

Original Article



The behavioral and histopathological changes of roach, (*Rutilus rutilus caspicus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) laboratory exposures to Zinc toxicity

Mohammad Farhangi^{1*} , Hojjatallah Jafaryan¹ , Hossein Adineh¹ , Zia Kordjazi¹ 

1. Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Golestan, Iran.

Article history:

Received: 18 December 2022
Revised: 25 January 2024
Accepted: 26 January 2024
ePublished: 22 April 2024

*Corresponding

Mohammad Farhangi,
Agricultural Research,
Department of Fisheries, Faculty
of Agriculture and Natural
Resources, Gonbad Kavous
University, Gonbad Kavous,
Golestan, Iran.

E-mail: s.farhangi@yahoo.com

author:

Abstract

The present study was conducted in order to study the behavioral changes and histopathology of Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to zinc sulfate in a 96-hour poisoning test. Experiments were carried out in the fisheries laboratory of Gonbad kavous University during 2020 to 2021. Caspian roach fish fry with an average weight of 2.5 ± 0.27 g and rainbow trout with an average weight of 6.18 ± 1.31 g were used for the experiments. In order to determine the behavioral and pathological changes, 13 juveniles of Caspian roach and rainbow trout were exposed to zinc metal concentrations of 0, 10, 30, 50, 70, 80, 90 and 23, 21, 18, 15, 10, 5, 0 mg/l, respectively. One group was considered as a control. Zinc sulfate salt was used as a source of zinc metal. The test tanks were aerated for 24 hours so that the amount of dissolved oxygen remained at saturation level. Samples of gill tissue, kidney and liver were collected and evaluated. Complete mortality (100%) was obtained at concentrations of 90 and 21 mg/l for Caspian roach and rainbow trout, respectively. The results of the experiment showed that the lowest concentration that caused losses in fish (LOEC) was 5 and 30 mg/l for rainbow trout and Caspian roach in 96 hours respectively. Also, the results showed that at a concentration of 10 mg/l of zinc sulfate, no losses were observed for the Caspian roach (NOEC), however at the same concentration (10 mg/l), 38.46 % of losses occurred for rainbow trout. Based on the probit, LC50, 96h for Caspian roach and rainbow trout were 51.354 and 11.54 mg/l, respectively. The external observations of the fry in the presence of zinc generally included vertical and downward swimming, loss of balance, nervous convulsions, and staying at the bottom of the tank. Finally, the fish died with their mouths and caps open. In pathological examinations of gill organs, kidney and liver, the most lesions were bleeding, hyperplasia, hyperplasia and necrosis of gill covering cells, destruction of renal ducts, expansion of Bowman's capsule and necrosis of liver cells. However, the experiment showed that the presence of zinc in the water can increase the mortality rate of fish in contact with zinc. In general, the results of such tests will be very useful for ecological risk assessment.

Keywords: Zinc salt, Mortality percentage, Histopathology, *Oncorhynchus mykiss*, *Rutilus rutilus caspicus*.

Please cite this article as follows: Farhangi M; Jafaryan H; Adineh H; Kordjazi Z. The behavioral and histopathological changes of roach, (*Rutilus rutilus caspicus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) laboratory exposures to Zinc toxicity. J Marin Bio, 2024; 16(1): 41-55. DOI:



Copyright © 2024 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

تغییرات رفتاری و آسیب‌شناسی بافتی ماهی کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه با مسمومیت ناشی از فلز روی

محمد فرهنگی^{۱*}، حجت‌اله جعفریان^۱، حسین آدینه^۱، ضیاء کردجزی^۱

۱. عضو هیات علمی گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس.

چکیده

تحقیق حاضر به منظور مطالعه تغییرات رفتاری و آسیب‌شناسی بافتی ماهی کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus caspicus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه با سولفات‌روی در آزمایش مسمومیت ۹۶ ساعته صورت گرفت. آزمایشات در آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد کاووس در محدوده زمانی ۱۳۹۹ تا ۱۴۰۰ اجرا شد. بچه ماهیان کلمه‌خزری با وزن متوسط $27 \pm 2/5$ گرم و قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط $31 \pm 1/3$ گرم جهت انجام آزمایشات استفاده شد. برای تعیین تغییرات رفتاری و آسیب‌شناسی، ۱۳ بچه‌ماهی کلمه‌خزری و قزل‌آلای رنگین‌کمان در معرض غلظت‌هایی از فلز روی به ترتیب ۰، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ میلی‌گرم در لیتر برای کلمه‌خزری و ۲۳، ۲۱، ۱۸، ۱۵، ۱۰، ۵، ۰ میلی‌گرم در لیتر برای قزل‌آلای رنگین‌کمان قرار گرفتند. یک گروه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. از نمک سولفات‌روی به منظور منبع فلز روی استفاده شد. تانک‌های آزمایشی در مدت ۲۴ ساعت هوادهی شدند تا میزان اکسیژن محلول در حد اشباع باقی بماند. نمونه‌هایی از بافت آبشش، کلیه و کبد جمع‌آوری و مورد ارزیابی قرار گرفتند. مرگ و میر کامل (۱۰۰٪) در غلظت‌های ۹۰ و ۲۱ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب برای کلمه‌خزری و قزل‌آلای رنگین‌کمان به دست آمد. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که کمترین غلظتی که سبب تلفات در ماهی شد (LOEC)، به ترتیب برابر ۵ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر برای قزل‌آلای رنگین‌کمان و کلمه‌خزری در مدت ۹۶ ساعت به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از سولفات‌روی برای کلمه‌خزری هیچگونه تلفاتی مشاهده نشد (NOEC). این در حالی است که در همین غلظت (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برابر ۳۸/۴۶ درصد تلفات رخ داد. براساس جدول پربویت، میزان LC50,96h برای ماهی کلمه‌خزری و قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب برابر ۵۱/۳۵۴ و ۱۱/۵۴ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. مشاهدات ظاهری بچه ماهیان در مواجهه با روی عموماً شامل شل شدن عمودی و به سمت پایین، از دست دادن حالت تعادل، تشنجات عصبی و ماندن در ته مخزن آب بود. در نهایت ماهیان با دهان و سرپوش باز تلف شدند. در بررسی آسیب‌شناسی اندام‌های آبشش، کلیه و کبد بیشترین ضایعات شامل خونریزی، پرخونی، هیپرپلازی و نکروز سلول‌های پوششی آبشش، تخریب مجاری کلیوی، اتساع کپسول بومن و نکروز سلول‌های کبدی بود. آزمایش نشان داد که وجود روی در آب می‌تواند سبب افزایش میزان مرگ و میر ماهیان در مواجهه با فلز روی باشد. به طور کلی نتایج چنین آزمایشاتی جهت ارزیابی ریسک اکولوژیک مفید خواهد بود.

واژگان کلیدی: روی، مرگ و میر، آسیب‌شناسی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، کلمه‌خزری.

تاریخچه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۹/۲۷

تاریخ ویرایش مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۶

تاریخ انتشار مقاله: ۱۴۰۲/۲/۳

تمامی حقوق برای دانشگاه آزاد اهواز محفوظ است.

* نویسنده مسئول: رحیمه رحمتی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، فرح‌آباد، ساری، ایران

ایمیل: s.farhangi@yahoo.com

استناد: فرهنگی، محمد؛ جعفریان، حجت‌اله؛ آدینه، حسین؛ کردجزی، ضیاء. 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، بهار ۱۴۰۳؛ ۱۶(۱): ۴۱-۵۵

