

مقدمه

حضور فلزات در آب از جمله مواردی هستند که سبب برهم زدن کیفیت آب می‌شوند و همواره از فاکتورهای اساسی کاهش تولید آبزیان به حساب می‌آیند، به طوری که نوسانات غلظت آنها سبب ناپایداری محیط می‌شود. فلزات سمی که در اثر فاضلاب‌های صنعتی، شهری و پساب‌های کشاورزی درون منابع آبی انباشته می‌شوند، در برابر تجزیه شدن مقاوم می‌باشند و در بدن آبزیان تجمع می‌یابند. میزان جذب و تجمع فلزات سمی توسط آبزیان به نوع عنصر، گونه آبی، فیزیولوژی بدن جاندار، شرایط اکولوژیک، رفتار تغذیه‌ای، آلودگی‌های محیطی، سطح غذا، سن، اندازه، زمان ماندگاری فلزات و فعالیت‌های تنظیمی هموستازی بدن بستگی دارد (Talas and Gulhan, 2009). تصور می‌شود که مس در رژیم غذایی ضروری باشد. با این حال زمانی که غلظت مورد استفاده بیش از حد نیاز باشد و یا اینکه هر روز وارد بدن شود، می‌تواند مضر باشد (احمدی و همکاران، ۱۳۹۵). اثرات مضر آن هم با غلظت و هم با طول مدت در معرض بودن فلز افزایش می‌یابد. سولفات مس قابل حل بوده و وقتی با آب مخلوط شود، به شکل محلول در می‌آید. باید توجه داشت که گرچه سمیت مواد برای موجودات آبی به طور مجزا مورد مطالعه قرار می‌گیرد، ولی اکوسیستم‌های آبی به طور همزمان در معرض مخلوطی از مواد سمی قرار دارند. مطالعات مقایسه‌ای سمیت مواد نشان داد که سمیت ترکیبی مواد سمی اثرات متفاوت تری را نسبت به سمیت ترکیب ساده مواد دارد (Bagdonas and Vosylienė, 2006). اثر مسمومیت شدید در شکل ظاهری، در دو مرحله آنی و تاخیری اتفاق می‌افتد. در مرحله آنی گیجی و

کاهش شدت تنفس، پرش از آب و در مرحله تاخیری بی‌رنگی پوست و نهایتاً مرگ می‌باشد (Farhangi et al., 2014). ترکیبات مس برای کنترل بیماری‌های ماهی استفاده می‌شود. ترکیبات مس دار همچنین برای کنترل جلبک‌ها، کشتن حلزون‌ها در سیستم‌های آبیاری و سیستم‌های آب شهری استفاده می‌شوند (Altas, 2009). سمیت مس برای زندگی آبزیان با شرایط فیزیکی و شیمیایی آب تغییر می‌کند. فاکتورهایی از قبیل سختی آب، خاصیت قلیایی، پی‌اچ، اکسیژن محلول و دما بر سمیت مس بر ماهی اثر می‌گذارند (Mustafa et al., 2012). با توجه به اهمیتی که سولفات مس و مسمومیت با آن در ماهیان و میگو دارد تحقیقات زیادی در این رابطه صورت گرفته است. Boeck و همکاران (۲۰۱۰) با مطالعه سمیت مس در ماهی کاراس ثابت کردند که سمیت مس در درجه اول به کاهش میزان سدیم در بدن بستگی داشته و در واقع یک نوع سمیت اسمزی است. معمولاً آبشش اولین بافت در مواجهه با تغییرات محیطی و سموم است و مواجهه طولانی مدت با آلودگی سبب اثرات تخریبی قابل مشاهده در این بافت خواهد شد (Svecevicius et al., 2012). حسینی و همکاران (۱۳۹۴) محدوده کشندگی سولفات مس را برای بچه- ماهی قزل‌آلای رنگین کمان برابر ۱۰۰۰-۱ میلی گرم در لیتر بدست آوردند. Hoseini و Nodeh (۲۰۱۲) با مطالعه اثرات سمیت مس و جیوه بر روی ماهی کلمه دریای خزر نشان دادند که کمترین غلظت موثر برای مس در مدت ۹۶ ساعت برابر ۰/۲ میلی گرم در لیتر بود (LOEC). Balambiga و Arunai (۲۰۱۱) می‌توان غلظت نیمه کشنده سولفات مس را در مدت ۷۲ ساعت در ماهی کپور معمولی ۸ میلی گرم در لیتر گزارش دادند. این نتایج بیانگر واکنش متفاوت گونه‌های متعدد

ماهی در شرایط متفاوت به سولفات مس و دیگر سموم است. مطالعات ثابت کرده است که مس یکی از آلاینده‌های مهم دریای خزر است (Taghipour and Azizi, 2011)، لذا ضرورت انجام این طرح با هدف ارزیابی تغییرات بافتی ماهی کپور *Cyprinus carpio* و کلمه *Rutilus caspicus* در مواجهه حاد با سولفات مس صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

