مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد اول، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۱
http://japu.gau.ac.ir

پاسخ‌های رفتاری و آسیب‌شناختی ریختی ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) تحت سمیت حاد مس و روی

***ایوب یوسفی‌جوردهی[۱و۳]، سورنا ابدالی[۲]، علی حلاجیان[۱]، رضوان اله‌کاظمی[۱]، محمد سوداگر[۳]، سمیه شکوهی[۲]، مهزاد شکوری[۲] و امیرعلی مرادی‌نسب[۳]**

[۱]انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، [۲]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد دانشگاه آزاداسلامی واحد تهران شمال، [۳]دانشجوی دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۹

چکیده

ماهیان شاخص‌های زیستی قابل اعتمادی از آلودگی فلزات سنگین در آب هستند. جهت بررسی اثر سمیت حاد فلزات سنگین مس و روی بر ماهی فیتوفاگ از نمک‌های نیترات مس ($Cu(NO_3)_2$) و نیترات روی ($Zn(NO_3)_2$) استفاده شد. به این منظور ۲۷۰ قطعه ماهی فیتوفاگ با میانگین وزنی ۸/۱±۵۲/٦ گرم و طولی ۲±۱۷/۲ سانتی‌متر، در مجاورت غلظت‌های ۰، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند. از نظر رفتاری، علائمی از قبیل حرکات پرشی و چرخشی، تجمع در سطح آب در ساعات اولیه، شنای واژگون و تجمع در کف مشاهده گردید که با افزایش غلظت فلز افزایش یافت. از نظر آسیب‌های مورفولوژیک، عوارضی مانند تغییر رنگ آبشش‌ها، تورم کمان آبششی، ایجاد لخته‌های خون در آبشش، تورم و کدر شدن کیسه صفرا در مجاورت مس مشاهده گردید. در مورد روی، لکه‌های سفید تاول مانند، التهاب و تغییر رنگ پوست، گود افتادگی و لکه‌های قرمز در قسمت زیرین چشم‌ها و ریزش فلس مشاهده گردید. در تشریح ماهی‌های تلف شده علائمی مانند پرخونی، تورم و خونریزی در آبشش، خونریزی داخل روده‌ای، آب آوردگی شکم و تیرگی کیسه صفرا مشاهده شد. میزان LC50–۲٤ ساعت نیترات مس، ۲/۵۳۹ میلی‌گرم در لیتر ولی میزان LC50–۹٦ ساعت نیترات روی، ٤ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد. بنابراین، نیترات مس نسبت به نیترات روی از سمیت و قابلیت کشندگی بیشتری برخوردار بود.

واژه‌های کلیدی: آسیب‌شناختی ریختی، رفتار، فلز سنگین، سمیت حاد، فیتوفاگ

*مسئول مکاتبه: ayoub2222002@yahoo.com

مقدمه

آلودگی به فلزات سنگین یک مشکل جهانی است که خطرات سلامتی جدی برای حیوانات و انسان‌ها دارد. فلزات سنگین ترکیبات طبیعی هستند که به‌میزان اندکی در محیط آبی وجود دارند. اما سطوح آنها به‌دلیل فعالیت‌های صنعتی، خانگی و کشاورزی در سال‌های اخیر افزایش یافته است (اولیفا و همکاران، ۲۰۰٤). تخلیه فلزات سنگین به رودخانه و هر گونه محیط آبی می‌تواند هم تنوع گونه‌ای و هم اکوسیستم را تغییر دهد. موجودات آبزی از قبیل ماهیان و صدف‌ها فلزات سنگین را چندین برابر غلظت موجود در آب‌ها و رسوبات در خود جمع می‌کنند (اولیفا و همکاران، ۲۰۰٤). آنها هم‌چنین می‌توانند فلزات سنگین را در سطوح مختلف در اندام‌های متفاوت جذب نمایند (خالد، ۲۰۰٤). آلودگی آب با ترکیبات یا عناصر فلزات سنگین، منجر به مسمومیت خونی ماهیان و به دنبال آن تلفات مستقیم و یا مسمومیت مزمن و تغییرات مهم در فیزیولوژی ماهیان می‌شود که نتیجه آن نبود توانایی جانور برای ادامه حیات خواهد بود. فلزات سنگین تغییرات قابل ملاحظه‌ای در چرخه‌های زیستی ایجاد می‌کنند و هر یک از آنها دارای آثار بیوشیمیایی خاصی در بدن موجودات زنده هستند (جلالی و آقازاده، ۲۰۰٦). اثرات حاد مس بر برخی پارامترهای خونی در گونه Coruh trout (*Salmo coruhensis*) طی یک دوره مجاورت کوتاه مدت در برابر غلظت‌های بالای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مورد مطالعه قرار گرفت (سرزلی و همکاران، ۲۰۱۱). فلز روی به طبقه میکروالمان‌ها تعلق دارد که برای فعالیت مناسب بدن مورد نیاز است (کوتز و همکاران، ۱۹۹۹). افزایش سطوح روی در سیستم‌های آبی می‌تواند ناشی از تخلیه مایعات، رسوبات اتمسفر، نشت فاضلاب‌های خانگی و حشره‌کش‌ها و فرایندهای مربوط به گالوانیزه کردن وسایل باشد (نوسی، ۱۹۹۸). سمیت روی در حیات آبی به‌طور وسیع طی دهه‌های اخیر مورد مطالعه قرار گرفته و اطلاعات زیادی در دسترس می‌باشد. در همه موارد مطالعه شده، فلز روی سبب ایجاد آسیب‌های ساختاری در بدن ماهیان گردید و رشد، تکامل و زندگی آنها را تحت‌تأثیر قرار داد (باگدوناس و ووسیلین، ۲۰۰٦). اولولاد و اوجینی (۲۰۰۹)، اثرات روی رفتار گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) را مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که با افزایش غلظت روی رنگ ماهیان تیره‌تر شد و میزان مرگ‌ومیر افزایش یافت. به‌طوری‌که با استفاده از روش لگاریتمی میزان LC50–۹٦ ساعت آن ۳٦/۷ میلی‌گرم در لیتر تعیین کردند. مجاورت ماهیان با آب شامل فلزات سنگین موجب تجمع این فلزات در اعضای بدن آنها می‌شود که با مصرف این ماهیان ممکن است علائم مسمومیت در جمعیت‌های انسانی به‌ویژه کودکان ظاهر شود. از

