

بررسی تأثیر محافظت‌کنندگی کلسیم در برابر سمیت مس در بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

*محمدتقی فرهادی^۱، معصومه بحرکاظمی^۲ و مهدی یوسفیان^۲

^۱عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، آگروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۲۷

چکیده

این مطالعه برای ارزیابی سمیت ناشی از سولفات مس در بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و نقش احتمالی کلسیم در کاهش سمیت مس انجام شد. به این منظور، نیمی از بچه‌ماهیان به مدت ۴ روز در تماس با اکسیدکلسیم با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و سپس به مدت ۳۰ روز در غلظت‌های ۰، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس قرار داده شدند. نیمی دیگر از بچه‌ماهیان نیز بدون تماس اولیه با اکسیدکلسیم به مدت ۳۰ روز در معرض همان غلظت‌های سولفات مس قرار گرفتند. اندازه‌گیری و تعیین فاکتورهای افزایش وزن، افزایش طول کل، درصد تلفات، ضریب چاقی، میزان مس در عضله ماهیان و همچنین مطالعه بافت‌شناسی آبشش، کبد و کلیه بچه‌ماهیان انجام شد. بعد از گذشت دوره آزمایش، میزان افزایش وزن و طول کل بچه‌ماهیان کپور به صورت معنی‌داری تحت تأثیر غلظت مس و حضور کلسیم قرار گرفت ($P < 0/05$). در غلظت‌های ۰ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس، افزایش وزن و طول در بچه‌ماهیانی که تماس اولیه با اکسیدکلسیم را دریافت کرده بودند، بیش‌تر از گروه دوم بود. اگرچه تفاوت فاکتور ضریب چاقی بین تیمارهای مختلف معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). در این مطالعه، غلظت فلز مس در بافت عضله بچه‌ماهیان کپور با افزایش دوز سولفات مس افزایش یافت ($P < 0/05$) اما میزان این افزایش در تیمارهایی که در تماس اولیه با اکسیدکلسیم قرار گرفته بودند، کم‌تر بود. تماس با غلظت‌های ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس در تیمارهایی که تماس اولیه با اکسیدکلسیم را نداشتند، موجب عوارضی مانند جداشدگی اپیتلیوم، فیوزن و اتصال لاملای ثانویه، هیپرتروفی و هیپرپلازی در بافت پوششی آبشش، به هم خوردگی پارانشیم، واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها و پارگی و نکروز سلول‌های کبدی، تخریب و از هم‌پاشیدگی گلومرول و کپسول بومن و لوله‌های ادراری شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تماس اولیه بچه‌ماهیان کپور معمولی با اکسیدکلسیم می‌تواند به عنوان فاکتوری محافظت‌کننده در برابر سمیت مس ایفای نقش نماید و منجر به رشد بهتر ماهی در پایان دوره شود.

واژه‌های کلیدی: ماهی کپور معمولی، سولفات مس، اکسیدکلسیم، بافت‌شناسی

مقدمه

یکی از این ترکیبات است که به عنوان جلبک‌کش، انگل‌کش، باکتری‌کش و قارچ‌کش در کارگاه‌های پرورش ماهی به‌میزان فراوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد و می‌تواند موجب آلودگی آب و ماهی گردد. Boyd (۱۹۹۰) بیان کرد که استفاده از سولفات مس برای کنترل جمعیت فیتوپلانکتون‌ها، به ندرت باعث

برخی از ترکیباتی که در صنایع پرورشی ماهی تحت عنوان جلبک‌کش و قارچ‌کش مورد استفاده قرار می‌گیرند، دارای مقادیری از فلزات سنگین هستند (Oladimeji و Onwumere، ۱۹۹۰). سولفات مس

*مسئول مکاتبه: mohammad.farhadi1719@yahoo.com

کنترلی علیه عوامل انگلی، باکتریایی و قارچی نیز استفاده می‌شود (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۸).
 با توجه به اهمیت این موضوع، لزوم بررسی پارامترهایی مانند سختی آب که می‌تواند از سمیت سولفات مس بکاهد، آشکارتر می‌گردد.
 هدف از این پژوهش، بررسی اثرات سمی سولفات مس در غلظت‌های معمول مورد مصرف در آبی‌پروری و تعیین نقش تماس اولیه ماهی با اکسید کلسیم به‌عنوان عامل محافظت‌کننده در مقابل آسیب ناشی از سولفات مس در کپور معمولی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۸۹ در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انجام شد. تعداد ۹۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با طول کل 4.37 ± 0.87 سانتی‌متر و وزن 0.07 ± 0.09 گرم از مزرعه آبی‌رشد ساری به پژوهشکده منتقل شدند و به‌مدت ۲ هفته در ظروف فایبرگلاس برای سازش با شرایط جدید نگهداری شدند. پس از گذشت این زمان، نیمی از بچه‌ماهیان به‌صورت کاملاً تصادفی جدا شده و به‌مدت ۴ روز در معرض اکسیدکلسیم (CaO, Merck) با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر قرار داده شدند و بقیه ماهیان در این مدت در همان شرایط قبلی (بدون اکسیدکلسیم) نگهداری شدند. پس از اتمام ۴ روز، ماهیان ابتدا به‌صورت جداگانه توزین شدند و به‌صورت تصادفی به ۶ گروه ۱۵ تایی تقسیم گردیدند. ماهیانی که در معرض اکسیدکلسیم قرار گرفته بودند، به‌صورت تصادفی در سه گروه ۱۵ تایی در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به‌ترتیب در غلظت‌های ۰، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Merck) قرار داده شدند و بقیه ماهیان (۴۵ قطعه بچه‌ماهی دیگر) نیز در سه گروه ۱۵ تایی در تیمارهای ۴، ۵ و ۶ به‌ترتیب در غلظت‌های ۰، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر

