Archive of SID

آسیب‌شناسی بافت کبد و آبشش در ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) تغذیه‌شده با اسیدآمینه سیستیین در مواجهه با فلزات سنگین مس و روی

جواد قاسم‌زاده[1*]
زهرا نوروزی[2]
محمود سینایی[3]
امید کوهکن[4]
حسن زادعباس شاه‌آبادی[5]

۱. استادیار گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
۳. استادیار گروه شیلات، واحد چابهار، دانشگاه آزاد اسلامی، چابهار، ایران
۴. مربی گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
۵. کارشناس گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

***مسئول مکاتبات**
jghasemz@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۱۴
کد مقاله: ۱۳۹۵۰۴۰۴۹۳
این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

چکیده

تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد و آبشش در ماهیان کفال خاکستری (*Mugil cephalus* L.) تغذیه‌شده با اسیدآمینه سیستئین، در مواجهه با فلزات سنگین مس و روی در سال ۱۳۹۴ در دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار بررسی شد. هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدآمینه سیستئین در برابر آلودگی فلزات مورد بررسی، بر تغییرات بافت کبد و آبشش در ماهیان کفال خاکستری بود. برای این منظور تعداد 300 عدد ماهی کفال خاکستری با میانگین وزنی ۳±۲۷/۴ گرم به‌طور زنده از آب‌های ساحلی خلیج چابهار صیدشده و پس از سازگاری با شرایط آزمایشگاهی و تغذیه مصنوعی، در قالب هفت گروه (یک گروه شاهد، سه تیمار فلز مس و سه تیمار فلز روی) تفکیک شدند. در این پژوهش ماهیان موردبررسی در مواجهه با فلزات سنگین مس و روی (به میزان ۲۰ درصد اضافه بر غلظت طبیعی موجود در آب ساحل دانشگاه دریانوردی) قرارگرفته و به مدت ۴۵ روز با چهار جیره غذایی حاوی اسیدآمینه سیستئین (به میزان صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد) نسبت به سیستئین موجود در جیره پایه، غذادهی شدند. در پایان دوره آزمایشی (روز ۴۵)، نمونه‌هایی از بافت کبد و آبشش از تمام گروه‌ها به‌طور تصادفی جداشده و پس از آبگیری، تثبیت در پارافین، رنگ‌زدایی و شفاف‌سازی، با محلول‌های هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی و بررسی شدند. نتایج بررسی میکروسکوپی نمونه‌ها نشان داد که شدت ضایعات در تیمار سوم (غلظت ۱۰۰ درصد سیستئین) بیشتر و در تیمار اول (غلظت ۲۵ درصد سیستئین) کمتر از سایر تیمارها بود. همچنین غلظت ۲۵ درصد سیستئین در رژیم غذایی ماهی کفال خاکستری نسبت به دو غلظت بالاتر (غلظت ۵۰ و ۱۰۰ درصد سیستئین)، از جهت کاهش شدت ضایعات مناسب‌تر بوده و در غلظت‌های بالاتر سیستئین، شدت ضایعات توأم با اثر فلزات، تشدید شده‌اند؛ بنابراین نتایج حاصله تأیید نمود که اسیدآمینه سیستئین، بر روند سمیت زدایی با تأثیر بر متابولیسم فلزات در بدن ماهی و کاهش عمل مخرب فلزات سنگین در تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد و آبشش تأثیرگذار است و هم‌چنین بافت کبد و آبشش می‌تواند به‌عنوان شاخص مناسبی جهت ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیک اثرات فلزات سنگین در کفال ماهیان استفاده شود.

واژگان کلیدی: هیستوپاتولوژی، فلزات سنگین، ماهی کفال، سیستئین، روی، مس.

مقدمه

آلودگی اکوسیستم‌های آبی سبب واکنش بیوشیمیایی در بدن موجود زنده شده و تغییرات ریختی را حداقل در سطح سلولی ایجاد می‌نماید. فلزات سنگین یکی از این آلودگی‌ها می‌باشد که با تغییرات آسیب‌شناسی در آبزیانی از قبیل ماهیان همراه است. این آلودگی‌ها را می‌توان از طریق بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیکی پایش نمود (Roncarati *et al.*, 2006). یکی از مهم‌ترین و کاربردی‌ترین راه‌هایی که می‌توان میزان آلودگی

www.SID.ir

Archive of SID

یک محیط (اکوسیستم‌های آبی) و اثرات سوء آن بر موجودات را مطالعه کرد، بررسی تغییرات بافتی آبزیان درنتیجه تأثیر فلزات سنگین می‌باشد (Esmaeili, 2007). تأثیر آلایندگی فلزات سنگین به‌صورت افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی و ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک کبدی بروز می‌کند. میزان این تأثیرات بستگی مستقیم به نوع و غلظت فلز، گونه ماهی، مدت‌زمان در معرض آلاینده بودن و سایر فاکتورها دارد (Paris-Palacios *et al*., 2000). بافت کبد ازجمله بافت‌های متابولیکی مهمی است که در فعل‌وانفعالات بدن و مسمومیت زدایی مواد زائد نقش بسزایی دارد. چراکه کبد علاوه بر تجمع و ذخیره فلزات، سمیت زدایی و توزیع مجدد به بافت، محلی برای بررسی تأثیرات پاتولوژیکی در رابطه با آلودگی فلزات سنگین می‌باشد (Wong *et al*., 2001). بروز اشکال در فرایند تنظیم یونی بافت کبد، به‌ویژه یون کلسیم موجب مهار فسفوریلاسیون اکسایشی درون‌سلولی می‌شود و این پدیده منجر به بر هم خوردن توان تنظیم اسمزی غشاهای زیستی و سلولی، افزایش حجم هسته و هستک‌ها و درنهایت مرگ سلولی می‌شود و به‌صورت تغییرات آسیب‌شناسی بافتی نمود می‌یابد (Isik and Celik, 2008). آبشش بافتی پرخون می‌باشد و به دلیل موقعیت خارجی که دارد و تماس مستقیم آن با آب، مرتباً تحت تأثیر محرک‌های مختلف قرار می‌گیرد و محیط مناسبی را جهت ایجاد ضایعات اولیه فراهم می‌کند. این تغییرات عکس‌العمل طبیعی این اندام نسبت به تغییرات محیطی و عوامل خارجی است (افضلی و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین آبشش اولین بافتی است که در مواجهه مستقیم با مسمومیت توسط فلزات سنگین و آلودگی‌هاست و مواجهه طولانی‌مدت منجر به جذب این آلاینده‌ها از طریق آبشش شده و اثرات آسیبی قابل‌مشاهده در این بافت را سبب خواهد شد (Perry and Laurent, 1993). مس یکی از عناصر سنگین با سمیت شدید برای ماهی می‌باشد، ولی ترکیبات آن در پرورش ماهی، برای از بین بردن جلبک‌ها و همچنین در پیشگیری و درمان برخی از بیماری‌های ماهی، به کار می‌رود. اثر مس به‌صورت نیترات مس که به‌عنوان جلبک‌کش به‌کاربرده می‌شود، بر آبشش‌ها تا ۳ برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین گزارش‌شده است (شکوهی و همکاران، ۱۳۹۲). روی در طبیعت به‌ندرت به‌صورت یون‌های آزاد وجود دارد و اغلب در ترکیب با سایر عناصر معدنی یافت می‌شود. این عنصر در مقادیر بالاتر از نیاز زیستی برای آبزیان سمی است. افزایش سطوح روی در اکوسیستم‌های آبی می‌تواند براثر تخلیه پساب‌های صنعتی تخلیه و رسوب روی از طریق اتمسفر، شستشوی فاضلاب‌های محلی و مواد زائد فعالیت‌های معدنی، آفت‌کش‌ها و فرآیندهای گالوانیزاسیون باشد (قوتی و همکاران ۱۳۹۰). سیستئین یک اسیدآمینه حاوی سولفور طبیعی است که اغلب در ساختمان پروتئین‌ها حتی به مقدار کم یافت می‌شود (Piste, 2013). سیستئین $NH_2CH(CH_2SH)COOH$ به‌طور طبیعی آب‌گریز می‌باشد و آمینواسیدی است که شامل یک گروه تیول بوده و به مقدار کم در بسیاری از پروتئین‌ها یافت می‌شود (Mok *et al*., 2014). علاوه بر این سیستئین در انسان باعث سمزدایی جیوه، کادمیم و سرب می‌شود. همچنین مطالعات نشان داده که عضلات ماهی و سلول‌ها را می‌توان با آغشته کردن به سیستئین سمزدایی جیوه کرد (Mok *et al*., 2014). سیستئین در فعال کردن فرآیندهای دفع مسمومیت درون‌زاد در بدن موجودات زنده نقش محوری دارد و قرار گرفتن در معرض فلزات بر وضعیت سیستئین فشار می‌آورند (Quig, 1998). ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) بااهمیت‌ترین گونه ماهی خانواده کفال ماهیان ازنظر شیلاتی بوده که به دلیل خصوصیات مناسب بیولوژیک مانند مقاومت زیاد در برابر دامنه وسیعی از دما و شوری، ضریب رشد قابل‌قبول، تغذیه از سطوح پایین هرم غذایی، ضریب تبدیل غذایی مناسب و بازارپسندی عالی می‌توان آن را به‌صورت تک‌گونه‌ای و به‌صورت توأم با گونه‌های دیگری مانند میگو، خامه ماهی، تیلاپیا و کپور ماهیان چینی پرورش داد (Saleh, 2006). این ماهی مهاجر کرانه‌ای و کف زی خوار بوده و دارای یک معده نسبتاً عضلانی می‌باشد که برای تغذیه از دیتریت‌های بستر مناسب است (حسینی آغوزبنی و حاجی رضایی، ۱۳۹۴). همچنین این ماهی را می‌توان در یک استخر حاصلخیز با بستر غنی از مواد آلی ذخیره‌سازی کرد (Saleh, 2006). این ماهی می‌تواند به‌عنوان یک کاندید باارزش در بررسی اثرات فاکتورهای محیطی مدنظر قرار گیرد. مازندرانی و همکاران (۱۳۹۴) هیستوپاتولوژی کلیه، کبد و آبشش بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*) در مواجهه حاد با سولفات مس را موردمطالعه قراردادند. سلطانی و همکاران (۱۳۹۳) مقایسه سمیت غلظت‌های تحت کشنده نانواکسید روی و سولفات روی بر عوارض هیستوپاتولوژیک آبشش سیاه ماهی (*Capoeta capoeta gracilis* Keyserling, 1861) را موردبررسی