آنجایی که فیتوفاگ به‌عنوان یکی از گونه‌های اصلی ماهیان گرمابی مورد مصرف عموم می‌باشد و در عین حال با توجه به نبود اطلاعات کافی در این خصوص در گونه فیتوفاگ، این مطالعه با هدف بررسی اثرات کشندگی فلزات سنگین مس و روی بر ماهی فیتوفاگ به انجام رسید.

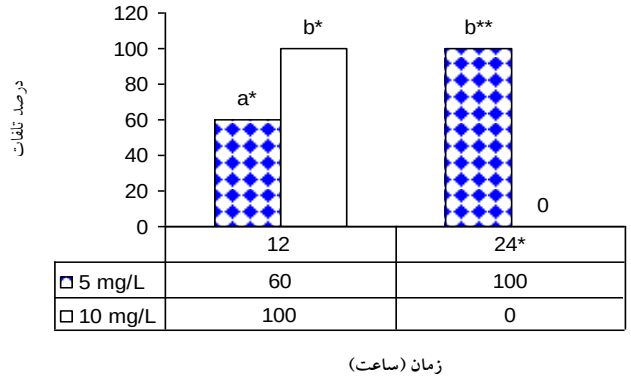
مواد و روش کار

به‌منظور انجام آزمایش تعداد ۲۷۰ قطعه ماهی فیتوفاگ پرورشی با میانگین وزنی ۸/۱±۵۲/٦ گرم و طولی ۲±۱۷/۲ سانتی‌متر، از مرکز پرورش ماهی کوئی کارپ (رشت) خریداری و پس از آداپتاسیون ماهیان بر اساس تیمارهای مورد نظر، تعداد ۱۳۵ قطعه از ماهیان برای بررسی اثر هر فلز در ۹ عدد آکواریوم ۱۰۰ لیتری حاوی ۹۰ لیتر آب چاه (بدون خروجی و مجهز به هوادهی) برای هر فلز و به تعداد ۱۵ عدد ماهی در هر آکواریوم معرفی شدند. در مجموع ۳ تیمار، شامل تیمار شاهد (با دوز صفر) و تیمارهای با غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مس و روی و هر تیمار با سه تکرار برای هر فلز در نظر گرفته شد.