ایجاد مسمومیت برای ماهیان می‌شود اما باعث کشتن تعداد زیادی از بی‌مهرگان مانند روتیفرها، کلادوسرها و کپه‌پودا می‌شود که به‌عنوان غذای آبیان مطرح هستند. در حالی‌که پژوهش‌های Wurts و Perschbacher (۱۹۹۴) بیانگر این است که غلظت مس بیش از مقدار مشخص می‌تواند برای ماهیان پرورشی مانند آزادماهیان، کپورماهیان و گربه‌ماهیان سمی باشد. اثر سولفات مس که معمولاً به‌عنوان جلبک‌کش به‌کار برده می‌شود نسبت به جیوه، سرب و سایر فلزات سنگین بر روی آبشش‌ها خیلی بیشتر است (تا ۳ برابر). این ماده فضاهای بین رشته‌های آبششی را پر کرده و در نتیجه آب دمی نمی‌تواند به سلول‌های آبششی برسد، همچنین تحرک رشته‌های آبششی غیرممکن می‌شود و سرانجام خون‌موریگی ایجاد شده و کار مؤثر قلب به نصف تقلیل می‌یابد و یا متوقف می‌گردد (مخیر، ۱۳۸۱). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که اثر مس بر آبی‌پروری بسیار پیچیده بوده و به خصوصیات فیزیوشیمیایی آب بستگی دارد (Takasusuki و همکاران، ۲۰۰۴). در واقع، استفاده مناسب از سولفات مس بدون ایجاد حالت سمیت به سختی و قلیائیت آب وابسته است (Wurts و Perschbacher، ۱۹۹۴). به‌نظر می‌رسد که غلظت بالای کلسیم آب که یکی از اجزای سختی آب است، می‌تواند سمیت مس را کاهش دهد. کلسیم این کار را از طریق بهبود مکانیسم تبادل یونی در آبشش‌ها در برابر اثرات مخرب مس انجام می‌دهد (Abdel-Tawwab و همکاران، ۲۰۰۷؛ Pagenkopf، ۱۹۸۳).

سیستم پرورش چندگونه‌ای ماهی کپور معمولی با کپورماهیان چینی به‌گونه‌ای است که امکان استفاده از سولفات مس برای کنترل جمعیت پلانکتون‌ها وجود دارد و این امر می‌تواند سبب تجمع مس در بدن ماهی و رسیدن آن به سطح سمی شود. همچنین سولفات مس توسط مزرعه‌داران به‌عنوان یک داروی درمانی و

آزمون توکی استفاده شد. همه تجزیه و تحلیل‌های بالا توسط نرم‌افزار آماری SPSS با سطح اطمینان ۵ درصد انجام شد.

نتایج

تأثیر تماس با اکسیدکلسیم و سولفات مس بر پارامترهای رشد: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سولفات مس، افزایش وزن بچه‌ماهیان به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($P < 0/05$). این کاهش هم در گروه ماهیانی که در معرض کلسیم قرار داشتند (تیمارهای ۱، ۲ و ۳) و هم در گروه ماهیانی که در معرض کلسیم قرار نداشتند (تیمارهای ۴، ۵ و ۶) معنی‌دار بود ($P < 0/05$). به‌طوری‌که افزایش وزن ماهیان در گروه اول از $9/158 \pm 2/17$ گرم در تیمار ۱ به $4/726 \pm 1/11$ گرم در تیمار ۳ و در گروه دوم از $7/587 \pm 2/28$ گرم در تیمار ۴ به $4/67 \pm 2/71$ در تیمار ۶ رسید. مطابق با جدول ۱، تماس ۴ روزه ماهیان با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اکسید کلسیم باعث افزایش میزان وزن نسبت به ماهیانی که در معرض کلسیم قرار نگرفته بودند، گردید. البته اگرچه افزایش وزن در تیمار ۱ نسبت به تیمار ۴ و تیمار ۲ نسبت به تیمار ۵ دارای تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0/05$) اما در مقایسه تیمارهای ۳ و ۶ این تفاوت معنی‌دار نبود ($P > 0/05$).

تأثیر تماس با اکسیدکلسیم و سولفات مس بر ضریب چاقی: نتایج به‌دست آمده از مطالعه کنونی نشان داد که از نظر پارامتر ضریب چاقی اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$).

تیغ‌های آبششی اولیه از غضروف، رگ‌های خونی و بافت پوششی چندلایه تشکیل شده است. یک لایه دو ردیفی از سلول‌های پوششی اپیتلیوم تیغ‌های ثانویه را تشکیل می‌دهد که توسط تعداد زیادی سلول‌های پیلار (Pillar cells) پشتیبانی می‌گردند.

سولفات مس قرار داده شدند. مدت انجام آزمایش یک‌ماه بود و ماهیان در این دوره با غذای شامل ۳۰ درصد پروتئین تغذیه شدند که روزانه حدود ۳ درصد وزن زنده بدن در ۴ وعده غذایی به آن‌ها داده می‌شد. دمای آب در طول دوره آزمایش، $22/68 \pm 1/37$ درجه سانتی‌گراد؛ اکسیژن محلول، $11/31 \pm 0/197$ میلی‌گرم در لیتر؛ pH، $7/5 \pm 0/3$ و هدایت الکتریکی، $93/74 \pm 2/99$ میکروزیمنس اندازه‌گیری شد. میزان سختی کل، $259/2 \pm 0/18$ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم و قلیائیت کل، $4/2 \pm 0/61$ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم اندازه‌گیری شد. غلظت کلسیم، منیزیم و مس نیز در شروع آزمایش در آب مورد استفاده برای انجام آزمایش اندازه‌گیری و به‌ترتیب ۱۴۴ میلی‌گرم در لیتر، ۱۱۵/۲ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری گردید.