www.SID.ir

Archive of SID

قراردادند. Rostami Bashman و همکاران (۲۰۰۰) مطالعه اثرات هیستوپاتولوژی برخی از فلزات سنگین (سولفات مس، سولفات روی و سولفات جیوه-کلرور کادمیوم) بر بافت‌های ماهی کپور معمولی را موردبررسی قراردادند. Bhuvaneshwari و همکاران (۲۰۱۵) تغییرات هیستوپاتولوژیک در عضله، کبد و آبشش از ماهی گورخری (Zebra Fish *Danio Rerio*) با توجه به غلظت سازگار با محیط‌زیست مرتبط با سموم (OCPs) و فلزات سنگین را موردمطالعه قراردادند. Thangam (۲۰۱۴) اثر نیتریت سمی بر پارامترهای بافتی ماهی آب شیرین (*Cirrhinus merigala*) را موردمطالعه قرارداد.

ازاین‌رو این تحقیق باهدف بررسی تأثیر دو فلز سنگین مس و روی بر روی بافت کبد و آبشش ماهی کفال خاکستری باوجود سطوح مختلف اسیدآمینه ال- سیستیین در جیره غذایی آن در محیط آب‌شور به اجرا درآمد. نتایج این تحقیق می‌تواند به درک بهتر تأثیر آلاینده‌های فوق در اکوسیستم‌های مختلف بر روی ماهیان کمک نماید.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در بهمن ۱۳۹۴ در مجموعه کارگاهی تکثیر و پرورش آبزیان واقع در دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار انجام شد. تعداد ۳۰۰ ماهی پس از صید از ساحل خلیج چابهار جهت سازگاری به شرایط اسارت و تغذیه دستی به مدت ۱۰ روز درون مخازن ۳۰۰ لیتری نگهداری شدند. ماهیان با میانگین طول ۱± ۱۳/۲ سانتی‌متر و وزن ۳±۲۷/۴ گرم، به‌طور تصادفی به ۲۱ آکواریوم (هفت تیمار، متشکل از شش تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد و هر تیمار دارای ۳ تکرار) به‌صورت مجزا برای دو فلز سولفات مس و نیترات روی (هر فلز با سه تیمار و سه تکرار) با غلظت‌های مختلف اسیدآمینه ال- سیستئین (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد نسبت به سیستئین موجود در جیره پایه) شامل: تیمار ۱ با غلظت ۳/۸۷۵ میلی‌گرم/ گرم، تیمار ۲ با غلظت ۴/۶۵ میلی‌گرم/ گرم و تیمار ۳ با غلظت ۶/۲ میلی‌گرم/ گرم تقسیم‌بندی شدند. آزمایش به مدت ۴۵ روز در شرایط کارگاهی با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی انجام گرفت. پارامترهای کیفی آب در شرایط آزمایش شامل: دمای آب در محدوده زمانی معین ۲۶/۵-۲۷/۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۴/۲-۵/۵ میلی‌گرم/ لیتر، آمونیاک کل ۰/۲۱-۰/۲۸ میلی‌گرم/ لیتر، pH برابر ۷/۵-۷/۷ و قلیایت ۱۷۶-۱۸۰ میلی‌گرم/ لیتر (Fisher Scientific, OH, USA) اندازه‌گیری و ثبت شد. هر تیمار با جیره غذایی حاوی اسیدآمینه ال- سیستئین ($C_3H_7NO_2S$) افزودنی تغذیه گردیده و یک گروه به‌عنوان شاهد (تغذیه با جیره پایه (ساخت شرکت ۲۱ بیضاء) در نظر گرفته شد. ماهیان به میزان ۲ درصد وزن بدن در دو نوبت صبح و عصر تغذیه شدند (وابونیان و همکاران ۱۳۹۳). ماهیان در معرض سولفات مس و نیترات روی با غلظت ثابت قرار گرفتند. (بر مبنای ۲۰ درصد اضافه بر مقدار فلز موجود در آب ساحل دانشگاه دریانوردی چابهار که به ترتیب میزان مس و روی ۸۹/۵۶ و ۳۴/۷۸ نانوگرم/ میلی‌لیتر بیان‌شده است، (قیطاسی، ۱۳۹۲). آزمایش سمیت در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت و میزان سولفات مس و نیترات روی خارج‌شده محاسبه و روزانه این مقدار از طریق ظروف حاوی استوک تهیه‌شده برای هر تیمار جبران شد (Alvarado *et al.*, 2006). نمونه‌برداری از ماهیان در انتهای دوره آزمایشی (روز ۴۵) از هر تیمار ۶ ماهی (هر تکرار ۲ ماهی) به‌طور تصادفی انتخاب بدین منظور محوطه شکمی هر یک از ماهیان بازشده و کبد و آبشش از محوطه شکمی خارج شدند، پس از بررسی ساختار تشریحی آن‌ها در محلول فرمالین سالین ۱۰ درصد قرار داده شد (آلبوغبیش و خاکساری مهابادی، ۱۳۸۴). نمونه‌های بافت کبد و آبشش در آزمایشگاه برای انجام مراحل مختلف آبگیری، تثبیت در پارافین، رنگ‌زدایی و شفاف کردن نمونه در داخل دستگاه Tissue processor قرار گرفت. در مرحله بعد بلوک تهیه شد و پس از اصلاح بلوک‌ها تهیه اسلاید و برش به‌وسیله میکروتوم ۵ میکرون برای کبد و ۶ میکرون برای آبشش صورت گرفت و درنهایت لام‌های تهیه‌شده به روش هماتوکسیلین -ایوزین رنگ‌آمیزی گردید و با استفاده از چسب بالزام سطح نمونه‌ها پوشیده شد (Gaber, 2007). پس از ثبت