آماده‌سازی فلز: جهت تهیه غلظت‌های مورد نظر فلز از روش جرمی- حجمی استفاده شد. به‌طوری‌که ابتدا کل مقدار فلز مورد نیاز بر اساس جرم مولکولی محاسبه و پس از حل کردن در حجم معینی از آب مصرفی، محلول استوک تهیه گردید. سپس بر اساس غلظت‌های مورد نظر، حجم معینی از استوک برداشته و در مخزن‌ها ریخته شد. جهت محاسبه فلز مورد نیاز از فرمول: C2V2=C1V1 استفاده شد که در آن C1: میزان کل فلز مورد نیاز برحسب گرم (در این پژوهش ٤/۰۵ گرم برای هر فلز)، V1: حجم یک لیتر آب، C2: غلظت مورد نیاز فلز (۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) و V2: حجم آب موجود در هر آکواریوم (۹۰ لیتر). پس از تهیه فلز سنگین مس و روی با غلظت‌های مورد نظر، مقدار ۱۱۱ میلی‌لیتر از استوک هر فلز در هر یک از تکرارهای تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر و ۲۲۲ میلی‌لیتر از استوک در تکرارهای تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ریخته شد. پایش ماهیان از زمان معرفی فلز انجام گردید. میزان LC50–۲٤ و ۹٦ ساعت با استفاده از روش آنالیز Probit تحت نرم‌افزار SPSS16 انجام شد. فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب با استفاده از دستگاه اکسیژن‌متر دیجیتال (مدل 340I Multi ساخت آلمان) به‌طور روزانه اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری داده‌ها به روش t-Test و با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 انجام و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین± انحراف خطا ارائه گردید.

نتایج

الف- میزان تلفات: بیشترین درصد تلفات تا ۱۲ ساعت پس از مجاورت در برابر فلز به‌ترتیب مربوط به نیترات مس با غلظت‌های ۱۰ و ۵ میلی‌گرم در لیتر بود. ۱۰۰ درصد ماهیانی که در مجاورت نیترات مس قرار داشتند، در تیمار با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر پس از ۱۲ ساعت و در مجاورت ۵ میلی‌گرم در لیتر پس از ٢٤ ساعت تلف شدند. به‌طوری‌که بین غلظت‌ها در زمان‌های مشابه اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$) (نمودار ۱). در حالی‌که ٢٤/٤ درصد از ماهیان قرار گرفته در مجاورت ۵ میلی‌گرم در لیتر و ۵۷/۷ درصد ماهیان در معرض ۱۰ میلی‌گرم نیترات روی تا زمان ٢٤ ساعت تلف شدند. از زمان ۷۲ ساعت تلفات با شدت کمتری ادامه یافت و همه ماهیان قرار گرفته در مجاورت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات روی تا زمان ۹٦ ساعت تلف شدند. این در حالی بود که در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نیترات روی در مجموع (۷۷/۷ درصد) ماهیان تا ۹٦ ساعت تلف شدند (نمودار ۲).

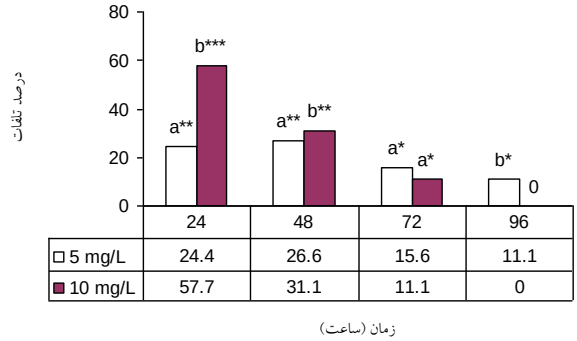


نمودار ۱- تلفات ماهیان در معرض غلظت‌های مختلف نیترات مس در زمان‌های مورد مطالعه

*همه ماهیان در معرض ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات مس تا زمان ۱۲ ساعت تلف شدند.

* حروف انگلیسی غیرمشترک در هر شکل نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح $P \leq ۰/۰۵$ می‌باشد.

*داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف خطا بیان شده است.



نمودار ۲- تلفات ماهیان در معرض غلظت‌های مختلف نیترات روی در زمان‌های مورد مطالعه.

* همه ماهیان در معرض ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات روی تا زمان ۹۶ ساعت تلف شدند.

* حروف انگلیسی غیرمشترک در هر شکل نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح $P \leq ۰/۰۵$ می‌باشد.

*داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

میزان LC50-24h. نیترات مس ۲/۵۳۹ میلی‌گرم در لیتر، ولی میزان LC50-96h نیترات روی ٤ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج آنالیز پروبیت

LC50 – ۹٦ ساعت نیترات روی			LC50 – ٢٤ ساعت نیترات مس	
تخمین	احتمال		تخمین	احتمال
۱/٤٥٨	۰/۰۱		۰/۹۹۰	۰/۰۱
۱/۷٥٦	۰/۰۲		۱/۱۷۲	۰/۰۲
۱/۹٤٥	۰/۰۳		۱/۲۸۷	۰/۰۳
۱/۰۸۷	۰/۰٤		۱/۳۷٤	۰/۰٤
۲/۲۰۳	۰/۰٥		۱/٤٤٤	۰/۰٥
۲/۳۰۱	۰/۰٦		۱/٥۰٤	۰/۰٦
۲/۳۳۸	۰/۰۷		۱/٥٥۷	۰/۰۷
۲/٤٦٥	۰/۰۸		۱/٦۰٤	۰/۰۸
۲/٥۳٥	۰/۰۹		۱/٦٤٦	۰/۰۹
۲/٦۰۰	۰/۱		۱/٦۸٦	۰/۱