پارامترهای مورد اندازه‌گیری در این پژوهش شامل؛ افزایش وزن، افزایش طول کل، درصد تلفات و ضریب چاقی بود که از طریق بیومتری به‌دست آمد (Abdel-Tawwab و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین میزان فلز مس در عضلات بچه‌ماهیان به روش جذب اتمی اندازه‌گیری شد (موسوی، ۱۳۸۳). در پایان دوره نیز ۵ قطعه بچه‌ماهی از هر مخزن مورد کالبدگشایی قرار گرفته و بلافاصله نمونه‌های بافت‌های آبشش، کبد و کلیه آن‌ها در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد تثبیت گردید و عملیات بافت‌شناسی به روش پارافینه‌کردن بر روی آن‌ها صورت گرفت (پوستی، ۱۳۸۲). سپس برش‌های میکرونی از آن‌ها تهیه گردید و در زیر میکروسکوپ مطالعات آسیب‌شناسی بافت صورت پذیرفت و عکس‌برداری با میکروسکوپ مجهز به دوربین انجام شد. طرح آماری مورد استفاده در این پژوهش، طرح کاملاً تصادفی بود. در این پژوهش، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه میانگین داده‌ها از

جدول ۱- تغییرات افزایش وزن، افزایش طول کل، ضریب چاقی و غلظت مس در عضله بچه‌ماهیان کپور معمولی در تماس با غلظت‌های مختلف سولفات مس در تماس اولیه و نداشتن تماس اولیه با اکسید کلسیم.

پارامترها	+Ca-Cu	+Ca+1/5 mg/l Cu	+Ca+3 mg/l Cu	-Ca-Cu	-Ca+1/5 mg/l Cu	-Ca+3 mg/l Cu
افزایش طول کل (سانتی‌متر)	1/6±0/50 ^a	1/426±0/359 ^a	0/766±0/489 ^{bc}	1/226±0/402 ^{ab}	1/22±0/422 ^{abc}	0/75±0/446 ^c
افزایش وزن (گرم)	9/158±2/173 ^a	7/759±1/299 ^{ab}	4/726±1/117 ^c	7/587±2/28 ^{ab}	5/844±1/999 ^{bc}	4/67±2/711 ^c
ضریب چاقی	1/66±0/073 ^a	1/63±0/176 ^a	1/66±0/215 ^a	1/71±0/134 ^a	1/61±0/134 ^a	1/59±0/166 ^a
غلظت مس در عضله (میلی‌گرم در لیتر)	.b	0/0712±0/0158 ^a	0/1076±0/0893 ^a	.b	0/0924±0/0435 ^a	0/1208±0/0545 ^a

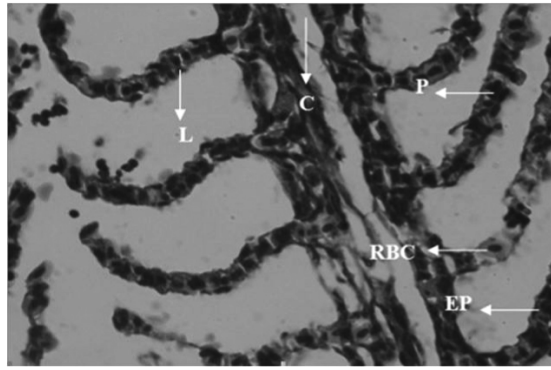
* اعدادی که با حروف مشترک نشان داده شده‌اند، تفاوت معنی‌داری ندارند.

در ارتباط با نقش اکسیدکلسیم نتایج تا حدی متفاوت بود، به طوری که در غلظت 1/5 میلی‌گرم در لیتر سولفات مس، در مقایسه تیمار 2 و 5 این تفاوت معنی‌داری بود ($P < 0/05$) اما در ارتباط با غلظت 3 میلی‌گرم در لیتر، در مقایسه تیمارهای 3 و 6 این تفاوت معنی‌دار نشد ($P > 0/05$).

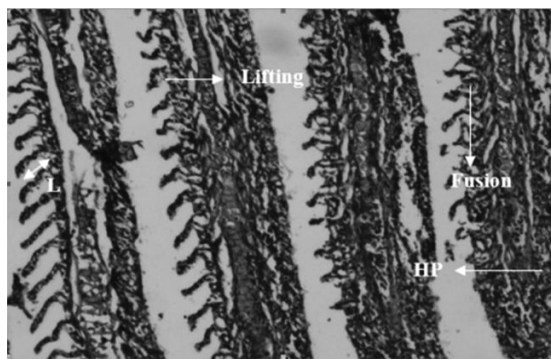
تأثیرات بافت‌شناسی اکسید کلسیم و سولفات مس:
نتایج مطالعه بافت‌شناسی توسط میکروسکوپ نوری نشان داد که بافت‌شناسی آبشش در نمونه شاهد (تیمار 4) و در تیمارهایی که در تماس اولیه با کلسیم قرار گرفته بودند (تیمارهای 1، 2 و 3) شبیه سایر ماهیان استخوانی بود. تعداد زیادی تیغه آبششی ثانویه در طرفین تیغه‌های آبششی اولیه قرار داشت. در تیمارهای 5 و 6 که در تماس با غلظت 1/5 و 3 میلی‌گرم در لیتر سولفات مس قرار داشتند، عوارض آبششی شامل جداشدگی اپیتلیوم، فیوژن و اتصال لاملای ثانویه همراه با بافت پوششی که سلول‌ها دچار هیپرتروفی و هیپرپلازی شده بودند، مشاهده شد (شکل‌های 1، 2 و 3). این عوارض در غلظت 1/5 میلی‌گرم در لیتر خفیف‌تر از غلظت 3 میلی‌گرم در لیتر بود.

