

Original Article



A review of the pathological effects and mortality rates fish species exposed to copper toxicity by toxicity tests

Mohammad Farhangi^{1*} 

1. Faculty Member, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Article history:

Received: 4 February 2025
Revised: 18 April 2025
Accepted: 21 April 2025
ePublished: 27 April 2025

***Corresponding author:**
Mohammad Farhangi, Faculty Member, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

E-mail: s.farhangi@yahoo.com

Abstract

Cu is an essential micronutrient which is found in either water environment or fish diet. In addition, copper sulfate is an effective algicide for algal control in fish pond. Therefore, toxicity test seems to be necessary to predict the safe concentrations of chemicals in the environment. The experiments were conducted to compare pathology and mortality rate of fishes (*Cyprinus carpio*, *Rutilus caspicus*, *Onchorhynchus mykiss*) exposed to copper toxicity by toxicity tests. The total experiments were done by Water Static Method during 96 hours (4 days). Sulphate Copper salt was used as source of Cu ion. In total experiments, there was a group of fish as control (without Cu). The samples were derived from the kidney, liver, and gill of the fish for histopathological evaluation.

Various experiments revealed, the mortality rates of fish species exposed to copper toxicity are different based on the species, type of test (acute, chronic), duration of exposure, and type of toxicant. Rainbow trout are the most sensitive and common carp are the least sensitive to copper toxicity. In different experiments, histopathological findings showed that major lesions were hemorrhage, hyperemia, hyperplasia and epithelial cells necrosis, degenerated, expansion of Bowman's capsule and hepatocytes necrosis. It has been determined in all the studies, the pathological symptoms in the sampled tissues will increase with the increase in the concentration and exposure time to copper sulfate. Generally, the results have shown that the presence of toxic metals in water will cause behavioral and textural manifestations. By using toxicity tests, it is possible to determine the exact lethal dose of each species, to improve farm management and ecological studies.

Keywords: Pathology, Acute Toxicity, Copper Toxicity, Mortality Rate

Please cite this article as follows: Farhangi M. A review of the pathological effects and mortality rates fish species exposed to copper toxicity by toxicity tests. J Mar Biol, 2025; 17(1): 30–42. DOI:



Copyright © 2025 Journal of Marin Biology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite

مقاله اصلی

مروری بر اثرات آسیب‌شناسی و نرخ مرگ و میر گونه‌های مختلف ماهی در مواجهه با سمیت سولفات‌مس تحت آزمون‌های سمیت

محمد فرهنگی^{۱*} 

۱. عضو هیات علمی گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران.

چکیده

مس به‌عنوان یک ریزمغذی میکروالمنت برای ماهیان ضروری است که می‌توانند آن را از محیط آبی یا جیره غذایی به‌دست بیاورند. از طرف دیگر سولفات‌مس یک جلبک‌کش موثر برای کنترل جلبک در مزارع پرورش ماهی است. به‌همین منظور آزمایش سمیت برای پیش‌بینی غلظت‌های ایمن از مواد شیمیایی محیط‌زیست ضروری به‌نظر می‌رسد. هدف از مطالعه حاضر بررسی مقایسه آسیب‌شناسی و نرخ مرگ و میر گونه‌های مختلف ماهی (کیپور معمولی *Cyprinus carpio*؛ کلمه خزری *Rutilus caspicus*؛ قزل‌آلای رنگین‌کمان *Onchorhynchus mykiss*)، در مواجهه با سمیت مس تحت آزمون‌های سمیت بود. تمامی آزمایشات به روش آب‌ساکن و به‌مدت ۹۶ ساعت اجرا شده است. از نمک سولفات‌مس در آزمایشات استفاده شده است. در تمامی آزمایشات یک گروه به‌عنوان شاهد (بدون نظر گرفتن ماده سمی) در نظر گرفته شده است. جهت بررسی ضایعات ناشی از مسمومیت از بافت‌های کبد، کلیه و آبشش مقاطع بافتی تهیه شده است.

آزمایشات گوناگون نشان داد، نرخ مرگ و میر گونه‌های مختلف ماهی در مواجهه با سمیت‌مس، براساس گونه، نوع آزمایش (حاد، مزمن)، مدت زمان در معرض قرارگیری، نوع ماده سمی متفاوت می‌باشد. ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بیشترین میزان حساسیت و ماهی کیپور معمولی کمترین حساسیت را در مواجهه با سمیت مس دارند. در آزمایش‌های مختلف، یافته‌های هیستوپاتولوژیک نشان داد که ضایعات عمده در بافت‌ها شامل خونریزی، پرخونی، هیپرپلازی و نکروز سلول‌های اپیتلیال، دژنره شدن و نکروز سلول‌های کبدی است. در تمامی مطالعات مشخص شده است که با افزایش غلظت و زمان قرارگرفتن در معرض سولفات‌مس، علائم پاتولوژیک در بافت‌های نمونه‌برداری شده افزایش می‌یابد. بطور کلی نتایج نشان داده است، حضور فلزات سمی در آب سبب بروز تظاهرات رفتاری و بافتی خواهد شد. با استفاده از آزمون‌های سمیت، می‌توان ضمن تعیین دوز دقیق مرگ‌آور هر گونه، جهت اصلاح مدیریت مزارع و مطالعات اکولوژیکی بهره‌مند شد.

واژگان کلیدی: آسیب‌شناسی، مسمومیت حاد، سمیت‌مس، نرخ مرگ و میر

تاریخچه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۱۱/۱۶

تاریخ ویرایش مقاله: ۱۴۰۴/۱/۲۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۴/۲/۱

تاریخ انتشار مقاله: ۱۴۰۴/۲/۷

تمامی حقوق برای دانشگاه آزاد اهواز محفوظ است.

* نویسنده مسئول: محمد فرهنگی، عضو هیات علمی گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

ایمیل: s.farhangi@yahoo.com

استناد: فرهنگی، محمد. مروری بر اثرات آسیب‌شناسی و نرخ مرگ و میر گونه‌های مختلف ماهی در مواجهه با سمیت سولفات‌مس تحت آزمون‌های سمیت. مجله زیست

