مورد آزمایش نشان می دهد بیشترین آسیب بافتی در اثر جیوه موجود در بافت کبد این ماهیان اتفاق افتاده است (Raldua *et al*., 2006)

نتایج مطالعه حاضر روی کبد ماهی کلمه شامل خونریزی در تمام مراحل، نکروز (سیتوپلاسم در تمام قسمت های سلول های نکروز یکنواخت بوده، هسته ان کوچک شده وکروماتین اطراف ان متراکم می گردد)، اتروفی(کاهش اندازه سلولی نسب به اندازه طبیعی آن)، پر خونی (در سیاهرگ های کوچک و سینوزوییدهای کبدی بوجود می آید)، هجوم لنفوسیت ها (حضور سلول های اماسی)، رسوب هموسیدرین در سلول های ملانوماکروفاژ اطراف مجاری صفراوی، افزایش فاصله سینوزوییدی و افزایش تراکم هسته ای و نکروز کانونی می باشد .

نتایج تأثیرات جیوه بر روی بافت کبد و کلیه ماهی *Hoplias malabaricus* نیز نشان دهنده وجود آسیبهای فراوانی مانند نکروز،

آتروفی و خونریزی می باشد (Mela, 2006) .

قرار گرفتن ماهی گورخری (Zebra) در جیوه محلول باعث آسیب به بافت عضلانی شامل نکروز و آتروفی شده است (Alberto, 2007) .

در ازمایشی که اثر سمی دو فلز سنگین کادمیم وروی، بر تغییرات بافت کبد ماهی آب شیرین افریقای جنوبی مورد بررسی قرار گرفت اثار هیستوپاتولوژیک مشابهی در نمونه بافتی کبد که تحت تاثیر دو فلز سنگین سرب وروی بوده است بوجود امده.که این تغییرات بافتی شامل:

۱- نکروز سلول های هپاتوسیت کبدی ۲- پرخونی و خونریزی (تراکم خونی در رگها) ۳-حضور سلولهای لنفوسیت (سلولهای اماسی) ٤- واکوئوله شدن سلولهای هپاتوسیت (Carvalho et al,2006) .

در مطالعه ای، تراکم فلزات سنگین درچهار گونه ماهی در ابهای سواحل کم عمق فرانسه بین کانال شرقی انگلیس و خلیج جنوبی دریای شمال مورد بررسی قرار گرفت .تمام گونه ها تراکم متفاوتی را از فلزات کادمیم، سرب، مس، منگنز را در کبد نشان دادند بالاترین تراکم برای ماهی Flounder و کمترین ان برای ماهی Cod تشخیص داده شد .

Abdelmegid,am,kheirlla در تحقیقی که در سال۲۰۰۲ انجام می دهند مشخص می سازند که در محیط های آلوده به فلزات سنگین وضعیت قرار گرفتن سلول های کبدی نسبت به یکدیگر تغییر کرده و وضعیت قرار گرفتن واکونول های چربی در آنها مقاوم و پایدار می گردد و دیواره واکوئولها دژنره می‌گردد، سینوزوئیدها پر خون و اندامک‌های سلولی وضعیت طبیعی خود را ندارند که در این تحقیق هم سینوزونیدها پرخون ونکروز هسته (اندامک های سلولی وضعیت طبیعی خود را ندارند) نیز دیده شد . مطالعات بافت شناسی روی کپور ماهیان تازه به دنیا آمده در آزمایشگاه که تحت تاثیر غلظت ۳۰ و۵۰PPb متیل جیوه قرار گرفته بودندنشان دهنده عوارض ناشی در معرض قرار گرفتن جیوه پس از گذشت ٤۸ ساعت بوده که در مقایسه با تحقیق حاضر، زمان بروز عوارض در ماهی کلمه پس از گذشت ٤۸ ساعت شروع می شود که از جمله این عوارض خونریزی ادم، هایپرتروفی، هایپرپلازی، پرخونی و گرزی شدن سلولهای پوششی در منطقه دیستال لاملای ثانویه پس از گذشت ٤۸ ساعت به خصوص در دوز بالای سرب(۰/٤). نتایج مطالعه انباشتگی جیوه روی کفال طلایی نشان داده است که غلظت جیوه در آبشش این گونه به سرعت افزایش می یابد در مطالعه حاضر نیز غلظت سرب در آبشش و کبد ماهی کلمه در تمام تیمار ها به سرعت افزایش می یابد که تایید کننده نتایج این محققان است (خدابنده، ۱۳۸٤).