همچنین نتایج نشان دادند که با افزایش غلظت سولفات مس، طول کل بچه‌ماهیان به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). این کاهش نیز در هر دو گروه معنی‌دار بود، به طوری که در گروه اول از 1/6±0/50 سانتی‌متر در تیمار 1 به 0/766±0/489 سانتی‌متر در تیمار 3 و در گروه دوم از 1/226±0/402 سانتی‌متر در تیمار 4 به 0/759±1/299 سانتی‌متر در تیمار 6 رسید. تماس اولیه بچه‌ماهیان با اکسیدکلسیم با افزایش بیش‌تر طول کل بچه‌ماهیان همراه بود، به طوری که تیمار 1 نسبت به تیمار 4، تیمار 2 نسبت به تیمار 5 و تیمار 3 نسبت به تیمار 6 دارای تفاوت معنی‌دار بودند ($P < 0/05$). لازم به ذکر است تلفاتی در بین بچه‌ماهیان در طی دوره آزمایش مشاهده نشد.

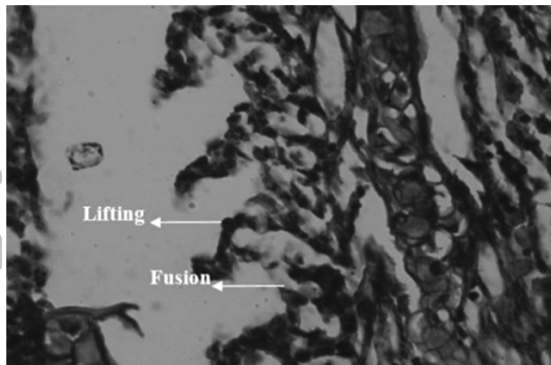
تأثیر تماس با اکسیدکلسیم و سولفات مس بر غلظت مس در عضله ماهیان: نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش غلظت مس نسبت به گروه شاهد غلظت مس در عضله بچه‌ماهیان نیز افزایش پیدا کرد. به طوری که از مقدار صفر میلی‌گرم در لیتر در گروه شاهد به ترتیب به 0/1076±0/0893 و 0/1208±0/0545 میلی‌گرم در لیتر در تیمار 3 و 6 رسید (جدول 1). اگرچه افزایش غلظت مس در عضله ماهیان با افزایش غلظت مس در آب به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($P < 0/05$) اما



شکل ۱- مقطع آبشش در نمونه شاهد، C: غضروف، L: لاملا، P: سلول پیلار، EP: بافت پوششی، RBC: گلبول قرمز (H&E*400).



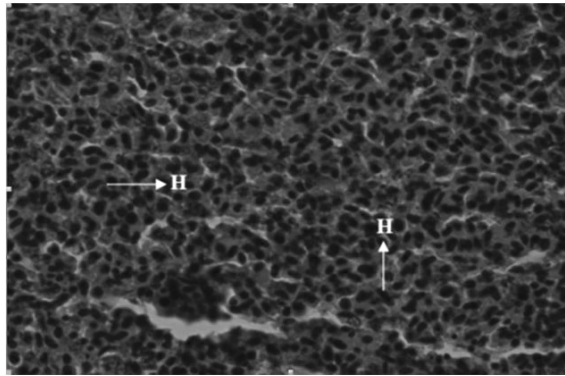
شکل ۲- مقطع آبشش در تیمار ۶ (غلظت ۳ میلی گرم در لیتر سولفات مس)، L: لاملا، Lifting: جداشدگی، Fusion: اتصال، HP: Hyperplasia (افزایش تعداد سلول) (H&E*400).



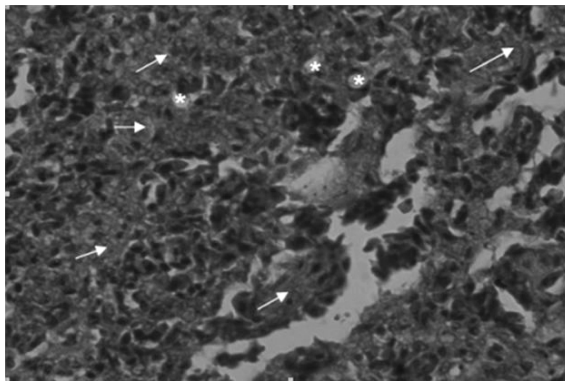
شکل ۳- مقطع آبشش در تیمار ۶ (غلظت ۳ میلی گرم در لیتر سولفات مس)، Lifting: جداشدگی، Fusion: اتصال (H&E*400).

تیمارهای با غلظت ۱/۵ و ۳ میلی گرم در لیتر سولفات مس، ساختار پارانشیم به هم خورده و واکووله شدن هپاتوسیت‌ها مشاهده شد که با افزایش غلظت مس افزایش یافت. همچنین در تیمار ۶، پارگی و نکروز سلول‌های کبدی مشاهده شد (شکل ۵).

ساختار بافت‌شناسی مقطع کبد ماهی در تیمار شاهد در شکل ۴ آمده است. بیش‌تر بافت کبد توسط هپاتوسیت‌ها یا سلول‌های کبدی پوشیده شده است که دارای هسته کروی هستند. این سلول‌ها بازوفیل بوده و سیتوپلاسم یکنواخت دارند. غشاء سلولی هپاتوسیت‌ها نیز به خوبی قابل تشخیص است. اما در



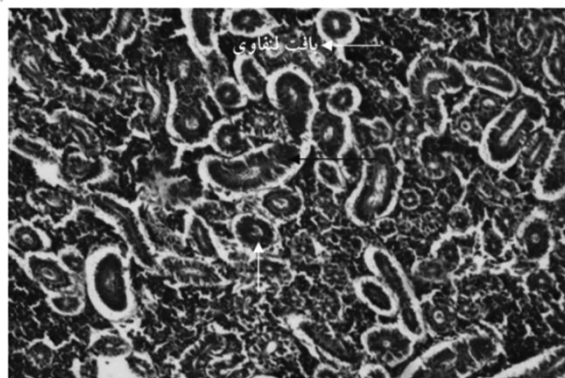
شکل ۴- مقطع کبد در تیمار شاهد، H: هپاتوسیت (H&E*400).