مقدمه

روی (Zinc) به‌عنوان یک عنصر ضروری برای رشد و نمو گیاهان نقش ساختاری و عملکردی فراوانی را در بسیاری از فرآیندهای متابولیک دارد و همچنین به‌عنوان یک فلز نادر در فرآیندهای متابولیسم ماهی نقش دارد و می‌تواند به‌عنوان یک کوفاکتور آنزیم‌های مختلف از جمله آلکالین فسفاتاز، الکل دهیدروژناز، سوپراکسید دیسموتاز و کربونیک آنیدراز عمل کند (دکانی و جوهری، ۱۳۹۵). عنصر روی در مقادیر بالاتر از نیاز زیستی برای آبزیان سمی است. افزایش سطوح روی در اکوسیستم‌های آبی می‌تواند بر اثر تخلیه پساب‌های صنعتی و رسوب روی از طریق اتمسفر، شستشوی فاضلاب‌های محلی و مواد زائد فعالیت‌های معدنی، آفت‌کش‌ها و فرآیندهای گالوانیزاسیون باشد (Yim and Kim, 2006). آزمون‌های زیست‌سنجی روش موثری در ارزیابی میزان سمیت فلزات در آبزیان است که در علم سم‌شناسی مورد توجه قرار می‌گیرد. به‌طور کلی سمیت یک آلاینده از طریق سنجش زیستی ارزیابی می‌گردد که بوسیله آن غلظت لازم جهت ایجاد تلفات نیمی از موجودات مورد آزمایش در یک دوره زمانی مشخص (کوتاه‌مدت و بلندمدت) معلوم می‌شود (Hedayati et al., 2016). آلاینده‌های مختلف سبب آسیب‌های بافتی مشخصی در اندام‌های ماهی‌ها می‌شوند که با تعیین این نوع آسیب‌ها، می‌توان از آن‌ها به‌عنوان نشانگرهای زیستی به‌منظور بررسی وجود آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های طبیعی استفاده کرد. در این رابطه ماهی یکی از مهمترین موجودات آبی است که به‌علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند، به‌همین دلیل جهت انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی در بعد وسیعی از آنها استفاده می‌گردد و با توجه به حساسیت گونه‌های مختلف ماهی به مواد سمی، ضروری است تا آزمایش‌های سم‌شناسی برای ماهیان مختلف صورت گیرد. در آزمایش فوق از دو گونه مهم ماهی، قزل‌آلای رنگین‌کمان به عنوان گونه اول پرورشی و ماهی کلمه‌خزری به عنوان یکی از گونه‌های در معرض تهدید استفاده شد (رهنما و همکاران، ۱۳۹۸). با توجه به حضور فلزاتی چون روی و مس در منابع آبی منتهی به دریای خزر (باقری و خیرآبادی، ۱۳۹۶، Gündoğdu, 2008؛ و مبحث توسعه صنعت آبی‌پروری در آبهای داخلی، به‌دست آوردن میزان دقیق غلظت‌های کشنده مواد به‌عنوان یکی از عوامل مهم در دستیابی به تولید مناسب مطرح است. درخصوص سمیت مواد فلزی و خصوصاً فلز روی تحقیقات زیادی بر روی گونه‌های متعدد ماهیان صورت گرفته است (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۳؛ صادقی و کسلخه، ۱۳۹۶؛ Lynch et al., 2016; Delahaut et al., 2020)، اما مطالعات محدودی در رابطه با عنصر روی بر گونه‌های مورد مطالعه صورت گرفته است (Gündoğdu, 2008; Butrimavičienė et al., 2021). Sveciavičius (۲۰۱۲) با بررسی سمیت روی بر چند گونه ماهی در کشور لیتوانی شامل ماهی سه‌خاره (*Gasterosteus aculeatus*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، کلمه (*Rutilus rutilus*)، سوف (*Perca fluviatilis*) و اردک‌ماهی (*Leuciscus leuciscus*) بیان کرد، غلظت نیمه‌کشنده روی بین ۱۱/۳۷ - ۳/۷۹ میلی‌گرم در لیتر است. آنها همچنین بیان کردند، میزان سمیت حاد برای هر گونه با توجه به حساسیت گونه به‌ترتیب از نظر حساس بودن شامل:

Oncorhynchus mykiss > *Gasterosteus aculeatus* > *Perca fluviatilis* > *Leuciscus leuciscus* > *Rutilus rutilus* است. با توجه به موارد مذکور و به منظور بررسی دقیق ضایعات ناشی از مسمومیت با فلز روی بر بافت‌های ماهیان و تعیین حداقل و حداکثر سمیت سولفات روی بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و کلمه‌خزری، آزمایش فوق اجرا شد. نهایتاً نتایج فوق با هدف ارایه راهکارهای مدیریتی جهت حذف یا بهبود شرایط از طریق استفاده از جاذب‌های کاتیونی (همچون زئولیت‌ها و نانوزئولیت‌ها) در صنعت آبی‌پروری کاربرد خواهد داشت.

مواد و روش‌ها

شرایط آزمایش

جهت انجام آزمایش ۳۰۰ بچه ماهی کلمه‌خزری با میانگین وزنی $27 \pm 2/5$ گرم (مرکز بازسازی ذخایر سیحوال - بندرترکمن - استان گلستان) و قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی $31 \pm 6/18$ گرم (کارگاه پرورش ماهی شهرستان رامیان - استان گلستان) تهیه و توسط نایلون‌های پلاستیکی با گنجایش ۳۰ لیتر آب به دانشگاه گنبد کاووس منتقل شدند. ماهیان به مدت ۴۸ ساعت در مخازن ۲۰۰ لیتری جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. سپس جهت انجام آزمایش، ماهیان بصورت تصادفی در تشت‌های آزمایش با ظرفیت ۲۵ لیتر جایابی شدند. مدت زمان آزمایش برای هر گروه ۹۶ ساعت بود. 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 شد (Sadeghi and Imanpour, 2015). از نمک سولفات روی ($ZnSO_4 \cdot 5H_2O$) در آزمایش‌ها استفاده شد. 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). ۱۳ بچه‌ماهی از هر دو گونه، بصورت جداگانه در معرض غلظت‌های مختلف نمک سولفات روی از صفر تا ۹۰ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند. آزمایشات با ۶ تیمار و سه تکرار شامل غلظت‌های ۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ میلی‌گرم در لیتر فلز روی برای ماهی کلمه‌خزری و غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۱، ۲۳، ۲۵، ۲۸، ۳۰، ۳۳، ۳۵، ۳۸، ۴۰، ۴۳، ۴۵، ۴۸، ۵۰، ۵۳، ۵۵، ۵۸، ۶۰، ۶۳، ۶۵، ۶۸، ۷۰، ۷۳، ۷۵، ۷۸، ۸۰، ۸۳، ۸۵، ۸۸، ۹۰، ۹۳، ۹۵، ۹۸، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای قزل‌آلای رنگین‌کمان و با ظرفیت ۱۳ بچه‌ماهی در هر تیمار صورت گرفت. غلظت صفر (بدون سولفات روی) به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ماهیان در تشت‌های پلاستیکی با گنجایش ۲۵ لیتر آب جایابی شدند. به‌منظور تامین اکسیژن محلول کافی برای ماهیان، در تمام تشت‌ها از سنگ‌هوا به‌عنوان هواده استفاده گردید. میزان اکسیژن تولیدی هر سنگ‌هوا طی ۲۴ ساعت برابر با ۲/۳ میلی‌گرم در لیتر بود. برای پیدا کردن محدوده کشندگی سولفات روی پس از یکسری مطالعات مقدماتی (فرهنگی و همکاران، ۱۳۹۴؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۹۳؛ Brown, 1968؛ Gündoğdu, 2008)، ابتدا غلظت‌های فرضی برای هر گروه بطور جداگانه، جهت برآورد میزان تلفات ماهی و شدت اثرپذیری ماهی در غلظت‌های نزدیک به آزمایش تعیین شد. سپس جهت انجام آزمایش، پس از تعیین حجم آب و به ازای واحد حجمی، سولفات روی توزین و به آب اضافه گردید. برای حل کردن سولفات روی در آب تشت، ابتدا آنرا در بشر حل و سپس محلول حاصله به تشت آزمایش اضافه گردید، تا محلول یکنواختی بدست آید.

تظاهرات رفتاری و بافت‌شناسی

هر ۱۲ ساعت جهت ثبت تظاهرات رفتاری ماهی در برابر سمیت روی و آسیب‌های قابل مشاهده با چشم در طول آزمایش، ماهیان مورد ارزیابی قرار گرفتند. به‌منظور بررسی آسیب‌های ناشی از فلز روی بر بافت‌های ماهی، هر ۱۲ ساعت یکبار ماهیان مرده جمع‌آوری و در ظروف حاوی فرمالین ۱۰ درصد تا پایان آزمایش نگهداری شدند. در پایان ۹۶ ساعت، تمام ماهیان مورد آزمایش (زنده - مرده) که در معرض غلظت‌های مختلف سولفات روی قرار داشتند، جمع‌آوری و در محلول فرمالین تثبیت شدند. از نمونه‌های بافتی آبشش، کلیه و کبد فیکس شده در محلول فرمالین ۱۰ درصد، پس از طی مراحل آب‌گیری، شفاف کردن و پارافینه کردن، با استفاده از میکروتوم دوار مقاطع ۵ میکرونی تهیه و به‌روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. نهایتاً با استفاده از میکروسکوپ نوری و کلیدهای موجود مورد مطالعه قرار گرفتند (Ramírez-Duarte et al., 2008; Roberts, 2012; Bernet et al., 1999).

روش آماری

آزمایش مورد نظر در طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. نتایج حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار مینی‌تب ۱۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. به‌منظور تعیین غلظت نیمه‌کشنده از نرم‌افزار پروبیت (Probite) و شیب خط رگرسیون تحت نرم‌افزار Spss نسخه ۱۹ استفاده شد.