www.SID.ir

Archive of SID

مشاهدات لام‌های آماده‌شده به‌وسیله میکروسکوپ نوری نیکون با بزرگنمایی × ۱۰، × ۲۰، × ۴۰ و × ۱۰۰ موردبررسی قرار گرفتند، درنهایت داده‌ها به‌صورت توصیفی ارائه شدند.

نتایج

در بعضی از نمونه‌ها، در تیمار سوم مس و تیمار اول روی کبد متورم و رنگ‌پریده، درحالی‌که آبشش تیره‌تر و متورم به نظر می‌رسید. در مطالعات میکروسکوپیک کبد و آبشش نمونه‌های شاهد هیچ‌گونه عارضه و حالت غیرطبیعی نشان ندادند.

در نمونه شاهد، هپاتوسیت‌های کبدی با هسته‌های مرکزی و هستک مشخص دیده شدند (شکل ۱). ساختار کبد ماهیان مواجه شده با غلظت‌های مختلف سیستئین و فلزات مس و روی تغییرات عمده‌ای را نشان دادند. در نمونه‌های کبد تیمار شده با فلز مس، پرخونی و رکود صفراوی در همه تیمارها مشاهده شد، اما شدت و گستردگی آن در تیمار اول مس (غلظت ۲۵ درصد سیستئین) از سایر تیمارها بیشتر بود (شکل ۲). نکروز هپاتوسیت‌ها در همه تیمارها مشاهده شد و شدت آن در تیمار دوم مس (غلظت ۵۰ درصد سیستئین) از سایر تیمارها بیشتر بود. هم‌چنین واکوئولاسیون تنها در تیمار دوم مس (غلظت ۵۰ درصد سیستئین) مشاهده شد. مراکز ملانوماکروفاژی در تیمار سوم مس (غلظت ۱۰۰ درصد سیستئین) و مرز نشینی هسته هپاتوسیت‌ها و تجمع چربی در تیمار اول مس (غلظت ۲۵ درصد سیستئین) مشاهده شدند. در نمونه‌های کبد تیمار شده با فلز روی، پرخونی و رکود صفراوی شدید در تیمار دوم روی (غلظت ۵۰ درصد سیستئین) مشاهده شد (شکل ۳). نکروتیک و هسته‌های تغییریافته شدید، در تیمار سوم روی (غلظت ۱۰۰ درصد سیستئین) و هم‌چنین واکوئولاسیون در همه تیمارها مشاهده شد. مراکز ملانوماکروفاژی در تیمار اول روی (غلظت ۲۵ درصد سیستئین) و مرزنشینی هسته هپاتوسیت‌ها و سینوزویید کبدی در تیمار دوم روی (غلظت ۵۰ درصد سیستئین) مشاهده شدند. در کل شدت و گستردگی ضایعات در تیمارهای فلز روی نسبت به تیمارهای فلز مس بیشتر بود. انواع و شدت ضایعات کبد در تیمارهای مختلف در جدول ۱ نشان داده‌شده است.

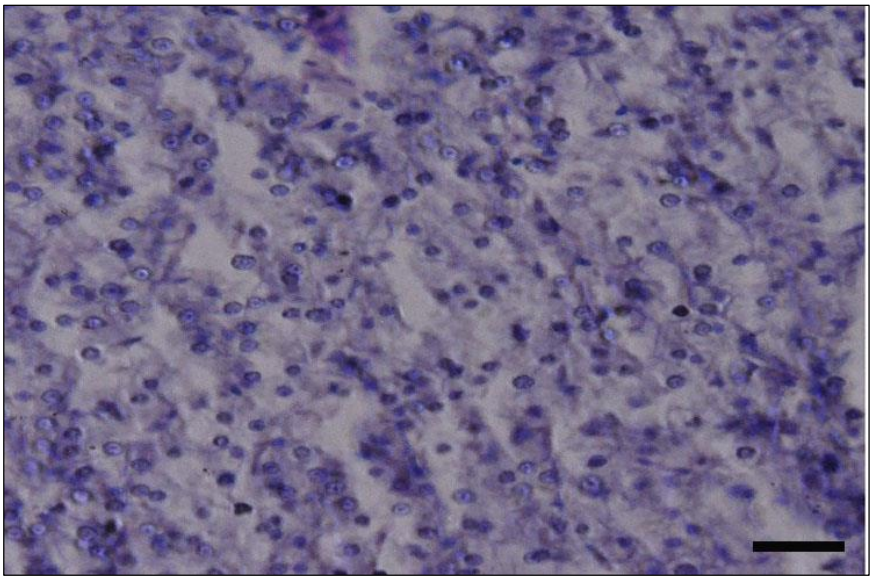
جدول ۱: شدت ضایعات مشاهده‌شده در کبد ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در تیمارهای مختلف پس از ۴۵ روز.

ضایعه / تیمارها	نکروز	واکوئولاسیون	پرخونی	رکود صفراوی
شاهد	–	–	–	–
تیمار ۱ (CuSo4) ٪۲۵ cys	+	–	+++	+++
تیمار ۲ (CuSo4) ٪۵۰ cys	+++	+	+	++
تیمار ۳ (CuSo4) ٪۱۰۰ cys	+++	–	+++	++
تیمار ۱ (ZnNo3) ٪۲۵ cys	–	+	+++	+++
تیمار ۲ (ZnNo3) ٪۵۰ cys	+	+	+++	+++
تیمار ۳ (ZnNo3) ٪۱۰۰ cys	+++	+	++	++