۲۵۰ قطعه ماهی کپور معمولی با وزن متوسط 20 ± 3 گرم از کارگاه پرورش ماهی سد وشمگیر- آق‌قلا از توابع استان گلستان تهیه شد. ۲۵۰ قطعه ماهی کلمه نیز با میانگین وزنی 2 ± 0.5 گرم از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی بندر ترکمن (کلمه سیجوال) تامین گردید. ماهی‌ها قبل از انجام آزمایش در آکواریوم جداگانه‌ای نگهداری شدند. این ماهیان قبل از آزمایش با غذای کپور معمولی (مخلوط کنسانتره و آرد گندم) به میزان کم تغذیه شدند. ماهیان پس از انتقال به آزمایشگاه هیدروبیولوژی دانشگاه گنبد کاووس از نظر سلامت مورد معاینه قرار گرفتند. آزمایش‌ها تحت شرایط ثابت از نظر دما و pH (به ترتیب $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ و 7.8 ± 0.2) در مدت ۹۶ ساعت برای هر گروه صورت گرفت. آزمایش‌ها با استفاده از روش آب ساکن (Water Static Method) صورت گرفت (Gul et al., 2009). در طول آزمایش‌ها از سنگ‌هوا استفاده شد. شدت اکسیژن تولیدی توسط سنگ‌هوا در طول شبانه-روز معادل $1/9$ میلی گرم در لیتر بود. در طول آزمایش‌ها غذا دهی قطع گردید. آزمایش‌ها در مخازن پلاستیکی با حجم آبی ۳ و ۱۰ لیتر به ترتیب برای ماهی کلمه و کپور استفاده شد. در طول مدت آزمایش

درصد تلفات و علائم ظاهری مسمومیت (شنای ناموزون، تهویه ناموزون، رفتارهای عصبی) در ماهی ثبت گردید. ۱۳ قطعه بچه ماهی از هر نوع در معرض غلظت‌های مختلف نمک سولفات مس (0.1 ، 0.2 ، 0.3 ، 0.4 و 0.45 میلی گرم در لیتر) قرار گرفتند. یک گروه ۱۳ تایی نیز به عنوان شاهد (بدون سولفات مس) در نظر گرفته شد (Boeck et al., 2010). برای تعیین غلظت-های سولفات مس، پس از تعیین حجم آب به ازای واحد حجمی، سولفات مس توزین و به آب اضافه گردید. برای حل کردن سولفات مس در آب مخزن، ابتدا آن را در بشر حل و سپس محلول حاصل به آب اضافه گردید تا محلول یکنواختی به دست آید. پس از پایان آزمایش‌ها از ماهیان زنده و ماهیانی که در اثر مسمومیت با سولفات مس دچار تلفات شدند بلافاصله نمونه گیری به عمل آمد. از هر تیمار و تکرارهای آن ۳ عدد ماهی (در مجموع ۹ ماهی) انتخاب و نمونه‌هایی از کبد، کلیه و آبشش به صورت تصادفی به دست آمد. نمونه‌ها به طور جداگانه در ظرف‌های حاوی فرمالین ۱۰٪ فیکس و به آزمایشگاه بافت شناسی (پاتوبیولوژی-گرگان) انتقال و به روش مرسوم مقاطع بافتی توسط آزمایشگاه تهیه شد (Humason, 1962). از هر نمونه بافتی، سه نمونه لام به صورت مجزا تهیه شد. مقاطع بافتی تهیه شده به کمک رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (H&E)، آماده شدند (احمدی و همکاران، ۱۳۹۵). در نهایت تصاویر مقاطع تهیه شده توسط دوربین متصل به میکروسکوپ نوری و نرم افزار مربوطه به کامپیوتر انتقال یافته و مورد مطالعه قرار گرفتند. (Ramírez-Duarte et al., 2008). براساس کلیدهای شناسایی موجود آسیب‌های بافتی مورد مطالعه قرار گرفتند (Martoja and Martoja-Pierson, 1967؛

(Roberts, 2012). آزمایش‌ها در طرح کاملاً تصادفی متعادل ۳×۶ اجرا گردید. جهت تعیین غلظت‌های کشنده از منحنی شیب درصد تلفات در غلظت‌های مختلف و بر اساس مدل میکایل-منتن (Green et al., 2018) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS, 15 استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از قرار گرفتن ماهی در معرض غلظت‌های مختلف مس

مطالعات نشان داد با افزایش مقادیر سولفات مس به ظروف آزمایشی، لفات هر ماهی به‌طور معنی‌داری

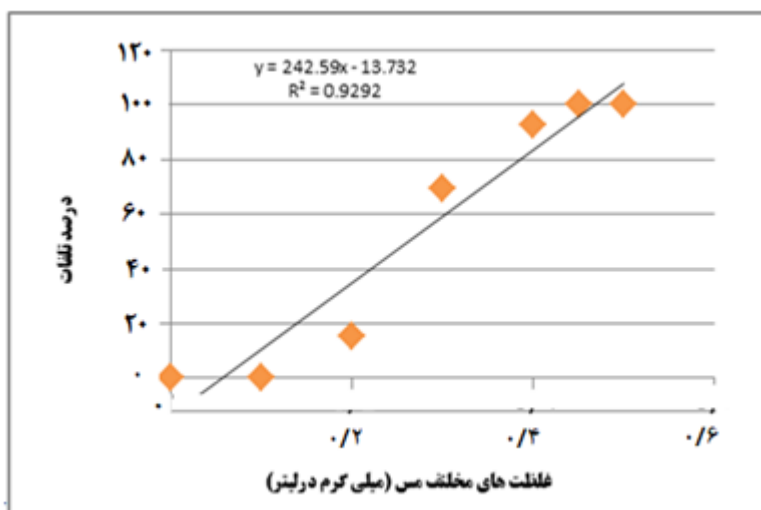
افزایش یافت، به‌طوری که بعد از گذشت ۹۶ ساعت غلظت کشنده مس برای ماهی کپور و کلمه به‌ترتیب معادل ۰/۴۵ و ۰/۴ میلی گرم در لیتر به‌دست آمد (جدول ۱). درصد تلفات ماهی کپور در غلظت‌های مختلف مس (۰/۵ و ۰/۴۵، ۰/۴، ۰/۳، ۰/۲، ۰/۱، ۰، ۰/۱، ۰، ۰/۲، ۰، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵) میلی گرم در لیتر) بعد از گذشت ۹۶ ساعت به‌ترتیب برابر ۱۰۰ و ۱۰۰، ۱۰۰، ۹۲/۳۱، ۶۹/۲۳، ۴۶/۱۵، ۰، ۰ به‌دست آمد. این در حالی است که در غلظت‌های فوق درصد-تلفات ماهی کلمه در ۹۶ ساعت به‌ترتیب برابر ۰، ۷/۶۹، ۳۰/۷۷، ۸۴/۶۲، ۱۰۰ و ۱۰۰ بود (جدول ۱).

