

بررسی اثر فلز جیوه بر بافت کبدی ماهی کلمه *Rutilus rutilus* دریای خزر در شرایط آزمایشگاهی

• سعید محمدزاده باران

گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

• غلامحسین و ثوقی

گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

• علی ماشینچیان مرادی

گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

• فاطمه عباسی (نویسنده مسئول)

گروه زیست شناسی دانشگاه الزهرا (س)

• پرگل قوام مصطفوی

گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ دریافت: تیرماه ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۱۳۹۰

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۳۰۸۱۴۹۵

Email: fabbassi-2000@modares.ac.ir

چکیده

با توجه به اینکه جیوه جزء یکی از آلاینده های مخرب و مضر محسوب می شود و می تواند اثرات بسیار نامطلوبی بر بافت موجودات زنده داشته باشد به همین منظور جهت مشاهده میزان تغییرات بافتی این آلاینده در غلظت های مختلف در شرایط آزمایشگاهی روی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) در این تحقیق سعی شد تأثیر غلظت های مختلف جیوه به عنوان ماده آلاینده بر بافت کبدی ماهی کلمه مورد بررسی قرار گیرد. گونه ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) از ایستگاه تحقیقات شیلات روستای قره سو واقع در بندر ترکمن تهیه و به آزمایشگاه منتقل گردید. بعد از نگهداری نمونه ها در آکواریوم ذخیره آن ها به مدت ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ ساعت در معرض غلظت های ۱۰، ۳۰ و ۵۰ میکرو گرم بر لیتر جیوه قرار داده شدند. نمونه ها در زمان های ذکر شده، از آکواریوم های شاهد و تیمار خارج سپس بافت های کبدی آن ها جهت تعیین آسیب های بافتی استخراج شدند. لام های آماده شده پس از رنگ آمیزی با عدسی ۱۰ و ۴۰ میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. آسیب های بافتی از قبیل تورم ابری، آتروفی، نکروز، تغییر شکل، پر خونی، تغییر شکل هسته ای، تراکم هسته ای، افزایش فاصله سینوزوئیدی و غیره در بافت کبدی ماهیانی که در معرض غلظت های مختلف جیوه قرار داشتند، مشاهده شد. به این صورت که در غلظت ۱۰ میکرو گرم بر لیتر جیوه حداقل آسیب بافتی مشاهده شد ولی با افزایش زمان در غلظت های ۳۰ و ۵۰ میکرو گرم بر لیتر جیوه حداکثر آسیب بافتی مشاهده شد.

کلمات کلیدی: بافت کبدی، جیوه، ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*)

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 92 pp: 23-29

Study of Hg effects on liver tissue in *Rutilus rutilus* of Caspian sea *in vitro*

By: Saeid Mohamadzade.Baran, Gholamhossein Vosoghi, Ali Mashinchian, Fatemeh Abbasi, (Corresponding Author; Tel: +989123081495) Alzahra University, Pargol GhavamMostafavi Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, Science and Research Branch Islamic Azad University, Iran. Department of Biology, , Iran

A series of specific toxicological effects including bioaccumulation of the pollutant, histological changes and influences on liver tissue were examined in the Roach fish (*Rutilus rutilus*) after the exposure to graded sublethal concentrations (10 , 30 , 50 $\mu\text{g Hg/L}$) of mercury chloride (MC). Histopathological changes, such as oedema, vacuolization, pyknotic nucleus, telangiectasis, and degenerative, can clearly be observed in the slices from the liver exposed Roach. A batch of Roach with the mean values of 5 cm in length and 5.5 g in mass were pre-raised in a static system, which was supplied with dechlorinated tap water and constantly aerated. The water qualities were controlled as follows: pH, 7.45; oxygen concentration, 7 mg/L; the water temperature, 21–22 °C. All fish were fed twice a day with a commercial ration of biomar. Reagents Appropriate amount of mercury chloride (MC, AR 98%, Merck-Schuchardt) was dissolved in a stock solution of 0.676g HgCl₂/L. Based on the 24 h LC₅₀ value (70 ppb) obtained from the acute exposure test, a graded series (10 , 30 , 50 $\mu\text{g Hg/L}$) of mercury chloride (MC) were administered to Roach fish (*Rutilus rutilus*) with 48 fish per group. The chemical exposure experiments lasted for 48 , 96 and 144 hours. These designed exposure levels were sublethal, and could induce obvious alteration of tissues abnormalities and disease at the same time.