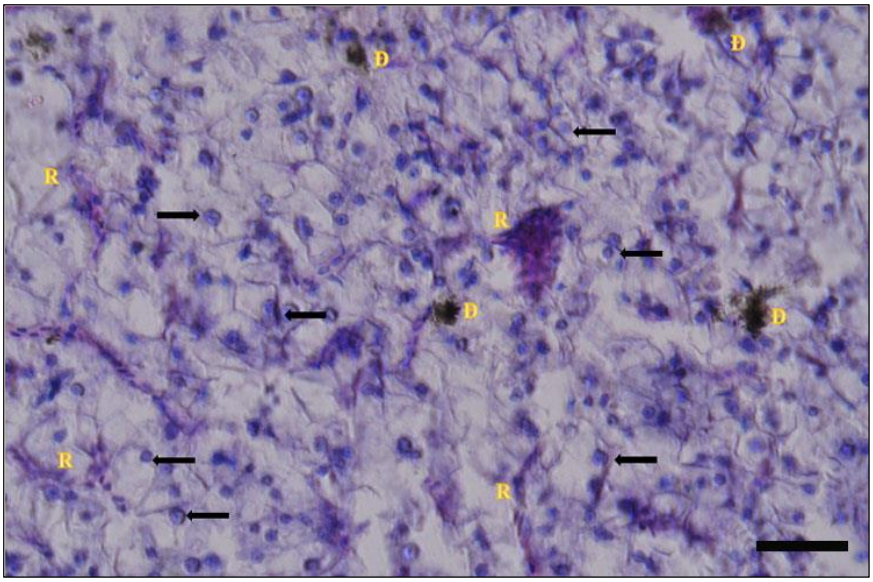
(–) بدون آسیب، (+) آسیب < ٪۲۰، (++) آسیب بین ٪۲۰–۶۰، (+++) آسیب > ٪۶۰

www.SID.ir

Archive of SID



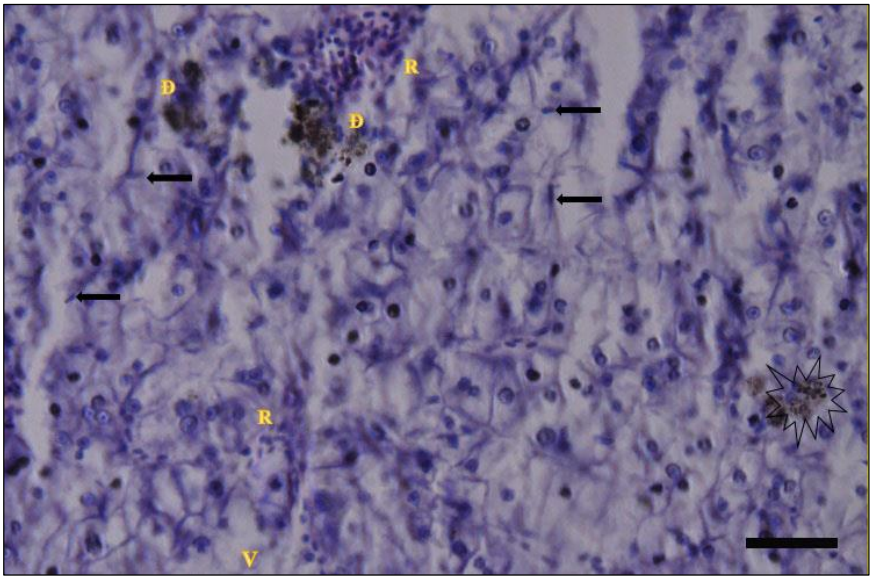
شکل ۱: مقطع میکروسکوپی از بافت کبد نمونه شاهد ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)، هسته‌های مرکزی و هستک‌ها مشاهده می‌گردند (100X, H&E).



شکل ۲: مقطع میکروسکوپی از بافت کبد ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) مواجه شده با تیمار فلز مس، مرزنشینی هسته‌ها (فلش‌ها)، پرخونی (R) رکود صفرا (D)، (100X, H&E).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳: مقطع میکروسکوپی از بافت کبد ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) مواجه شده با تیمار فلز روی، نکروز (فلش‌ها)، پرخونی (R) رکود صفرا (D)، مرکز ملانوماکروفاژ (ستاره)، واکوئولاسیون (V)، (100X, H&E).

در نمونه‌های شاهد آبشش، دارای ساختار کاملاً طبیعی بوده و لاملا و فیلامنت‌ها آرایش منظم خود را حفظ کرده بودند (شکل ۴)؛ اما ساختار آبشش ماهیان مواجه شده با سیستئین و فلزات مس و روی تغییرات عمده‌ای را نشان دادند. در نمونه‌های آبشش تیمار شده با فلز مس، نکروز شدید در تیمار دوم مس (غلظت ۵۰ درصد سیستئین) و هایپرپلازی شدید سلول‌های موکوسی در قسمت قاعده‌ای در تیمار سوم مس (غلظت ۱۰۰ درصد سیستئین)، به‌خوبی قابل‌مشاهده می‌باشد. همچنین هایپرپلازی شدید سلول‌های کلراید در قسمت قاعده‌ای آبشش تیمارهای دوم و سوم مس مشاهده شد. به هم چسبیدگی یا فیوژن فیلامنت‌ها در تمامی تیمارهای مس مشاهده شد. بلند شدن فیلامنت‌های آبششی و چماقی شدن آن‌ها در تیمار اول مس (غلظت ۲۵ درصد سیستیین) مشاهده شد. به‌هم‌ریختگی ساختار کلی آبشش و اتصال فیلامنت‌های مجاور در تیمار سوم مس (غلظت ۱۰۰ درصد سیستئین) مشاهده شد. شدت و گستردگی ضایعات در تیمار سوم مس (غلظت ۱۰۰ درصد سیستیین) از سایر تیمارها بیشتر بود (اشکال ۵ و ۶). در نمونه‌های آبشش تیمار شده با فلز روی، نکروز شدید در تیمارهای اول و دوم روی (غلظت ۲۵ و ۵۰ درصد سیستئین) و هایپرپلازی سلول‌های موکوسی در تیمار دوم روی (غلظت ۵۰ درصد سیستئین)، به‌خوبی قابل‌مشاهده می‌باشد. همچنین هایپرپلازی سلول‌های کلراید در قسمت قاعده‌ای آبشش تیمار اول و سوم روی مشاهده شد. چماقی شدن فیلامنت‌ها در تیمار اول روی (غلظت ۲۵ درصد سیستئین) و به‌هم‌ریختگی ساختار کلی آبشش در تیمار سوم روی (غلظت ۱۰۰ درصد سیستئین) مشاهده شد. شدت و گستردگی ضایعات در تیمار دوم روی (غلظت ۵۰ درصد سیستئین) از سایر تیمارها بیشتر بود (شکل ۷). در کل شدت و گستردگی ضایعات در آبشش، برخلاف کبد در تیمارهای فلز مس نسبت به تیمارهای فلز روی بیشتر بود. انواع و شدت ضایعات مربوط به آبشش در جدول ۲ نشان داده‌شده است.

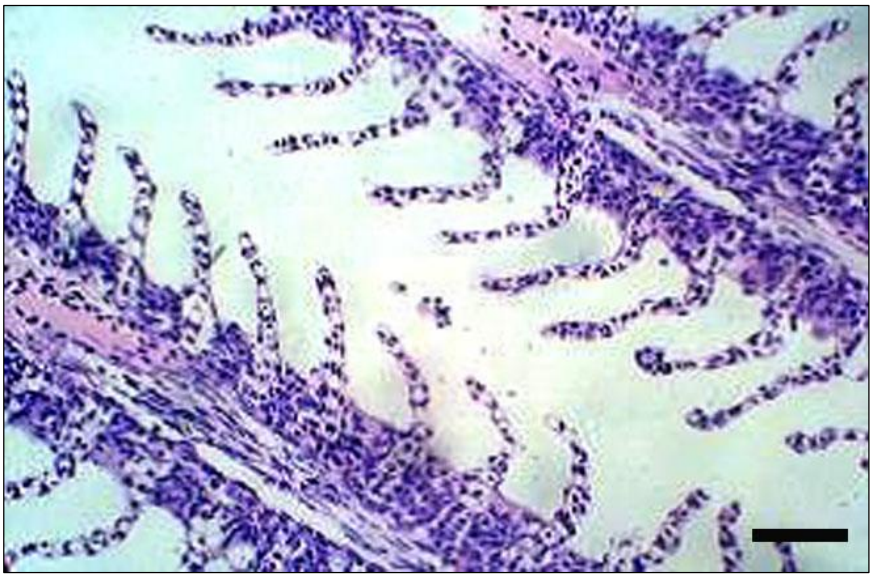
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: شدت ضایعات مشاهده‌شده در آبشش ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در تیمارهای مختلف پس از ٤٥ روز.

