Archive of SID

مطالعه اثرات هیستوپاتولوژی فلز سنگین کروم بر بافت آبشش کپور معمولی(*Cyprinus carpio*)

عابدی، س. ز.[۱،*]؛ خالصی، م. ک.[۱]؛ اسکندری، س.[۱]؛ بهروزی، ش.[۲]

[۱] گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
[۲] پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، سازمان تحقیقات شیلات ایران
Email: abedi10629@yahoo.com

در این مطالعه به منظور بررسی بروز ضایعه احتمالی میکروسکوپیک بافت آبشش، ماهی کپور معمولی به روش حمام در معرض غلظت تحت کشنده فلز سنگین کروم(۲ *mg/l*) به مدت ۱۵ روز قرار گرفتند. آبشش به دلیل نقش آن در تنفس و تعادل اسمزی شاخص خوبی از لحاظ در معرض قرارگرفتن طولانی‌مدت با فلزات سنگین محسوب می‌گردد. همچنین به دلیل تماس مستقیم با آلاینده‌ها و همین‌طور سطح اپی تلیال گسترده، آبشش ماهی یک ارگان هدف برای آلاینده‌ها می‌باشد. در نتیجه تغییرات ساختاری و فیزیولوژیک این بافت می‌تواند به عنوان یک شاخص در ارزیابی وضعیت آلودگی محیط به کار گرفته شود. در این میان مطالعات بافتی می‌تواند به عنوان یک ابزار برای بررسی ارتباط بین تماس بین آلاینده‌ها و پاسخ‌های بیولوژیک بکار روند. بررسی های انجام شده روی آبشش ها در ماهی کپور معمولی در این تحقیق نشان دهنده وجود اکثر علائم پاتولوزیک این اندام از جمله هیپرپلازی، چسبیدن رشته های ثانویه، پرخونی می باشد.

کلمات کلیدی: هیستوپاتولوژی، آبشش، کروم، کپور معمولی.

مقدمه:

آبزیان به طور طبیعی در معرض تماس با تعداد زیادی از ترکیبات و فلزات سنگین می‌باشند. در این راستا پژوهشگران توجه خود را به انجام تحقیقاتی در خصوص مشخص نمودن میزان آلودگی منابع مختلف آبی، چگونگی تقلیل آلودگی، نحوه جذب فلزات توسط آبزیان، تجمع زیستی فلزات سنگین در بافت‌های مختلف آبزیان، امکان استفاده از برخی آبزیان به عنوان شاخص‌های زیستی، تغییرات و آسیب‌های ایجاد شده در بافت‌ها و بسیاری از زمینه‌های تحقیقی دیگر معطوف ساخته‌اند *(9)*.

از انجا که فلز کروم در بافت‌های ماهیان جمع می‌شوند و باعث تغییرات و آسیب در بافت‌های مختلف ماهیان می-گردند، لذا هدف اصلی این تحقیق در مورد تعیین *Lc50* فلز کروم و تغییرات ایجاد شده بر روی اندام آبشش ماهی کپور معمولی است.

ماهی کپور معمولی یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی به حساب می‌آید که با ایجاد شرایط مطلوب یا بهینه پرورش و آگاهی از عواقب شدید زیست‌محیطی فلزات سنگینی مثل کروم می‌توان به بهبود پرورش این گونه ارزشمند کمک کرد. آبشش ماهی بعنوان جایگاه اصلی جذب فلزات آبرانده می‌باشد*(14)*.

بطور کلی نشان داده شد که جذب فلزات سنگین از آب بیشتر توسط آبشش ماهی و جذب از طریق جیره، بیشتر از طریق دستگاه گوارش صورت می‌گیرد. آبشش به دلیل آنکه جایگاه واکنش فلزات هست، می‌تواند نشانگر خوبی برای آلودگی آب توسط فلزات سنگین باشد*(7)*.