Key words: Liver tissue, Mercury chloride, *Rutilus rutilus*

مقدمه

شناسایی آلاینده ها و اثر آن بر مکانیسم های فیزیولوژیکی از مسائل مهم سم شناسی (توکسیکولوژی) به شمار می رود. فاضلاب های صنعتی که وارد رودخانه ها و دریا می شوند حاوی ترکیبات مختلفی از جیوه می باشند. جیوه و ترکیبات آن منجر به آلودگی آب شده و اثرات مختلفی در ماهی ایجاد کرده که غلظت مشخصی از آن نهایتاً مرگ ماهی را موجب می شود. یکی از مهم ترین و کاربردی ترین راه هایی که می توان میزان آلودگی محیط (اکوسیستم های آبی) و اثرات سوء آن بر موجودات را مطالعه کرد روش های بررسی تغییرات بافتی آبزیان در نتیجه تأثیر فلزات سنگین می باشد. هزاران ترکیب شیمیایی که می توانند اثرات خطرناک زیادی بر موجودات آب شیرین و دریایی داشته باشند، امروزه به اکوسیستم های آبی وارد شده اند. این مواد شامل فلزات سنگین، ترکیبات نفتی، آفت کش های کلره و هیدروکربن های آروماتیک هالوژن دار می باشند که به راحتی می توانند در بدن موجودات آبی تجمع کنند. در بین این مواد فلزات سنگین به صورت گسترده در محیط زیست آبی پخش شده اند. (یزدانی ۱۳۸۴). با توجه به این که، این آلاینده اثرات بسیار مخرب و سویی بر پیکره اکوسیستم های آبی داشته و خسارات جبران ناپذیری را به بار آورده است، لذا بررسی میزان تأثیر این قبیل آلاینده ها و بویژه فلز جیوه بر اکوسیستم های آبی و دریایی دارای اهمیت بالایی می باشد. این آلاینده تأثیر بسیار نامطلوبی بر ویژگی های اکوسیستمی، میزان تولیدمثل موجودات این مناطق، نحوه پراکنش آن ها، بقا و به طور کلی حیات، داشته است. برخی از این آلاینده بسیار سرطان زا و جهش زا بوده و امروزه از راه های مختلف و به مقادیر بسیار زیادی وارد اکوسیستم های آبی و دریایی شده است. مطالعات هیستوپاتولوژی، روش ارزشمندی برای ارزیابی آثار محیطی آلاینده ها روی ماهی ها می باشند.

(Teh و همکاران ۱۹۹۷). در شرایط آزمایشگاهی آلاینده های مختلف باعث ایجاد آسیب های بافتی مشخصی در اندام های ماهی ها می شوند که با تعیین این نوع آسیب ها، از آنها می توان به عنوان نشانگر زیستی به منظور بررسی وجود آلاینده ها در اکوسیستم های طبیعی استفاده کرد (Oliveira و همکاران ۲۰۰۲). تأثیرات هیستوپاتولوژی جیوه بر اندام های مختلف نظیر کبد، کلیه، آبشش، اپی تلیوم بویایی و طحال ماهیانی که در آب دارای جیوه غیر آلی قرار گرفته اند، مطالعه شده است (Oliveira و همکاران ۲۰۰۲) (Filenko و همکاران ۱۹۸۹) خلیج گرگان و رودخانه های اطراف آن محل ورود پساب های کارخانجات می باشد و از طرفی این منطقه محل تخم ریزی یا گذراندن زمستان برخی ماهیان از جمله ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) است. به دلیل اینکه این ماهی در اوایل زنجیره غذایی قرار داشته و طعمه خوبی برای ماهیان با ارزشی مانند ماهی سوف و اردک ماهی است، ارزش اکولوژیکی بسیاری دارد و نیز در پرورش ماهیان خاویاری مورد استفاده قرار می گیرد و همچنین این ماهی ارزش اقتصادی هم دارد. لذا بررسی تأثیر جیوه و ترکیبات آن بر بافت کبدی کلمه حائز اهمیت است. با توجه به اینکه کار بافت شناسی روشی مناسب، دقیق و قابل اطمینان است می توان با کمک این روش به آثار نامطلوب فلزات سنگین بر آبزیان پی برد.

مواد و روش ها

مراحل آزمایش در مجتمع آزمایشگاهی (آزمایشگاه بیولوژی دریا) دانشگاه علوم و تحقیقات تهران انجام شد. دمای داخل آزمایشگاه بین ۲۷ تا ۲۹ درجه سانتی گراد تعیین شد. تعداد ۲۰۰ قطعه ماهی کلمه انگشت قد از ایستگاه تحقیقات شیلات روستای قره سو واقع در بندر ترکمن تهیه و به آکواریوم stock آزمایشگاه منتقل گردیدند. این ماهیان به مدت ۷ روز در آکواریوم در آب سالم نگهداری شدند تا با شرایط جدید سازش یابند.