منابع

امینی رنجبر، غ، ۱۳۷۳. بررسی میزان تجمع فلزات سنگین در رسوبات تالاب انزلی، مجله علمی شیلات ایران، سال سوم شماره ۳ پاییز، موسسه تحقیقات و اموزش شیلات ایران.ص٦.

پوستی، الف، ۱۳۷۳.بافت شناسی مقایسه ای، انتشارات دانشگاه تهران.٤٧٥-٤٤٥ ص.

پوستی، الف.، صدیق دوستی، ع. ۱۳۷۸. اطلس بافت شناسی ماهی. انتشارات دانشگاه تهران.

پورنگ، ن، ۱۳۷۲.تجمع زیستی آلاینده ها بویژه فلزات سنگین در اکوسیستم های آبی، موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران.۲۳-۹ ص.

خدابنده، ص. ۱۳۸٤. مطالعه انباشتگی جیوه و ضایعات بافتی آن در کلیه و آبشش ماهی طلایی. دانشگاه نور.

ستاری، م. ۱۳۸۱. ماهی شناسی، (تشریح و فیزیولوژی) . انتشارات نقش مهر.

سعید محمدزاده باران، ۸۹ - ف۸۸ بررسی اثر فلز جیوه بر بافت عضلانی و کبدی ماهی کُلمه .

شجیعی، ن. ۱۳۸۱. بررسی اثر کادمیوم بر غلظت الکترولیت‌ها و فاکتورهای هماتولوژیک در ماهی کپور معمولی؛ پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد دسلامی تهران. به راهنمایی عریان. ش. ۱۰۸ ص.

صادقی راد، م.(۱۳۷٤). بررسی و تعیین میزان فلزات سنگین (جیوه، کادمیوم، سرب، روی، کبالت) در ماهیان خوراکی تالاب انزلی. مرکز تحقیقات شیلات گیلان.

کرمی، س.(۱۳۸٤). بررسی اثرات سمی کبالت بر برخی فاکتورهای خونی و بافت آبشش در ماهی کپور معمولی.

گرویی، ح. (۱۳۸٦). بررسی تأثیر آلومینیوم بر بافت آبشش ماهی کلمه. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده علوم و فنون دریایی واحد علوم تحقیقات. ۸-٥ ص.

وثوقی، غ.، مستجیر (۱۳۷۳). ماهیان آب شیرین . انتشارات دانشگاه تهران.

Adams, S.J., S.M., Hinton, D.E. (1997). Histopathology biomarkers in feral fresh water fish populations exposed to different types of contaminant stress. Aquatic Toxicological, 37:51-70.

Burger, J., Gochfeld, M. (2007). Risk to consumers from mercury in pacific cod (*Goadus macrocephalus*) from the Aleutians. Environmental Research, 105: 276-284.

Carvalho, S. de., Lombardi, J.V., Paiva, M. J. T. R., França-Monkolski., J.G., Ferreira J.R. (2006). Bioaccumulation of Mercury in Fish Exposed to Experimentally Contaminated Water and Sediment. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 77: 854–860.

CİCİK, B., (2003). Bakır-Çinko Etkileşiminin Sazan (*Cyprinus carpio* L.)'nın Karaciğer, Solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi Üzerine Etkileri. Ekoloji, 12(48), 32-36.

Dalligar, R, (1987), Contaminated food and ecologia .Berlin , PP 91-98

Devlin, E. (2006). Acute toxicity, uptake and histopathology of aqueous methyl mercury to fathead minnow embryos. Ecotoxicology, 15: 97-110.

Diagomanolin, V, Farhang. M. Chazi-khansari, M., Jafarzadeh, N, (2004). Heavy metals (Ni, Cr, Cu) in the karoon waterway river, Toxicol Lett. 15;151(1):63-8

Figueiredo – Frenandes, A., Rocha, E., Reis – Henriques, M.A. (2006). The effect of paraquat on Hepatic EROD Activity, liver, and Gonadal histology in males and females of nile tilapia, oreochrosmis niloticus, exposed at different temperatures. Environ contam toxicol, 51: 626-632.