جدول ۱: درصد تلفات ماهی در برابر غلظت‌های مختلف مس بعد از گذشت ۹۶ ساعت

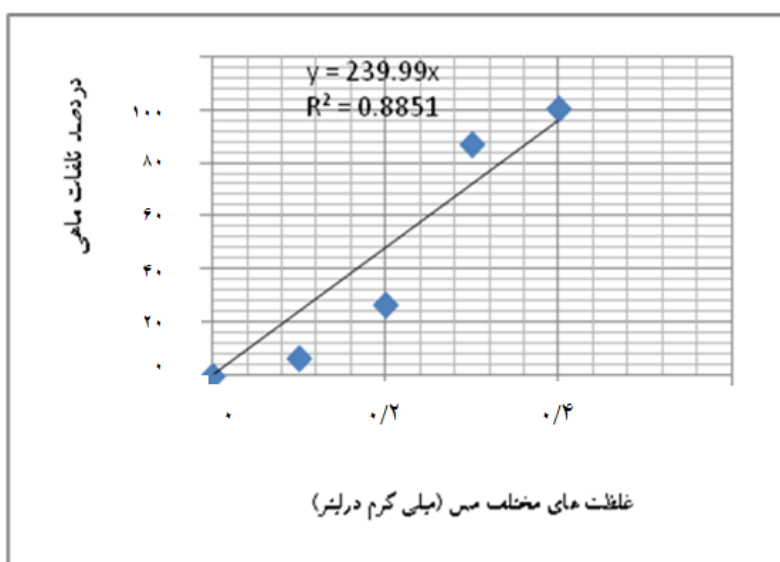
تیمار مورد آزمایش	غلظت مس (میلی گرم در لیتر)	تعداد تلفات		درصد تلفات	
		کپور	کلمه	کپور	کلمه
شاهد	۰	۰	۰	۰	۰
۱	۰/۱	۰	۱	۰	۷/۶۹
۲	۰/۲	۲	۴	۱۵/۳۸	۳۰/۷۷
۳	۰/۳	۹	۱۱	۶۹/۲۳	۸۴/۶۲
۴	۰/۴	۱۲	۱۳	۹۲/۳۱	۱۰۰
۵	۰/۴۵	۱۳	۱۳	۱۰۰	۱۰۰
۶	۰/۵	۱۳	۱۳	۱۰۰	۱۰۰

همان‌طوری که در جدول مشخص است، درصد-تلفات ماهی در غلظت ۰/۳ میلی گرم در لیتر افزایش خیلی معنی‌داری را نسبت به غلظت ۰/۲ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر از خود نشان داد، به‌طوری که درصد تلفات ماهی کلمه از ۳۰/۷۷ به ۸۴/۶۲ میلی گرم در لیتر افزایش

یافت. با توجه به درصد تلفات ماهی و منحنی شیب خط-رگرسیون غلظت نیمه کشنده (LC₅₀, 96h) مس برای ماهی کپور و ماهی کلمه به‌ترتیب برابر با ۰/۲۷۲ و ۰/۲۲۵ میلی گرم در لیتر به‌دست آمد (شکل ۱).



الف - ماهی کپور



ب - ماهی کلمه

شکل ۱- منحنی شیب خطر گرسیون درصد تلفات ماهی در معرض غلظت های مختلف مس بعد از گذشت ۹۶ ساعت

الف - ماهی کپور ب - ماهی کلمه

حالی است که برای ماهی کلمه در غلظت های ۰/۴۵ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر در ۳ ساعت اول آزمایش برابر ۱۰۰ درصد بود. درصد تلفات ماهی در غلظت ۰/۴ میلی گرم در لیتر در ۲۴ ساعت اول برابر ۵۳/۸۴ درصد، برای ۴۸ و ۷۲ ساعت برابر ۸۴/۶۱ درصد و در ۹۶ ساعت برابر ۱۰۰٪ بود. غلظت های کشنده مس برای

مطالعات نشان داد، درصد تلفات ماهی کپور در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر در ۲۴ ساعت اول برابر ۱۰۰ درصد بود. درصد تلفات ماهی در غلظت ۰/۴۵ میلی گرم در لیتر در ۲۴ ساعت اول برابر ۳۸/۴۶ درصد، در ۴۸ ساعت برابر ۶۹/۲۳ درصد، در ۷۲ ساعت برابر ۹۲/۳۱ درصد و در ۹۶ ساعت برابر ۱۰۰٪ بود. این در

ماهی کپور و کلمه با استفاده از نرم افزار پرویت در
مدت ۹۶ ساعت در جدول ۲ و ۳ آمده است. همان-
طوری که در جدول نمایش داده شده است میزان

جدول ۲: غلظت کشنده (LC₁₀₋₉₅) با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۹۶ ساعت