بر لیتر طی ۴۸ ساعت افزایش فاصله سینوزوئیدی و تراکم هسته ای به طور خفیف مشاهده شد (شکل ۳). در بافت کبدی ماهیان تیمار با غلظت ۳۰ میکرو گرم بر لیتر طی ۴۸ ساعت تراکم هسته ای، افزایش فاصله سینوزوئیدی و پرخونی با شدت بیشتری نسبت به غلظت ۱۰ میکرو گرم بر لیتر در زمان ۴۸ ساعت مشاهده شد (شکل های ۴ و ۵). در بافت کبدی ماهیان تیمار با غلظت ۵۰ میکرو گرم بر لیتر طی ۴۸ ساعت افزایش فاصله سینوزوئیدی، آتروفی، تراکم هسته ای، نکروز و پرخونی با شدت بیشتری نسبت به غلظت ۱۰ و ۳۰ میکرو گرم بر لیتر در زمان ۴۸ ساعت مشاهده شد (شکل ۶). در بافت کبدی ماهیان تیمار با غلظت ۱۰ میکرو گرم بر لیتر طی ۹۶ ساعت افزایش فاصله سینوزوئیدی و تراکم هسته ای، تورم ابری، پرخونی به طور خفیف ولی با شدت بیشتری نسبت به غلظت ۱۰ میکرو گرم بر لیتر در زمان ۴۸ ساعت مشاهده شد (شکل ۷). در بافت کبدی ماهیان تیمار با غلظت ۳۰ میکرو گرم بر لیتر طی ۹۶ ساعت افزایش فاصله سینوزوئیدی و تراکم هسته ای، پرخونی با شدت بیشتری نسبت به غلظت ۱۰ و ۳۰ میکرو گرم بر لیتر در زمان ۴۸ ساعت و غلظت ۱۰ میکرو گرم بر لیتر در زمان ۹۶ ساعت مشاهده شد (شکل های ۸ و ۹). در بافت کبدی ماهیان تیمار با غلظت ۵۰ میکرو گرم بر لیتر طی ۹۶ ساعت افزایش فاصله سینوزوئیدی و تراکم هسته ای، تورم ابری، پرخونی با شدت بیشتری نسبت به غلظت ۱۰ و ۳۰ میکرو گرم بر لیتر در زمان ۴۸ و ۹۶ ساعت مشاهده شد (شکل ۱۰). در بافت کبدی ماهیان تیمار با غلظت ۱۰ میکرو گرم بر لیتر طی ۱۴۴ ساعت افزایش فاصله سینوزوئیدی و تراکم هسته ای، تورم ابری، پرخونی، آتروفی و نکروز به طور خفیف ولی با شدت بیشتری نسبت به غلظت ۱۰ میکرو گرم بر لیتر در زمان های ۴۸ و ۹۶ ساعت مشاهده شد (شکل ۱۱). در بافت کبدی ماهیان تیمار با غلظت ۳۰ میکرو گرم بر لیتر طی ۱۴۴ ساعت افزایش فاصله سینوزوئیدی و تراکم هسته ای، پرخونی و نکروز با شدت بیشتری نسبت به غلظت ۱۰ و ۳۰ میکرو گرم بر لیتر در زمان های ۴۸ و ۹۶ ساعت مشاهده شد (شکل های ۱۲ و ۱۳). در بافت کبدی ماهیان تیمار با غلظت ۵۰ میکرو گرم بر لیتر طی ۱۴۴ ساعت افزایش فاصله سینوزوئیدی و تراکم هسته ای، تورم ابری، پرخونی به طور شدیدتری نسبت به تمامی غلظت ها و زمان های ذکر شده مشاهده شد (شکل ۱۴). تعداد آسیب های بافتی کبد در نمونه های شاهد (غلظت صفر) برابر صفر و در غلظت های ۱۰، ۳۰، ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ به ترتیب برابر ۲، ۴، ۶ مشاهده شد و همبستگی نقاط به دست آمده برای میزان آسیب دیدگی بافت کبدی زیاد (+۰/۸۶۶) و نزدیک +۱ (شکل های ۱۲ و ۱۳). در بافت کبدی ماهیان تیمار با غلظت ۵۰ میکرو گرم بر لیتر طی ۱۴۴ ساعت افزایش فاصله سینوزوئیدی و تراکم هسته ای، تورم ابری، پرخونی به طور شدیدتری نسبت به تمامی غلظت ها و زمان های ذکر شده مشاهده شد (شکل ۱۴). تعداد آسیب های بافتی کبد در نمونه های شاهد (غلظت صفر) برابر صفر و در غلظت های ۱۰، ۳۰، ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ به ترتیب برابر ۲، ۴، ۶، ۶ و ۶ مشاهده شد و همبستگی نقاط به دست آمده برای میزان آسیب دیدگی بافت کبدی نسبتاً زیاد +۱ (+۰/۶) اندازه گیری شد که نشان دهنده شیب پیوسته آسیب دیدگی است (نمودار ۲). تعداد آسیب های بافتی کبد در نمونه های شاهد (غلظت صفر) برابر صفر و در غلظت های ۱۰، ۳۰، ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ به ترتیب برابر ۲، ۴، ۶ و ۶ مشاهده شد و همبستگی نقاط به دست آمده برای میزان آسیب دیدگی بافت کبدی نسبتاً زیاد +۱ (+۰/۶) اندازه گیری شد که نشان دهنده شیب پیوسته آسیب دیدگی است (نمودار ۳).