نتایج

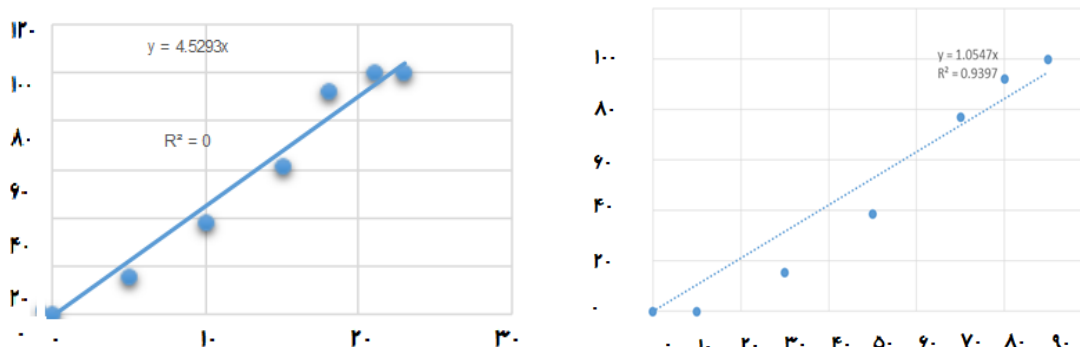
نتایج حاصل از در معرض قرارگیری ماهیان با فلز روی

نتایج حاصل از قرارگیری ماهیان در معرض غلظت‌های مختلف سولفات روی در جدول ۱ آمده است. درصد بقاء و تلفات ماهیان در مواجهه با غلظت‌های مختلف سولفات روی افزایشی بوده است ($p > 0.05$). نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که کمترین غلظتی که سبب تلفات در ماهی شد به ترتیب برابر ۵ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر برای قزل‌آلای رنگین‌کمان و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر برای کلمه‌خزری برای مدت ۹۶ ساعت بدست آمد (LOEC) (جدول ۱). نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از سولفات روی برای کلمه‌خزری هیچگونه تلفاتی مشاهده نشد (NOEC). این در حالی است در همین غلظت (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برابر ۳۸/۴۶ درصد تلفات رخ داده بود و بر اساس نتایج فوق غلظت بی‌اثر برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برابر صفر (شاهد) بود.

جدول ۱- نتایج حاصل از قرار گرفتن ماهی کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus caspicus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در معرض غلظت‌های مختلف سولفات‌روی (آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد کاووس، ۱۳۹۹)

گونه مورد آزمایش	غلظت سولفات‌روی (میلی گرم در لیتر)	تعداد تلفات				درصد تلفات تجمعی پس از ۹۶ ساعت
		پس از ۲۴ ساعت	پس از ۴۸ ساعت	پس از ۷۲ ساعت	پس از ۹۶ ساعت	
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کلمه‌خزری	۰	۰	۰	۰	۰	۰
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۵	۰	۰	۱	۱	۱۵/۳۸
کلمه‌خزری	۱۰	۰	۰	۰	۰	۰
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۱۰	۲	۱	۱	۱	۳۸/۴۶
کلمه‌خزری	۳۰	۰	۰	۱	۱	۱۵/۳۸
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۱۵	۴	۲	۲	۰	۶۱/۵۴
کلمه‌خزری	۵۰	۳	۱	۱	۰	۳۸/۴۶
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۱۸	۷	۴	۰	۱	۹۲/۳۱
کلمه‌خزری	۷۰	۷	۲	۰	۱	۷۶/۹۲
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۲۱	۱۰	۰	۲	۱	۱۰۰
کلمه‌خزری	۸۰	۱۰	۱	۰	۱	۹۲/۳۱
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۲۳	۱۳	۰	۰	۰	۱۰۰
کلمه‌خزری	۹۰	۱۰	۳	۰	۰	۱۰۰

نتایج حاصل از آزمایش ثابت کرد میزان تلفات ماهی در غلظت‌های بالاتر بیشتر است، به‌طوریکه تلفات ماهی کلمه‌خزری در غلظت ۷۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر دو برابر شده است و این میزان برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در غلظت‌های ۱۰ و ۱۸ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. در تمامی تیمارها و برای هر دو گونه ماهی، میزان تلفات ماهی در ۲۴ ساعت اولیه بیشترین میزان را داشته است (جدول ۱)، و در نهایت در غلظت‌های ۹۰ و ۲۱ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب برای کلمه‌خزری و قزل‌آلای رنگین‌کمان تلفات تجمعی ۱۰۰ درصد بدست آمد (جدول ۱). با توجه به آزمون همبستگی بین زمان ۹۶ ساعت قرارگیری در معرض سولفات‌روی و تعداد تلفات معادله خط $Y = 1/0547X$ بدست آمد. از آنجا که میزان R^2 بالا و برابر ۹۴ و ۹۷ درصد است، می‌توان با این معادله میزان غلظت نیمه‌کشنده را بدست آورد. بر این اساس و با توجه به درصد تلفات ماهی و منحنی شیب‌خط رگرسیون غلظت نیمه‌کشنده ($LC50,96h$) روی برای دو گونه کلمه‌خزری و قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب برابر با ۴۷/۴۰۷ و ۱۱/۰۴ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (شکل ۱). غلظت‌های کشنده روی برای ماهی کلمه‌خزری و قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از نرم‌افزار پروبیت در مدت ۹۶ ساعت در جدول ۲ آمده است. همان‌طوریکه در جدول ۲ نمایش داده شده است میزان $LC50,96h$ برای ماهی کلمه‌خزری و قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب برابر ۵۱/۳۵۴ و ۱۱/۵۴ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد.



شکل ۱- منحنی رگرسیون درصد کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus caspicus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پس از گذشت ۹۶ ساعت، در معرض غلظت‌های مختلف روی (آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد کاووس، ۱۳۹۹)

الف- کلمه‌خزری ب- قزل‌آلای رنگین‌کمان

جدول ۲- مقایسه غلظت‌کشنده (LC 10-95) در ماهی کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus caspicus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با حدود اطمینان ۹۵٪ پس از ۹۶ ساعت (آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد کاووس، ۱۳۹۹)

LC	غلظت‌کشنده	حدود اطمینان	
		حد پایین	حد بالا
LC10	کلمه‌خزری	۳۰/۰۲۶	۱۳/۶۸۹
	قزل‌آلای رنگین‌کمان	۵/۱۳۵	۰/۷۷۹
LC30	کلمه‌خزری	۴۳/۹۹۶	۳۳/۳۰۷
	قزل‌آلای رنگین‌کمان	۸/۹۲۳	۶/۰۷۶
LC50	کلمه‌خزری	۵۱/۳۵۴	۴۲/۸۱۲
	قزل‌آلای رنگین‌کمان	۱۱/۵۴۷	۹/۴۲۴
LC70	کلمه‌خزری	۶۳/۳۴۸	۵۶/۲۱۲
	قزل‌آلای رنگین‌کمان	۱۴/۱۷۱	۱۲/۳۱۶
LC90	کلمه‌خزری	۷۷/۳۱۹	۶۸/۹۹۱
	قزل‌آلای رنگین‌کمان	۱۷/۵۹۵	۱۵/۷۹۹
LC95	کلمه‌خزری	۸۴/۰۲۲	۷۴/۵۶۴
	قزل‌آلای رنگین‌کمان	۱۹/۷۹۹	۱۷/۳۱۶
LC99	کلمه‌خزری	۹۶/۵۹۷	۸۴/۵۹۳
	قزل‌آلای رنگین‌کمان	۲۳/۱۸۷	۲۰/۰۴۵

نتایج حاصل از آسیب‌شناسی بافتی در مواجهه با روی

علائم مسمومیت با رفتار غیرطبیعی ماهی شامل افزایش فعالیت، افزایش تحریک‌پذیری، شنای با شتاب و بی‌هدف در جهات مختلف و در مسیرهای کوتاه، عدم تعادل و قرارگرفتن ماهی به پشت و فرو رفتن ماهی در عمق آب، انقباض شدید عضلات و بدنبال آن ایجاد انحنای ستون فقرات و بالاخره مرگ همراه بود. قرمز شدن آبشش‌ها که نشان دهنده پرخونی شدید در آبشش بود، از دیگر علائم مسمومیت به حساب آمد. در نهایت ماهیان در سطح آب معلق مانده و با حرکات کند آبششی از بین رفتند. ماهیانی که در این غلظت‌ها هنوز زنده بودند به شکل بی‌حال در گوشه‌ای از تشت آزمایشی قرار گرفتند. این رفتارهای غیرطبیعی در ماهی با هوادهی و اکسیژن‌رسانی آب به تأخیر افتاد.