شناسی دریا، بهار ۱۴۰۴؛ ۱۷(۱): ۳۰-۴۲

مقدمه

مهمترین عامل که امروزه بیشترین توجه محافل علمی را به خود جلب نموده آلودگی محیط‌زیست به‌ویژه افزایش روزافزون فاضلاب‌های صنعتی می‌باشد. به‌طور کلی ماهیان در تماس مستقیم با آب پیرامون خود می‌باشند. از مهمترین پارامترهای متغیر آب در شرایط پرورشی عوامل شوری، دما، pH، نیترات و سولفات‌ها می‌باشند (هدایتی و همکاران، ۱۳۸۷). عناصر فلزی موجود در آب، در غلظت‌های بالا می‌توانند، مسمومیت‌های کشنده را در ماهی بوجود آورند. فلزات کمتر از یک درصد وزن بدن موجودات زنده را تشکیل می‌دهند، به‌طوریکه نوسانات غلظت آن سبب ناپایداری محیط و ایجاد اختلال در ماهی می‌شود (قنبری و همکاران، ۱۳۸۸). حضور مداوم املاح سنگین چنانچه بیش از اندازه باشد منجر به انباشته شدن این عنصر در بافت‌های بدن به‌خصوص کبد خواهد شد. مس نقش ساختاری و عملکردی فراوانی را در بسیاری از فرآیندهای متابولیکی از قبیل تولید هموگلوبین و نقش حیاتی در متابولیسم اکسیژن و بسیاری از سیستم‌های آنزیمی دارد (قنبری و همکاران، ۱۳۸۸). با توجه به اهمیت پرورش ماهیان گوناگون به لحاظ تامین پروتئین مورد نیاز هر منطقه و به‌منظور بالا بردن سطح زیرکشت همراه با کاهش در تلفات، و همچنین استفاده بیش از حد سموم کشاورزی، آفت‌کش‌های مختلف و مواد ضد جلبکی در کشور و افزایش درصد احتمال حضور در محیط‌های آبی از این طریق، لازم است تا دامنه و آستانه تحمل و مرگ‌آور بودن سموم برای انواع ماهیان مشخص شود. از این طریق می‌توان برنامه‌های مدیریتی مختلف را اعمال کرد. لذا در این تحقیق سعی شده است که به‌ویژه سمیت حاد فلز مس بر روی انواع گونه‌های ماهی مورد ارزیابی قرار داد.

مواد و روش‌ها

شرایط آزمایش

جهت انجام آزمایش‌های مسمومیت پس از تعیین سلامت ماهی از نظر ظاهری و رفتاری و سازگای ماهی با شرایط محیط، گونه‌های مختلف مورد استفاده (کپور معمولی *Cyprinus carpio*؛ کلمه خزری *Rutilus caspicus*؛ قزل‌آلای رنگین کمان *Onchorhynchus mykiss*)، در تمامی تحقیقات به‌صورت تصادفی در تست‌های آزمایشی جایابی شدند. مدت زمان آزمایش برای هر گروه ۹۶ ساعت (حاد) و بیش از ۹۶ ساعت (مزمن) بوده است. در این مدت درصد تلفات و علائم مسمومیت ثبت گردید. در پایان آزمایش غلظت‌های بی‌اثر (NOEC= No Observed Effect Concentration) کم‌اثر (LOEC= Lowest Observed Effect Concentration) و حداکثر غلظت مجاز (MATC= Maximum Allowable Toxicant) تعیین شدند (Sadeghi and Imanpour, 2015). آزمایش‌ها با استفاده از روش آب‌ساکن (W.S.M= Water Static Method) و بر اساس دستورالعمل استاندارد O.E.C.D صورت گرفت (TRC, 1984). در کلیه آزمایشات، تراکم ماهی (۱۱ الی ۱۳ عدد در هر تیمار) در ظروف آزمایشی به‌صورت فرد و بر اساس تراکم در واحد سطح بوده است. همواره یک گروه به‌عنوان شاهد و بدون در نظر گرفتن ماده سمی موردنظر بوده است. برای پیدا کردن محدوده کشندگی ترکیبات سمی علاوه بر مطالعات مقدماتی حاصل از تجربه سایر محققان، از یکسری غلظت‌های فرضی برای هر گروه به‌طور جداگانه، جهت برآورد میزان تلفات ماهی و شدت اثرپذیری ماهی در غلظت‌های نزدیک به آزمایش صورت گرفت. سپس جهت انجام آزمایش، پس از تعیین حجم آب و به ازای واحد حجمی، ماده سمی توزین و به آب اضافه شدند. جهت بررسی آسیب‌شناسی بافتی، از هر تیمار و تکرارهای آن ۳ عدد ماهی (در مجموع ۹ ماهی) انتخاب و نمونه‌هایی از کبد، کلیه و آبشش به‌صورت تصادفی به‌دست آمد. نمونه‌ها به‌طور جداگانه در ظرف‌های حاوی فرمالین ۱۰٪ فیکس و به آزمایشگاه بافت‌شناسی (پاتوبیولوژی-گرگان) انتقال و به‌روش مرسوم مقاطع بافتی توسط آزمایشگاه تهیه شد. از هر نمونه بافتی، سه نمونه لام به‌صورت مجزا تهیه شد. مقاطع بافتی تهیه شده به کمک رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (H&E)، آماده شدند (احمدی و همکاران، ۱۳۹۵). در نهایت تصاویر مقاطع تهیه شده توسط دوربین متصل به میکروسکوپ-نوری و نرم‌افزار 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;). آزمایش‌ها در طرح کاملاً تصادفی متعادل ۳×۶ اجرا گردید. جهت تعیین غلظت‌های کشنده از منحنی شیب درصدتلفات در غلظت‌های مختلف و بر اساس مدل میکایل-منتن (Green et al., 2018) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS, 15 استفاده شد.