در این مدت با غذای کنسانتره تغذیه شده و هر روز یک سوم حجم آب آکواریوم Stock تعویض می شد. طول و وزن ۲۰ ماهی کلمه انگشت قد مورد سنجش قرار گرفت. میانگین وزنی ماهیان مورد آزمایش ۵/۵ گرم و میانگین طولی آن ها ۵ سانتی متر اندازه گیری شد. تعداد ۴ آکواریوم که از قبل با آب و سنگ نمک به خوبی ضد عفونی شده بود یک هفته قبل از آزمایش (برای اینکه آب کلرزدایی شود) توسط آب لوله کشی آبگیری شدند. دمای آب بین ۲۲ - ۲۱ درجه سانتی گراد بوده و میزان اکسیژن آن ۷ mg/lit و pH آن نیز ۷/۴۵ اندازه گیری شد. از غلظت های ۱۰، ۳۰ و ۵۰ میکرو گرم بر لیتر جیوه سه تیمار تهیه شد. به علاوه یک آکواریوم شاهد نیز تهیه گردید. تمام مسائل کاهش استرس نیز رعایت شد. از هر چهار آکواریوم بعد از گذشت ۴۸ ساعت، ۳ قطعه ماهی برداشت شد. همین عمل بعد از زمان های ۹۶ ساعت و ۱۴۴ ساعت نیز انجام گردید. بلافاصله بعد از برداشت هر ماهی در زمان های مشخص شده ابتدا کبد ماهی جدا گردید. سپس در تیوپ هایی که حاوی محلول فرمالین ۱۰ درصد برای فیکس کردن نمونه ها بود قرار گرفت. ۲۴ ساعت قبل از قراردادن در دستگاه آماده سازی نسج تیوب ها از فرمالین تخلیه شدند و آب جایگزین فرمالین گردید. مراحل آبگیری (Dehydration)، شفاف سازی (Clearing) و آغشته گری به پارافین مذاب (Impregnation) بافت ها در دستگاه آماده سازی نسج انجام شد. سپس مرحله قالب گیری (Blocking) انجام گردید. از قالبها توسط دستگاه میکروتوم برش هایی با ضخامت ۶ میکرون تهیه شده و توسط همتاکسیلین ائوزین (روش Hariss) رنگ آمیزی شدند. پس از مرحله رنگ آمیزی مرحله Mounting صورت گرفت، و در نهایت اسلایدها فیکس گردیدند. تمام مراحل فوق مجدداً سه مرتبه تکرار شد. (Johnson و همکاران ۱۹۹۸)

محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل داده های آماری توسط نرم افزار Excel انجام شد. از آنالیز رگرسیون و محاسبات ضریب همبستگی جهت بررسی ارتباط میان غلظت جیوه و میزان آسیب دیدگی بافتی استفاده گردید.

نتایج

مشاهده حالات و رفتار ماهیان مسموم در اثر جیوه

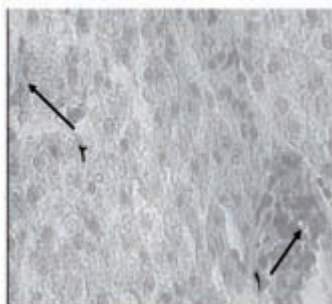
در ساعات اولیه آزمایش ها، ماهیان حرکات سریع داشتند. پس از گذشت زمان به حالت اولیه برگشتند ولی تند تر از حالت عادی تنفس می کردند. در نهایت فعالیت آنها کاهش یافته و در کف آکواریوم ها به حالت وارونه قرار گرفتند. در ماهیان مرده، ریختن فلس ها، بیرون زدگی چشم و خونریزی خفیف زیر جلدی در سر، شکم و کناره باله های سینه ای مشاهده گردید. در غلظت ۱۰ میکرو گرم بر لیتر جیوه، حالت مسمومیت در ماهیان کمتر مشاهده گشت ولی با افزایش غلظت جیوه حالت مسمومیت افزایش یافت.