میزان تخریب بافت‌های مورد مشاهده بر حسب میزان در معرض قرارگیری با روی در جدول ۳ آمده است. مطالعه به عمل آمده در تعیین میزان و شدت آسیب‌های وارده بر بافت‌های ماهی در نتیجه قرارگیری در معرض نمک سولفات روی نشان داد، در قسمت راس فیلامنت‌های آبششی چماغی شدن سلول‌های راسی رخ داده است که نتیجه جوش خوردن بسیاری از لاملاها و کاهش سطح تنفس در برخی فیلامنت‌ها بود. ادم در ناحیه لاملاهای ثانویه و خونریزی در آبشش به وضوح دیده شد. در آبشش ماهیان گروه شاهد، شواهدی از ضایعات مشخص و بارز دیده نشد، تنها در گروه شاهد از ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان درجات خفیفی از هیپرپلازی دیده شد (شکل‌های ۲ و ۳). علائم مشاهده شده در بافت کلیه ماهیانی که در معرض غلظت کشنده روی قرار داشتند به صورت خونریزی، تخریب مجاری کلیوی و گل‌مرول‌ها بود (شکل ۴). در بافت کبد نکروز سلول‌های کبدی، خون‌ریزی و پرخونی به وضوح دیده شد. رکود صفرا، واکوئولاسیون و مرز نشینی هسته‌ها یا به عبارت دیگر حرکت هسته از مرکز به مجاورت دیواره سلولی به وضوح خصوصاً در غلظت‌های بالا مشهود بود (شکل ۵ و ۶).

جدول ۳- مقایسه میزان ضایعات مشاهده شده در بافت‌های آبشش، کلیه و کبد ماهیان کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و پس از ۹۶ ساعت قرارگیری در معرض فلز روی (*caspicus*) (آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد کاووس، ۱۳۹۹)

الف- ضایعات مشاهده شده در آبشش

گونه ماهی	غلظت روی (میلی گرم در لیتر)	ادم	پرخونی	خون‌ریزی	چماغی شدن	فیوژن	هایپرپلازی
کلمه‌خزری	۰	-	-	-	-	-	-
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۰	-	-	-	-	-	+
کلمه‌خزری	۱۰	-	-	-	-	-	+
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۵	-	+	-	-	-	+
کلمه‌خزری	۳۰	+	+	+	+	++	++
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۱۰	+	+	+	++	++	++
کلمه‌خزری	۵۰	+	+++	+	+	+++	+++
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۱۵	+++	+++	+++	+++	+++	+++
کلمه‌خزری	۷۰	++	+++	+++	++	+++	+++
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۱۸	+++	+++	+++	+++	+++	+++
کلمه‌خزری	۸۰	+++	+++	+++	+++	+++	+++
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۲۱	+++	+++	+++	+++	+++	+++

کلمه خزری	۹۰	+++	+++	+++	+++	+++	+++
قزل آلائی رنگین کمان	۲۳	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ب- ضایعات مشاهده شده در کلیه

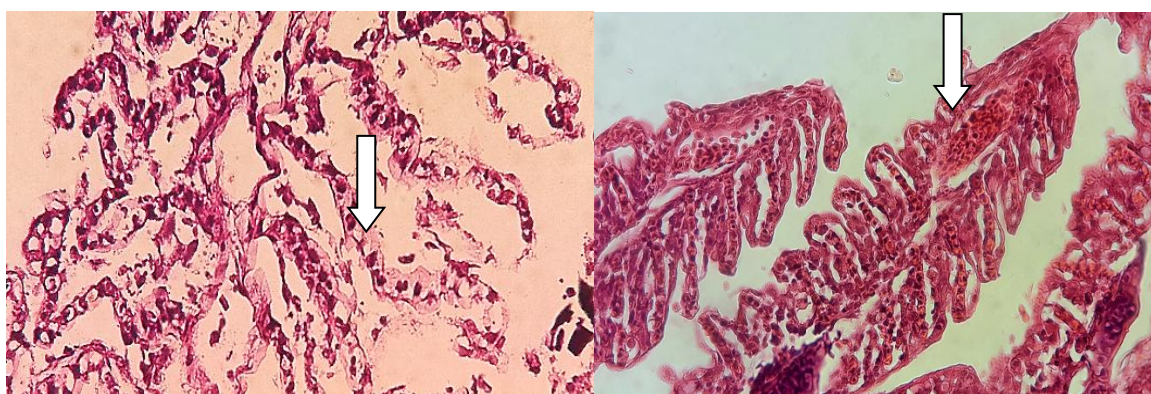
گونه ماهی	غلظت روی (میلی گرم در لیتر)	تخریب مجاری	تخریب گلومرل‌ها	خون‌ریزی	نفوذ سلولهای آماسی
کلمه خزری	۰	-	-	-	-
قزل آلائی رنگین کمان	۰	-	-	-	-
کلمه خزری	۱۰	-	-	-	+
قزل آلائی رنگین کمان	۵	-	-	+	+
کلمه خزری	۳۰	+	+	++	++
قزل آلائی رنگین کمان	۱۰	+	+	++	++
کلمه خزری	۵۰	++	++	++	+++
قزل آلائی رنگین کمان	۱۵	+++	+++	+++	+++
کلمه خزری	۷۰	+++	+++	+++	+++
قزل آلائی رنگین کمان	۱۸	+++	+++	+++	+++
کلمه خزری	۸۰	+++	+++	+++	+++
قزل آلائی رنگین کمان	۲۱	+++	+++	+++	+++
کلمه خزری	۹۰	+++	+++	+++	+++
قزل آلائی رنگین کمان	۲۳	+++	+++	+++	+++

ج- ضایعات مشاهده شده در کبد

گونه ماهی	غلظت روی (میلی گرم در لیتر)	نکروز	خون‌ریزی	رکود صفرا	مزر نشینی هسته
کلمه خزری	۰	-	-	-	-
قزل آلائی رنگین کمان	۰	-	-	-	-
کلمه خزری	۱۰	-	-	-	-
قزل آلائی رنگین کمان	۵	-	+	-	-
کلمه خزری	۳۰	+	++	+	++
قزل آلائی رنگین کمان	۱۰	+	++	+	+
کلمه خزری	۵۰	++	+++	++	++
قزل آلائی رنگین کمان	۱۵	+++	+++	++	++

کلمه‌خزری	۷۰	++	+++	++	+++
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۱۸	++	+++	+++	+++
کلمه‌خزری	۸۰	+++	+++	+++	+++
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۲۱	+++	+++	+++	+++
کلمه‌خزری	۹۰	+++	+++	+++	+++
قزل‌آلای رنگین‌کمان	۲۳	+++	+++	+++	+++

(-): بدون آسیب در بافت؛ (+): آسیب $< 20\%$ ؛ (++) : آسیب های ۲۰-۶۰٪؛ (+++) : آسیب های $> 60\%$.



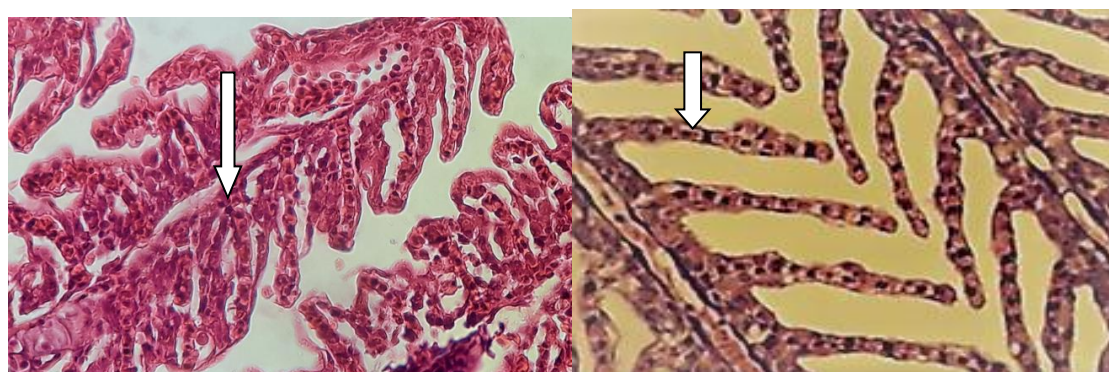
ب

الف

شکل ۲- مقطع عرضی تهیه شده از آبشش ماهیان در معرض غلظت کشنده روی (رنگ‌آمیزی ۴۰۰×، H&E)