مواد و روش ها:

www.SID.ir

Archive of SID

تعداد ۱۵۰ ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۶/۳±۲۵/۹۲ گرم از منابع فروش معتبر خریداری و به سالن آکواریوم گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انتقال داده شدند. پس از اضافه کردن ماهی‌ها به تانک و سازگار شدن آنها به محیط جدید (یک هفته)، نمونه‌ها از مخزن نگهداری ماهی توسط تور دستی با احتیاط صید و پس از توزین، به صورت تصادفی به هر تانک ۱۵ عدد ماهی در سه تکرار افزوده شد. هر تانک یا آکواریوم به هواده مجهز بود، و در طول آزمایش، تعویض آب و سیفون انجام نگرفت. میزان سختی کل *(Solids TDS: Total Dissolved)* ، شوری *(EC: Electerical conductivity)*، *pH*، اکسیژن محلول و درجه حرارت به‌طور روزانه اندازه‌گیری و ثبت گردیدند (جدول ۱).

جدول۱ : ویژگی‌های کیفی آب در آکواریوم‌های ماهیان مورد آزمایش.

پارامتر	مقدار
سختی کل	۶۰۰ $mg\ L^{-1}$
اکسیژن محلول	۵-۶ $mg\ L^{-1}$
pH	۶/۷۵
هدایت الکتریکی	۱ *ds/m*
دما	۲۵ ± ۱ ^{o}C
تناوب نوری	۱۲ *h light*:۱۲ *h dark*

کلریدکروم از شرکت *AppliChem GmbH Germany* تهیه شد و به‌عنوان فلز سمی در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا غلظت‌های کشنده فلز کروم در ماهیان کپور معمولی با استفاده از برنامه پروبیت و نرم‌افزار آماری *(SPSS SPSS Inc،Chicago،Il ،USA)* ویرایش ۱۶ محاسبه شد. میانگین غلظت کشنده فلز کروم برای ماهی کپور ۲۰میلی‌گرم بر لیتر بودند*(4)*. لازم به ذکر است که حداکثر غلظت مجاز سمیت *(MATC)* از تقسیم *LC50* بر عدد ۱۰ حاصل می‌گردد *(8)*. با توجه به اینکه ۱۰ درصد غلظت کشنده به‌عنوان دوز تحت کشنده در نظر گرفته می‌شود *(5)*، در ابتدای آزمایش، میزان ۰/۱ غلظت کشنده فلزات به تیمارهای مربوطه (هر یک با سه تکرار) اضافه شد. ماهیان در طول آزمایش گرسنه نگه داشته شدند. نمونه‌برداری از ماهی‌های تحت تیمار و شاهد در روز ۱۵ انجام شد. در ماهیان هر تیمار، اندام آبشش بر اساس روش تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های بافتی تشریح شدند *(6)*. سپس برش های تهیه شده در محلول فرمالدهید بافر خنثی ۱۰ *% (NBF 10%)* تثبیت شده و نمونه ها برای مراحل مختلف آبگیری، تثبیت آن در پارافین، رنگ زدایی و شفاف کرن نمونه در داخل دستگاه *Tissue processor* قرار گرفت. در مرحله بعد قالب گیری نمونه ها و تهیه بلوک‌های پارافینی صورت گرفت و پس از اصلاح کردن بلوک‌ها، با استفاده از میکروتوم *Rotary microtom Shanden* برش هایی با ضخامت ۵-۷ میکرون تهیه شد. در خاتمه نمونه ها توسط هماتوکسیلین ائوزین (روش *Hariss*) رنگ آمیزی گردید *(10)*. نمونه بافت‌ها پس از رنگ آمیزی توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

نتایج و بحث:

به دلیل تماس مستقیم با آلاینده‌ها و همین‌طور سطح اپی تلیال گسترده آبشش ماهی یک ارگان هدف برای آلاینده‌ها می‌باشد. در نتیجه تغییرات ساختاری و فیزیولوژیک این بافت می¬تواند به عنوان یک شاخص در ارزیابی وضعیت آلودگی محیط به کار گرفته شود. در این میان مطالعات بافتی می¬تواند به عنوان یک ابزار برای بررسی ارتباط بین تماس بین آلاینده‌ها و پاسخ‌های بیولوژیک بکار روند *(3)*. بررسی های انجام شده روی آبشش ها در ماهی کپور معمولی در این تحقیق نشان دهنده وجود اکثر

www.SID.ir

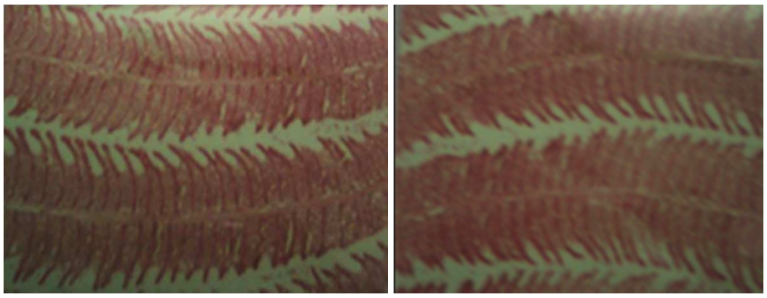
Archive of SID

علائم پاتولوزیک این اندام از جمله هیپرپلازی، چسبیدن رشته های ثانویه، پرخونی می باشد. به نظر می رسد چسبندگی رشته های ثانویه آبششی به یکدیگر ناشی از تغییر یا انعقاد موکوس از طریق تغییر در ترکیب گلیکوپروتئین موکوسی که در سطح سلولهای آبشش وجود دارد، باشد که توسط فلزات سنگین ایجاد می شود *(13)* . این امر باعث ایجاد شرایط هیپوکسی می شود که منجر به گرفتن اکسیژن از سطح آب توسط ماهی خواهد شد، لذا تماس رشته های آبششی با هوا یا اکسیژن باعث کلاپس و چسبندگی رشته ها شده و نهایتا موجب عدم جریان اب کافی از بین رشته ها و کاهش سطح تنفسی گردیده و ماهی دچار مشکل تنفسی می شود.

جدول ۲: غلظت کشنده *(LC50, mg L−1)* فلزات کادمیم، سرب و کروم در ماهی کپور معمولی

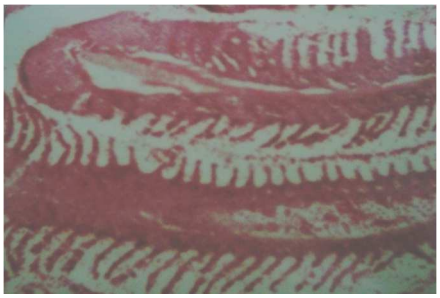
زمان (ساعت)	کادمیم	سرب	کروم
۲۴	۲۸۷/۴۷	۴۸۰/۶۴	۶۷/۸۴
۴۸	۱۳۷/۴۵	۲۲۸/۷	۳۳/۶۷
۷۲	۱۳۱/۳۸	۹۶/۱۹	۲۱/۲۴
۹۶	۸۴/۸	۶۲/۶	۲۰

جدول۲، غلظت کشنده *(LC50)* فلز کروم در ماهی کپور معمولی در چهار زمان اندازه‌گیری شدند.



شکل شماره ۱: تصویر میکروسکوپی از آبشش ماهی کپور معمولی (در مجاورت با کروم) *(درشتنمایی X=10)*.

در نمونه های شاهد کپور معمولی هیچگونه ضایعه میکروسکوپی بافتی در آبشش مشاهده نگردید.



شکل۲: تصویر میکروسکوپی از آبشش ماهی کپور معمولی (شاهد) *(درشتنمایی X=10)*.