ضایعه / تیمارها	نکروز	هایپرتروفی	هایپرپلازی	پرخونی	افزایش سلول‌های کلراید	افزایش سلول‌های موکوسی
شاهد	–	–	–	–	–	–
تیمار ۱ (CuSo4) ٪۲۵ cys	++	–	++	+	–	–
تیمار ۲ (CuSo4) ٪۵۰ cys	+++	+++	+++	+	+++	–
تیمار ۳ (CuSo4) ٪۱۰۰ cys	–	+++	+++	–	+++	+++
تیمار ۱ (ZnNo3) ٪۲۵ cys	+++	–	++	–	++	–
تیمار ۲ (ZnNo3) ٪۵۰ cys	+++	++	++	–	–	++
تیمار ۳ (ZnNo3) ٪۱۰۰ cys	++	–	+++	–	++	–

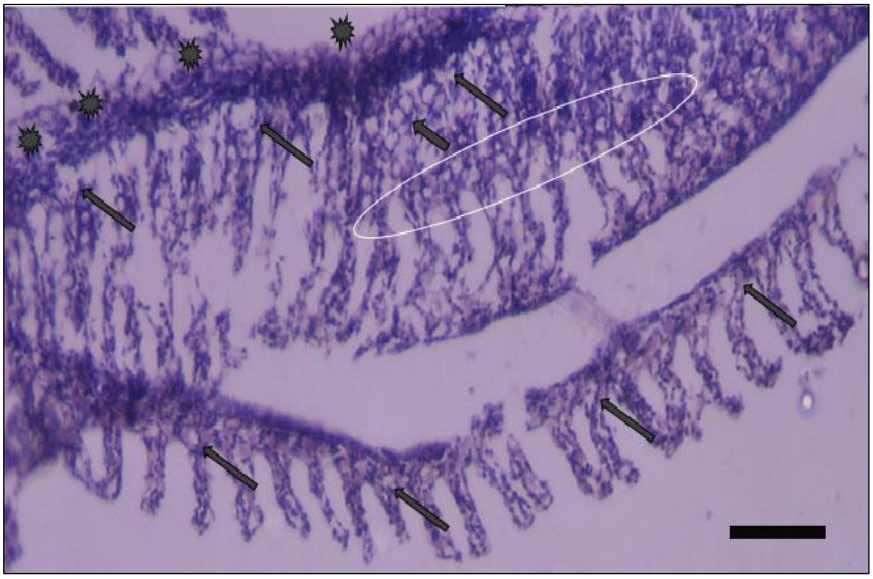
(–) بدون آسیب، (+) آسیب < ٪۲۰، (++) آسیب بین ٪۲۰-٪۶۰، (+++) آسیب > ٪۶۰



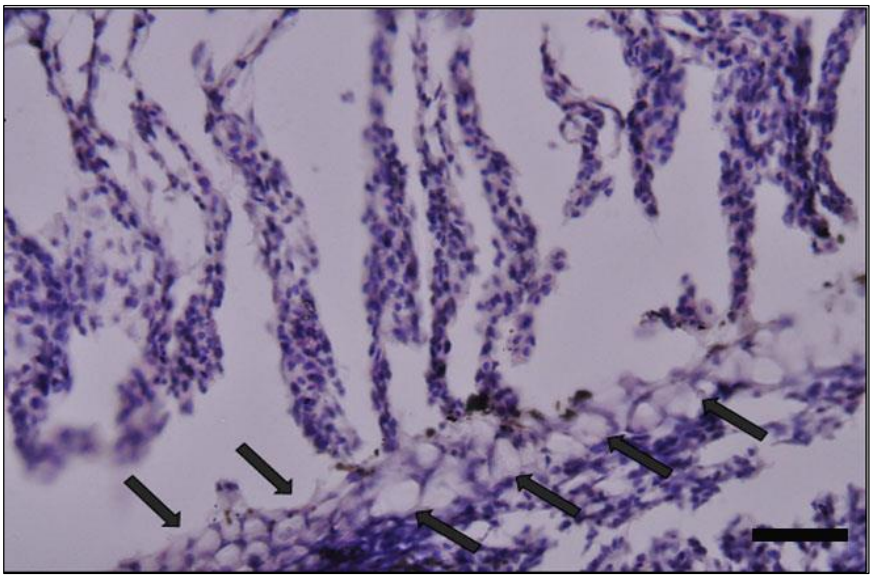
شکل ٤: مقطع میکروسکوپی از بافت آبشش نمونه شاهد ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)، تیغ‌ها دارای ساختاری کاملاً طبیعی بوده و سالم به نظر می‌رسند (40X,H&E).

www.SID.ir

Archive of SID



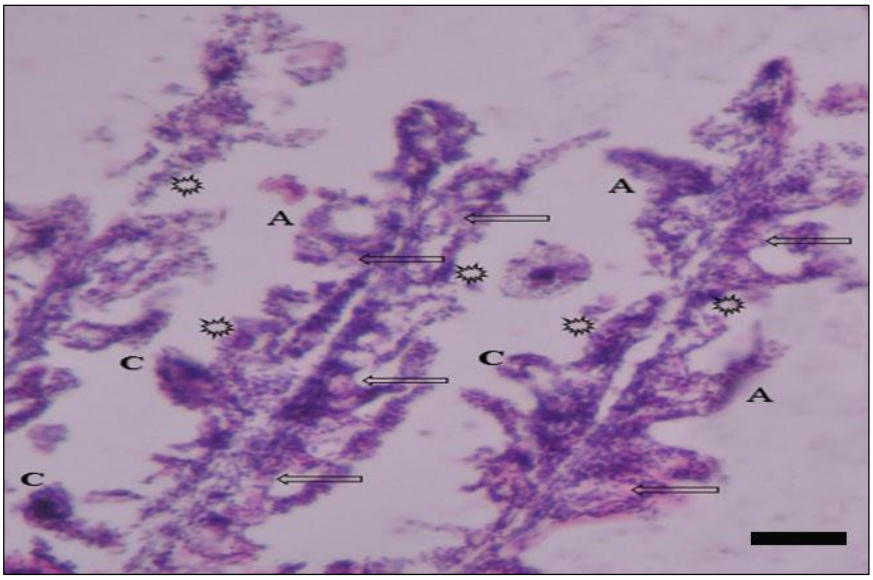
شکل ٥ : مقطع میکروسکوپی از بافت آبشش ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) مواجه شده با تیمار فلز مس، هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول‌های موکوسی (فلش‌ها)، هایپرتروفی شدید سلول‌های کلراید (ستاره‌ها)، اتصال فیلامنت‌های مجاور (بیضی)، (40X,H&E).



شکل ٦: مقطع میکروسکوپی از بافت آبشش ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) مواجه شده با تیمار فلز مس، هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول‌های موکوسی (فلش‌ها)، (100X,H&E).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۷: مقطع میکروسکوپی از بافت آبشش ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) مواجه شده با تیمار دوم فلز روی، هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول‌های کلراید (فلش‌ها)، تحلیل رشته‌های آبشش (نکروز) (ستاره‌ها)، چسبندگی تیغه‌های آبششی (فیوژن) (A)، چماقی شدن رشته‌ها (C)، (20X,H&E).