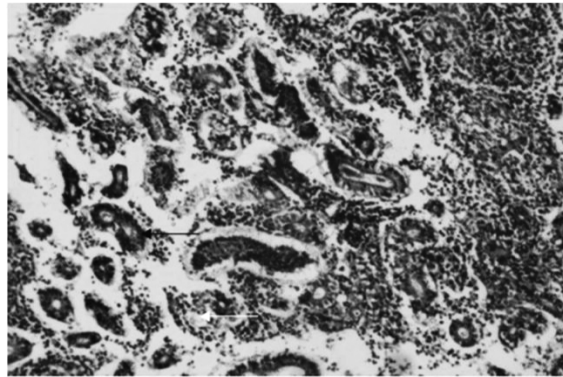
شکل ۵- مقطع کبد در تیمار ۶ (غلظت ۳ میلی گرم در لیتر سولفات مس)، *: واکنش‌شدن، فلش سفید: نواحی نکروزه (H&E*400).

۶). در حالی که در تیمارهای ۵ و ۶ در برخی قسمت‌های کلیه نکروز، تخریب و ازهم‌پاشیدگی گلومرول و کپسول‌های بومن و از بین رفتن لوله‌های ادراری مشاهده شد (شکل ۷).

در مطالعه کلیه در تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ نیز جسمک کلیه که شامل گلومرول و کپسول بومن بود و همچنین لوله‌های کلیوی مشاهده شد و پوشش گلومرول به اپیتلیوم لوله‌های کلیه امتداد می‌یابد (شکل



شکل ۶- مقطع کلیه در تیمار شاهد، فلش سیاه: لوله‌های کلیوی، فلش سفید: گلومرول (H&E*400).



شکل ۷- مقطع کلیه در تیمار ۶ (غلظت ۳ میلی گرم در لیتر سولفات مس)، فلش سیاه: لوله‌های کلیوی، فلش سفید: گلومرول (H&E*400).

آلاینده‌های محیطی می‌توانند منجر به کاهش اشتهای ماهی یا کاهش رشد در نتیجه کاهش میزان نگهداری مواد مغذی در بدن ماهی شوند و بنابراین رشد کاهش یابد. Dobson و Holmes (۱۹۸۴) گزارش کردند که شرایط محیطی نامساعد منجر به کاهش رشد ماهی می‌شود. Ashley (۱۹۹۳) نشان داد که رشد در ماهی آزاد شومانی *Coho salmon* در صورت تماس با غلظت ۱ گرم در لیتر مس کاهش می‌یابد. Farkas و همکاران (۲۰۰۳) یک همبستگی منفی بین غلظت فلزات در عضله با وزن در گونه *Abramis brama* مشاهده کردند.

در این بررسی افزایش وزن بین تیمار ۲ نسبت به تیمار ۵ اختلاف معنی‌داری را نشان داد اما بین تیمار ۳ نسبت به تیمار ۶ تفاوت معنی‌دار نبود که می‌توان نتیجه گرفت که کلسیم در غلظت پایین مس (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) تأثیرگذار بوده ولی در غلظت بالای مس (۳ میلی‌گرم در لیتر) تأثیر چندانی اعمال نمی‌کند و یا می‌توان چنین پنداشت که مدت زمان نگهداری اولیه بچه‌ماهی کپور در حضور کلسیم (۴ روز) زمانی کافی برای نشان دادن عملکرد بهتر کلسیم نبوده و باید زمان را افزایش داد.

در این پژوهش با افزایش غلظت مس یک روند کاهشی در طول کل ماهیان مشاهده شد. افزایش غلظت مس می‌تواند تأثیر منفی بر طول کل ماهیان

بحث

در این بررسی رشد ماهی در تیمار ۱ نسبت به تیمار ۴ و تیمار ۲ نسبت به تیمار ۵ بهتر بوده است که نشان می‌دهد حضور کلسیم در کاهش سمیت مس نقش داشته و رشد ماهی را افزایش داده است. در هر صورت، یون کلسیم به سطح آبشش متصل می‌شود و نفوذپذیری آبشش ماهی را کنترل می‌کند (Hunn, ۱۹۸۵) و با یون مس در اتصال به جایگاه‌های آزاد روی آبشش‌ها رقابت می‌کند (Matsuo و همکاران, ۲۰۰۴; Pagenkopf, ۱۹۸۳).

نتایج این بررسی با نتایج Wicklund و Runn (۱۹۸۸) در مورد سمیت کادمیوم مشابه بود. این افراد گزارش نمودند که جذب و توزیع کادمیوم در ماهی پس از این‌که ماهی با غلظت‌های انتخابی کلسیم سازگار شد، کاهش یافت. Spry و Wiener (۱۹۹۱) یک رابطه معکوس بین سمیت مس و غلظت کلسیم در آب گزارش نمودند. Dutta و Kaviraj (۱۹۹۶) دریافتند که مقدار LC₅₀ کادمیوم برای کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) زمانی که در معرض ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آهک زنده قرار گرفتند از ۱۶۵ میلی‌گرم در لیتر به ۲۳۵ میلی‌گرم در لیتر افزایش پیدا کرد. به‌علاوه، Abdel-Tawwab و Mousa (۲۰۰۵) دریافتند که حضور ۵۰-۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم می‌تواند در کاهش سمیت حاد مس در لارو تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) اثر داشته باشد.