ادامه جدول ۱- نتایج آنالیز پروبیت

LC50 – ۹۶ ساعت نیترات روی		LC50 – ۲۴ ساعت نیترات مس	
تخمین	احتمال	تخمین	احتمال
۲/۸۶۸	۰/۱۵	۱/۸۴۹	۰/۱۵
۳/۰۸۰	۰/۲	۱/۹۷۹	۰/۲
۳/۲۶۳	۰/۲۵	۲/۰۹۰	۰/۲۵
۳/۴۲۷	۰/۳	۲/۱۹۰	۰/۳
۳/۵۷۹	۰/۳۵	۲/۲۸۲	۰/۳۵
۳/۷۲۳	۰/۴	۲/۳۷۰	۰/۴
۳/۸۶۳	۰/۴۵	۲/۴۵۵	۰/۴۵
۴	۰/۵	۲/۵۳۹	۰/۵
۴/۱۳۷	۰/۵۵	۲/۶۲۳	۰/۵۵
۴/۲۷۷	۰/۶	۲/۷۰۸	۰/۶
۴/۴۲۱	۰/۶۵	۲/۷۹۵	۰/۶۵
۴/۵۷۳	۰/۷	۲/۸۸۸	۰/۷
۴/۷۳۷	۰/۷۵	۲/۹۹۸	۰/۷۵
۴/۹۱۹	۰/۸	۳/۰۹۹	۰/۸
۵/۱۳۲	۰/۸۵	۳/۲۲۹	۰/۸۵
۵/۴۰۰	۰/۹	۳/۳۹۲	۰/۹
۵/۴۶۵	۰/۹۱	۳/۴۳۱	۰/۹۱
۵/۵۳۵	۰/۹۲	۳/۴۷۴	۰/۹۲
۵/۶۱۲	۰/۹۳	۳/۵۲۱	۰/۹۳
۵/۶۹۸	۰/۹۴	۳/۵۷۴	۰/۹۴
۵/۷۹۷	۰/۹۵	۳/۶۳۴	۰/۹۵
۵/۹۱۲	۰/۹۶	۳/۷۰۴	۰/۹۶
۵/۰۵۵	۰/۹۷	۳/۷۹۱	۰/۹۷
۶/۲۴۳	۰/۹۸	۳/۹۰۶	۰/۹۸
۶/۵۴۱	۰/۹۹	۴/۰۸۷	۰/۹۹

ب- تغییرات رفتاری ظاهری: ماهیان بلافاصله پس از معرفی نیترات مس، دچار حرکت چرخشی شده و در سطح آب تجمع کردند. پس از گذشت ۵ ساعت در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم رفتار پرشی ماهیان به بیرون مشاهده گردید و در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر شنای معکوس دیده شد. با گذشت ٦ ساعت پس از معرفی فلز سنگین، تجمع ماهیان در کف و شنای واژگون در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید. در مورد روی، بعد از معرفی سم حرکات شدید پرشی به سمت بیرون مشاهده شد. شنای ماهی‌ها به‌خصوص در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بسیار سریع شد و پرش به سمت بیرون و تجمع در سطح در دوز بالا بیشتر مشاهده گردید. یک ساعت پس از معرفی فلز روی در تیمار با دوز ۱۰ میلی‌گرم در لیتر شنای واژگون، افزایش تنفس و شنا در کف آکواریوم‌ها مشاهده شد که با افزایش غلظت شدت یافت. ۳ ساعت پس از مجاورت با روی، علائمی مانند شنای واژگون، تجمع در کف، برگشت به پشت مشاهده گردید و حرکات پرشی کاهش یافت. سپس تغییر چندانی دیده نشد و دوباره ماهی‌ها رفتار طبیعی از خود نشان دادند، به‌طوری‌که تا ۹٦ ساعت تغییرات رفتاری تقریباً ثابت بود و فقط مرگ و میر مشاهده گردید.