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از تحقیق حاضر بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد و آبشش ماهی کفال خاکستری می‌باشد که در معرض غلظت‌های ثابتی از فلزات سنگین مس و روی، با غلظت‌های مختلف از اسید آمینه سیستئین در طی ۴۵ روز قرارگرفته‌اند. Braunbeck و همکاران در سال (۱۹۹۰) بیان داشتند که تغییر در اندازه و شکل هسته هپاتوسیت‌ها نشانه‌ی افزایش فعالیت متابولیک می‌باشد ولی این تغییر بافتی می‌تواند منشأ پاتولوژیک نیز داشته باشد. مطالعات متعددی حساسیت بالای کبد را به‌عنوان یک شاخص زیستی در بررسی اثرات آلاینده‌ها نشان داده است. به‌عنوان مثال Paris-Palacios و همکاران (۲۰۰۰)، مطالعاتی بر روی ماهی گورخری *Brachydanio rerio* انجام داده و مشاهده کردند که کلراید روی ($ZnCl_2$) سبب تغییر شکل در هسته‌های سلول‌های کبدی می‌شود که با نتایج این تحقیق مشابه بود. Vinodhini و Narayanan (۲۰۰۸) بالاترین میزان تجمع زیستی سرب را در بافت کبد ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) گزارش کردند که این افزایش میزان تجمع در کبد می‌تواند سطوح پارامترهای مختلف بیوشیمیایی را تغییر داده و سبب آسیب کبد شود. Mok و همکاران در سال (۲۰۱۴) در بررسی افزودن سیستئین با غلظت‌های ۰، ۱ و ۱۰ درصد در جیره‌ی غذای ماهی بر غلظت جیوه و تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد، مشاهده کردند که قطرات چربی در بسیاری از سلول‌های کبدی در کبد ماهی تغذیه‌شده با ۰ درصد سیستئین در رژیم غذایی افزایش‌یافته درحالی‌که تنها تعداد کمی از قطرات چربی در کبد ماهی تغذیه‌شده با ۱ و ۱۰ درصد سیستئین در رژیم‌های غذایی مشاهده شد، هم‌چنین در کبد ماهیان تغذیه‌شده با ۱ و ۱۰ درصد سیستئین سینوزویید کبدی و نکلئوز مشاهده گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که سیستئین در رژیم غذایی می‌تواند از افزایش قطرات چربی در کبد جلوگیری کند؛ که با نتایج تحقیق حاضر مشابه بود، بطوریکه تجمع چربی تنها در تیمار اول فلز مس (غلظت ۲۵ درصد سیستئین)، مشاهده شد و با افزایش غلظت سیستئین مشاهده نشد. هم‌چنین سینوزویید کبدی نیز در تیمار دوم فلز روی (غلظت ۵۰ درصد سیستئین)، مشاهده شد. شاپوری و همکاران در سال (۱۳۸۸) در بررسی تأثیر هیستوپاتولوژیک فلز مس بر بافت کبد ماهی کپور معمولی نشان دادند که این عضو پس از قرارگیری در مجاورت فلز مس دچار

www.SID.ir

Archive of SID

آسیب‌های ریختی شامل دژنرسانس چربی، پرخونی، خونریزی و در غلظت‌های بالاتر نکروز و هجوم لنفوسیت‌ها و التهاب کپسول می‌گردد (شاپوری و همکاران، ۱۳۸۸) که با نتایج این تحقیق مشابه می‌باشد، البته در هیچ‌کدام از تیمارها هجوم لنفوسیت و التهاب کپسول مشاهده نشد که ممکن به دلیل متفاوت بودن گونه‌ها باشد. آسیب‌های بافتی در کبد ماهیان موردمطالعه در تحقیق حاضر شامل: نکروز، واکوئله شدن، رکود صفرا، مرزنشینی هسته هپاتوسیت‌ها، پرخونی، تجمع چربی و سینوزویید کبدی بود. در غلظت‌های بالاتر سیستئین (۵۰ و ۱۰۰ درصد) با افزایش غلظت شدت ضایعات نیز افزایش یافت. Mok و همکاران در سال (۲۰۱۴) بیان کردند که مصرف بیش‌ازحد سیستئین می‌تواند اثرات منفی بر روی ماهی به‌جای زدودن سموم جیوه در بدن آن‌ها القا کند. برخی از مطالعات گزارش داده‌اند که افزایش سطوح سیستئین با بیماری‌های خاص، مانند بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری عروق مغزی، کم‌خونی کلیوی و نارسایی کبدی همراه است. علاوه بر این، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که سیستئین اگر به‌صورت خوراکی یا زیر جلدی مصرف شود، برای نوزاد جوندگان، مخدر اعصاب است (Atmaca, 2004). در مطالعه حاضر نیز در غلظت‌های بالای سیستئین شدت ضایعات افزایش‌یافته بود که می‌تواند ناشی از همین اثرات منفی سیستئین در غلظت‌های بالا باشد. ازآنجاکه بافت آبشش دارای محافظت کمتری نسبت به سایر بافت‌هاست و به‌طور مستقیم با آب مجاورت دارد از حساسیت بیشتری برخوردار است. نتایج مشابه در مطالعه Rostami Bashman و همکاران در سال (۲۰۰۰) که اثرات هیستوپاتولوژی برخی از فلزات سنگین)سولفات مس، سولفات روی و سولفات جیوه، کلرور کادمیوم) بر بافت‌های ماهی کپور معمولی داشتند، در آبشش، چسبندگی لاملاها، پرخونی و خونریزی، آنوریسم، تلانژیکتازی و نفوذ سلول‌های آماسی و هیپرپلازی سلول‌های پوششی رشته‌های آبششی قابل‌مشاهده بود که با نتایج این تحقیق مشابه می‌باشد، البته در هیچ‌کدام از تیمارها آنوریسم و تلانژیکتازی مشاهده نشد که ممکن است به دلیل متفاوت بودن گونه‌ها باشد. در مطالعه‌ای دیگر توسط Naji و همکاران در سال (۲۰۰۶) که سمیت حاد سولفات روی را بر گونه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند، ماهی‌ها در مجاورت غلظت‌های (۵، ۲۰، ۴۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) این ماده قرار گرفتند. نتایج نشان داد که این عمل منجر به بروز آسیب‌هایی مانند هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول‌های پوششی آبشش، فیوژن یا چسبندگی لاملاهای ثانویه و افزایش و تکثیر سلول‌های مخاطی در آبشش گردید (Naji *et al*., 2006) که در تحقیق حاضر نیز این عارضه‌ها مشاهده شدند. سلطانی و همکاران (۱۳۹۳) مقایسه سمیت غلظت‌های تحت کشنده نانواکسید روی و سولفات روی بر عوارض هیستوپاتولوژیک آبشش سیاه‌ماهی (*Capoeta capoeta gracilis* Keyserling, 1861) را موردبررسی قراردادند. تغییرات بافتی آبشش سیاه ماهی شامل نکروز لاملاهای ثانویه، ادم، نفوذ سلول‌های آماسی در سر آبشش، جوش خوردگی لاملای ثانویه، هایپرپلازی و نفوذ سلول‌های خونی می‌باشد (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۳). در تحقیق حاضر در بافت آبشش عوارضی همچون چسبندگی لاملاها، پرخونی و خونریزی، هیپرپلازی و هایپرتروفی سلول‌های موکوسی و کلراید، چماقی شدن فیلامنت‌ها و اتصال فیلامنت-های مجاور در تیمارهای مختلف فلز مس و روی مشاهده شد، هم چنین شدت ضایعات در تیمار سوم از فلز مس و تیمار دوم فلز روی نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. هایپرپلازی در آبشش ماهیان یکی از واکنش‌های دفاعی بدن در پاسخ به مسمومیت‌ها و آلاینده‌های مضر است که در بررسی‌های مختلف قابل‌مشاهده بوده است (Laurèn and McDonald 1985; Van *et al*., 2004). مازندرانی و همکاران (۱۳۹۴) هیستوپاتولوژی کلیه، کبد و آبشش بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*) در مواجهه حاد با سولفات مس را موردمطالعه قراردادند. علائم شایع در بافت آبشش شامل پرخونی در لاملاهای ثانویه، درجات مختلفی از جداشدگی اپیتلیوم، نکروز در لاملاهای ثانویه، هایپرپلازی و مواردی از تلانژیکتازی مشاهده گردید. در بررسی مقاطع بافتی کبد واکئوله شدن هپاتوسیت‌ها، پرخونی سینوزوئیدهای کبدی، تجمع مراکز ملانوماکروفاژها و تجمع سلول‌های گرانولار ائوزینوفیلیک مشاهده گردید. عارضه‌های یاد شده با افزایش دوز مواجهه سولفات مس از شدت بیشتری برخوردار بودند (مازندرانی و همکاران، ۱۳۹۴). Ismaiel و همکاران (۲۰۱۵) مطالعه‌ای را بر روی تأثیر جایگزین نمودن پودر ماهی و پروتئین‌های گیاهی در رژیم غذایی ماهی تیلاپیای نیل بر تغییرات بافتی کبد، آبشش و عضلات این ماهی انجام