الف- ماهی کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus caspicus*)، نوک پیکان پرخونی را نشان می‌دهد

ب- ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، نوک پیکان نکروز کامل رشته‌های آبشش را نشان می‌دهد



ب

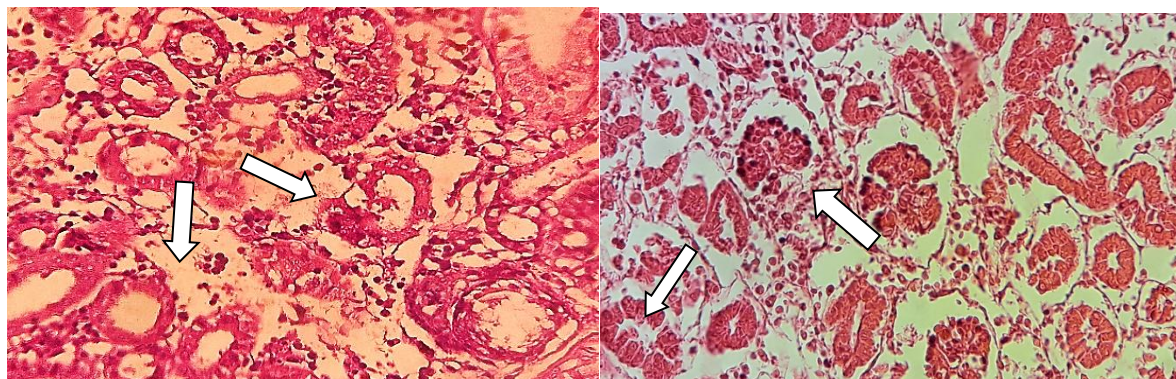
الف

شکل ۳- مقطع عرضی تهیه شده از آبشش ماهیان (رنگ‌آمیزی ۴۰۰×، H&E)

الف- ماهی کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus caspicus*) پس از قرارگیری در معرض غلظت کشنده روی. نوک پیکان

چماغی شدن راس رشته‌های آبشش را نشان می‌دهد

ب- ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گروه شاهد، نوک پیکان لاملای اولیه و ثانویه سالم را نشان می‌دهد

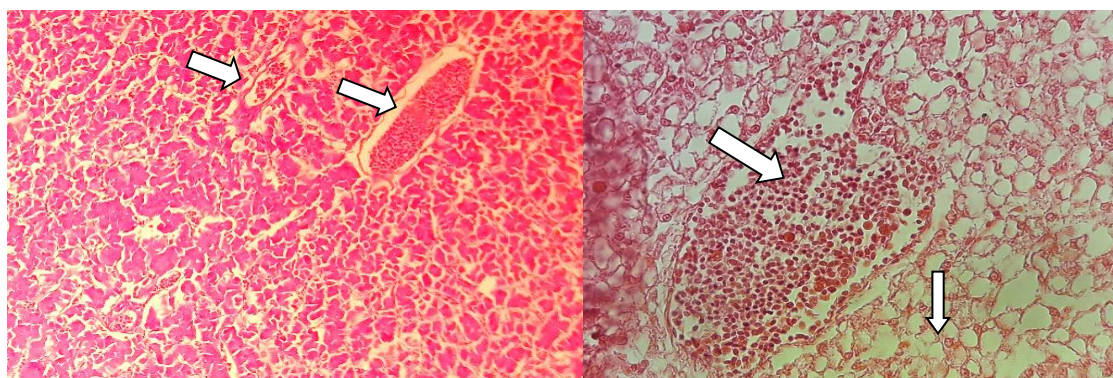


ب

الف

شکل ۴- مقطع عرضی تهیه شده از کلیه ماهیان کلمه‌خزری پس از قرارگیری در معرض غلظت نیمه‌کشنده روی (رنگ- آمیزی ۴۰۰×، H&E)

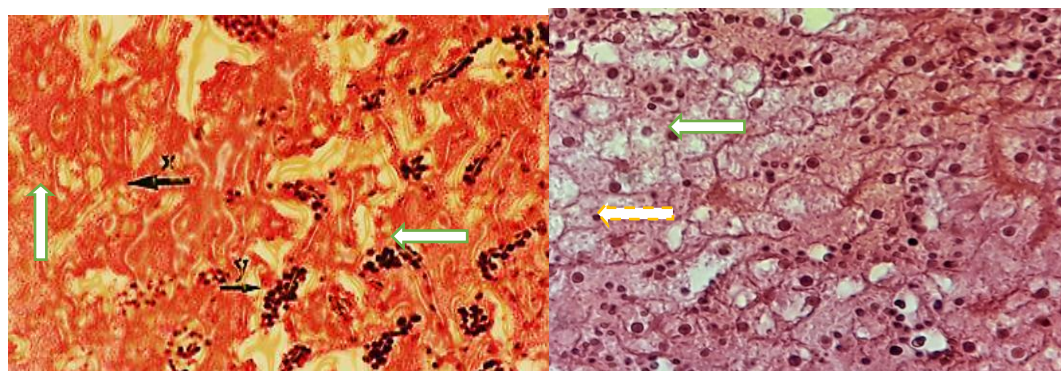
الف- ماهی کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus caspicus*)، نوک پیکان تخریب مجاری کلیوی و گلوپرونها را نشان می‌دهد
ب- ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، نوک پیکان منطقه تخریب مجاری کلیوی و سلول‌های آماسی را نشان می‌دهد



ب

الف

۵- مقطع عرضی تهیه شده از کبد ماهیان پس از قرارگیری در معرض غلظت کشنده روی (رنگ‌آمیزی ۲۰۰×، H&E)
الف- ماهی کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus caspicus*)، نوک پیکان رکود صفراوی و مزرنشینی هسته‌ها را نشان می‌دهد
ب- قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، نوک پیکان رکود صفرا و خون‌ریزی را نشان می‌دهد



ب

الف

شکل ۶- مقطع تهیه شده از کبد ماهیانی که در معرض غلظت کشنده روی قرار داشتند (رنگ‌آمیزی $\times 200$, H&E)
 الف- ماهی کلمه‌خزری (*Rutilus rutilus caspicus*)، نوک پیکان گوشه نشینی هسته‌ها را نشان می‌دهد
 ب- قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، نوک پیکان‌ها تجمع سولهای آماسی و ناحیه تخریب سلولهای کبدی را نشان می‌دهد

بحث و نتیجه‌گیری

تعیین دامنه کشندگی، تحت کشندگی و اثرات آسیب‌شناسی سمیت روی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان و کلمه‌خزری هدف مورد مطالعه حاضر بود. نشانه‌های ظاهری مسمومیت با فلز روی در آزمایش حاضر 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 (Nafisi Bhabadi et al., 2016) ناجی و همکاران (۱۳۸۶) با مطالعه بر روی ماهیان کپور با وزن ۱۵۰-۱۲۰ گرم نشان دادند که غلظت نیمه‌کشنده سولفات روی در ۹۶ ساعت برابر با ۵۰ میلی‌گرم در لیتر است. آنها همچنین نشان دادند، شایع‌ترین ضایعه در آبشش ماهی شامل ادم، هیپرپلازی و پرخونی بود. سلطانی و همکاران (۱۳۹۳) میزان سمیت نیمه‌کشنده فلز روی را برای گونه سیاه‌ماهی در مدت ۹۶ ساعت برابر ۲۵۳/۰۵ میلی‌گرم در لیتر بدست آوردند. آنها عمده ضایعات ناشی از سولفات روی و نانو اکسید روی را بصورت نکروز لاملاهای ثانویه، هیپرپلازی، هایپرتروفی و چسبیدگی لاملاهای ثانویه در آبشش‌ها بیان کردند که با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد. بیشترین میزان تلفات ماهی در ساعات اولیه پس از در معرض قرارگیری با فلز روی رخ داد. آزمایشات مختلفی که بر روی انواع ماهی‌ها صورت گرفته است این امر را تایید می‌کند (فرهنگی، ۱۳۹۴; Zeng et al., 2018). آزمایش‌های اولیه به منظور تعیین غلظت‌های موردنظر نشان داد، در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر برای ماهی کلمه‌خزری هیچگونه اثرات قابل توجهی مشاهده نشد (NOEC). همچنین حداکثر غلظت مجاز (MATC) که در آن هیچگونه تلفاتی مشاهده نشد برای ماهی کلمه‌خزری و قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب برابر ۱۰ و صفر میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. این امر نشان دهنده حساسیت بیشتر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به ماهی کلمه‌خزری است. بررسی‌ها نشان می‌دهد، ماهیانی که به یک ماده حساسیت بیشتری دارند، نسبت به مواد دیگر حساسیت کمتری را در غلظت‌های یکسان بروز خواهند داد (Besser et al., 2009; Calfee et al., 2014).