ج- اثرات آسیب‌شناختی ریختی: عوارضی از قبیل تغییر رنگ (کم رنگ و بی‌رنگ) آبشش‌ها، تورم در ناحیه کمان آبششی، ایجاد لخته‌های خون در آبشش، تورم و کدر شدن کیسه صفرا در ماهیان قرار گرفته در مجاورت غلظت‌های مختلف نیترات مس مشاهده گردید. در مورد روی، پس ۲ ساعت مجاورت، لکه‌های سفید تاول مانند و التهاب پوست مشاهده گردید، که به مرور زمان لکه‌ها بزرگ‌تر می‌شد. به‌خصوص در دوز بالا این لکه‌ها بیشتر بود و رنگ پوست در دوز ۱۰ میلی‌گرم در لیتر قرمز مایل به صورتی شد. پس از ۳ ساعت، لکه‌های قرمز در قسمت زیرین چشم‌ها و ریزش فلس مشاهده گردید که با افزایش غلظت روی بیشتر شد. ٤ ساعت پس از معرفی فلز، علائمی مانند گود افتادگی شدید در زیر چشم‌ها و بروز لکه‌های قرمز زیر چشم بیشتری مشاهده شد. در تشریح ماهی‌های تلف شده علائمی مانند پرخونی و تورم و خونریزی در آبشش، آب‌آوردگی شکم و خونریزی داخل روده‌ای در تیمار با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید. در دوز ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، علائمی از قبیل تورم حلق، پرخونی شدید آبشش، دفرمه شدن آبشش تورم کمان آبششی، بروز لخته خون در محوطه شکمی، آب‌آوردگی شکم و تیرگی کیسه صفرا مشاهده شد (شکل‌های ۱ و ۲). میانگین دمای آب ۱±۲٤ درجه سانتی‌گراد، میانگین اکسیژن محلول ۰/۸±۵/۲، میانگین شوری ۰/۰۲±۱ در هزار و میانگین pH معادل ۰/۲±۸ بود.

شکل ۱- اگزوفتالمی و کم رنگ شدن آبشش‌ها

شکل ۲- تورم و تیرگی کیسه صفرا

بحث

ماهیان شاخص‌های زیستی (بیومارکر) آسان و قابل اعتمادی از آلودگی فلزات سنگین در پیکره‌های آبی هستند (لودی و همکاران، ۲۰۰٦؛ تیلور و همکاران، ۲۰۰۰). اثر منفی فلزات سنگین بر ماهیان به اختلال ایجاد شده در فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آنها مربوط می‌شود (ویلا و همکاران، ۱۹۹۹). رفتار و مرگ‌ومیر ماهیان هم به غلظت فلز و هم به‌مدت زمان مجاورت ماهی با فلز بستگی داشت. نیترات مس دارای اثر کشندگی شدیدتری بر ماهی فیتوفاگ در مقایسه با فلز سنگین نیترات روی بود. این ماهی در برابر غلظت‌های کشنده مس حساس بود، به‌طوری‌که همه ماهیان در معرض ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات مس پس از ۱۲ ساعت و در مجاورت با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر آن پس از ٢٤ ساعت تلف شدند. در حالی‌که ماهیان قرار گرفته در مجاورت فلز روی به‌طور معنی‌داری تلفات کمتری نسبت به فلز مس داشتند. این میزان تلفات می‌تواند به‌دلیل قابلیت تجمع زیستی قوی‌تر نیترات مس در اندام‌ها و بافت‌های مختلف بدن ماهی نسبت به نیترات روی باشد و این امر جای نگرانی در خصوص فلز مس دارد که بایستی سطوح آن در آب‌های طبیعی در حد پایین باشد (اولودلا و اوجینی، ۲۰۰۹). مسمومیت ماهیان، با فلزات سنگین منجر به آسیب سیستم عصبی، تنفسی، کبد و سیستم ایمنی ماهیان می‌شود. در اثر این مسمومیت، ابتدا علایمی مانند تیرگی رنگ و شنای نامتعادل و عمودی در ماهیان مشاهده شد که می‌تواند مربوط به از دست دادن تعادل ماهیان باشد. در این مرحله ضایعات آبشش شامل تورم سلول‌های تولیدکننده موکوس و اتساع عروق مویرگی سرخرگی هستند که در