نتایج

۱- نتایج حاصل از بررسی میزان سمیت و مرگ و میر ناشی از مس در انواع ماهیان

مطالعات مختلف صورت گرفته بر روی گونه‌های مختلف اثرپذیری متفاوتی از سولفات مس را نشان داده است. فرهنگی (۱۳۹۲) به بررسی میزان سمیت سولفات مس در ماهی کلمه خزری پرداخت. وی بیان داشت، تحت شرایط ثابت و هوادهی، غلظت کشنده سولفات مس برابر ۰/۴ میلی گرم در لیتر بدست آمده است. درصد تلفات ماهی با افزایش غلظت‌های مس بطور معنی‌داری در بین گروه‌های آزمایشی افزایش یافت ($P < 0.05$). غلظت نیمه‌کشنده مس برای ماهی کلمه در آزمایشات فرهنگی (۱۳۹۲) برابر ۰/۲۰۸ میلی گرم در لیتر در مدت ۹۶ ساعت به‌دست آمد. براساس مطالعات مختلف مشخص شده است که غلظت کشنده مس برای ماهیان از ۰/۲ تا ۱۰ میلی گرم در لیتر براساس سختی، pH، گونه و سن ماهی می‌تواند متفاوت باشد (Kazlauskienė, 200). Bello- Olusoji و Adebola (۲۰۰۶) در آزمایشات خود بر میگوی آب‌شیرین غلظت نیمه‌کشنده مس را در مدت ۹۶ ساعت برابر ۰/۱۵ میلی گرم در لیتر بدست آوردند. Vosylienė و Bagdonas (۲۰۰۶) غلظت نیمه‌کشنده مس را برای ماهی قزل آلائی رنگین‌کمان در مدت ۹۶ ساعت برابر ۰/۱۲۵ میلی گرم در لیتر بدست آوردند. Wong و همکاران (۱۹۹۷) اثرات سمیت دو عنصر روی و مس را بر روی دو گونه از کپورماهیان (کپور معمولی و کپور علفخوار) مورد مطالعه قرار دادند. آنها در مطالعات خود نشان دادند، ماهی کپور در مقابل مس حساس‌تر بوده درحالی‌که ماهی علفخوار به روی حساسیت بیشتری نشان داد. البته سمیت مس نسبت به روی به‌مراتب بیشتر است. مطالعات نشان می‌دهد، ماهیانی که به یک ماده حساسیت بیشتری نشان می‌دهند، نسبت به مواد دیگر حساسیت کمتری را ای یکسان نشان می‌دهند. Sajid و Javed (۲۰۰۶) اثر ۵ عنصر سمی روی، آهن، منیزیم، نیکل و سرب را بر روی ماهی *Catla catla* با سنین ۹۰ و ۶۰ و ۳۰ روزه بررسی کردند. آنها ضمن تعیین غلظت‌های نیمه‌کشنده فلزات مورد آزمایش بیان کردند، ماهیان جوان حساسیت بیشتری از خود نشان می‌دهند. به‌طوریکه در بررسی‌های به‌عمل آمده مشخص شد، ماهیان ۳۰ روزه حساسیت بیشتری از خود نشان می‌دهند. Sajid و Javed (۲۰۰۶) آزمایشات خود را تحت شرایط دمایی ۳۰ درجه سانتیگراد و pH برابر ۷/۱ اجرا نمودند. فرهنگی و جعفریان (۱۳۹۹) با مطالعه سمیت روی در ماهی کپور معمولی تحت شرایط ۹۶ ساعته بیان کردند غلظت کشنده مس برای ماهی کپور معمولی پس از ۹۶ ساعت برابر ۰/۴۵ میلی گرم در لیتر است. حسینی و همکاران (۱۳۹۴) محدوده کشندگی سولفات مس را برای بچه ماهی قزل آلائی رنگین‌کمان برابر ۱۰۰۰-۱ میلی گرم در لیتر به‌دست 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. Arunai و Balambiga (۲۰۱۱) میزان غلظت نیمه‌کشنده سولفات مس را در مدت ۷۲ ساعت در ماهی کپور معمولی ۸ میلی گرم در لیتر گزارش دادند. فرهنگی و همکاران (۲۰۲۲) اثرات حفاظتی و ایمنی عصاره سیر را در ماهی قزل آلائی رنگین‌کمان مواجهه شده با سمیت مس، مورد ارزیابی قرار دادند. آنها غلظت کشنده مس را برابر ۰/۴ میلی گرم در لیتر به‌دست آوردند (جدول ۱).

جدول ۱: علائم مختلف مواجهه با سولفات مس در گونه‌های مختلف ماهیان

گونه ماهی	غلظت کشنده LC96h	نیمه کشنده LC5096h	غلظت	علائم مسمومیت
			میلی گرم بر لیتر	

آنی گیجی و کاهش شدت تنفس، پرش از آب و در مرحله تاخیری بی‌رنگی پوست و نهایتاً مرگ	فرهنگی و جعفریان (۱۳۹۹)	۰/۲۰۸	۰/۴۵	کیپور معمولی
اتصال رشته‌های آبششی، سعی در بیرون پریدن ماهی از تشت‌های آزمایش، بلعیدن هوا از سطح و تشنجات عصبی	فرهنگی (۱۳۹۲) (Farhangi et al., 2014)	۰/۲۰۸	۰/۴	کلمه خزری
ادم، هیپرپلازی و (Hyperplasia) و نکروز سلولی بخصوص در سلول‌های کبدی	Bagdonas and Vosylienė (2006)	۰/۱۲۵	—	قزل‌آلای رنگین‌کمان
حرکات سریع شنا، افزایش حرکات سریع سرپوش‌های آبششی و اکسیژن‌گیری از سطح آب	Sajid and Javed (2006)	—	—	ماهی کاتلا
حرکات سریع شنا، افزایش حرکات سریع سرپوش‌های آبششی و اکسیژن‌گیری از سطح آب	Bello- Olusoji and Adebola	۰/۱۵	—	میگوی آب‌شیرین
هایپرپلازی رشته‌ها آبششی، اتساع کپسول بومن، و نکروز سلول‌های پوششی	Kazlauskienė, (2002)	۰/۱۰-۲	—	گونه‌های مختلف
هایپرپلازی رشته‌های آبششی، اتساع کپسول بومن، و نکروز سلول‌های پوششی	Wong et al. (1997)	—	—	کیپور علفخوار
حرکات سریع شنا، اکسیژن‌گیری از سطح آب	Hoseini and Nodeh (2012)	—	—	کلمه خزری
افزایش حرکات سریع سرپوش‌های آبششی هایپرپلازی رشته‌ها آبششی، اتساع کپسول بومن، و نکروز سلول‌های پوششی	Arunai and Balambiga (2011)		۸	کیپور معمولی

هایپرپلازی رشته‌ها آبششی، اتساع کپسول بومن، و نکروز سلول‌های پوششی	Farhangi et al. (2022)	-	۰/۴	قزل آلاهی رنگین کمان
ادم، هایپرپلازی، چسبندگی لاملاهای ثانویه و نکروز سلول‌های پوششی آبشش	عقبانی و همکاران (۱۳۸۸)	-	۵	کپور معمولی
پیکارپرسان و همکاران (۱۳۸۸)	۰/۱	-		کپور معمولی

۲- نتایج حاصل از بررسی اثرات آسیب‌شناسی مس در انواع ماهیان تحت سمیت

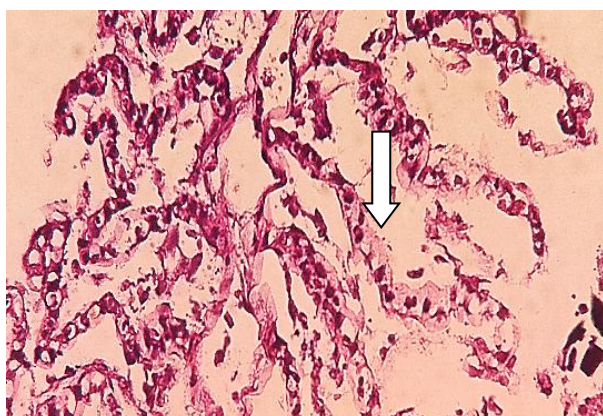
مطالعات بافت‌شناسی یکی از راه‌های موثر در بررسی آسیب‌های وارد شده در مسمومیت‌هاست. مطالعات نشان داده است با افزایش عناصر سمی در آب ضمن اثرات مستقیم سمیت مواد بر روی اندام‌های ماهی، این مواد به‌طور غیرمستقیم می‌توانند اثرات سمیت را تشدید کنند. این امر از طریق افزایش دفع آمونیاک توسط ماهی و کاهش شدید اکسیژنی، نتیجه استرس وارده به ماهی و تشدید مصرف اکسیژن توسط ماهی صورت می‌گیرد (Sajid and Javed, 2006). عواملی همچون کمبود اکسیژن، درجه حرارت و افزایش اسیدیته معمولاً حساسیت ماهی را به مواد سمی افزایش می‌دهد، در حالیکه مواد معدنی همچون سختی و شوری سبب کاهش سمیت مواد می‌شود (Witeska and Jezierska, 2003). غلظت‌های تاثیر گذار مواد سمی می‌توانند بر متابولیسم ماهی و کارایی بافت‌های ماهی تاثیر به‌سزایی بگذارند.