الف- ماهی کپور

حدود اطمینان		غلظت کشنده	LC
حد پایین	حد بالا		
۰/۲۲۲	۰/۱۰۲	۰/۱۸۱	LC10
۰/۲۴۹	۰/۱۵۲	۰/۲۱۳	LC20
۰/۲۷۰	۰/۱۸۴	۰/۲۳۶	LC30
۰/۲۸۹	۰/۲۱۱	۰/۲۵۵	LC40
۰/۳۰۹	۰/۲۳۵	۰/۲۷۴	LC50
۰/۳۳۰	۰/۲۵۷	۰/۲۹۲	LC60
۰/۳۵۶	۰/۲۷۸	۰/۳۱۲	LC70
۰/۳۸۰	۰/۳۰۰	۰/۳۳۵	LC80
۰/۴۳۵	۰/۳۲۸	۰/۳۶۶	LC90
۰/۴۷۶	۰/۳۵۰	۰/۳۹۳	LC95

جدول ۳: غلظت کشنده (LC₁₀₋₉₅) با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۹۶ ساعت

ب- برای ماهی کلمه

حدود اطمینان		غلظت- کشنده	LC
حد پایین	حد بالا		
۰/۱۷۱	۰/۰۵۱	۰/۱۳۰	LC10
۰/۱۹۹	۰/۱۰۲	۰/۱۶۳	LC20
۰/۲۲۱	۰/۱۳۶	۰/۱۸۶	LC30
۰/۲۴۲	۰/۱۶۴	۰/۲۰۲	LC40
۰/۲۶۳	۰/۱۸۷	۰/۲۲۵	LC50
۰/۲۸۷	۰/۲۰۹	۰/۲۴۴	LC60
۰/۳۱۴	۰/۲۲۹	۰/۲۶۴	LC70
۰/۳۴۹	۰/۲۵۱	۰/۲۸۷	LC80
۰/۴۰۰	۰/۲۷۹	۰/۳۲۰	LC90
۰/۴۴۳	۰/۳۰۰	۰/۳۴۷	LC95

نتایج حاصل از مطالعات رفتاری و آسیب-

شناسی

علائم ظاهری اولیه نشان داد که ماهی‌ها اضطراب اولیه را به صورت حرکات سریع در شنا کردن، افزایش حرکات سریع سرپوش‌های آبششی و اکسیژن‌گیری از سطح آب نشان دادند. در نهایت بدن‌شان به طور کامل بی حرکت گشته و تمایل به استقرار در کف از خود نشان دادند. تشنجات عصبی، برخورد ماهی با کناره‌های تشت و قرمز شدن آبشش‌ها از دیگر علائم ظاهری مسمومیت در ماهی بود. نتایج نشان داد که تظاهرات ماهی در برابر سمیت با سولفات مس، با افزایش غلظت آن بیشتر شد. آسیب‌شناسی مقاطع بافتی تهیه شده از آبشش ماهیانی که در معرض غلظت کشنده مس قرار داشتند، نشان داد که در قسمت راس رشته‌های آبششی

هیپرپلازی یا چماغی شدن رشته‌های آبششی رخ داده است که نتیجه این هیپرپلازی جوش خوردن بسیاری از لاملاها و کاهش سطح تنفس در برخی فیلامنت‌ها مشاهده شد. ادم در ناحیه لاملاهای ثانویه (شکل ۲) و خون‌ریزی و پرخونی (شکل ۳) در آبشش به وضوح دیده شد. در بافت کلیه و کبد ماهیان قرار گرفته در معرض غلظت کشنده مس ضایعات همچون دژنره شدن توپول‌های کلیوی (شکل ۴)، خون‌ریزی (شکل ۵)، نفوذ سلول‌های آماسی و تخریب سول‌های کبدی به- وضوح دیده شد (شکل ۶).

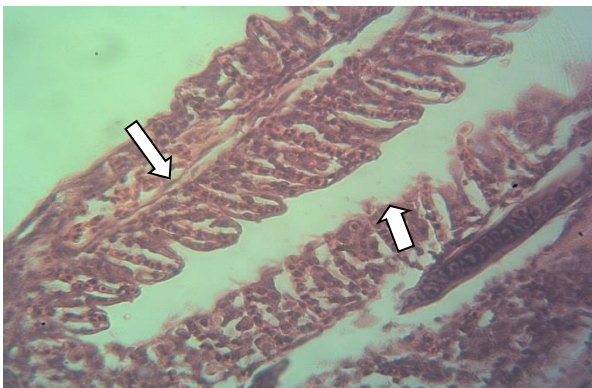


(۲) بزرگنمایی $\times 1000$



(۱) بزرگنمایی $\times 400$

شکل ۲: بافت آبشش ماهی کپور (۱) و کلمه (۲) در غلظت کشنده سولفات مس. نوک پیکان ادم و چماغی شدن رشته‌های آبشش را نشان می‌دهد