در این بررسی، اختلاف معنی‌داری در خصوص فاکتور ضریب چاقی در بین تیمارها مشاهده نشد. Abdel-Tawwab و همکاران (۲۰۰۷) در پژوهش‌های مشابه‌ای که بر روی تیلاپای نیل داشتند، نشان دادند که ضریب چاقی با سمیت مس به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. تغییرات در ضریب چاقی یکی از مهم‌ترین نشانگرهای شرایط فیزیولوژیک آبری است و کوچک‌شدن جنه در اثر کاهش جذب مواد غذایی به‌وجود می‌آید (Abdel-Tawwab و همکاران، ۲۰۰۷). در این بررسی، بافت عضله ماهی به سبب نقش مهم در تغذیه انسان و لزوم اطمینان از سلامت آن، مورد بررسی قرار گرفته است. مقدار مس در عضله با افزایش غلظت سولفات مس به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد، در حالی‌که در تیمار ۲ نسبت به تیمار ۵ به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود. حضور کلسیم جایگاه‌های اتصال را تا حد زیادی اشباع کرده و از اتصال مس و انتقال آن از آبشش‌ها به خون جلوگیری می‌کند. در بررسی مشابه‌ای، Wicklund و Runn (۱۹۸۸) و Kaviraj و Dutta (۲۰۰۰) گزارش نمودند که تماس ماهی با کلسیم، جذب کادمیوم از آب و انتقال آن از آبشش‌ها به خون را کاهش می‌دهد. آبشش‌ها به‌عنوان ارگانی که در معرض مداوم محیط خارجی قرار دارند، اولین هدف آلاینده‌ها می‌باشند، بنابراین آبشش بافت مناسبی برای بررسی اثرات آلاینده‌ها می‌باشد. تغییرات مشاهده شده در آبشش ماهی در تیمارهای ۵ و ۶ عموماً به‌دلیل اثر سمی مس می‌باشد که این عوارض در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر خفیف‌تر از غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر بود. نتایج به‌دست آمده در بررسی کنونی، با نتایج به‌دست آمده توسط Abdel-Tawwab و همکاران (۲۰۰۷) و Cerquiera و Fernandes (۲۰۰۲) موافق بود. این افراد دریافتند که ضخامت بافت آبشش در اثر هایپرتروفی در سلول‌های پوششی و نیز تلاژی‌کنندگی

بگذارد و به‌عنوان فاکتوری بازدارنده عمل می‌کند. نتایج مطالعه کنونی با نتایج Canli و Altı (۲۰۰۳) موافق بود. این افراد گزارش نمودند که بین غلظت مس در عضله و آبشش و طول گونه *Scomberesox saurus* یک همبستگی منفی معنی‌دار وجود دارد. طول کل ماهیان در تیمار ۱ نسبت به تیمار ۴، تیمار ۲ نسبت به تیمار ۵ و تیمار ۳ نسبت به تیمار ۶ بهتر بوده است که نشان می‌دهد حضور کلسیم در کاهش سمیت مس نقش دارد و طول ماهی را افزایش می‌دهد. در این مطالعه تلفاتی در ماهیان تا پایان دوره در هیچ‌یک از تیمارها مشاهده نشد که نشان داد که این غلظت‌های مس با توجه به سختی آب موجود موجب مرگ و میر ماهیان نشد. در واقع اگرچه دوزهای به‌کار رفته در این پژوهش می‌توانند تغییراتی را از نظر بافتی در بدن ماهی ایجاد کند و سبب افزایش غلظت مس در عضله ماهیان گردد اما موجب تلفات در آن‌ها نگردد.

Perschbacher و Wurts (۱۹۹۹) نشان دادند، هم‌چنان که سختی افزایش یافت، مرگ و میر گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) که در معرض سولفات مس با غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفته بودند، از ۹۰ درصد در ۱۰ میلی‌گرم در لیتر CaCO_3 به ۵ درصد در ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر CaCO_3 کاهش یافت. آن‌ها که بر روی دو سختی کلسیم و منیزیم مطالعه کردند تنها سختی کلسیم را مسبب این عمل معرفی کردند. همچنین نشان دادند که سختی کلسیم بین ۲۰۰-۵۰ میلی‌گرم در لیتر سمیت و مرگ و میر را در گربه‌ماهی کانالی جوان که در معرض غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس و قلیابیت کل ۲۰ میلی‌گرم در لیتر CaCO_3 قرار داشتند، کاهش داد. داده‌های آن‌ها یک عملکرد خاص از کلسیم را در مقابل سمیت حاد مس در گربه‌ماهی کانالی جوان پیشنهاد داد.

به همین دلیل بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد، شیوه‌ای دقیق و مطمئن برای ارزیابی فلزات سنگین در محیط و شرایط آزمایشگاهی می‌باشد. تغییرات مشاهده شده در بررسی کبد ماهی در تیمارهای ۵ و ۶، با نتایج به دست آمده توسط عتباتی و همکاران (۱۳۸۸) موافق بود. این افراد گزارش نمودند که در بافت پارانشیم کبد کپور ماهیانی که در معرض فلز مس (۵ میلی‌گرم در لیتر) و روی (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفته بودند، حالت انوزینوفیلی کم‌تر همراه با سیتوپلاسم واکوئله دیده شد و میزان واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها در غلظت‌های بالاتر مس (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) و روی (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) به بیش‌ترین میزان مشاهده شد. در این غلظت‌ها سلول‌های کبدی دچار نکروز شده بودند. Paris-Palacos و همکاران نیز (۲۰۰۰) مطالعاتی بر روی *Brachydanio rerio* انجام دادند و مشاهده کردند در اثر آلودگی با کلرید روی، تغییر شکل در هسته‌های سلول‌های کبدی ایجاد می‌شود. Braunbeck و همکاران (۱۹۹۰) پیشنهاد کردند که تغییر در اندازه و شکل هسته‌های هپاتوسیت نشانه‌ای از افزایش فعالیت متابولیک است ولی می‌تواند منشاء پاتولوژیک داشته باشد. همچنین مطالعه بافت‌شناسی رستمی و سلطانی (۱۳۸۸) بر روی ماهیان کپور معمولی که در مجاورت با دوز مزمن سولفات مس قرار گرفته بودند، مهم‌ترین ضایعات کبدی را نکروز کانونی، واکوئله شدن، تغییرات پیکنوتیک و کاریورکسی در هسته هپاتوسیت‌ها، پرخونی و هجوم لنفوسیت‌ها در بافت هم‌بندی کپسول کبدی گزارش کرد. کبد ارگان حیاتی است که نقش مهمی در متابولیسم و دفع مواد زائد شیمیایی و فلزات سنگین ایفاء می‌کند و غلظت این مواد سمی در کبد بیش‌تر از سایر ارگان‌های بدن است. بنابراین سلول‌های کبدی اولین هدف مواد سمی هستند و شاخص زیستی عالی برای بررسی آلودگی‌های