فرهنگی و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند، اثر مسمومیت شدید در شکل ظاهری، در دو مرحله آبی و تاخیری اتفاق می‌افتد. در مرحله آبی گیجی و کاهش شدت تنفس، پرش از آب و در مرحله تاخیری بی‌رنگی پوست و نهایتاً مرگ می‌باشد. فرهنگی (۱۳۹۲) با مطالعه بر روی آسیب‌شناسی مسمومیت با مس در ماهی کلمه‌خزری بیان کردند، علائم ظاهری مسمومیت با فلز مس در آزمایشات بصورت اتصال رشته‌های آبششی، سعی در بیرون پریدن ماهی از تشت‌های آزمایش، بلعیدن هوا از سطح و تشنجات عصبی بود. رنگ‌پریدگی در ماهی به‌وضوح مشخص بود و ماهیان در غلظت‌های بالا به‌شدت در اطراف سنگ‌های هوا تجمع کرده و سعی در بیرون پریدن از تشت‌ها را داشتند. عقبانی و همکاران (۱۳۸۸) اثرات سمیت مس را بر روی بافت کبد و آبشش ماهی کپور بررسی نمودند. آنها بیان داشتند، در غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس افزایش ترشح موکوس بر اثر رسوب مس مشاهده شد و بعد از ۹۶ ساعت در معرض قرار گرفتن تیمارها در مجاورت سولفات مس ۵ میلی‌گرم بر لیتر نمونه‌ها همه تلف شدند. در مطالعات کشت‌کارلنگرودی و تهرانی‌فرد (۱۳۹۷) و همچنین رزاقی‌قاضیانی و همکاران (۱۳۹۶) بر آبشش ماهیان قره‌برون 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 آبشش، شنای چرخشی، باز و بسته شدن سریع آبشش‌ها 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. این امر با یافته‌های ناجی و همکاران (۱۳۸۶)؛ همچنین Gul و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد.

فرهنگی و جعفریان (۱۳۹۹) با مطالعه سمیت روی در ماهی کپور معمولی تحت شرایط ۹۶ ساعته بیان کردند، بیشترین ضایعات ناشی از مسمومیت حاد مس شامل پرخونی، خون‌ریزی، هیپرپلازی، تخریب مجاری کلیوی و نکروز سلول‌های کبدی در تیمارهای با غلظت بالای مس مشاهده شد. آنها همچنین بیان کردند، در گروه شاهد ضایعه‌ای مشاهده نشد. آنها بیان کردند، پس از شروع آزمایش و تشدید مسمومیت، ماهیان اضطراب اولیه خود را با حرکات سریع شنه، 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. این تغییرات رفتاری با آزمایشات صورت گرفته توسط Bello- Olusoji

Olaifa and Adebola (۲۰۰۶) بر روی میگوی آب شیرین (*Caridina Africana*)، گربه‌ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* توسط Olaifa و همکاران (۲۰۱۰) و ماهی کاراس *Carassius auratus gibelio* توسط Boeck (۲۰۱۰) کاملاً مطابقت داشت. پیکارپرسان و همکاران (۱۴۰۳) کارایی عصاره هیدروالکلی زنیان (*Trachyspermum ammi*) را بر میزان ایمنی و مقاومت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با سولفات‌مس مورد ارزیابی قرار دادند. آنها پس از تغذیه ماهیان با زنیان طی دوره ۶۰ روزه، ماهیان را تحت استرس سم سولفات‌مس به مدت ۹۶ ساعت قرار گرفتند (۰/۱ میلی گرم در لیتر). آنها با بررسی مقاطع بافت آبشش نشان دادند، بیشترین ضایعات شامل ادم، هایپرپلازی، چسبندگی لاملاهای ثانویه و نکروز سلول‌های پوششی آبشش بود. البته ضایعات ایجاد شده گرچه در گروه شاهد هم قابل مشاهده بود لکن درجات ضایعات ایجاد شده در ماهیان تغذیه شده با زنیان بسیار کمتر بود و در مجموع، آنها بیان کردند که افزودن مکمل زنیان در رژیم غذایی می‌تواند ضمن بهبود عملکرد رشد، به عنوان یک استراتژی دفاعی در کاهش اثرات سمیت مس در بچه ماهی کپور معمولی مورد استفاده قرار گیرد. عملکرد مشابهی از کاربرد مکمل‌های گیاهی در کاهش سمیت مس در ماهی گزارش شده است. به عنوان مثال قاسمی و همکاران (۱۳۹۶) به بررسی اثرات تغذیه‌ای زردچوبه بر کاهش آسیب‌های کبدی و کلیوی ناشی از مواجهه با سولفات‌مس در ماهی کپور پرداختند. آنها بیان کردند، استفاده از مقادیر ۰/۵ تا ۲ درصد زردچوبه خوراکی در تغذیه ماهی، می‌تواند سبب کاهش محسوسی در بافت کبد در مواجهه با سولفات‌مس شود.

Bagdonas و Vasylienė (۲۰۰۶) با تعیین غلظت نیمه‌کشنده مس برای ماهی قزل آلا رنگین کمان در مدت ۹۶ ساعت، بیان کردند، بیشترین ضایعه رخ داده شده در آبشش ماهی شامل ادم، هایپرپلازی (*Hyperplasia*) و نکروز سلولی به‌خصوص در سلول‌های کبدی بود. Khunyakari و همکاران (۲۰۰۱) سمیت عناصر مس، روی و نیکل را بر روی ماهی *Poecilia reticulata* مورد مطالعه قرار دادند. آنها بیان کردند در ماهیانی که در معرض مواد سمی قرار گرفتند، ترشح موکوس افزایش یافته و دفع بیش از اندازه صورت می‌گیرد. Bagdonas و Vasylienė (۲۰۰۶) سمیت نیمه‌کشنده دو عنصر مس و روی و اثر متقابل این دو فلز را بر فاکتورهای خونی ماهی قزل آلا رنگین کمان بررسی کردند. آنها بیان کردند، اگرچه غلظت‌های نیمه‌کشنده مس و روی بر تعداد اریتروسیت خون ماهی قزل آلا رنگین کمان اختلاف معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان نداد، اما غلظت مخلوط نیمه‌کشنده مس و روی اختلاف معنی‌داری را در کاهش میزان اریتروسیت‌ها نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد. همچنین بیان کردند، اگرچه دو عنصر روی و مس سبب کاهش میزان گلبول‌های سفید در ماهی می‌شود، غلظت مخلوط این دو عنصر تا ۶۰٪ سبب کاهش گلبول‌های سفید مورد مطالعه می‌شود. فرهنگی و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند، ماهیان قزل آلا تغذیه شده با عصاره سیر پس از مواجهه به سولفات‌مس از نظر بافت‌شناسی و خون‌شناسی علایم متفاوت‌تری نسبت به ماهیان شاهد بودند. براساس نتایج، اختلاف معنی‌داری بین فاکتورهای هماتوکریت، مقادیر MCV و MCHC در بین تیمارها مشاهده شد ($p < 0.05$). مطالعه آسیب‌شناسی بافتی آنها نیز نشان داد، ضایعات اصلی شامل هایپرپلازی رشته‌ها آبششی، اتساع کپسول بومن، و نکروز سلول‌های پوششی در تمام ماهیان بود. در هر صورت نتایج ثابت کرد، استفاده از عصاره سیر در جیره غذایی می‌تواند جهت افزایش نرخ مقاومت ماهی در مواجهه با سمیت‌مس سودمند باشد (شکل‌های ۱ الی ۶).