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین در اثر تماس آبشش با فلزات سنگین، هیپرپلازی در سلولهای پوششی آبششی ایجاد می شود که ناشی از عدم توانایی سلولها در پوسته پوسته و تفکیک شدن می باشد که نتیجتا تقسیم سلولی یا میتوز افزایش می یابد *(2)*. هیپرپلازی رشته های آبششی بیشتر یک پاسخ بلند مدت سلولهای مالپیگی است که اغلب در مقابل میزان کم عوامل آسیب رسان اتفاق می افتد*(12)*. اتساع و پرخونی عروق نیز در آبشش ها دیده شده که بعنوان یک پاسخ حاد تلقی می شود. هیپرپلازی سلولهای پوششی و بهم چسبیدن تیغه های آبششی ثانویه بعنوان پاسخ های مزمن علیه فلزات سنگین ایجاد می شود. همچنین چماغی شدن تیغه ها نیز دلیلی بر تغییرات مزمن آبشش ها می باشد*(1)*.

نتیجه گیری کلی:

در این تحقیق، علائم میکروسکوپیک بیشتر نشان دهنده وضعیت مزمن آبشش ها با فلزات سنگین می باشد. بهر حال بنظر می رسد ضایعات بافتی در بین ماهیها عمدتا غیر اختصاصی هستند و نوع و طبقه بندی ماده سمی را بندرت می توان از طریق ضایعات مشاهده شده شناسایی کرد *(11)*. اگر چه نتایج این تحقیق نشان دهنده وضعیت نامطلوب اندام ابشش ماهی کپورمعمولی می باشد اما نمی توان گفت که این عوارض یقینا باعث مرگ ماهیها می شود ولی بهرحال روی رشد و زندگی ماهیهایی که در معرض دائمی مواد مسموم کننده هستند، تأثیر دارد. از نقطه نظر بهداشت عمومی نیز ماهیانی که در معرض دائمی چنین آلاینده هایی باشند چنانچه میزان این مواد در بدن آنها از حد مجاز و استاندارد بیشتر شود مصرف آنها می تواند برای انسان خطر آفرین و موجب بیماری باشد.

منابع:

۱. پوستی، ا.، و صدیق مروستی، س. ع.، ۱۳۷۸. اطلس بافت شناسی ماهی (ترجمه). موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۳۲۸ صفحه.

۲. رستمی بشمن، م.؛ سلطانی ، م. و ساسانی، ف.، ۱۳۷۹. مطالعه اثرات هیستوپاتولوژی برخی از فلزات سنگین (سولفات مس، سولفات روی، سولفات جیوه و کلرور کادمیوم) بر بافت های ماهی کپور معمولی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۵. شماره ۴، صفحات ۱ تا۳.

۳. سلاطی، امیر پرویز. فرشاد باغبان، آلبرتا ماندیچ، ۱۳۹۰، آسیب‌های بافتی آبشش در اثر تماس با ترکیبات استروژنی غیر استرادیول در کپور معمولی صید شده در رودخانه پو (ایتالیا)، اولین همایش ملی آبزی پروری ایران، بندر انزلی، صفحه ۱۱۸.

4. Abedi, Z., M. K. Khalesi, S. Kohestan Eskandari & H. Rahmani, 2012. Comparison of lethal concentrations (LC50-96 h) of CdCl2, CrCl 3, and Pb(NO3)2 in common carp (Cyprinus carpio) and sutchi catfish (Pangasius hypophthalmus). Iranian Journal of Toxicology, 6, 672–680.

5. Bhamre PR, Thorat AE, Desai AE, et al. Evaluation of acute toxicity of mercury, cadmium and zinc to a freshwater mussel Lamellidens consobrinus. Our Nature 2010; 8: 180-184.

6. Dybern B. Field sampling and preparation subsamples of aquatic organism for analysis metals and organochlorides. FAO Fisher Tech 1983; 212: 1-13.

7. Filazi, A., R. Baskaya & C. Kum, 2003. Metals concentration in tissues in black sea fish (Mugil auratus) from Sinup-Ikliman, Turkey. Human and Experimental Toxicology, 22, 85-87.

8. Finny D, editor. Probit analysis.Cambridge, England: Cambridge University Press; 1971: 8.

9. Finpederson, R; (1994) Ecotoxicological Evaluation of indutrial wast water, Ministry of the Envoronment, Denmark; 1994; pp.360-380.

www.SID.ir