نتایج حاصل از بافت کبدی

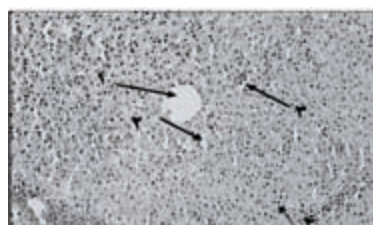
طی ۱۴۴ ساعت در بافت کبدی نمونه های شاهد تقریباً هیچ اختلالی مشاهده نشد. هسته ها بطور منظم در بافت پراکنده و فاصله سینوزوئیدی نرمال مشاهده شد. ورید مرکز لبولی (central vein) نیز قابل مشاهده بود (شکل ۲). در بافت کبدی نمونه های تیمار با غلظت ۱۰ میکرو گرم



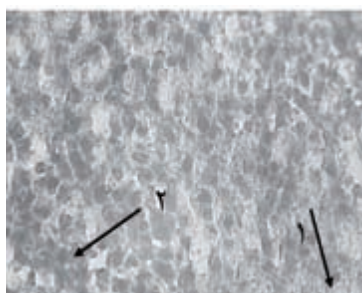
شکل ۱-۱ خونریزی زیر جلدی در ناحیه شکم ۲- بیرون زدگی چشم ها



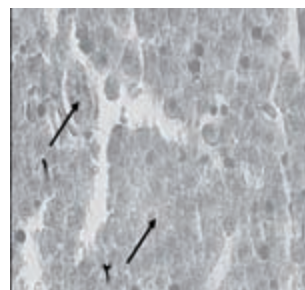
شکل ۵- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۳۰ میلیگرم بر لیتر - ۴۸ ساعت (H&E,x2000) ۱- تراکم هسته ای ۲- پرخونی



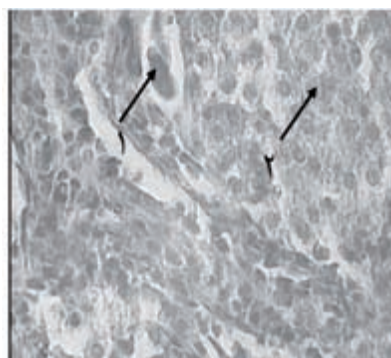
شکل ۲- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی شاهد (x500) ۱- ورید مرکز لبولی (central vein) ۲- سینوزوئید ۳- هماتوسیت



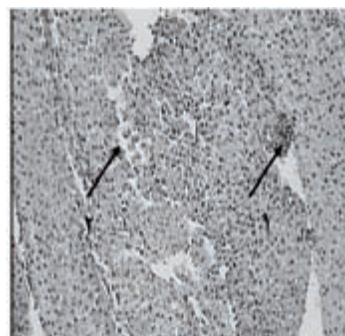
شکل ۶- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۵۰ میلیگرم بر لیتر - ۴۸ ساعت (H&E,x2000) ۱- نکروز ۲- پرخونی



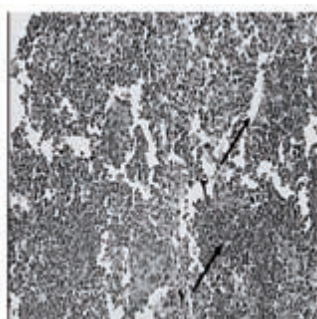
شکل ۳- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۱۰ میلیگرم بر لیتر - ۴۸ ساعت (H&E, x2000) ۱- تراکم هسته ای ۲- هماتوسیت



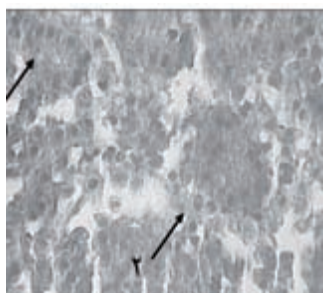
شکل ۷- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۱۰ میلیگرم بر لیتر - ۹۶ ساعت (H&E,x2000) ۱- پرخونی ۲- تورم ابری