ب

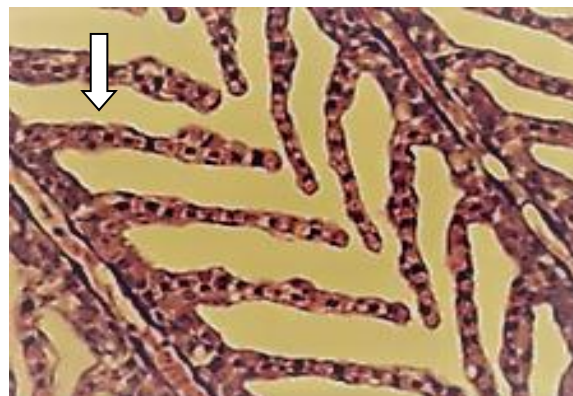


الف

شکل ۱: مقطع عرضی تهیه شده از آبشش ماهیان در معرض غلظت کشنده مس (فرهنگی و جعفریان، ۱۳۹۹؛ فرهنگی و همکاران، ۱۴۰۳). الف: ماهی کلمه‌خزری، نوک پیکان پرخونی را نشان می‌دهد. ب: ماهی قزل آلا، رنگین کمان، نوک پیکان نکروز کامل رشته‌های آبشش را نشان می‌دهد

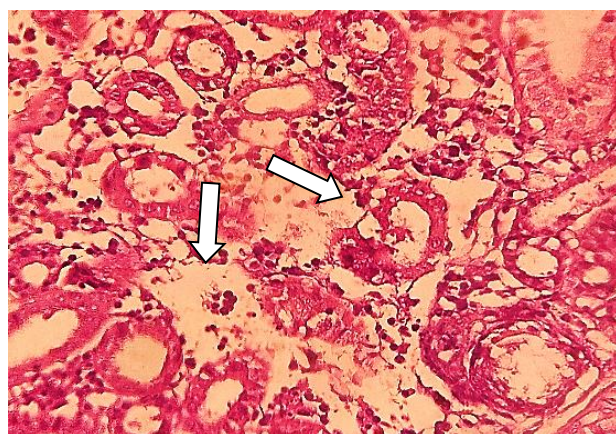


ب

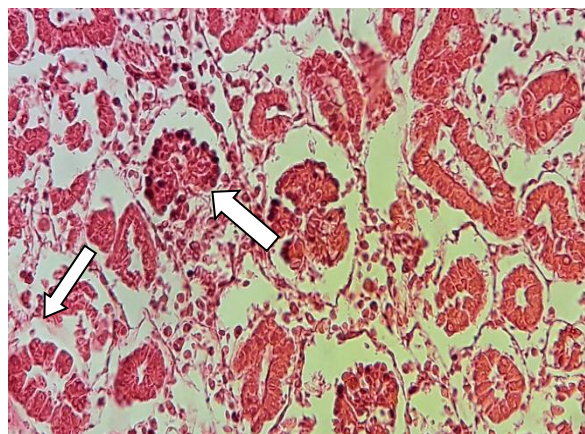


الف

شکل ۲: مقطع عرضی تهیه شده از آبشش ماهیان (فرهنگی و جعفریان، ۱۳۹۹؛ فرهنگی و همکاران، ۱۴۰۳). الف: ماهی کپور معمولی پس از قرارگیری در معرض غلظت کشنده سولفات مس. نوک پیکان چماغی شدن راس رشته‌های آبشش را نشان می‌دهد. ب: ماهی قزل آلا، رنگین کمان گروه شاهد، نوک پیکان لاملای اولیه و ثانویه سالم را نشان می‌دهد

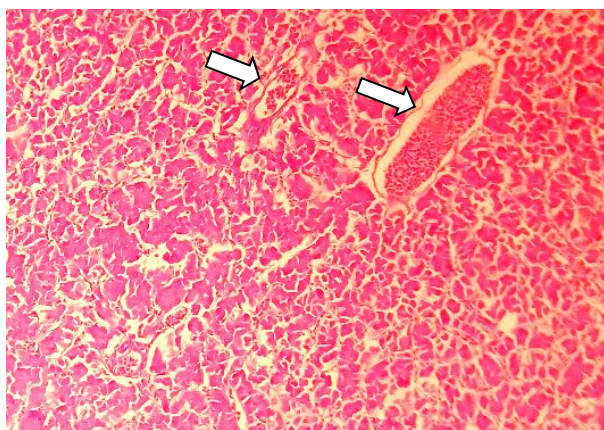


ب

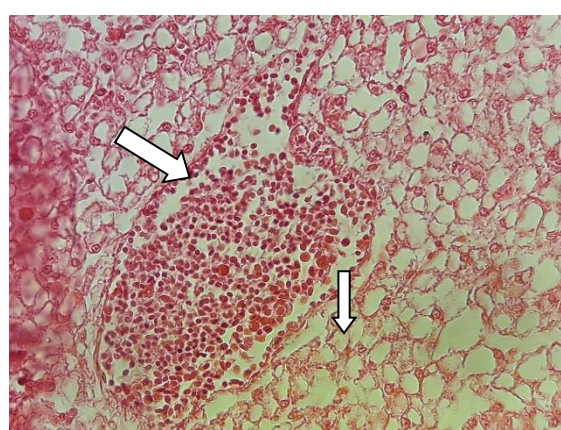


الف

شکل ۳: مقطع عرضی تهیه شده از کلیه ماهیان کلمه‌خزری پس از قرارگیری در معرض غلظت نیمه‌کشنده مس (فرهنگی و جعفریان، ۱۳۹۹؛ فرهنگ و همکاران، ۱۴۰۳). **الف:** ماهی کلمه‌خزری، نوک پیکان تخریب مجاری کلیوی و گلومرول‌ها را نشان می‌دهد. **ب:** ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (سولفات مس)، نوک پیکان منطقه تخریب مجاری کلیوی و حضور سلول‌های آماسی را نشان می‌دهد