Gerhardt, A., (1990). Effect of heavy metal, especialy Cd, on fresh water invertebrate with special emphasis on acid condition; dept of ecotoxicology, Lund Sweden. P. 40.

Gonzalez, P. (2008). Effects of dietary methyl mercury on zebrafish skeletal muscle fibres. Enviromental toxicology and pharmacology, 25: 304-309.

Filenko, O.F., Xihua, D., Xulong, C., Yuqi, Z. (1989). Distribution of mercury in the tissues of carp and its biological effects. Hydrobiol. J, 24 : 64-68.

Foskett,Y. B, Scheffery , c, (1982).The chollride cell definitive .identification as the salt secretary cell in teleosts, science ,PP.215, 164-166.

Galvez, Fernando; Hogstrand, Christer; McGeer, James C.; Wood, Chris M. (2001). The physiological effects of a biologically incorporated silver diet on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* vol. 55 issue 1-2 November 1, p. 95 - 112

Houtman , i.p.w, Vander Hommer ,c.y.A,(1975).Physicolayical and biochemical aspects of heavy elements in our environment , proceeding of the symposium, delft university press , New York . PP.704 -714.

Jacob, P.G, Zarba, M.A, Salam, A.A,(1980). Results of toxicity test with marine organisms of leu waiti coast, Indian.Fisheries , No 27.p.111.

Kumar Mishra, A., Mohanty, B.(2008). Histopathological effects of hexaralent chromium in the ovary of a fresh water fish channa puncatotus. Bull Environ contam toxicol, 80 : 507-511.

Liao, Ch., Fu, J., Shi, J., Zhou, Q., Yuan, Ch., Jiang, Gu. (2006). Methylmercury accumulation, histopathology effects, and cholinesterase activity alterations in medaka (Oryzias latipes) following sublethal exposure to methylmercury chloride. Environmental Toxicology and Pharmacology 22: 225–233.

Loyed, L. (1960). Biology of fresh water pollution. Chapter 1.PP.31-32.

Mallat, J. (1985). Fish Gill structural changes induced by toxicant and other irritants - a statistical review. Can. J. Fish. Sci. 42: 630-648.

Mance, G. (1990). pollution threat of heavy metal in aquatic environments; Elsevier science publisher Ltd. Pp. 110-120.

Mela, M., ventura, D.F., Randi, M.A.F., carvalho, C.E.V. (2007). Effects of dietary methlmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish Holplias malabaricus. Ecotoxicology and environmental safety. 68 : 426-435.

Nakao, M., Seoka, M. Reduction of mercury levels in cultured blufin tuna, thunnus orientails, using feed with relatively low mercury levels.

Olaifa, F.E, Olaifa A.K, Adelaja, A.A, Owolabi, A.G, (2004), Heavy metal contamination of *Clarias gariepinus* from a Lake and Fish farm in Ibadan, Nigeria. African Journal of Biomedical Research, 7, pp 145 – 148.

Oiliveria Ribeiro, C.A., Torres, R.F. (1995). Acute effects evaluation of inorganic mercury on epidermis of trichomycterus brasiliensis. Ecdtoxicol Environ saf, 32 : 260-266.

Oliveria Ribeiro, C.A., Belger, E., Rouleau, C. (2002). Histopathological evidence of morganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (Salvelinus alpinus). Environmental Research, 90 : 2-217.

Raldua, D., Diez, S., Barcelo, D. (2007). Mercury levels and liver pathology in feral fish living in the vicinity of a mercury cell chlor alkali factory. chemosphere, 66 : 1217-1225.

Road,Gary M.(1996). Fundamentals of Aquatic Toxicology, Taylor &Francis. 2E.chapter: 1.PP.39- 42

Schlenk , D , Barson, W.H , (2001).Target organ toxicity in marine and freshwater Teleosts , university of California . Riverside , California . Taylor & Francis press . Vol. 1 Chapter 1.PP.1-

Vinodhini R., Narayanan M, (2008), Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (common carp). International Journal of Environment Science and Technology, 2(5), pp 179- 182.

Zalups, R.K. (2000). Moleculor interactions with mercury in the kidney. Pharmacological Reviews, 52 : No.