Besser و همکاران (۲۰۰۹) حساسیت دو گونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و ماهی کوتوس (*Cottus bairdi*) را نسبت به مس، روی و کادمیوم مورد ارزیابی قرار دادند. براساس نتایج حساسیت گروه‌های تازه هیچ شده در سمیت‌حاد و نیمه‌حاد بیشتر بود تا مراحل بالاتر. ضمن اینکه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان 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 قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و استروژن سفید (*Acipenser transmontanus*) پرداختند. آنها بیان کردند که قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به کادمیوم در تمامی مراحل

زندگی حساس‌تر از ماهی خاویاری سفید بود. ماهی خاویاری در مراحل ۵ و ۷ رشدی از حساسیت بیشتری در برابر فلز مس در مقایسه با قزل‌آلا داشت، با این حال در ادامه مراحل رشدی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مس‌تر حساسیت بیشتری را نسبت به مس نشان دادند. در آزمایش فوق، غلظت‌های کشنده و نیمه‌کشنده در طی ۹۶ ساعت برای ماهی کلمه‌خزری و قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب برابر با ۹۰ و ۴۷/۴۰۷ میلی‌گرم در لیتر (کلمه‌خزری) و ۲۱ و ۱۱/۵۴ میلی‌گرم در لیتر (قزل‌آلای رنگین‌کمان) بدست آمد. در مقایسه با مطالعه حاضر، فرهنگی و همکاران (۱۳۹۴) سمیت روی را برای ماهی کپور در مدت ۹۶ ساعت برابر ۲۷۰ میلی‌گرم در لیتر و غلظت نیمه‌کشنده آن برابر با ۱۲۹/۰۷ میلی‌گرم در لیتر بدست آوردند. Zeng و همکاران (۲۰۱۸) سمیت نیمه‌کشنده روی را طی ۹۶ ساعت برای ماهی آب‌شیرین *Percocypris pingi* برابر ۲/۸۵۲ میلی‌گرم در لیتر بدست آوردند. این درحالی است که آنها سمیت فلز مس را در مقایسه با فلز روی برای گونه موردنظر برابر ۱/۳۴۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آوردند. این بدان معناست که سمیت مس در مقایسه با روی بیشتر و کشنده‌تر است. Farhangi و همکاران (۲۰۲۲) با مطالعه سمیت فلز مس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، غلظت نیمه‌کشنده مس را در مدت ۹۶ ساعت برابر ۰/۱۸۶ میلی‌گرم در لیتر بدست آوردند. با مقایسه سمیت دو فلز روی و مس بر ماهی کلمه‌خزری و قزل‌آلای رنگین‌کمان با شرایط برابر می‌توان به سمیت بسیار بالای مس در مقابل روی اشاره کرد، این در حالی است که Taweel و همکاران (۲۰۱۳) میزان سمیت نیمه‌کشنده روی را برای ماهی تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) برابر با ۱۶/۱۷۷ میلی‌گرم در لیتر بدست آوردند.

مطالعه حاضر و سایر تحقیقات مشابه بیانگر آن است که با افزایش غلظت یک ماده سمی و طول زمان در معرض قرارگیری نرخ‌بقاء کاهش می‌یابد. یکی از دلایل عمده می‌تواند به دلیل عملکرد فلزات سنگین بر افزایش واکنش‌پذیری انواع گروه‌های اکسیژنی باشد (ROS, Reactive Oxygen Species) همچون پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل که سبب آسیب‌زنی به متابولیسم طبیعی فرایند اکسیداتیو و در نهایت استرس اکسیداتیو در ماهی‌ها می‌شود (Lushchak, 2011). با مطالعه تحقیقات مختلف، تفاوت‌هایی در غلظت کشنده فلز روی بر روی گونه‌های ماهی بدست آمده است که هر کدام تحت شرایط متفاوتی بوده است. به بیان دیگر، تفاوت در فاکتورهای آزمایشی (دما، سختی و pH) و تفاوت‌های گونه‌ای (جنس، گونه، سایز) در این امر دخیل بوده است. باشد. Trenfield و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی سمیت روی بر گونه‌های مختلف جانوری نشان دادند، موجودات در مواجهه با سمیت روی حساسیت مختلفی دارند. براساس نتایج آنها نرم‌تنان حساس‌تر به شکم‌پایان و شکم‌پایان حساس‌تر به ماهی و کلادوسرها می‌باشند:

mussel *Velesunio angasi* > gastropod *Amerianna cumingi* > fish *Mogurnda mogurnda* > cladoceran *Moinodaphnia macleayi* > green hydra *Hydra viridissima* > green alga *Chlorella sp.* > duckweed *Lemna aequinoctialis*

فعل و انفعالات بین فلزات و شیمی آب بر توانایی زیستی فلز تاثیرگذار بوده و نقش موثری در رسیدن فلز به نقطه اثرگذاری بافت خواهد داشت (Adams et al., 2023).

با مطالعه تحقیقات مختلف، تفاوت‌هایی در غلظت کشنده فلز روی بر روی گونه‌های ماهی بدست آمده است که هر کدام تحت شرایط متفاوتی بوده است. به بیان دیگر، تفاوت در فاکتورهای آزمایشی (دما، سختی و pH) و تفاوت‌های گونه‌ای (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 اندام‌های ماهی، گاهی حضور متعدد عناصر با غلظت‌های پایین که توانایی کشندگی ماهی را ندارند، می‌توانند با تاثیر غیرمستقیم (سینرژتیک) باعث شدت اثر آن ماده شود، بطوریکه قادر به تلفات در ماهی شود. هرچند عوامل محیطی همچون کمبود اکسیژن، درجه حرارت و افزایش اسیدیته معمولاً حساسیت ماهی را به مواد سمی افزایش داده، درحالی‌که مواد معدنی همچون سختی و شوری سبب کاهش سمیت مواد می‌شود (فرهنگی و جعفریان، ۱۳۹۹).

Naddy و همکاران (۲۰۱۴) اثرات سمیت چند فلز کادمیوم، مس و روی را بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و دافنی مورد مطالعه قرار دادند. آنها بیان کردند محیط‌های آبی تحت تاثیر غلظت‌های مخلوطی از سموم هستند که اثرات سینرژتیکی آنها بشکل سمیت بالا بروز می‌کند. Kumara و همکاران (۲۰۲۱) اثر سینرژتیک درجه حرارت و نانوذره روی را در ماهی *Pangasianodon hypophthalmus* بررسی

کردند. آنها ثابت کردند که اثرات درجه‌حرارت بر سمیت فلز نانوذر روی بشکل افزایشی است، بطوریکه غلظت نیمه‌کشنده نانوذر روی در مدت ۹۶ ساعت به تنهایی برابر ۲۱/۸۹ میلی‌گرم در لیتر است ولی در دمای بالاتر (۳۰ درجه) برابر ۱۹/۷۴ میلی‌گرم در لیتر است. این امر سبب استرس اکسیداتیو بیشتر در ماهیان مورد آزمایش شد. Bielmeyer و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی اثرات شوری بر سمیت‌حاد در دو گونه ماهی یوری‌هالین شامل گونه *Fundulus heteroclitus* و گونه *Kryptolebias marmoratus* بیان کردند که با افزایش شوری میزان سمیت فلز روی کاهش می‌یابد و در شوری‌های بالای ۱۰ گرم در لیتر گونه *K. marmoratus* حساس‌تر است. آنها بیان کردند که تغییرات سمیت غلظت نیمه‌کشنده روی برای گونه *F. heteroclitus* در آب‌های سخت و شیرین تا شوری ۳۶ گرم در لیتر از ۰/۲۳ تا ۳۴/۵ میلی‌گرم در لیتر متغیر است. این در حالی است که برای گونه *K. marmoratus* از ۰/۱۳ تا ۲۷/۸۸ میلی‌گرم در لیتر متغیر است. گروبی و همکاران (۱۳۸۷) با مطالعه سمیت‌حاد سولفات آلومینیوم بر بافت آبشش کلمه‌خزری بیان کردند، با افزایش مقادیر سولفات آلومینیوم و کاهش pH اثرات تخریبی فلز آلومینیوم بر بافت آبشش نیز بیشتر می‌شود، همچنین ضایعات مشاهده شده در ۲۴ ساعت اول کمتر و با گذشت زمان تا ۹۶ ساعت بر مقدار آن افزوده می‌شود. به‌عنوان مثال آنها بیان کردند، میزان خون‌ریزی و پرخونی ارتباط مستقیمی با غلظت آلاینده و زمان در معرض قرارگیری دارد.