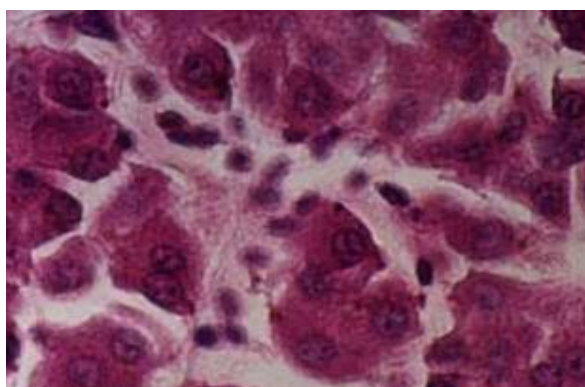


ب

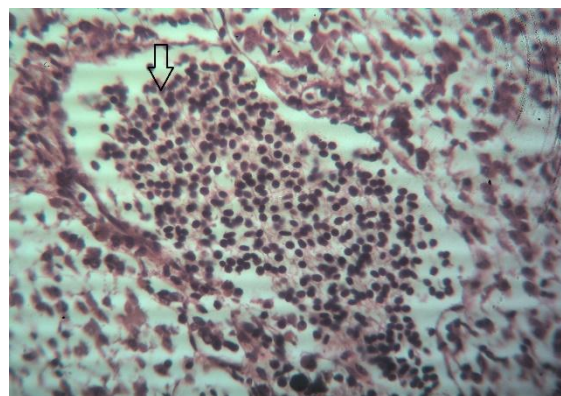


الف

شکل ۴: مقطع عرضی تهیه شده از کبد ماهیان پس از قرارگیری در معرض غلظت کشنده (فرهنگی و جعفریان، ۱۳۹۹؛ فرهنگ و همکاران، ۱۴۰۳). **الف:** ماهی کلمه‌خزری، نوک پیکان مرز نشینی هسته را نشان می‌دهد. **ب:** قزل‌آلای رنگین‌کمان (سولفات مس)، نوک پیکان رکود صفرا و خون‌ریزی را نشان می‌دهد

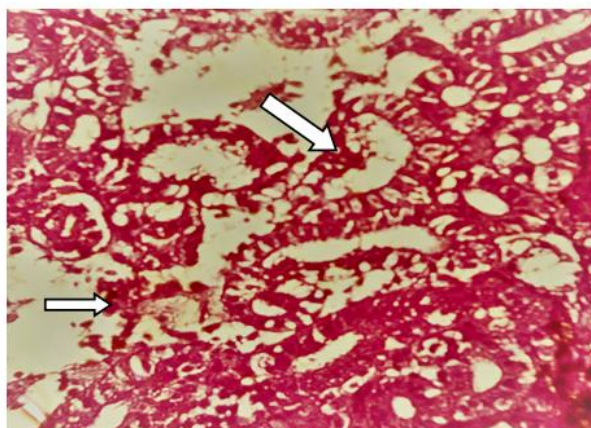


b

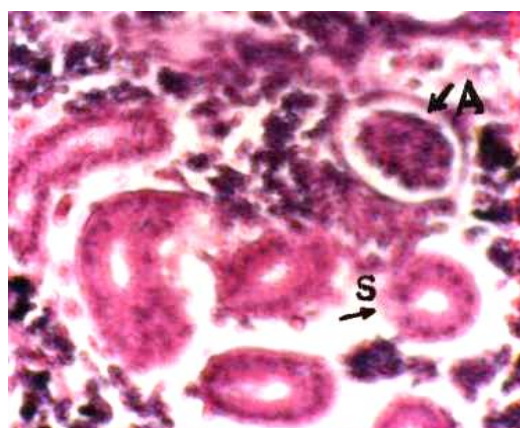


a

شکل ۵-ا: مقطع تهیه شده از کبد ماهیان کلمه‌خزری که در معرض غلظت کشنده مس (4×10^{-4} میلی گرم در لیتر) قرار داشتند (فرهنگی و جعفریان، ۱۳۹۹؛ فرهنگی و همکاران، ۱۴۰۳). نوک پیکان‌ها تجمع سلول‌های آماسی را در بین سلول‌های کبدی را نشان می‌دهد (بزرگنمایی $200 \times$). b: بافت کبد ماهی در غلظت کشنده سولفات مس بدون عصاره‌سیر. نوک پیکان‌ها تخریب سلول‌های کبدی و نفوذ سلول‌های آماسی را نشان می‌دهد (رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین - ائوزین، بزرگنمایی $400 \times$)



ب



الف

شکل ۶: بافت کلیه ماهی شاهد (الف)؛ بافت ماهی در معرض غلظت کشنده سولفات مس (ب) (فرهنگی و همکاران، ۱۴۰۳؛ Farhangi et al., 2021). الف - A: نمایش گلومرول سالم؛ S: نمایش مجاری کلیوی سالم؛ ب: نمایش تخریب مجاری کلیوی (رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین - ائوزین، بزرگنمایی $400 \times$)

بحث و نتیجه‌گیری

در تعیین دامنه کشندگی، تحت کشندگی و اثرات آسیب‌شناسی سمیت‌های سولفات مس در ماهیان مختلف هدف مورد مطالعه حاضر بود. در اکثر مطالعات صورت گرفته نشانه‌های ظاهری مسمومیت با فلز مس در آزمایشات به شکل رنگ‌پریدگی، تجمع در اطراف سنگ‌های هوا، پرخونی رشته‌های آبششی، سعی در بیرون پریدن ماهی از تشت‌های آزمایش و بلعیدن هوا از سطح بود. مطالعات مختلف این امر را تایید می‌کند.

Besser و همکاران (۲۰۰۹) حساسیت دو گونه ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) و ماهی کوتوس (*Cottus bairdi*) را نسبت به مس، روی و کادمیوم مورد ارزیابی قرار دادند. براساس نتایج حساسیت گروه‌های تازه هچ شده در سمیت حاد و نیمه حاد بیشتر بود تا مراحل بالاتر. ضمن اینکه ماهی قزل آلائی رنگین کمان حساسیت بیشتری نسبت به گونه کوتوس نشان داد. Calfee و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی سمیت حاد مس، روی و کادمیوم در مراحل مختلف رشدی دو گونه ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) و استروژن سفید (*Acipenser transmontanus*) پرداختند. آنها بیان کردند که قزل آلائی رنگین کمان نسبت به کادمیوم در تمامی مراحل زندگی حساس تر از ماهی خاویاری سفید بود. ماهی خاویاری در مراحل ۵ و ۷ رشدی از حساسیت بیشتری در برابر فلز مس در مقایسه با قزل آلا داشت، با این حال در ادامه مراحل رشدی ماهی قزل آلائی رنگین کمان مسن تر حساسیت بیشتری را نسبت به مس نشان دادند.