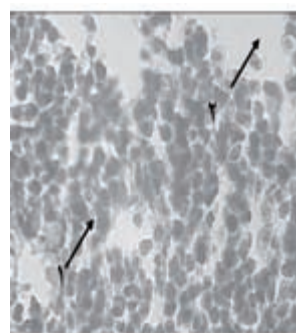
شکل ۴- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۳۰ میلیگرم بر لیتر - ۴۸ ساعت (H&E,x500) ۱- تراکم هسته ای ۲- افزایش فاصله سینوزوئیدی



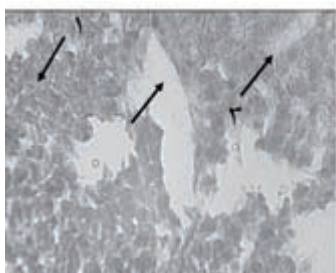
شکل ۸- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۳۰ میلی گرم بر لیتر - ۹۶ ساعت (H&E,x500) ۱- افزایش فاصله سینوزوئیدی ۲- تراکم هسته ای



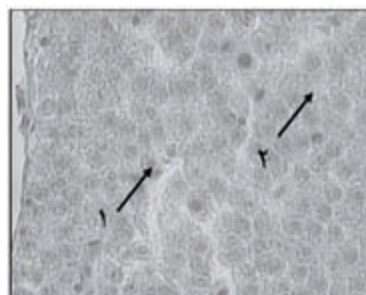
شکل ۱۳- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر - ۱۴۴ ساعت (H&E,x2000) ۱- پرخونی ۲- نکروز



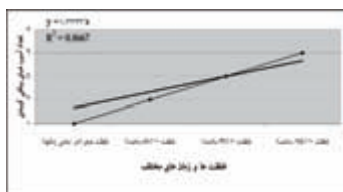
شکل ۹- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۳۰ میلیگرم بر لیتر - ۹۶ ساعت (H&E,x2000) ۱- آتروفی ۲- افزایش فاصله سینوزوئیدی



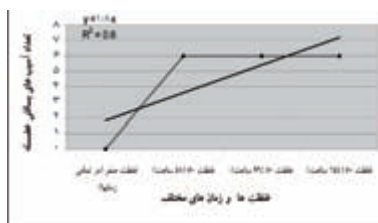
شکل ۱۴- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر - ۱۴۴ ساعت (H&E,x2000) ۱- پرخونی ۲- افزایش فاصله سینوزوئیدی ۳- تورم ابری



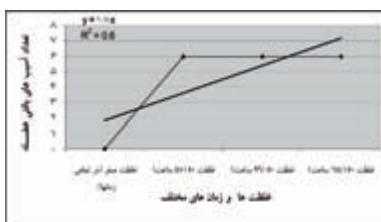
شکل ۱۰- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر - ۹۶ ساعت (H&E,x2000) ۱- پرخونی ۲- تورم ابری



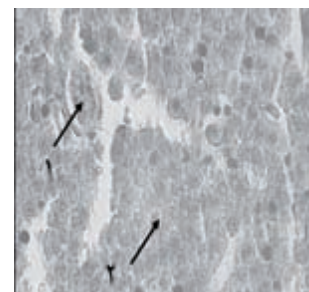
نمودار ۱- نمودار آنالیز رگرسیون و ضریب همبستگی



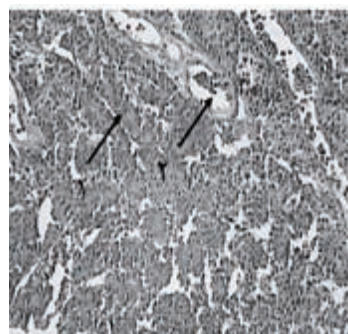
نمودار ۲- نمودار آنالیز رگرسیون و ضریب همبستگی



نمودار ۳- نمودار آنالیز رگرسیون و ضریب همبستگی



شکل ۱۱- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر - ۱۴۴ ساعت (H&E,x2000) ۱- نکروز ۲- آتروفی



شکل ۱۲- تصویر میکروسکوپی از بافت کبدی - غلظت ۳۰ میلی گرم بر لیتر - ۱۴۴ ساعت (H&E,x500) ۱- نکروز ۲- تراکم هسته ای

بحث و نتیجه گیری

با پیشرفت تکنولوژی آلودگی های محیطی هم گسترش یافته است که در اثر نزولات جوی و یا ورود پساب های صنایع مختلف به جریانات رودخانه و دریا، شاهد آلودگی روز افزون منابع آبی هستیم.

در بین فلزات سنگین، جیوه فلزی منحصر به فرد است که در طبیعت دارای اشکال فیزیکی و شیمیایی مختلفی می باشد. با توجه به ماهیت شیمیایی جیوه و زمان قرار گرفتن در معرض این فلز میزان تأثیرات جیوه بر موجود زنده متغیر است (Zalups, 2000).