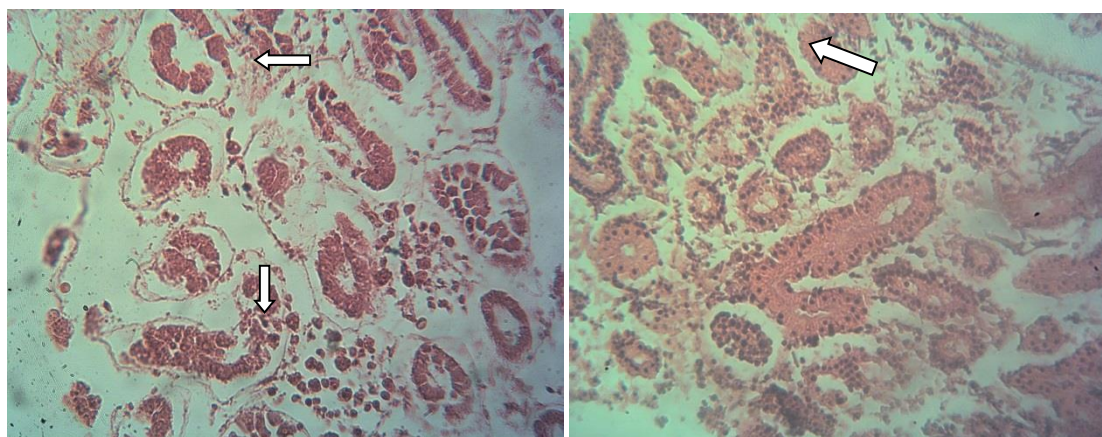


(۲) بزرگنمایی $\times 200$

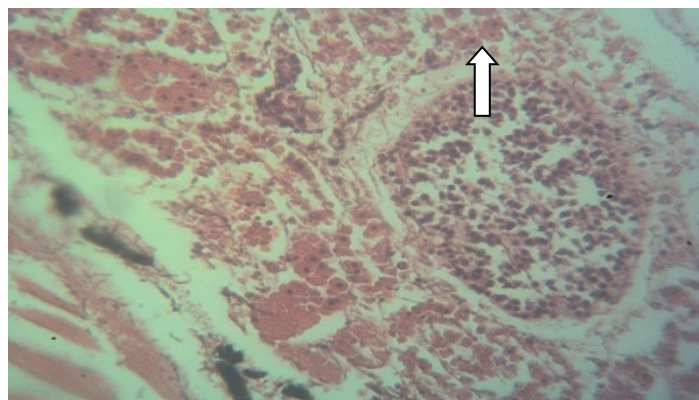


(۱) بزرگنمایی $\times 400$

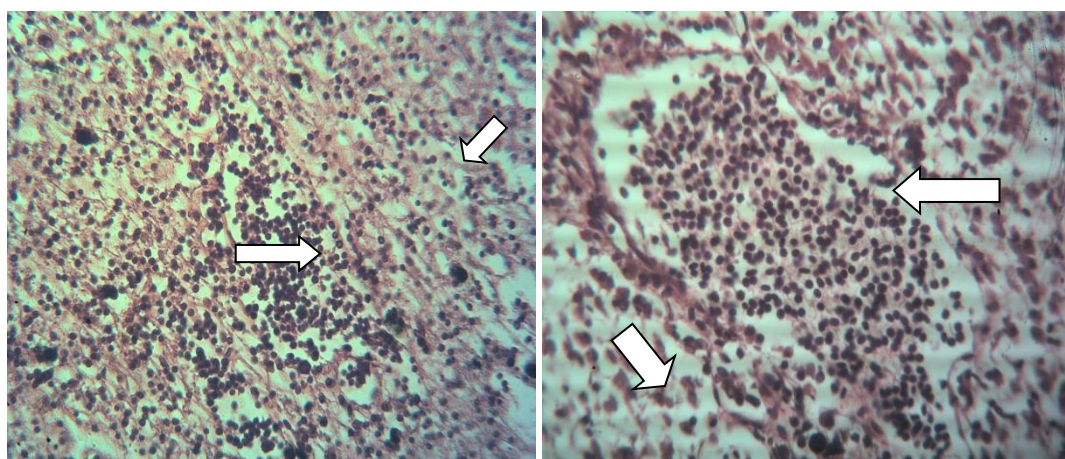
شکل ۳- بافت آبشش ماهی کپور (۱) و کلمه (۲) در غلظت کشنده سولفات مس. نوک پیکان‌ها پرخونی را نشان می‌دهد

(۱) بزرگنمایی $\times 200$ (۲) بزرگنمایی $\times 400$

شکل ۴- بافت کلیه ماهی کلمه (۱) و کپور (۲) در غلظت کشنده سولفات مس. نوک پیکان تخریب مجاری کلیوی را نشان می دهد



شکل ۵- بافت کلیه ماهی کلمه در غلظت کشنده سولفات مس. نوک پیکان خونریزی را نشان می دهد

(۱) بزرگنمایی $\times 400$ (۲) بزرگنمایی $\times 100$

شکل ۶- بافت کبد ماهی کپور (۱) و کلمه (۲) در غلظت کشنده سولفات مس. نوک پیکان نفوذ سلول های آماسی و تخریب سلول های کبدی را نشان می هد

بحث

مطالعات بافت‌شناسی یکی از راه‌های موثر در بررسی آسیب‌های وارد شده در مسمومیت‌هاست. آزمایش‌های حاضر به منظور بررسی مسمومیت حاد (96h) سولفات‌مس بر ماهی کپور و کلمه و تعیین ضایعات ناشی از آن بر بافت‌های آبشش، کبد و کلیه ماهیان تحت شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت. مسمومیت‌زایی سولفات‌مس در ماهیان در شرایط مختلف محیطی و گونه‌های مختلف گزارشات متعددی وجود دارد. بر اساس مطالعات مختلف مشخص شده است که غلظت کشنده مس برای ماهیان از ۰/۲ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر براساس سختی، pH، گونه و سن ماهی می‌تواند متفاوت باشد (Giguere et al., 2004). به‌عنوان Vosylienė و Bagdonas (۲۰۰۶) غلظت نیمه‌کشنده مس را برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مدت ۹۶ ساعت برابر ۰/۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آوردند. مشتاقی و همکاران (۱۳۹۱) با مطالعه اثرات سمیت حاد سولفات‌مس و پرمنگنات‌پتاسیم در بچه‌تاس‌ماهیان ایرانی غلظت کشنده فلز مس و پرمنگنات-پتاسیم را در مدت ۹۶ ساعت به‌ترتیب برابر ۰/۱۵ و ۰/۴۱ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آوردند. Arunai و Balambiga (۲۰۱۱) میزان غلظت نیمه‌کشنده سولفات-مس را در مدت ۷۲ ساعت در ماهی کپور معمولی ۸ میلی‌گرم در لیتر گزارش دادند. این نتایج بیانگر واکنش متفاوت گونه‌های متعدد ماهی در شرایط متفاوت به سولفات‌مس و دیگر سموم است. در مطالعه حاضر نیز سمیت سولفات‌مس در ماهی کلمه و کپور متفاوت بود، به‌طوریکه غلظت کشنده مس در ماهی کلمه ۰/۴ و در