Zeng و همکاران (۲۰۱۸) سمیت نیمه کشنده روی را طی ۹۶ ساعت برای ماهی آب شیرین *Percocypris pingi* برابر ۲/۸۵۲ میلی گرم در لیتر بدست آوردند. این در حالی است که آنها سمیت فلز مس را در مقایسه با فلز روی برای گونه موردنظر برابر ۱/۳۴۰ میلی گرم در لیتر بدست آوردند. این بدان معناست که سمیت مس در مقایسه با روی بیشتر و کشنده تر است. Farhangi و همکاران (۲۰۲۲) با مطالعه سمیت فلز مس در ماهی قزل آلائی کمان، غلظت نیمه کشنده مس را در مدت ۹۶ ساعت برابر ۰/۱۸۶ میلی گرم در لیتر بدست آوردند. با مقایسه سمیت دو فلز روی و مس بر ماهی کلمه خزری و قزل آلائی رنگین کمان با شرایط برابر می توان به سمیت بسیار بالای مس در مقابل روی اشاره کرد.

مطالعات مختلف بیانگر آن است که با افزایش غلظت یک ماده سمی و طول زمان در معرض قرارگیری نرخ بقاء کاهش می یابد. یکی از دلایل عمده می توند به دلیل عملکرد فلزات سنگین بر افزایش واکنش پذیری انواع گروه های اکسیژنی باشد (ROS, Reactive Oxygen Species) همچون پراکسید هیدروژن، رادیکال های سوپراکسید و هیدروکسیل که سبب آسیب زنی به متابولیسم طبیعی فرایند اکسیداتیو و در نهایت استرس اکسیداتیو در ماهی ها می شود (Lushchak, 2011). با مطالعه تحقیقات مختلف، تفاوت هایی در غلظت کشنده فلز مس بر روی گونه های ماهی به دست آمده است که هر کدام تحت شرایط متفاوتی بوده است. به بیان دیگر، تفاوت در فاکتورهای آزمایشی (دما، سختی و pH) و تفاوت های گونه ای (جنس، گونه، سایز) در این امر دخیل بوده است. باشد.

مطالعات نشان داده است با افزایش فلزات سمی در آب ضمن اثرات مستقیم سمیت مواد بر روی اندام های ماهی، گاهی حضور متعدد عناصر با غلظت های پایین که توانایی کشندگی ماهی را ندارند، می توانند با تاثیر غیرمستقیم (سینرژتیک) باعث شدت اثر آن ماده شود، به طوریکه قادر به تلفات در ماهی شود. هرچند عوامل محیطی همچون کمبود اکسیژن، درجه حرارت و افزایش اسیدیته معمولا حساسیت ماهی را به مواد سمی افزایش داده، درحالیکه مواد معدنی همچون سختی و شوری سبب کاهش سمیت مواد می شود (فرهنگی و جعفریان، ۱۳۹۹).

Naddy و همکاران (۲۰۱۴) اثرات سمیت چند فلز کادمیوم، مس و روی را بر روی ماهی قزل آلائی رنگین کمان و دافنی مورد مطالعه قرار دادند. آنها بیان کردند محیط های آبی تحت تاثیر غلظت های مخلوطی از سموم هستند که اثرات سینرژیکی آنها به شکل سمیت بالا بروز می کند. Kumara و همکاران (۲۰۲۱) اثر سینرژتیک درجه حرارت و نانوذره روی را در ماهی *Pangasianodon hypophthalmus* بررسی کردند. آنها ثابت کردند که اثرات درجه حرارت بر سمیت فلز نانوذره روی به شکل افزایشی است، به طوریکه غلظت نیمه کشنده نانوذره روی در مدت ۹۶ ساعت به تنهایی برابر ۲۱/۸۹ میلی گرم در لیتر است ولی در دمای بالاتر (۳۰ درجه) برابر ۱۹/۷۴ میلی گرم در لیتر است. این امر سبب استرس اکسیداتیو بیشتر در ماهیان مورد آزمایش شد.

در شرایط آزمایشگاهی به کمک آلاینده های مختلف که سبب آسیب های بافتی مشخصی در اندام های ماهی می شوند، می توان از آنها به عنوان نشانگر زیستی به منظور بررسی وجود آلاینده ها در اکوسیستم های طبیعی استفاده کرد. آلاینده های شیمیایی اندام های مختلفی از جمله آبشش ها، کلیه و کبد را تحریک می کنند و این بافت ها ارائه دهنده یک ابزار مفید جهت سنجش تاثیرات آلاینده های خارجی هستند. بنابراین مطالعات آسیب شناسی منعکس کننده شرایط زیستی، محیطی و سلامت ماهی می باشد. مطالعات صورت گرفته توسط محقق (فرهنگی و همکاران

طی سال‌های مختلف) مشخص شد، واکنش گونه‌های مختلف ماهی در شرایط متفاوت به سولفات‌مس کاملاً متفاوت است که این تفاوت وابستگی کامل به حساسیت گونه‌ها (کپور به‌عنوان گونه مقاوم، قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌عنوان گونه حساس) و شرایط محیطی (پارامترهای محیط و کیفی آب به‌ویژه سختی آب) دارد. همچنین مشخص است رفتارهای ظاهری مسمومیت با عناصر سمی می‌تواند نتیجه تغییرات ساختاری اندام‌های داخلی ماهی باشد.

References

- ۱- احمدی، ن.، نعیمی، ا.س.، نظرحقیقی، ف.، و غفوری، ح.، ۱۳۹۵. اثرات نیمه‌مزمّن نانوذره‌ی اکسیدمس بر برخی پارامترهای خونی و بافت آبشش (*Cyprinus carpio*) بچه‌ماهی کپور معمولی، نشریه توسعه‌آبزی پروری، ۱۰ (۴)، ۱-۱۴.
- ۲- پیکارپرسان، ا.، فرهنگی، م.، آدینه، ح.، مازندرانی، م. و علیزاده، م.، ۱۴۰۳. کارآیی عصاره هیدروالکلی زنبان (*Trachyspermum ammi*) بر میزان ایمنی و مقاومت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با سولفات‌مس. پژوهش‌های جانوری، ۳۷ (۱): ۳۱-۱۶.
- ۳- عتباتی، آ.، کیخسروی، ع. و وطن‌دوست، ج.، ۱۳۸۸. بررسی اثرات سمی غلظت‌های مختلف فلزات روی و مس بر بافت کبد و آبشش ماهی کپور معمولی. دوازدهمین همایش ملی بهداشت محیط ایران، آبان‌ماه ۱۳۸۸.
- ۴- رزاقی‌قاضیانی، م.، ایمانپورنمین، ج. و پژند، ذ.، ۱۳۹۶. غلظت کشندگی حشره‌کش دیازینون و اثرات آن روی پارامترهای خونی، بافت کبد و آبشش بچه ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*). نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۱ (۲)، ۴۹-۶۰.
- ۵- کشتکارلنگرودی، ا. و تهرانی‌فرد، ا.، ۱۳۹۷. تاثیر زیر حدکشندگی سم دیازینون بر پارامترهای خونی و بافت‌های آبشش و عضله بچه ماهی قره‌برون، نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۲ (۳)، ۱۱۹-۱۲۹.
- ۶- فرهنگی، م.، ۱۳۹۲. مطالعات رفتاری و آسیب‌شناسی مسمومیت‌حاد با مس در ماهی کلمه *Rutilus rutilus caspicus* محیط‌زیست جانوری، ۵ (۱): ۱۵۴-۱۴۵.
- ۷- فرهنگی، م.، جعفریان، ح.، ۱۳۹۹. ارزیابی تغییرات بافتی ماهی کپور *Cyprinus carpio* و کلمه *Rutilus caspicus* تحت سمیت‌حاد با سولفات‌مس. توسعه آبزی‌پروری، ۱۴ (۴): ۸۵-۷۳.
- ۸- فرهنگی، م.، جعفریان، ح.، آدینه، ح. و کردجی، ض.، ۱۴۰۳. تغییرات رفتاری و آسیب‌شناسی بافتی ماهی کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus caspicus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه با مسمومیت ناشی از فلز روی. مجله زیست‌شناسی دریا، ۱۶ (۱): ۵۵-۴۱.
- ۹- قاسمی، ا.، مازندرانی، م.، سوداگر، م. و حسینی، س.م.، ۱۳۹۶. اثرات تغذیه‌ای زرچوبه (*Curcuma longa*) بر کاهش آسیب‌های کبدی و کلیوی ناشی از مواجهه با مس در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). شیلات، منابع طبیعی ایران، ۷۰ (۲): ۱۴۷-۱۳۸.
- ۱۰- قنبری، م.، جامی، م.، نقدی، م. و شهریار، م.، ۱۳۸۸. تاثیرات دراز مدت تغییرات pH آب بر شاخص‌های خونی بچه ماهیان کپور. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۲ (۱): ۱۴۳-۱۵۰.
- ۱۱- ناجی، ط.، صفائیان، ش.، رستمی، م. و صبرجو، م.، ۱۳۸۶. بررسی اثرات سولفات‌روی بر بافت آبشش بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). علوم و تکنولوژی محیط‌زیست، ۹ (۲۵): ۳۶-۲۹.
- ۱۲- هدایتی، س.ع.، باقری، ط.، یآوری، بهمنی، م. و علیزاده، م.، ۱۳۸۷. بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خونی فیل ماهیان پرورشی. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۱ (۴): ۶۵۸-۶۱-۴.