www.SID.ir

Archive of SID

دادند و مشاهده کردند که در کبد عارضه‌ها شامل رگ‌های مرکزی همراه با پرخونی و سینوزوییید کبدی، چرخش درون سیتوپلاسمی و واکوئل‌های چربی بود. در آبشش، پرخونی (نشت کانونی) سلول‌های قرمز در کمان آبششی، جدا شدن پوشش اپیتلیوم و هایرپلازی و واکوئولاسیون سلول‌های پوششی در فیلامنت های آبشش مشاهده شد. این محققین نتیجه گرفتند که تغذیه ماهی تیلاپیای نیل با کنجاله سویا، به‌عنوان جایگزین مکمل پروتئین به دلیل اثر مثبت آن ممکن است انتخاب بهتر و ایمن‌تری باشد.

نتایج تحقیق حاضر و مقایسه آن با مطالعات مشابه درزمینهٔ تأثیر اسیدآمینه و فلزات سنگین بر بافت‌های ماهی نشان داد که اسیدآمینه سیستئین و فلز مس و روی اثراتی بر ماهی کفال خاکستری داشته و باعث ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد و آبشش این ماهی می‌گردد. نتایج حاصله نشان داد که شدت ضایعات در تیمار سوم (غلظت ۱۰۰ درصد سیستئین) از هر دو فلز بیشتر و در تیمار اول (غلظت ۲۵ درصد سیستئین) از هر دو فلز مس و روی کمتر از سایر تیمارها بود، بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که غلظت ۲۵ درصد سیستئین در رژیم غذایی ماهی کفال خاکستری نسبت به دو غلظت بالاتر (غلظت ۵۰ و ۱۰۰ درصد سیستئین)، مناسب‌تر بوده و در غلظت‌های بالاتر اسیدآمینه سیستئین شدت ضایعات به همراه اثر فلزات، در طول زمان طولانی (۴۵ روز) تشدید شده‌اند. هم‌چنین می‌توان تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد و آبشش ماهی کفال خاکستری را به‌عنوان شاخص و نشانگر جهت سنجش آلودگی فلزات مس و روی در محیط آبی استفاده کرد. علاوه بر این با عنایت به ایجاد اختلالات مهم در فعالیت‌های طبیعی ماهیان در اثر بروز مسمومیت‌های مزمن با فلزات سنگینی مانند مس و روی که بر سلامت، رشد و تولیدمثل آن‌ها تأثیرگذار می‌باشد، بخصوص در منطقه خلیج چابهار که صنایع سنگینی مانند پتروشیمی رو به گسترش است که باعث افزایش آلودگی آب می‌شوند، انجام اقدامات لازم جهت جلوگیری از آلودگی آب استخرهای پرورشی، به فلزات سنگین و سایر آلاینده‌ها توصیه می‌گردد. با توجه به اینکه غلظت ۲۵ درصد سیستئین بهترین نتیجه را در برداشت، می‌توان گفت استفاده از سیستئین در فرمولاسیون غذایی آبزیان باعث افزایش مقاومت آن‌ها به آلودگی فلزات سنگین می‌گردد. تفاوت شرایط تغذیه‌ای، محیطی، گونه ماهی، سن، جنس، زمان نمونه‌گیری، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری نیز ازجمله فاکتورهایی است که می‌تواند عامل تفاوت نتایج به‌دست‌آمده باشد.

سپاسگزاری

به این وسیله از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی و همکاری کارکنان آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

افضلی، ف.، شریف پور، ع.، سلطانی، م.، و ابطحی، ب. ۱۳۸۹. بررسی تغییرات بافتی کبد، کلیه و آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*) ناشی از حمام با ماده ضدعفونی‌کننده آکواجرم. فصلنامه علمی تحقیقات منابع طبیعی. تجدیدشونده (۱)، ۶۳-۷۰.

آلبوغبیش، ن.، و خاکساری مهابادی، م.، ۱۳۸٤. مطالعه ساختمان بافت‌شناسی کبد و پانکراس ماهی کپور علفخوار. مجله علمی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، سال نهم، شماره یازدهم.

پوستی، ا.، و صدیق مروستی، م.، ۱۳۷۸. اطلس بافت‌شناسی ماهی، اشکال طبیعی و آسیب‌شناسی (تألیف تاکاشی هایبی ا). انتشارات دانشگاه تهران ۳۲۸ ص.

حسینی آغوزبنی، ح.، و حاجی رضائی، س.، ۱۳۹٤. تأثیر پرورش توأم میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) و ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) بر تنوع و شیوع گونه‌های باکتری جنس ویبریو در مزارع پرورش میگو. نشریه توسعه آبزی‌پروری، سال نهم، شماره اول، صفحات ۳۱-۲۵.

www.SID.ir

Archive of SID

سلطانی، ز.، قربانی، ر.، هدایتی، س.ع.ا.، عادلی، ا.، و مازندرانی، م. ۱۳۹۳. مقایسه سمیت غلظت‌های تحت کشنده نانواکسید روی و سولفات روی بر عوارض هیستوپاتولوژیک آبشش سیاه‌ماهی (*Capoeta capoeta gracilis* Keyserling, 1861). نشریه" پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی" دوره دوم، شماره چهارم، زمستان ۹۳، صفحات ۲۲-۱۳

شاپوری، م.، عریان، ش.، و اسماعیلی ساری، ع.، ۱۳۸۸. بررسی تأثیر فلز مس بر تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت‌های عضله، کبد و گناد ماهی کپور معمولی. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. سال ششم، شماره ۳، صفحات ۲۹-۲۳.

شکوهی، س.، ابدالی، س.، یوسفی جوردهی، ا.، و نگارستان، ح.، ۱۳۹۲. بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) تحت غلظت‌های حاد نیترات مس. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، جلد دوم، شماره دوم، صفحات ۱۵۲-۱۴۳.

قوتی، ن.، محمدی، س.، و محمدی، و.، ۱۳۹۰. مقایسه و بررسی تغییرات سختی و قلیائیت با مسمومیت فلز سنگین روی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مجله تالاب. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال دوم، شماره هشتم، صفحات ۲۸-۲۱.