ماهی کپور ۰/۴۵ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. پس از رسم منحنی درصد تلفات ماهی در غلظت‌های مختلف، غلظت نیمه‌کشنده مس برای ماهی کپور و کلمه بعد از گذشت ۹۶ ساعت به‌ترتیب برابر ۰/۲۷۲ و ۰/۲۲۵ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد (جداول ۲ و ۳). همان‌طوری که در جدول ۱ نشان داده شده است با افزایش غلظت-مس در آزمایش‌ها درصد تلفات ماهی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$). آزمایش‌های مقدماتی نشان داد، غلظت بی‌اثر برای فلز مس برابر ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بود که در این غلظت‌ها هیچگونه تلفاتی مشاهده نشد (NOEC). این درحالی است که Hoseini و Nodeh (۲۰۱۲) با مطالعه اثرات سمیت مس و جیوه بر روی ماهی کلمه دریای خزر نشان دادند که کمترین غلظت موثر برای مس در مدت ۹۶ ساعت برابر ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر بود (LOEC). غلظت نیمه‌کشنده هیچ-گاه یک مقدار ثابت مطلق نمی‌باشد، زیرا عوامل بسیاری نظیر اختلافات فردی، سنی، جنسی، وزنی، فاکتورهای محیطی در تعیین آن موثرند. پس از شروع آزمایش و تشدید مسمومیت ماهیان اضطراب اولیه خود را با حرکات سریع شنا، افزایش حرکات سریع سرپوش‌های آبششی و اکسیژن‌گیری از سطح آب نشان دادند. در نهایت بدن‌شان به‌طور کامل بی‌حرکت گشته و تمایل استقرار در کف را از خود نشان دادند. آزمایش حاضر با نتایج حاصل از آزمایش سولفات‌مس روی میگوی آب‌شیرین *Caridina Africana* (Bello-Olusoji and Adebola, 2006) و گربه‌ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* (Olaifa et al., 2010) و بر ماهی کاراس *Carassius auratus gibelio* (Boeck et al., 2010) کاملاً مطابقت داشت. در مطالعات کشتکارلنگرودی و تهرانی‌فرد (۱۳۹۷) و همچنین

رزاقی قاضیانی و همکاران (۱۳۹۶) بر آبتش ماهیان قره برون و استرلیاد در مواجهه با سم دیازینون بیان شد که علائم رفتاری ناشی از مواجهه شدن در برابر سم شامل انحنای ستون فقرات (فلج عصبی)، قرمزی روی سطح زیرین بدن و آبتش، شنای چرخشی، باز و بست سریع آبتش‌ها و خوابیدن به پشت از جمله علائم بالینی سم دیازینون بود. این امر حاکی از عملکرد مشابه سموم و فلزات بر رفتارهای ظاهری ماهی در مواجهه با سمیت است. مطالعات آسیب‌شناسی بخشی از بیماری‌شناسی و اکوتوکسیکولوژی ماهیان را نشان می‌دهد. عوامل زنده و غیرزنده محیط‌زیست ماهیان دارای آثاری بر دستگاه‌ها و بافت‌های مختلف بدن هستند که کم و بیش می‌توان آن‌ها را با روش‌های هیستوپاتولوژی بیان کرد. هر کدام از این عوارض بافتی موجب حساسیت ماهی نسبت به بیماری‌های ثانویه و بالقوه مرگ و میر می‌شود. معمولاً آبتش اولین بافت در مواجهه با حیاطی و سموم است و مواجهه طولانی مدت با آلودگی سبب اثرات تخریبی قابل مشاهده در این بافت خواهد شد. در مطالعه حاضر جداشدگی لایه اپیتلیوم لاملاهای ثانویه و هایپرپلازی از واضح‌ترین علائم بافتی بود. ادم در آبتش ماهیان به‌حالتی اطلاق می‌شود که لایه اپیتلیوم از سطح لاملاهای ثانویه جدا می‌شود؛ در این حالت بین اپیتلیوم و عروق خونی فاصله می‌افتد در حقیقت این واکنش یک عمل دفاعی بوده و به این طریق ماهی سعی می‌کند تا از مسمومیت بیشتر در امان باشد (Svecevicus *et al.*, 2012). هایپرپلازی نیز عملکردی مشابه با ادم داشته و یک واکنش دفاعی به حساب می‌آید که به‌راحتی قابل مشاهده است (Van *et al.*, 2004). همان‌طوریکه در آزمایش‌ها مشهود بود با افزایش مدت زمان مواجهه و یا افزایش غلظت