برخی از موارد با این پژوهش مطابق داشت. در صورت استمرار مجاورت ماهی در آب دارای غلظت زیاد فلزات سنگین، حساسیت ماهی به عوامل خارجی از بین می‌رود و به سهولت صید می‌شود و در صورت مجاورت طولانی‌تر ماهی قادر به حفظ موقعیت طبیعی نبوده و بالاخره می‌میرد (روحانی، ۱۹۹۵). در مطالعه‌ای که گیودا و همکاران (۲۰۰۷)، در خصوص تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی Cu^{2+} و Zn^{2+} در گونه *Leporinus obtusidens* انجام دادند، میزان LC50 در ۹۶ ساعت را به‌ترتیب ۲/۳ و ٤/٦ میلی‌گرم در لیتر اعلام کردند که قدرت کشندگی مس دو برابر روی بود. اثرات سمیت مس بر ماهی فیتوفاگ از طریق ایجاد تغییرات پاتولوژیکی در خون و بافت ناشی از القای نوعی آنمی بود. تغییرات مشاهده شده در آبشش‌های بررسی شده در این پژوهش مشابه تغییرات پاتولوژیکی مشاهده شده توسط موهیویچ و همکاران (۱۹۹۵)، روی آبشش‌های ماهی کاراس طلایی (*Carassius auratus*) و ژورگوا و همکاران (۲۰۱۰)، در گونه *Carasius gibelio* بود. سرزلی و همکاران (۲۰۱۱) اثرات حاد مس بر گونه Coruh trout (*Salmo coruhensis*) را طی یک دوره مجاورت کوتاه‌مدت در برابر غلظت‌های بالای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مورد مطالعه قرار دادند. مطالعات صورت گرفته توسط رستمی‌بشمن و همکاران (۲۰۰۰)، رستمی‌بشمن و سلطانی (۲۰۰۹)، نشان داد که در مجاورت قرار گرفتن ماهی کپور با فلز سنگین سولفات روی ضایعاتی چون نکروز سلولی، پرخونی، افزایش رنگدانه هموسیدرین و التهاب ایجاد کرد. در مطالعه‌ای که شاپوری و همکاران (۲۰۰۹)، در مورد تأثیر فلز مس بر تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت‌های عضله، کبد و گناد ماهی کپور معمولی انجام دادند، میزان LC50–۹٦ ساعت مس در ماهیان انگشت قد و بالغ به‌ترتیب ۰/۲۷ و ۲/۳ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید. ژورگوا و همکاران (۲۰۱۰)، اثرات کلینیکی و مورفولوژیکی سمیت مس در ماهی کاراس (*Carasius gibelio*) را مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که مس باعث تجمع ماهیان در مجاورت هواده، هموراژی در ناحیه سر، پشت و زیر باله‌های بدن، تغییر شکل باله‌ها، اگزوفتالمی، تخریب آبشش، هیپرپلازی لاملای آبشش، از بین رفتن هموسیدرین در طحال و غیره گردید که در برخی موارد با این پژوهش مطابقت داشت.

ویتسکا (۲۰۰۵)، با قرار دادن ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مجاورت ۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین مس به‌مدت ۹٦ ساعت دریافتند که ماهیان دچار استرس شدند. دانگ و همکاران (۲۰۰۵)، اثرات سمیت حاد سولفات مس و کلرید روی بر ماهی کوبیا (*Rachycentron canadum*) را مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که ماهیان در مراحل اولیه زندگی (تخم و لارو) نسبت به مس و روی

حساس‌تر هستند و میزان LC50 مس و روی به‌ترتیب ۰/۰٦ و ۰/۳۱۳ بود. آنها بیان داشتند که بیشترین اثر سمی فلزات یاد شده طی ۲٤ تا ٤۸ ساعت اولیه رخ داد و میزان سمیت مس ۵ تا ۱۰ برابر بیشتر بود که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. از نظر رفتاری ماهیان دارای الگوی شنای ناپدار همراه با حرکات ناگهانی بودند. باله‌های آنها سفت و رشته رشته شد. عدم تعادل و خستگی، معلق شدن به‌طور عمودی در آب با دهان باز در سطح و در نهایت فرورفتن به کف آب و عدم تحرک نیز مشاهده گردید، به‌طوری‌که ماهیان به تحریکات محیطی واکنش نشان ندادند. ایزئونیجیکو و همکاران (۲۰۱۱)، پاسخ‌های رفتاری گونه‌های تیلاپیای نیل (*Oreocromis niloticus*) و گربه ماهی (*Clarias gariepinus*) به سولفات مس را بررسی کردند و دریافتند که ماهیان مسموم رفتارهای غیرطبیعی متفاوتی را در غلظت‌های ۵۰، ٦۰، ۷۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر نشان دادند. میزان LC50-۹٦ ساعت در گونه‌های مذکور به‌ترتیب ۵۸/۸۳۷ و ۷۰/۱۳۵ میلی‌گرم در لیتر بود. تغییرات رفتاری (پاسخ‌های حرکتی) در بین ماهیان در معرض غلظت‌های مختلف سولفات مس مشاهده گردید. تفاوت مشاهده شده در عملکرد فلزات سنگین (مس و روی) ممکن است به‌دلیل خصوصیات فیزیکوشیمیایی محیط آزمایش، گونه و سن ماهیان و نیز میزان حساسیت آنها به آزمون‌های شیمیایی باشد.