با وجود انجام تحقیقات فراوان در مورد آثار هیستوپاتولوژیک فلزات سنگین روی ساختار کلیه و آیشش در ماهیان مختلف، تعداد تحقیقات روی آثار جیوه محدود بوده است. بنابراین در این مطالعه بررسی اثر فلز جیوه بر بافت کبدی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) دریای خزر در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفته است. به دلیل اینکه ماهی کلمه در اوایل زنجیره غذایی قرار داشته و طعمه خوبی برای ماهیان با ارزشی مانند ماهی سوف و اردک ماهی است، ارزش اکولوژیکی بسیاری دارد و نیز این ماهی در پرورش ماهیان خاویاری مورد استفاده قرار می گیرد لذا حائز اهمیت بوده و در مطالعه فوق مورد بررسی قرار گرفته است.

جیوه باعث تخریب یا تغییر شکل بافت کبدی ماهی شده و با توجه به افزایش غلظت جیوه میزان آسیب بافتی افزایش می یابد که نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز فرضیات فوق را تأیید می کند. به این صورت که مطالعات بافت شناسی روی کبد ماهی کلمه که تحت تیمار جیوه با غلظت 10 ppb در دمای آب 21 سانتی گراد قرار گرفته بودند نشان داده که آسیب وارده به آن پس از گذشت 48 ساعت قابل تشخیص است. این در حالی است که عوارض ناشی از تیمار جیوه با غلظت های 30 و 50 بسیار شدیدتر بوده است.

نتایج تأثیرات جیوه روی بافت کبد و کلیه ماهی *Hoplias malabaricus* نشان دهنده وجود آسیب های فراوانی مانند نکروز، آتروفی و خونریزی می باشد (Mela و همکاران 2007).

نتایج مطالعه حاضر روی کبد و کلیه ماهی کلمه علاوه بر نتایج این محققان آسیب های دیگری را نیز نشان داده است. دما نیز می تواند به دلیل بالا بردن سطح متابولیسم و افزایش میزان جذب جیوه عامل تعیین کننده ای باشد. (Oliveira و Torres 1995)

در این خصوص مطالعات انجام شده روی گونه *Trichomyterus zonatus* نیز بیانگر مؤثر بودن عامل دما و همچنین کوچکتر بودن اندازه ماهیان مورد مطالعه بر عوارض ناشی از قرار گرفتن در معرض جیوه غیر آلی است (Oliveira و Torres 1995).

در سال 1385 فروغی و همکارانش همبستگی طول و وزن را با تراکم جیوه در بافت های کبد و پوست ماهی سفید در سواحل مرکزی خزر جنوبی مطالعه کردند. در این بررسی با استفاده از دستگاه آنالیزور جیوه متوسط غلظت جیوه در بافت های کبد، کبد و پوست به ترتیب برابر 849/4 ppb، 670/9 ppb و 493/7 ppb اندازه گیری شد. با توجه به بیماری های مشاهده شده در غلظت بالا 50 ppb در تحقیق حاضر، آثار نامطلوب غلظت های جیوه را در بدن ماهی سفید می توان پیش بینی کرد.

در تحقیقی Liao و همکارانش در سال 2006 تجمع و اثرات تخریبی

متیل جیوه بر بافت های کبد و عضله گونه *Orizias latipes* در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. در این آزمایش تجمع غلظت 0/03 ppm در بافت کبدی نمونه ها مشاهده شده در صورتی که مقادیر متیل جیوه در بافت ماهیچه ای بسیار کم بود. این ترکیب (متیل جیوه) بعد از جذب، تغییرات بافتی زیادی را از قبیل تورم، واکوئل شدن، تراکم هسته ای و دژنراسانس در نمونه های کبد ایجاد کرد نتایج مطالعه حاضر نیز مشابه نتایج مطالعه فوق میباشد که این امر نشان دهنده اثرات سمی جیوه خصوصاً بر روی بافت کبدی است.

Carvalho و همکارانش در سال 2006 تأثیرات نامطلوب جیوه را که در بافت ماهی تحت غلظت های مختلف تجمع پیدا کرده بود مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق غلظت 0/2 ppm از جیوه باعث تجمع این ترکیب به صورت متیل در بافت های مختلف ماهی شده و بیماری های گوناگونی ایجاد کرده است که نتایج این مطالعه مشابه نتایج تحقیق حاضر می باشد.