لاملا در *Prochilodus scrofa* به دلیل وجود مس می‌باشد. در مطالعه‌های بافت‌شناسی رستمی و سلطانی (۱۳۸۸) بر روی ماهیان کپور معمولی که در مجاورت با دوز مزمن سولفات مس قرار گرفته بودند مهم‌ترین ضایعات در آبشش، ادم، هیپرتروفی لاملاهای ثانویه، هیپرپلازی سلول‌های پوششی آبشش، چسبندگی لاملاهای ثانویه به یکدیگر، افزایش سلول‌های مخاطی، پرخونی و حضور لنفوسیت‌ها مشاهده گردید. بررسی‌های Schwaiger و همکاران (۱۹۹۷)، Pane و همکاران (۲۰۰۴) و همچنین عتباتی و همکاران (۱۳۸۸) نیز مانند این پژوهش جداشدگی را در اپیتلیوم آبشش گزارش کردند. در بررسی عتباتی و همکاران (۱۳۸۸)، در بافت آبشش سلول‌های پوششی دچار هیپرپلازی شده و با افزایش غلظت فلز میزان هیپرپلازی افزایش یافته بود و سلول‌های لاملاهای اولیه چروکیده شده بود. این آسیب‌ها با افزایش غلظت فلز شدت بیش‌تری یافته بود، به طوری که در غلظت بالا بیش‌ترین جداشدگی (lifting) در لاملاهای اولیه و ثانویه دیده شد.

عناصر سمی در اندام‌هایی ذخیره می‌شوند که می‌تواند منجر به واکنش‌های احیاء شود و با ایجاد رادیکال‌های آزاد سبب تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی شود (Varanka و همکاران، ۲۰۰۱). از آنجایی که کبد ارگانی است که متابولیسم اولیه مواد غیرزیستی را انجام می‌دهد و با تغییر ساختار مورفولوژیکی این مواد در برخی موارد سم‌زدایی می‌نماید (Rocha و Monteiro، ۱۹۹۹)، تأثیر آلاینده‌های فلزات سنگین به صورت 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، مدت زمان در معرض آلاینده بودن و سایر فاکتورها دارد (Paris-Palacios و همکاران، ۲۰۰۰).

پروگزیمال و تجمع سلول‌های آماسی در دیواره عروق خونی کلیه گزارش کردند. اگرچه با توجه به شرایطی که در این پژوهش استفاده گردید (یعنی تماس ۴ روزه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اکسید کلسیم) نقش حفاظتی اکسید کلسیم در مقابل سمیت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس بارزتر از ۳ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس بود. در نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان کرد که تماس اولیه بچه‌ماهیان کپور معمولی با اکسید کلسیم می‌تواند به‌عنوان فاکتوری محافظت‌کننده در برابر سمیت مس ایفای نقش نماید و ضایعات بافتی را در اندام‌های هدف مانند آبشش، کبد و کلیه کاهش دهد و منجر به رشد بهتر ماهی در پایان دوره شود.

محیط آبی می‌باشد (Braunbeck و همکاران، ۱۹۹۰؛ Keith، ۱۹۸۱).

تغییرات مشاهده شده در کلیه ماهی در تیمارهای ۵ و ۶ یعنی نکروز، تخریب و ازهم‌پاشیدگی گلومرول و کپسول‌های بومن و از بین رفتن لوله‌های ادراری عموماً بر اثر سمیت مس می‌باشد. این نتایج، با نتایج به‌دست آمده توسط رستمی و سلطانی (۱۳۸۸) موافق بود. این افراد در بررسی در بافت کلیه ماهیان کپور معمولی که در مجاورت با دوز مزمن سولفات مس قرار گرفته بودند، مهم‌ترین ضایعات کلیوی را اتساع کپسول بومن و افزایش فضای ادراری، هیپرپلازی بافت خون‌ساز و از بین رفتن مجاری ادراری یا تغییرات نکروتیک لوله‌ها به‌خصوص در لوله‌های

منابع

- ۱- پوستی، ا.، ۱۳۸۲. بافت‌شناسی مقایسه‌ای و هیستوتکنیک. انتشارات دانشگاه تهران. ۴۶۲-۴۸۵.
- ۲- رستمی، م.، و سلطانی، م.، ۱۳۸۸. مطالعه اثرات بافتی دوز مزمن سولفات مس بر برخی اندام‌های ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۴. شماره ۳. ۱۹۸-۱۹۳.
- ۳- عتباتی، آ.، کیخسروی، ع.ر.، و وطن‌دوست، ج.، ۱۳۸۸. بررسی اثرات سمی غلظت‌های مختلف روی و مس بر بافت کبد و آبشش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). دوازدهمین همایش ملی بهداشت محیط ایران. دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده بهداشت. ۲۶۳۷-۲۶۲۸.
- ۴- مخیر، ب.، ۱۳۸۱. بیماری‌های ماهیان پرورشی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ چهارم.
- ۵- موسوی، س.م.، ۱۳۸۳. ارزیابی تجمع عناصر سنگین در بافت‌های مختلف موش قهوه‌ای در شهر نور. پایان‌نامه کارشناسی ارشد محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور، دانشگاه تربیت مدرس.