روی، عنصری ضروری برای گیاهان و حیوانات محسوب می‌شود. در محیط‌های آبی غلظت‌های بالای روی اثرات معکوسی بر رشد، تکامل و زندگی ماهی از طریق اثر بر ساختار بدن می‌گذارد (تورولا و سوایویو، ۱۹۸۲). اولودلا و اوجینی (۲۰۰۹)، اثرات روی بر رفتار گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) را مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که با افزایش غلظت روی رنگ ماهیان تیره‌تر شد و میزان مرگ و میر افزایش یافت. به‌طوری‌که با استفاده از روش لگاریتمی میزان LC50-۹٦ ساعت آن را ۳٦/۷ میلی‌گرم در لیتر تعیین کردند. آنها برخی از علایم رفتاری از قبیل شنای سریع و ناگهانی، بالا و پایین رفتن در آب همراه با حرکات پرشی، عدم تعادل، ضعف عمومی همراه با تجمع در کف آب و تأخیر در برابر تحریکات محیطی را نیز گزارش کردند که در برخی موارد با یافته‌های این پژوهش مطابقت داشت.

بنابراین، سمیت و میزان کشندگی نیترات مس بسیار بیشتر از نیترات روی می‌باشد و تلفات و اثرات ناشی از فلزات مس و روی را می‌توان به تأثیر آنها بر اندام‌های مختلف بدن به‌ویژه کبد، آبشش و کلیه نسبت داد که در نهایت منجر به مرگ ماهی می‌شود.

تشکر و قدردانی

از مدیریت محترم انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان و دانشگاه آزاد واحد تهران شمال و کلیه همکارانی که در انجام این پژوهش همکاری کردند، سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1. Bagdonas, E. and Vosylien, M.Z. 2006. A study of toxicity and genotoxicity of copper, zinc and their mixture to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Biologija. 1: 8-13.
2. Dung, L.Q., Cuong, N.M., Huyen, N.T. and Nguyen, D.C. 2005. Acute toxicity test to determine the effects of copper, zinc and cyanide on Cobia (*Rachycentron canadum*) resources in North Vietnam. Australian Journal of Ecotoxicology. 11: 163-166.
3. Ezeonyejiaku, C.D., Obiakor, M.O. and Ezenwelu, C.O. 2011. Toxicity of Copper Sulphate and behavioral locomotor response of tilapia (*Oreochromis niloticus)* and catfish (*Clarias gariepinus)* species. Animal and Feed Research. 4: 130-134.
4. Georgeva, E., Arnaudov, A. and Velcheva, I. 2010. Clinical, hematological and morphological studies on ex-siyu induced copper intoxication in Crucian Carp (*Carassius gibello*). Journal of Central European Agriculture. 11:165-172.
5. Gioda C.R., Lissner, L.A., Pretto, A da Rocha, J.B.T., Schetinger, M.R.C., Neto, J.R., Morsch, V.M. and Loro, V.L. 2007. Exposure to sublethal concentrations of Zn (II) and Cu (II) changes biochemical parameters in *Leporinus obtusidens*. 98: 170-175.
6. Jalali Jafary, B. and Aghazade Moshki, M. 2006. Fish poisoning by heavy metals and its importance in public health. Man Ketab Publishing.138p. (In Persian)
7. Khaled, A. 2004. Heavy metal concentrations in certain tissues of five commercially important fishes from El-MexBay, Al-Exandria, Egypt. Pp: 1-11.
8. Kotze, P., Preez, H.H. and Van Vuren, J.H.J. 1999. Bioaccumulation of copper and in *Oreochromis mossabicus* and *Clarias gariepinus* from the Olifants River, Mpumalaga, South Africa. Water SA. 25: 99-110.
9. Lodhi, H.S., Khan, M.A., Verma, R.S. and Sharma, U.D. 2006. Acute toxicity of copper sulphate to fresh water prawns. Journal of Environment and Biology. 27: 585-588.
10. Muhvich, A.G., Jonesm, R.T., Kane, A.S., Anderson, R.S. and Reimscheussel, R. 1995. Effects of chronic copper exposure on the macrophage chemiluminescent response and gill histology in goldfish (*Carassius auratus*). Fish and Shellfish Immunology. 5: 251-264.