13- Bagdonas, E. and Vosylienė, M.Z., 2006. A study of toxicity and genotoxicity of copper, zinc and their mixture to rainbow trout. *Biologi.JA.*, 1: 8-13.

14- 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.

- 15- Bello- Olusoji, O.A. and 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 .
- 16- Besser, J.M., Mebane, CH. A., Mount, D.R., Ivey, CH.D., Kunz, J.L., Greer, I.E., May, T.W. and Ingersoll, CH.G., 2009. Sensitivity of mottled sculpinus (*Cottus bairdi*) and Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) to acute and chronic toxicity of cadmium and zinc. Environmental Toxicology and Chemistry, 26 (80): 1657-1665.
- 17- Boeck, G., Smolders, R. and 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.
- 18- Calfee, R.D., Little, E.L., Puglis, H.J., Scott, E., Brumbaugh, W.G. and Mebane, CH.A., 2014. Acute sensitivity of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to copper, cadmium, or zinc water-only laboratory exposures. Environmental Toxicology and Chemistry, 33 (10): 2259–2272.
- 19- Farhangi, M., Gholipour Kanani, H., Aliakbariyan, A., Kashani, M. 2014. Effect of Copper Sulphate on behavioral and histopathological changes in roach, *Rutilus rutilus caspicus*. Caspian J. Env. Sci., 12(1): 73-79.
- 20- Farhangi, M, Adineh, H., and Harsij, M., 2022. Protective, immunity and histopathological effect of garlic extract (*Allium sativum*) on exposed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to acute toxicity of copper (Cu²⁺). Iranian journal of Veterinary Science and Technology, 3(11); 31-42.
- 21- Green, J.W., Speinger, T.M. and Holbech, H., 2018. Statical analysis of ecotoxicity studies. John Wiley & Sons, USA. 392P.
- 22- Gul, A.; Yilmaz, M. and Isilak, Z., 2009. Acute Toxicity of Zinc Sulphate (ZnSO₄.H₂O) to Guppies (*Poecilia reticulata*). Journal of Science, 22(2), 59-65 .
- 23- 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
- 24- Kazlauskienė, N., 2002. Long- term effect of copper on sea trout (*Salmo trutta trutta*) in early ontogenesis. Ecologi JA., Nr. 2: 65-69 .
- 25- Khunyakari, R.P., Vrushali, T., Sharma, R.N. and Tare, V., 2001. Effects of some trace heavy metals on *Poecilia reticulata*”. J.Environ. Biol., 22 (2): 141- 144.
- 26- Kumara, N., Kumar Chandan, N., Wakechaure, G.C. and Singha, N.P., 2020. Synergistic effect of zinc nanoparticles and temperature on acute toxicity with response to biochemical markers and histopathological attributes in fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology, 229: Abstract.
- 27- Lushchak, V.I., 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. Aquat Toxicol, 101: 13-30.
- 28- Martoja, R. and Martoja-Pierson, M., 1974. Initiation Aux Techniques de l histology animale. 1rd ed. Paris: Masson et Cie; 345 p.
- 29- Naddy, R.B., Cohen, A.S. and Stubblefield, W.A., 2014. The interactive toxicity of cadmium, copper, and zinc to *Ceriodaphnia dubia* and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environmental Toxicology and Chemistry, 34 (4): 809-815.
- 30- 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.
- 31- Ramírez-Duarte, W.F., Rondón-Barragán, I.S., Pedro, R. and 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.
- 32- Roberts, R.J., 2012. Fish pathology. 4th edition. Wiley-Blackwell, UK. 590 p.
- 33- Sadeghi, A. and Imanpour, M.R., 2015. Investigation of LC₅₀, NOEC, and LOEC of Oxadiazon, Deltamethrin and Malathion on Platy Fish (*Xiphophorus Maculatus*). Iranian Journal of Toxicology, 9 (28): 1271-1276.
- 34- Sajid, A. and Javed, M., 2006. Studies on acute toxicity of metals to the fish catla catla. Pakistan journal of biological sciences, 9(9): 1807-1811.

- 35- TRC., 1984. OECD Guideline for testing of chemical, Section 2, Effects on biotic systems. OECD. 39P.
- 36- Witeska, M. and Jezierska, B., 2003. The effect of environmental factors on metal toxicity to fish. Fresenius Environ.vBull., pp: 824- 829 .
- 37- Wong, M.H., Luk, K.C. and Choi, K.Y., 1977. The effects of zinc and copper salts on *Cyprinus carpio* and *Ctenopharyngodon idellus*. Acta Anatomica, 99 (4): 450-454.
- 38- Zeng, L., Huang, L., Zhao, M., Liu, SH., He, ZH., Feng, J., Qin, CH. and Yuan, D., 2018. Acute toxicity of zinc sulfate heptahydrate ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) and copper (II) sulfate pent hydrate ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) on freshwater fish, *Percocypris pingi*. Fisheries and Aquaculture Journal, 9 (1): 1-5.