مسمومیت جداشدگی کامل بافت اپیتلیوم و نکروز در این بافت به‌شدت بیشتری رخ داد (Hedayat *et al.*, 2014) آزمایش‌های مختلف ثابت کرد، در ماهیانی که در معرض موادمسمی قرار دارند، ترشح موکوس افزایش یافته و دفع بیش از اندازه صورت می‌گیرد (فرخ‌روز و همکاران، ۱۳۹۲؛ Khunyakari و همکاران، ۲۰۰۱). رستمی و سلطانی (۱۳۸۸) با مطالعه اثرات بافتی دوز مزمن سولفات مس بر برخی اندام‌های ماهی عمولی نشان دادند، در آبتش مهمترین ضایعات شامل ادم، هایپرتروفی لاملاهای ثانویه، هایپرپلازی سلول‌های پوششی آبتش، چسبندگی لاملاهای ثانویه به یکدیگر، افزایش سلول‌های کلراید و مخاطی، پرخونی بود. هپاتوسیت‌های کبدی و سلول‌های کلیوی در متابولیسم و غیرفعال‌سازی سموم نقش اساسی دارند در عین حال به‌دلیل خون‌رسانی بالای این بافت‌ها در صورت مسمومیت با فلزات سنگین بیشتر در معرض مواجهه با سموم قرار می‌گیرند و در نهایت اثرات آسیب‌شناسی در سلول‌های این بافت‌ها نسبت به سایر بافت‌های داخلی سریع‌تر قابل مشاهده است. میزان این آسیب بسته به نوع مسمومیت، دوز مواجهه، گونه و سن ماهی، زمان مواجهه و شرایط فیزیکی‌وشیمیایی آب پرورش متفاوت است (مازندرانی و همکاران، ۱۳۹۴). آسیب‌شناسی بافت‌های کلیه و کبد در مطالعه حاضر نشان داد که عمده‌ترین ضایعات در غلظت‌کشنده مس برای ماهی کپور و کلمه شامل دژنره شدن توپول‌های کلیوی، خونریزی، نفوذ سلول‌های آماسی در بین سلول‌های کبدی و تخریب سلول‌های کبدی بود. رستمی و سلطانی (۱۳۸۸) بیان کردند که مهمترین ضایعات کبدی شامل نکروز-کانونی، واکوئله‌شدن، پرخونی و هجوم لنفوسیت‌ها در بافت همبندی کپسول کبدی بودند. آنچه مطالعات

مختلف نشان داد این بود که رفتارهای ظاهری سمیت مواد بر گونه‌های مختلف ماهی به یک شکل بروز می‌کند، گرچه ممکن است اثرات بافتی ناشی از مسمومیت در گونه‌های مختلف و عناصر سمی متفاوت عمل کند.

تغییرات بافتی در اثر عوامل مختلف محیطی ایجاد می‌شود و می‌تواند سبب بروز اختلالاتی در رفتار و فیزیولوژی گردد. بنابراین بررسی بافت‌شناسی یک شاخص جامع بوده که می‌تواند به صورت دقیق وضعیت سلامت ماهی و تجمع مواد آلاینده را بیش از حد نرمال در محیط زیست مشخص نماید.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر با حمایت مالی دانشگاه گنبد کاووس در قالب طرح‌های تحقیقاتی به شماره ۶/۷۶۷ و ۶/۵۹۰ اجرا شده است. بدینوسیله از حمایت‌های ریاست محترم دانشگاه و مدیریت محترم پژوهشی دانشگاه و همچنین ریاست محترم دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی و سایر همکارانی که در این امر ما را یاری رساندند، تقدیر و تشکر می‌نمایم.

منابع

۱. احمدی، ن.، نعیمی، ا.س.، نظر حقیقی، ف.، غفوری، ح.، ۱۳۹۵. اثرات نیمه مزمن نانوذره‌ی اکسیدمس بر برخی پارامترهای خونی و بافت آبشش (*Cyprinus carpio*) بچه‌ماهی کپور - معمولی، نشریه توسعه آبرزی پروری، ۱۰ (۴)، ۱۴-۱.
۲. حسینی، ص.، موحدنیا، ع.، حیدری، م.، مهدوی، ج.، جادی، ی.، فیضی، ز.، ۱۳۹۴. تعیین محدوده

کشندگی و غلظت کشنده (LC50) سولفات مس در قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۳ (۲)، ۸۷-۷۸.

۳. خبازی، م.، هرسیج، م.، هدایتی، س.ع.ا.، گرامی، م.ح.، غفاری فارسانی، ح.، ۱۳۹۴. تأثیر غلظت‌های تحت کشنده فلز مس در پارامترهای هماتولوژیک خون قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*. مجله بوم‌شناسی آبزیان، ۴ (۴)، ۱-۷.
۴. رستمی، م.، سلطانی، م.، ۱۳۸۸. مطالعه اثرات بافتی دوز مزمن سولفات مس بر برخی اندام‌های ماهی کپور معمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۳ (۶۴)، ۱۹۸-۱۹۳.

۵. رزاقی قاضیانی، م.، ایمانپورنمین، ج.، پزند، ذ.، ۱۳۹۶. نشریه توسعه آبرزی پروری، ۱۱ (۲)، ۶۰-۴۹.
۶. فرخ‌روز، م.، زمینی، ع.، مظفری، ا.، ۱۳۹۲. بررسی تاثیرات فرمالین و سولفات مس بر بافت‌های آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر. مجله علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۴ (۶)، ۳۵-۲۷.
۷. کشتکارلنگرودی، ا.، تهرانی فرد، ا.، ۱۳۹۷. تاثیر زیر حد کشندگی سم دیازینون بر پارامترهای خونی و بافت‌های آبشش و عضله بچه ماهی قره برون، نشریه توسعه آبرزی پروری، ۱۲ (۳)، ۱۲۹-۱۱۹.

۸. مازندرانی، م.، سوداگر، م.، نمرودی، س.، ۱۳۹۴. هیستوپاتولوژی کلیه، کبد و آبشش بچه ماهیان کپور در مواجهه حاد با سولفات مس. مجله بوم-شناسی آبزیان، ۱ (۵)، ۱۶-۹.