در شرایط آزمایشگاهی به کمک آلاینده‌های مختلف که سبب آسیب‌های بافتی مشخصی در اندام‌های ماهی می‌شوند، می‌توان از آنها به‌عنوان نشانگر زیستی به‌منظور بررسی وجود آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های طبیعی استفاده کرد. آلاینده‌های شیمیایی اندام‌های مختلفی از جمله آبشش‌ها، کلیه و کبد را تحریک می‌کنند و این بافت‌ها ارائه دهنده یک ابزار مفید جهت سنجش تاثیرات آلاینده‌های خارجی هستند. بنابراین مطالعات آسیب‌شناسی منعکس کننده شرایط زیستی، محیطی و سلامت ماهی می‌باشد. در مطالعه حاضر نیز اثرات سمیت‌حاد سولفات روی بر اندام‌های داخلی ماهی بشکل پرخونی، خون‌ریزی، تخریب مجاری کلیوی و نکروز سلول‌های کبدی و آبشش رخ داد. گرچه ضایعاتی که در مطالعه حاضر رخ داده است، در غلظت‌های مختلف اثرات متفاوتی را نشان داد. دلایل متعددی از مرگ و میر ماهی بر اثر آلاینده‌هایی چون سموم و فلزات بیان شده است. ازجمله آن که بافت آبشش دارای محافظت کمتری نسبت به سایر بافت‌هاست و بطور مستقیم در مجاورت با آب قرار دارد. این امر سبب می‌شود تا از حساسیت بیشتری نیز برخوردار باشد و تخریب بافت آبشش سبب مشکلات تنفسی و نهایتاً مرگ و میر شود. زرگر (۱۳۹۹) اثرات سمیت مرزن‌جوش را بر بافت آبشش در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به صورت جراحات در بافت آبشش، چماقی شدن لاملاهای ثانویه، هیپرپلازی سلول‌های اپیتلیوم لاملائی ثانویه و آنورسم عروقی بیان کرد. در گروه شاهد درجات خفیفی از هیپرپلازی دیده شد که ناشی از اثر یک عامل خارجی به عنوان یک فاکتور استرس‌زا می‌باشد. اصولاً هیپرپلازی نوعی واکنش دفاعی بدن در پاسخ به مسمومیت‌هاست که به معنای افزایش غیرطبیعی در تعداد سلول‌های اپیتلیوم آبشش است و به دو صورت چماقی شدن سر لاملاهای ثانویه و ضخیم شدن بافت اپی‌تلیوم نزدیک پایه لاملا، خود را نشان می‌دهد. این عارضه بر تبادل گاز و تنفس تأثیر گذاشته و در حالات شدیدتر می‌تواند منجر به اتصال تیغه‌های مجاور به یکدیگر و جلوگیری از تبادل گاز شود (Van, 2004). تخریب مجاری کلیوی و گلودرول‌ها و همچنین نکروز در سلول‌های کبدی سبب کاهش عملکرد کلیه و کبد می‌گردد. همانطوریکه مشخص است رفتارهای ظاهری مسمومیت با عناصر سمی به‌ویژه روی می‌تواند نتیجه تغییر ساختاری اندام‌های داخلی ماهی باشد. گرچه ضایعاتی که در مطالعه حاضر رخ داده است، در غلظت‌های مختلف اثرات متفاوتی را نشان داد.

بافت آبشش دارای محافظت کمتری نسبت به سایر بافت‌هاست و بطور مستقیم در مجاورت با آب قرار دارد؛ بنابراین از حساسیت بیشتری نیز برخوردار است. ناجی و همکاران (۱۳۸۶) با مطالعه سمیت حاد سولفات روی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بیان کردند، عمده ضایعات ناشی از سمیت روی در ماهی کپور در بافت آبشش بشکل هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های پوششی آبشش، فیوزن یا چسبندگی لاملاهای ثانویه، و افزایش و تکثیر سلول‌های مخاطی در آبشش بود. در بررسی بعمل آمده در مطالعه حاضر بر روی ماهی کلمه‌خزری نیز ضایعات مشابه دیده شد، گرچه سمیت بدست آمده در مطالعه حاضر (۹۰ میلی‌گرم در لیتر) کمتر از سمیت بدست آمده در مطالعه ناجی و همکاران (۱۳۸۶) بود (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر). اصولاً هیپرپلازی در آبشش ماهیان یکی از واکنش‌های دفاعی بدن در پاسخ به مسمومیت‌ها و آلاینده‌های فلزی است (Van, 2004). هیپرپلازی افزایشی غیرطبیعی در تعداد سلول‌های اپیتلیوم آبشش است که به دو صورت چماقی شدن سر لاملاهای ثانویه و ضخیم شدن بافت اپی‌تلیوم نزدیک پایه لاملا، خود را نشان می‌دهد. عارضه بر تبادل گاز و تنفس تأثیر گذاشته و در حالات شدیدتر می‌تواند منجر

به اتصال تیغه‌های مجاور به یکدیگر و جلوگیری از تبادل گاز شود. قاسم‌زاده و همکاران (۱۳۹۵) بیان کردند، تغییر در اندازه و شکل هپاتوسیت‌ها نشانه افزایش فعالیت متابولیک می‌باشد با این حال، این تغییر بافتی می‌تواند منشاء پاتولوژیک نیز داشته باشد. خسروی‌کتولی و همکاران (۱۳۹۷) ضمن بررسی اثر غلظت‌های تحت‌کشنده نانوذرات نقره و نیترات نقره بر بیان ژن HSP70 و آسیب‌های بافت‌های آبشش، کبد و روده در ماهی کپور معمولی بیان کردند، گرچه هر دو شکل نقره روی بافت‌های آبشش، کبد و روده تاثیرگذار بوده، اما با توجه به نقش بافت کبد در سم‌زدایی، بیشترین تغییرات نیز در همین بافت مشاهده گردید. در آزمایش فوق نیز تغییر و جابجایی هسته‌های سلول‌های کبدی می‌تواند نشانه‌ای از آسیب‌های فلزی بر بافت کبد باشد. در واقع این تغییرات می‌تواند خود بعنوان یک شاخص زیستی در بررسی اثرات آلاینده‌ها باشد. مطالعات متعدد این امر را ثابت می‌کند (Mok et al., 2014). قاسم‌زاده و همکاران (۱۳۹۵) بیان کردند که کبد ماهیانی که معرض سمیت فلز روی و مس قرار داشتند دچار ضایعات شدیدی بشکل خون‌ریزی، نکروز، واکویله‌شدن، رکود صفرا، تجمع چربی و سینوزوئید کبدی شدند که کاملاً با مطالعه حاضر همخوانی دارد. با این حال آنچه که ثابت شد، هرچه غلظت ماده سمی بیشتر شود، تخریب حادث شده بر بافت‌های ماهی بیشتر می‌شود. همانطوریکه مشخص است رفتارهای ظاهری مسمومیت با عناصر سمی به ویژه روی می‌تواند نتیجه تغییرات ساختاری اندام‌های داخلی ماهی باشد. در این خصوص پیشنهاد می‌گردد، فاکتورهای خونی ماهی در مواجهه با سمیت روی نیز مورد ارزیابی قرار گیرد. با مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که حداکثر غلظت مجاز (MATC) فلز روی برای ماهی کلمه‌خزری برابر ۱۰ میلی گرم در لیتر بوده و به‌عنوان غلظتی که هیچ اثر قابل توجهی نداشت، معرفی شد. این درحالی است که غلظت ۵ میلی گرم در لیتر (حداقل غلظت بکار گرفته شده) برای قزل‌آلای رنگین‌کمان ۱۵/۳۸ درصد تلفات داشت، که خود نشان دهنده سمیت بیشتر فلز روی برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقایسه با کلمه‌خزری است.

تقدیر و تشکر:

این طرح با حمایت مالی دانشگاه گنبد کاووس و با مصوبه شورای پژوهشی دانشگاه به شماره‌های پرونده ۶/۱۸۳ و ۶/۱۸۴ اجرا شده است. بدینوسیله از حمایت‌های ریاست محترم دانشگاه و مدیریت محترم پژوهشی دانشگاه و همچنین ریاست محترم دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی و همکاران گروه شیلات تقدیر و تشکر می‌نمایم.