6. Abdel-Tawwab, M., and Mousa, M.A.A., 2005. Effect of calcium pre-exposure on acute copper toxicity to juvenile *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus* (L.). *Zagazig Vet. J.* 33 (1), 80-87.
7. Abdel-Tawwab, M., Mamdouh, A.A., Mohammad, H., and Saleh, F.M., 2007. The use of calcium pre-exposure as a protective agent against environmental copper toxicity for juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 264, 236-246.
8. Ashley, R., 1993. Coho salmon tolerated copper at 1000 mg/kg in the diet. *Nutrient Requirements of Fish*. The National Academies Press. Washington D.C., USA, 19p.
9. Boyd, C.E., 1990. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Birmingham Publishing Co, Birmingham, Alabama, USA.
10. 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 peolong Exposure to 4-chloroaniline. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 19, 405-418.

11. Canli, M., and Atli, G., 2003. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution*, 121, 129-136.
12. Cerquiera, C.C.C., and Fernandes, M.N., 2002. Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 52, 83-91.
13. Dobson, S.H., and Holmes, R.M., 1984. Compensatory growth in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 25, 649-656.
14. Dutta, T.K., and Kaviraj, A., 1996. Effects of lime acclimation on the susceptibility of two freshwater teleost and one oligochaeta worm to metabolic pollutant cadmium. *Folia Biologica (Krakow)*, 44, 143-148.
15. Farkas, A., Salanki, J., and Specziar, A., 2003. Age and size specific patterns of heavy metals in the organs of freshwater fish *Abramis brama* L. Populating a low contaminated site. *Water Research*, 37, 959-964.
16. Hunn, J.B., 1985. Role of calcium in gill function in freshwater fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* 82, 543-547.
17. Kaviraj, A., and Dutta, T.K., 2000. Use of quick lime (CaO) as a means to reduce cadmium toxicity in common carp, *Cyprinus carpio*. *J. Appl. Aqua.* 10 (1), 87-95.
18. Keith, M., 1981. Susceptibility of steelhead trout *Salmo gairdneri* Richardson to remouth infection *Yersinia ruckeri* following exposure to Copper. *J. Fish Dis.* 4, 33-40.
19. Matsuo, A.Y.O., Playle, R.C., Val, A.L., and Wood, C.M., 2004. Physiological action of dissolved organic matter in rainbow trout in the presence and absence of copper: sodium uptake kinetics and unidirectional flux rates in hard and softwater. *Aquatic Toxicology*, 70, 63-81.
20. Onumere, B.G., and Oladimeji, A.A., 1990. Accumulation of metals and histopathology in *Oreochromis niloticus* exposed to treat NNPC Kaduna (Nigeria) Petroleum refinery effluent. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 19, 123-134.
21. Pagenkopf, G.K., 1983. Gill surface interaction model for trace metal toxicity to fishes: role of complication, pH and water hardness. *Environmental Science and Technology*, 17, 342-347.
22. Pane, E.F., Haque, A., and Wood, C.M., 2004. Mechanistic analysis of acute, Ni-induced respiratory toxicity in the rainbow trout (*Oreochromis niloticus*): an exclusively bronchial phenomenon. *Aquat Toxicol.* 69, 11-24.
23. Paris-Palacios, S., Biagiatti-Risbourg, S., and Vernet, G., 2000. Biochemical and (ultra) structural hepatic perturbation of *Brachydanio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) exposed to two sub lethal concentrations of copper sulphate. *Aquat. Toxicol.* 50, 109-124.
24. Perschbacher, P.W., and Wurts, W.A., 1999. Effects of calcium and magnesium hardness on acute copper toxicity to juvenile channel catfish, (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 172, 275-280.
25. Rocha, E., and Monteiro, R.A.F., 1999. Histology and cytology of fish liver: A review, P 321-324. In: Saksena D.N. (ed.) *Ichthyology: Recent research advances*. Science Publishers, Enfield, New Hampshire.
26. Schwaiger, J., Wanke, R., Adam, S., Pawert, M., Honnen, W., and Triebkorn, R., 1997. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *J. Aquatic Ecosys. Stress Rec.* 6, 75-86.
27. Spry, D.J., and Wiener, J.G., 1991. Metal bioavailability and toxicity to fish in low-alkalinity lakes: a critical review. *Environmental Pollution.* 71, 243-304.
28. Takasusuki, J., Araujo, M.R.R., and Fernandes, M.N., 2004. Effect of water pH on copper toxicity in the neotropical fish, *Prochilodus scrofa* (Prochilodontidae). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 72, 1075-1082.
29. Varanka, Z., Rojik, I., Varanka, I., Nemcsok, J., and Abraham, M., 2001. Biochemical and morphological changes in carp (*Cyprinus carpio* L.) liver following exposure to copper sulfate and tannic acid. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 128, 467-478.

30. Wicklund, A., and Runn, P., 1988. Calcium effects on cadmium uptake, redistribution and elimination in minnows, *Phoxinus phoxinus*, acclimated to different calcium concentrations. *Aquatic Toxicology*, 13, 109-122.
31. Wurts, W.A., and Perschbacher, P.W., 1994. Effects of bicarbonate alkalinity and calcium on the acute toxicity of copper to juvenile channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 125, 73-79.

Archive of SID