۹. مشتاقی، ب.، نظامی، ش.، خارا، ح.، پزند، ذ.، شناورماسوله، ع.، حلاجیان، ع.، فتح‌الهی، ر.،

- Environmental Chemistry, 96 (10), 1535-1545.
18. Hosseini, S.A. Nodeh, A.J., 2012. Toxicity of Copper and Mercury to Caspian Roach *Rutilus rutilus caspicus*. Journal of the Persian Gulf, 3 (9), 9-14.
 19. Humason, G. L., 1962. Animal tissue techniques ,United States of America, 492p.
 20. Kazlauskienė, N., 2002. Long- term effect of copper on sea trout (*salmo trutta trutta*) in early ontogenesis, Ecology, 2, 65-69.
 21. Khunyakari, R.P., Vrushali, T., Sharma, R.N., Tare, V., 2001. Effects of some trace heavy metals on *Poecilia reticulata*, Journal Environment Biology., 22 (2), 141-144.
 22. Martoja, R., Martoja-Pierson, M., 1974. Initiation Aux Techniques de l histology animale. 1rd ed. Paris: Masson et Cie; 345 p.
 23. Mustafa, S.A., Davies, S.J., Jha, A.N., 2012. Determination of hypoxia and dietary copper mediated sub-lethal toxicity in carp, *Cyprinus carpio*, at different levels of biological organisation, Chemosphere, 87, 413-422.
 24. Ololade, A., Oginni, I., 2010. Toxic stress and hematological effects of African catfish, *Clarias gariepinus*, fingerlings, Journal of environmental chemistry and ecotoxicology, 2, 2, 14-19.
 25. Olaifa, F.E., Olaifa, A.K., Onmude, T.E., 2004. Lethal and sub-lethal effects of copper to the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles, African Journal of Biomedical Research, 7, 65 -70.
 26. Perchbacher, P.W., Wurts, W.A., 1999. Effects of Calcium and Magnesium hardness on acute Copper toxicity to juvenile Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*. Journal of Aquaculture, 172 (3-4), 275 – 280.
 27. Ramírez-Duarte, W.F., Rondón-Barragán, I.S., Pedro, R., Eslava-Mocha, P.R., 2008. Acute toxicity and histopathological alterations of Roundup herbicide on cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). Pesquisa Veterinária Brasileira, 28(11), 1001-1007.
 - منافی حویق، ز.، ۱۳۹۱. تاثیر سمیت حاد سولفات-مس و پرمنگنات پتاسیم بر آبخش و کبد بچه تاس-ماهی ایرانی. مجله علمی پژوهشی زیست شناسی-دریا، ۴ (۱۵)، ۱-۱۱.
 10. Bagdonas, E., Vosylienė, M.Z., 2006. A study of toxicity and genotoxicity of copper, zinc and their mixture to rainbow trout, Biologija, 1, 8-13.
 11. Balambigai, N., Aruna, D., 2011. Impact of copper sulfate, an essential micronutrient on ACh, AChE and Na⁺ K⁺ ATP ase in various tissues of the fish (*Cyprinus carpio*), Research journal of environmental toxicology, 5(2), 314- 319.
 12. Bello-Olusoji, O.A., Adebola, B.O., 2006. Toxic Effect of aldrin and copper sulphate on freshwater Prawn *Caridina Africana*, Journal of Fisheries International, 1(1-2), 12-16.
 13. Boeck, G., Smolders, R., Blust, R., 2010. Copper toxicity in gibelio carp *Carassius auratus gibelio*: Importance of sodium and glycogen, Ecophysiology, Biochemistry and Toxicology Group, Department of Biology, University of Antwerp, Groenenborgerlaan, B-2020 Antwerp, Belgium., Pp: 171.
 14. Giguere, A., Campbell, P.G.C., Hare, L., McDonald, D.G., Rasmussen, J.B., 2004. Influence of lake chemistry and fish age on cadmium , copper, zinc concentrations in various organs of indigenous yellow perch (*perca flavescens*), Canadian Fish Aquaculture Sciences, 61, 1702-1716.
 15. Green, J.W., Speinger, T.M., Holbech, H., 2018. Statical analysis of ecotoxicity studies. John Wiley & Sons, USA. 392P.
 16. Gul, A., Yilmaz, M., Isilak, Z., 2009. Acute toxicity of Zinc Sulphate (ZnSO₄.H₂O) to Guppies (*Poecilia reticulata* P., 1859), Journal of Science, 22(2), 52-65.
 17. Hedayati, A., Hoseini, S.M., Ghelichpour, M., 2014. Acute toxicity of waterborne manganese to *Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870) gill histopathology, immune indices, oxidative condition, and saltwater resistance., Toxicological and

- biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1994–1998.
32. Van, H.D., Vosloo, A., Nikinmaa, M., 2004. Effects of short-term copper exposure on gill structure, methallothionein and hypoxia-inducible factor- 1 α (HIF-1 α) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquatic Toxicology*, 69, 271-280.
 33. Witeska, M., Jezierska, B., 2003. The effect of environmental factors on metal toxicity to fish, *Fresenius Environment Bulletin*, 824- 829.
 28. Roberts, R.J., 2012. *Fish pathology*. 4th edition. Wiley-Blackwell, UK. 590 p.
 29. Svecevičius, G., Kazlauskienė, N., Edvinas Taujanskis, E., 2012. The acute and behavioral effects of a Copper-Nickel mixture on roach *Rutilus rutilus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89, 147–151.
 30. Taghipour, V., Azizi, S.N., 2011. Determination of trace elements in muscle tissue of Caspian roaches (*Rutilus rutilus caspicus*) collected in Iranian coastal waters of the Caspian Sea, *Iranica Journal of Energy and Environment*, 2 (1), 47-51.
 31. Talas, Z.S., Gulhan, M.F., 2009. Effects of various propolis concentrations on