قیطاسی، ه.، ۱۳۹۲. پایش زیستی غلظت فلزات سنگین در اویسترهای بین جزر و مدی خلیج چابهار در دریای عمان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد در رشته زیست دریا، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ۱۱۹ صفحه.

مازندرانی، م.، سوداگر. م.، و نمرودی، س.، ۱۳۹٤. هیستوپاتولوژی کلیه، کبد و آبشش بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*) در مواجهه حاد با سولفات مس. مجله بوم‌شناسی آبزیان دانشگاه هرمزگان، دوره5 ، شماره1 ، تابستان ۹۴، صفحات ۱۹-۱۶.

وابونیان، ع.، موحدی نیا، ع.، صفاهیه، ع.، و هدایتی، س.، ۱۳۹۲. تعیین غلظت کشنده (LC 50) کادمیوم کلراید در ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*). مجله علوم و فنون دریایی، دوره ۲، شماره ۳، صفحات ۳۲-۲۶.

Alvarado, N., Quesada, I., Hylland, K., Marigomez, I., and Soto, M., 2006. Quantitative changes in metallothionein expression in target celltypes in the gills of turbot *Scophthalmus maximus* exposed to Cd, Cu, Zn and after a depuration treatment. Aquatic Toxicology, 77: 64-77.

Atmaca, G., 2004. Antioxidant effects of sulphur-containing amino acids. Yonsei Medical Journal, 45: 776–788.

Bhuvaneshwari, R., Padmanaban,K., and BabuRajendran, R., 2015. Histopathological Alterations in Muscle, Liver and Gill Tissues of Zebra Fish *Danio Rerio* due to Environmentally Relevant Concentrations of Organochlorine Pesticides (OCPs) and Heavy Metals. International Journal of Environmental Research, 9(4):1365-1372.

Braunbeck, T., Storch, V., and Bresch, H., 1990. Species-specific reaction of liver ultra-Structure in zebra fish (*Brachydanio rerio*) and trout (*Salmo gairdneri*) after prolong exposure to 4-chloroaniline. Archives of Environmental Contamination and Toxicology,19: 405-418.

El-Tawil, N., Amer, T., and Hassan, A., 2014. Effect of cysteine and dietary protein levels on striped mullet (*Mugil cephalus*) performance. Fisheries and Aquaculture, 2 (2): 139-147.

Esmaeili, A., 2007. Cycle of heavy metals lead, mercury, cadmium and their uptake and effects on aquatic organisms. Proceedings of the First National Conference on proper operation of the Persian Gulf and Oman Sea fish stocks. Fisheries Corporation, pp. 269-277.

Foulkes, E., 2000. Transport of the heavy metals across cell membranes. Society for Experimental Biology and Medicine, 223: 234-240.

Fuggle, R., 1983. Nature and Ethics of Environmental Concerns. In: Environmental Concerns in South Africa. Fuggle RF, Rabie MA (eds), Juta Cape Town.

Gaber, H., 2007. Impact of certain heavy metals on the gill and liver of the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Egypt Journal Aquaculture Biology, 11: 79-100.

Hussein, H., Farag, S., Kandil, K., and Moawad, H., 2005. Tolerance and uptake of heavy metals by Pseudomonads. Process Biochemistry, 40: 955-966.

Isik, I., and Celik, I., 2008. Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Pesticide Biochemistry and Physiology, 92(1): 38-42.

Ismaiel, Y., Khedr, N., and Ahmed, T., 2015. Effect of Fish meal and Plant protein alternatives on the histological picture of different organs of Nile tilapia in Egypt. Benha Veterinary Medical Journal, Vol. 28, 2: 273-282.

www.SID.ir

Archive of SID

Laurèn, D., and McDonald, D., 1985. Effects of copper on branchial ionoregulation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. Journal of Comparative Physiology, 155(5): 635-644.

Metcalf, X., and Eddy, X., 2003. Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. In: Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse. Techobanoglous G, Burton FL, Stensel HD (eds), Tata McGraw- Hill Publishing Company Limited, 4th edition. New Delhi, India.

Mok, W., Hatanaka, Y., Seoka, M., Itoh, T., Tsukamasa, Y., and Ando, M., 2014. Effects of additional cysteine in fish diet on mercury concentration. Food Chemistry, 147: 340–345.

Naji T., Safaeyan SH., Rostami M., and Sabrjoo M., 2006. Effects of zinc sulfate on gill tissue of Common Carp. Environmental Science and Technology, 9(2): 29. (In Persian).

Paris-Palacios, S., Biagianti-Risbourg, S., and Vernet, G., 2000. Biochemical and (ultra) structural hepatic perturbation of *Brachydanio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) exposed to two sublethal concentrations of copper sulphate. Aquatic Toxicology, 50: 109-124.

Perry, S., and Laurent, P., 1993. Environmental effects on fish gill structure and function. In: Rankin J.C., Jensen, F.B. (eds.). Fish Ecophysiology. Chapman and Hall, London, 231-264.

Piste, P., 2013. Cysteine–Master Antioxidant. Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences, 3(1): 143-149.

Powell, M., Ransome, J., and Barney, M., 2007. Effect of Dietary Inclusion of N-Acetyl Cysteine on Mucus Viscosity and Susceptibility of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, and Atlantic Salmon, *Salmo salar*, to Amoebic Gill Disease. The World Aquaculture Society, 38(3): 435-442.

Quig , D., 1998. Cysteine Metabolism and Metal Toxicity. Alternative Medicine Review, 3(4): 262-270.

Roncarati, A., Melotti, P., Dees, A., Mordenti, O., and Angellotti, L., 2006. Welfare status of cultured seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) and seabream (*Sparus aurata* L.) assessed by blood parameters and tissue characteristics. International Aquatic Research, 22(3): 225-234.

Rostami bashman, M., Soltani, M., & Sasani, F. (2000). Study of the effects histopathological of heavy metals (Copper sulfate, zinc sulfate and mercury-cadmium chloride) the tissues of Common Carp. Journal of Veterinary Research (Tehran University), 55(4), 1-3.

Roy, D., Ghosh, D., and Kumar Mandal, D., 2013. Cadmium induced histopathology in the olfactory epithelium of a Snakehead fish, *Channa punctatus* (Bloch). International Journal of Aquatic Biology, 1(5): 221-227.

Saleh, M., 2006. Cultured Aquatic Species Information Programme (CASIP). *Mugil cephalus*. FAO Fisheries and Aquaculture Department; FAO: Rome, Italy.

Thangam, Y., 2014. Effect of Nitrite Toxicity on Histological Parameters to Fresh Water Fish "*Cirrhinus Mrigala*". IOSR Journal of Engineering (IOSRJEN), Vol. 04, Issue 06, PP. 16-21.

Van, H., Vosloo, A., and Nikinmaa, M., 2004. Effects of short-term copper exposure on gill structure, methallothionein and hypoxia-inducible factor-1á (HIF-1á) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology, 69: 271-280.

Verslycke, T., Vangheluwe, M., Heijerick, D., Schamphelaere, K., Sprang, P., and Janssen, C., 2003. The toxicity of metal mixtures to the estuarine Mysid *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea) under changing salinity. Aquatic Toxicology, 64: 307-315.

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

Wong, C., Wong, P., and Chu, L., 2001. Heavy metal concentrations in marine fishes collected from fish culture sites in Hong Kong. Environmental Contamination and Toxicology, 40: 60-69.

Yim, G., de la Cruz, F., Spiegelman, G., and Davies, J., 2006. Transcription modulation of S. typhimurium promoters by sub-MIC levels of rifampicin. Journal of Bacteriology, 188: 7988-7991.

www.SID.ir