11.Nussey, G. 1998. Metal ecotoxicology of the upper Olifants River at selected localities and the effect of copper and zinc on fish blood physiology. Ph.D. Thesis, Rand Afrikaans University, South Africa.105p.
12.Olaifa, F.E., Olaifa, A.K., Adelaja, A.A. and Owolabi, A.G. 2004. Heavy metal contamination of *Clarias garpinus* from a lake and Fish farm in Ibadan, Nigeria African. Journal of Biomedical Research. 7: 145-148.
13.Ololade, I.A. and Ogini, O. 2009. Behavioural and hematological effects of zinc on African Catfish (*Clarias gariepinus)*. International Journal of Fisheries and Aquaculture. 2: 022-027.
14.Rohani, M. 1995. Prevention, diagnosis and treatment of diseases and poisoning the fish (Translation). Iran Department of Education and Department Rearing and Reproduction of Fisheries Publication. 256p. (In Persian)
15.Rostami Beshman, M. Soltani, M. and Sasani, F. 1379. Histopathological effects of some heavy metals (copper sulfate, zinc sulfate, chloride, mercury and cadmium) in tissues of the common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of veterinary Research of Tehran. 4 (55): 1-3.
16.Rostami Beshman, M. and Soltani, M. 2009. Tissue Effects of chronic doses of copper sulfate on some parts of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of veterinary Research of Tehran. 3(64): 193-198. (In Persian)
18.Serezli., A.S. and Delihasan, F. 2011. Acute effects of copper and lead on some blood parameters on Coruh trout (*Salmo coruhensis*). African Journal of Biotechnology. 10: 3204-3209.
17.Shapury, M., Oryan, Sh. And Esmaeeli-Sari, A. 2009. Effect on histological changes of muscle, liver and gonad of Common Carp (*Cyprinus carpio*). Resaech-Science journal. 7: 23-30. (In Persian)
18.Taylor, J.C., Geer, L.N., Wood, C.M. and Donald, D.G. Mc. 2000. Physiological effects of chronic copper exposure to rainbow trout (*Oncorhychus mykiss*) in hand and soft water, evaluation of chronic indicators. Environment Toxicology and Chemistry. 19: 2298-2308.
19.Turala, H. and Soivio, A. 1982. Structural and circulatory changes in the secondary lamellae of *Salmo gaidneri* gills to ehydioabietic acid and zinc. Aquatic Toxicology. 2: 21-29.
20.Viella, S., Ingrossi, L., Lionetto, M., Schettino, T., Zonno, V. and Stroelli, C. 1999. Effect of cadmium and zinc on the Na/H exchanger on the brush 34 B.K. Hassan border membrane vesicles isolated from eel kidney tankular cells. Aquatic Toxicology. 48: 25-36.
21.Witeska, M. 2005. Stress in fish-hematological and immunological effects of heavy metals. Electronic Journal of Ichthyology. 1: 35-41.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Utilization and Cultivation of Aquatics, Vol. 1(3), 2012
http://japu.gau.ac.ir

Behavioral and morphopathological responses of Sliver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) to acute toxicity of copper and zinc

A. Yousefi Jourdehi[1,3], S. Abdali[2], A. Hallajian[1], R. Kazemi[1], M. Sudagar[3], S. Shokohi[2], M. Shakoori[2] and A.A. Moradinasab[3]

[1]International Sturgeon Research Institute of Dr. Dadman, [2]M.Sc Graduated, Islamic Azad University of Tehran Shomal, [3]Ph.D student, Agricultural and Natural Sciences of Gorgan University

Received: 2011-12-20; Accepted: 2012-5-8

Abstract

Fishes are simple and reliable indicators for assessing of heavy metals in waters. This study investigate acute toxicity of Cu $(NO_3)_2$ and Zn $(NO_3)_2$ in *Hypophthalmichthys molitrix*. A total of 270 farmed silver carps with mean weight of 52.6±8.1gr and 17.2±2cm, including 135 for each metal were bought and located adjacent to 0, 5 and 10mg/L for 96 hours. Behaviorally, jumping and circling activities, collecting on water surface at early times, inverse swimming and collecting in the bed of aquarium signs were observed that increased with increase of concentration. Morphologically, damages such as color change, swelling of gills, blood clotting in gill, swelling and darkness of bile sac were observed in fishes related to Cu^{2+}. About zinc, white spot, inflammation and discoloration to reddish of skin, sinking and red spot under the eyes and loss scales were observed. In died fishes, pathological signs such as hyperemia, swelling and hemorrhage in gill, hemorrhage in gut, dropsy and bile darkness were observed. LC50-24h of it was measured 2.539mg/L, while LC50-96h of zinc nitrate was measured 4mg/L. Therefore, copper nitrate was more toxic than zinc nitrate and mortality of fish can be related to their adverse affects on gill, kidney and liver.

Keywords: Morphopathology; Behavior; Heavy metals; Acute toxicity; *Hypophthalmichthys molitrix*

* Corresponding Author; Email: ayoub2222002@yahoo.com