در سال 2006 Agah و همکارانش غلظت جیوه و متیل جیوه را در ماهیان خلیج فارس و دریای خزر اندازه گیری کردند. در این مطالعه محدوده غلظت جیوه بین 0/1 ppm تا 0/8 ppm اندازه گیری شد. با نگاهی به نتایج تحقیق حاضر غلظت های به دست آمده تقریباً نزدیک به غلظت های اندازه گیری شده در مطالعه فوق می باشد. با توجه به اینکه در سه غلظت 10 ppb، 30 ppb و 50 ppb جیوه اثرات نامطلوب بافتی و بیماری های گوناگون مشاهده شد احتمال بروز آسیب های بافتی ناشی از تجمع جیوه در بافت های نمونه های خلیج فارس و دریای خزر به راحتی قابل پیش بینی است. البته میزان تأثیرپذیری از فلز جیوه و آسیب های بافتی ایجاد شده به سن، اندازه و گونه ماهی نیز بستگی دارد.

در تحقیقی میزان جیوه در آب دریای خزر 4/5 ppb اندازه گیری شد (یزدانی 1384). این میزان کمتر از 1/2 اندازه جیوه در تیمار پایین تحقیق حاضر 10 ppb است بنابراین می توان گفت که گرچه وجود این میزان جیوه در آب دریای خزر در دراز مدت برای ماهیان کلمه بی تأثیر نیست اما حد آسیب های بافتی ایجاد شده می تواند بسیار ناچیز باشد. نتیجه گیری کلی اینکه در دوزهای مورد مطالعه (30 و 50 ppb)، 10 آسیب های زیادی به سلول ها وارد شد که این آسیب ها در دوز 10 حداقل بوده و با افزایش دوز شدت می یابند. هر چه مدت زمان در معرض قرار گرفتن جیوه نیز افزایش یابد تأثیرات تخریبی وارد بر بافت ها افزایش می یابد.

منابع مورد استفاده

- 1- فروغی، ر.، اسماعیلی ساری، ع.، قاسم پوری، م. (1385) مقایسه همبستگی طول و وزن با تراکم جیوه در اندام های مختلف ماهی سفید سواحل مرکزی خزر جنوب. دانشگاه تربیت مدرس نور.
- 2- یزدانی، ل. (1384) سنجش الودگی جیوه در بافت های ماهی کفال طلائی (*Liza auratus*) سواحل غربی استان مازندران. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس.

3- Agah, H. Leermakers, M. Elskens, M. Fatemi, S.M.R. and Baeyens,

exposure to methylmercury chloride. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 22: 225–233pp.

8- Mela, M. Ventura D.F. Randi M.A.F. and carvalho C.E.V. (2007) Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. *Ecotoxicology and environmental safety*. 68 : 426-435pp.

9- Oliveira Ribeiro, C. A., Torres, R.F. (1995) Acute effects evaluation of inorganic mercury on epidermis of *Trichomycterus brasiliensis*. *Toxicant Environ saf*, 32 : 260-266 pp.

10- Oliveira Ribeiro, C. A. Belger, L. Pelletier, É. and Rouleau C. (2002) Histopathological evidence of organic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environmental Research*, 90 : 217-225pp.

11- Teh, S. J. Adams, S. M. and Hinton D. E. (1997) Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquatic Toxicological*, 37:51-70 pp.

12- Zalups, R.K. (2000) Molecular interactions with mercury in the kidney. *Pharmacological Reviews* Vol. 52, No. 1. 113-144pp.

W. (2006) Total Mercury and Methylmercury Concentrations in Fish from the Persian Gulf and the Caspian Sea. *Water Air Soil Pollution* 181: 95–105pp.

4- Carvalho S, Lombardi JV, Paiva MJ, de França-Monkolski JG, Ferreira JR. (2006) Bioaccumulation of Mercury in Fish Exposed to Experimentally Contaminated Water and Sediment. *Bull. Environ Contam Toxicol*. 77: 854–860pp.

5- Filenko, O.F. Xihua, D. Xulong, C. and Yuqi, Z. (1989) Distribution of mercury in the tissues of carp and its biological effects. *Hydrobiol. J*, 24 : 64-68pp.

6- Johnson A.K., Thomas P. and Wilson JR R.R. (1998) Seasonal cycles of gonadal development and plasma sex steroid levels in *Epinephelus morio* a protogynous grouper in the eastern Gulf of Mexico, *J. fish Bio.* 52, 502 – 518

7- Liao, Ch. Fu J. Shi J. Zhou Q. Yuan Ch. Jiang Gu. (2006) Methylmercury accumulation, histopathology effects, and cholinesterase activity alterations in medaka (*Oryzias latipes*) following sublethal