References

۱. باقری، ح. و خیرآبادی، و.، ۱۳۹۶. ارزیابی تغییرات فصلی غلظت فلزات سنگین در رسوبات رودخانه گرگانرود و منشا آنها. نشریه انسان و محیط‌زیست، ۲ (۱): ۴۵-۵۵.
۲. خسروی‌کتولی، خ.، شعبانی ع.، کلنگی‌میاندره، ح. و ایمانیپور، م.، ۱۳۹۷. اثر غلظت‌های تحت‌کشنده نانوذرات نقره و نیترات نقره بر بیان ژن HSP70 و آسیب‌های بافت‌های آبشش، کبد و روده در ماهی کپور معمولی. مجله محیط‌زیست جانوری، ۱۰ (۴): ۳۳۹-۳۵۰.
۳. دکانی، ل. و جوهری، س.ع.، ۱۳۹۵. نقش عنصر روی در تغذیه آبزیان. چهارمین همایش ملی پژوهش‌های منابع طبیعی ایران با محوریت شیلات و بوم‌سازگان آبی، کردستان، ایران.
۴. رهنما، ب.، کامرانی، ا.، عبدلی، ا.، ناجی، ا. و ریسی، ه.، ۱۳۹۸. بررسی شاخص‌های رشد و مرگ و میر ماهی کلمه (Rutilus rutilus) در آبهای جنوب دریای خزر (استان گلستان). مجله محیط‌زیست جانوری، ۱۱ (۳): ۱۹۰-۱۸۱.
۵. زرگر، ا.، ۱۳۹۹. بررسی غلظت نیمه‌کشدگی و هیستوپاتولوژی ضایعات ناشی از سمیت مزمن اسانس مرزن‌جوش (Origanum spp) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، هفتمین همایش علمی پژوهشی توسعه و ترویج علوم کشاورزی و منابع طبیعی ایران، تهران.
۶. سلطانی، ز.، قربانی، ر.، هدایتی، س.ع.، عادلی، ا. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۳. مقایسه سمیت غلظت‌های تحت‌کشنده نانواکسید-روی و سولفات روی بر عوارض هیستوپاتولوژیک آبشش سیاه‌ماهی Capoeta capoeta gracilis. مجله پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، ۲ (۴): ۱۳-۲۲.

۷. صادقی، پ. و کسلخه، ن.، ۱۳۹۶. بررسی غلظت کشندگی متوسط کلریدروی $ZnCl_2$ و اثرات رفتاری آن در ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*). مجله زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۶ (۲): صفحات ۲۲-۳۴.
۸. فرهنگي، م.، حاجی مرادلو، ع.م. و رستمی چراتی، ف.، ۱۳۹۴. تعیین غلظت نیمه‌کشنده روی ($LC_{50}96h$, $ZnSO_4$) در ماهی کپور. مجله پژوهش‌های جانوری، ۲۷ (۱): صفحات ۱۱۹-۱۲۵.
۹. فرهنگي، م. و جعفریان، ح.، ۱۳۹۹. ارزیابی تغییرات بافتی ماهی کپور *Cyprinus carpio* و کلمه *Rutilus caspius* تحت سمیت‌حاد با سولفات مس. مجله توسعه آبی‌پروری، ۴ (۱۴): صفحات ۷۳-۸۴.
۱۰. قاسمزاده، ج.، نوروزی، ز.، سینایی، م.، کوهکن، ا. و شاه‌آبادی، ح.ع.، ۱۳۹۵. آسیب‌شناسی بافت کبد و آبشش در ماهی کفال خاکستری تغذیه شده با اسیدآمین ه سیستین در مواجهه با فلزات سنگین مس و روی. مجله زیست‌شناسی دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، ۸ (۲۳): صفحات ۳۴-۲۱.
۱۱. گرویی، ح.، جمیلی، ش. و رستمی، م.، ۱۳۸۷. اثر سمیت‌حاد سولفات آلومینیوم بر بافت آبشش ماهی کلمه. مجله پژوهش سازندگی در امور دام و آبزیان، ۷۹: صفحات ۱۹۸-۱۹۳.
۱۲. ناجی، ط.، صفاییان، ش.، رستمی، م. و صبرجو، م.، ۱۳۸۶. بررسی اثرات سولفات روی بر بافت آبشش بچه ماهی کپور معمولی، علوم و تکنولوژی محیط‌زیست، ۹ (۲): صفحات ۳۶-۲۹.

13. Adams, W., Blust, R., Dwyer, R., Mount, D., Nordheim, E., Rodriguez, P.H. and Spry, D., 2023. Bioavailability Assessment of Metals in Freshwater Environments: A Historical Review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39 (1): 48-59, <https://doi.org/10.1002/etc.4558>.
14. Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P. and Wahli, T., 1999. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal Fish Disease*. 22 (1): 25-34.
15. 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 (*Oncorhynchus mykiss*) to acute and chronic toxicity of cadmium and zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26 (80): 1657-1665.
16. Bielmyer, G.K., Bullington, J.B., Decarlo, C.A., Chalk, S.J. and Smith, K., 2012. The Effects of salinity on acute toxicity of Zinc to two euryhaline species of fish, *Fundulus heteroclitus* and *Kryptolebias marmoratus*. *Integrative and Comparative Biology*, 25 (6): 753-760.
17. Brown, V.M., 1968. The calculation of the acute toxicity of mixtures of poisons to rainbow trout. *Water Reaserch*, 10: 723-733.
18. Butrimavičienė, L., Nalivaikienė, R., Kalcienė, V. and Rybakovas, A., 2021. Impact of copper and zinc mixture on haematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): acute exposure and recovery. *Ecotoxicology*, <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02404-7>.
19. 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.
20. Delahaut, V., Rašković, B., Salvado, M.S., Bervoets, L., Blust, R. and Boeck, G.D., 2020. Toxicity and bioaccumulation of Cadmium, Copper and Zinc in a direct comparison at equitoxic concentrations in common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. *PLoS One*, 15 (4): 131-137.
21. Farhangi, M., Adineh, H. and Harsij, M., 2022. Protective Immunologic and histopathologic effects of garlic extract (*Allium sativum*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to acute toxicity with copper (Cu^{2+}). *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 14(4): 26-36, DOI: <https://doi.org/10.22067/ijvst.2022.74373.1105>
22. Gündoğdu, A., 2008. Acute toxicity of zinc and copper for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries Sciences*, 2 (5): 711-720.
23. Hedayati, S.A., Rezaei, H., Darabi Tabar, F., Bagheri, T., Zahiri, F., Mohamadi Yelsooei, I. and Sahraei, H., 2016. Evaluation of histopathology changes of common carp (*Cyprinus carpio*) in the

- face of the deadly toxin concentrations Abamectin. *Zanko Journal of Medical Sciences*, 17 (54): 1-15.
24. Kumara, N., Kumar Chandan, N., Wakchaure, 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.
25. Lushchak, V.I., 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquat Toxicol*, 101: 13-30.
26. Lynch, N.R., Hoang, T.C. and O'Brien, T.E., 2016. Acute toxicity of binary-metal mixtures of copper, zinc, and nickel to *Pimephales promelas*: Evidence of more-than-additive effect. *Environmental Toxicology*, 35 (2): 446-457.
27. 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.
28. 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.
29. Nafisi Bahabadi, M., Dadgar, S.H., Lakzaei, F., Mohajeri, Z. and Abdolahi, R., 2016. The effect of subacute concentrations of Butachlor herbicide on some blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Fisheries Science Research Institute*. 25 (2): 151-160.
30. 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 brachipomus*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 28 (11): 1001-1007.
31. Roberts, R.J., 2012. Fish pathology. 4th edition. Wiley-Blackwell, UK. 590 p.
32. 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.
33. Svecevičius, G., 2012. Acute Toxicity of Zinc to Common Freshwater Fishes of Lithuania. *Acta Zoologica Lituanica*, 9 (2): 114-118.
34. Taweel, A., Shuhaimi-O, M. and Ahmad, A.K., 2013. In vivo Acute Toxicity Tests of Some Heavy Metals to Tilapia Fish (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Biological Sciences*, 13: 365-371.
35. TRC., 1984. OECD Guideline for testing of chemical, Section 2, Effects on biotic systems. OECD. 39P.
36. Trenfield, M.A., Walker, S.L., Tanneberger, C. and Harford, A.J., 2023. Toxicity of Zinc to Aquatic Life in Tropical Freshwaters of Low Hardness. *Environmental Toxicology*, 42 (3): 679-683, <https://doi.org/10.1002/etc.5556>.
37. Van, H., Vosloo, A. and Nikinmaa, M., 2004. Effects of short-term copper exposure on gill structure, methallothionein and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 69: 271-280.
38. Yim, J.H. and Kim, S.D., 2006. Effects of hardness on acute toxicity of metal mixtures using *Daphnia magna*. *Journal of Hazardous Materials*, 138 (1): 16-21.
39. Zeng, L., Huang, L., Zhao, M., Liu, S.H., He, Z.H., Feng, J., Qin, C.H. 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.