تعیین میزان Lc_{50} سرب و روی در بچه ماهیان ازون برون(*Acipenser stellatus*) و اثرات هیستوپاتولوژیک آنها بر روی بافت های کبد و آبشش

نرجس عابدینی لاکسار [1]*؛ عباسعلی زمینی[2]؛ حبیب وهاب زاده رودسری[3]؛ ذبیح الله پژند[4]

Narjesabedini@yahoo.com

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان

۲- استادیار آموزشی گروه کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. صندق پستی : ۱۶۱۶

۳- استادیار و رئیس مرکز تحقیقات علوم شیلاتی و فنون دریایی دکتر کیوان .

۴- عضو هیئت علمی و مربی پژوهشی موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر صندق پستی۳۴۶۴-۴۱۶۳۵

تاریخ دریافت : آذر ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش : اسفند ۱۳۹۱

چکیده

روی و سرب از مهمترین آلاینده های اصلی در آب رودخانه های منتهی به دریای خزر می باشند. هدف از انجام این تحقیق تعیین Lc_{50} فلزات سرب و روی در بچه ماهیان ازون برون (*Acipenser stellatus*)۱تا۳ گرمی و بررسی ضایعات هیستوپاتولوژیک کبد و آبشش این گونه ماهی اقتصادی دریای خزر در مواجهه با غلظت های کمتر از حد کشندگی ((۲۵٪-۵۰٪-۷۵٪ Lc_{50})) فلزات سنگین روی و سرب است. برای این منظور ابتدا Lc_{50} این دو فلز در طی ۹۶ ساعت بر اساس استاندارد متد (O.E.C.D ,1989) و به روش ساکن Static برای این ماهی بدست آمد. در طول آزمایشات تمام فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مانند pH، دما، سختی، اکسیژن محلول و... اندازگیری شد در مرحله بعدی غلظت های۲۵-۵۰و ۷۵ درصدLc_{50} برای این دو فلز مشخص گردید و در هر تیمار با سه تکرار ماهیان در معرض این غلظت ها قرار داده شدند. یک گروه شاهد در نظر گرفته شد بعد از یک هفته از تیمارها بصورت تصادفی ماهی برداشت کرده و بافت های مورد نظر (کبد و آبشش) آنها را جدا کرده و به روش پارافینه کردن بافت ها را عمل آوری و با استفاده از میکروسکوپ مجهز به دوربین از بافت های بدست آمده عکسبرداری شده و سپس مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در گروه شاهد بافت های کبد و آبشش سالم بودند در بافت کبد و آبشش ماهیان تیمارهای (۲۵٪)، (۵۰٪)و (۷۵٪) غلظت کشنده عوارض هیستوپاتولوژیک مختلف مانند نکروز سلولی، خونریزی، هیپرپلازی و... دیده شد و این عوارض از تیمار۲۵٪ به بالا افزایش یافت، بطور کلی کبد این ماهیان سالم تر و عوارض بیشتر در آبشش این ماهیان دیده شد.

کلمات کلیدی: بچه ماهیان ازون برون (*Acipenser stellatus*) ، سرب، روی، بافت کبد، بافت آبشش، Lc_{50}.

*نویسنده مسئول

۱.مقدمه

فلزات سنگین آلاینده های پایداری هستند که بر خلاف ترکیبات آلی از طریق فرایند های شیمیایی یا زیستی در طبیعت تجزیه نمی شوند، از نتایج مهم پایداری فلزات سنگین مقدار زیاد آن در زنجیره ی غذایی می باشد ، بطوریکه در نتیجه این فرایند مقدار آنها در زنجیره ی غذایی می توانند تا چندین برابر مقداری که در آب یا هوا یافت می شوند، افزایش یابد (۴). فلزات سنگین جزء عوامل طبیعی تشکیل دهنده آب دریا نیز هستند (۱۱). مس(Cu)، روی(Zn)، کادمیوم(Cd)، جیوه (Hg)، سرب(Pb) و نیکل(Ni) بیشترین عناصر سمی سنگین در اکوسیستم های آبی می باشند. این عناصر در غلظت های بیش از حد آستانه، برای ارگانیسم ها سمی می باشند. اما تعدادی از آنها (Zn و Cu) در غلظت های پایین تر برای متابولیسم ضروری هستند(۳). حضور فلزات سنگین بیش از استانداردهای تعریف شده در محیط باعث بروز مشکلات و عوارض زیست محیطی برای ساکنان آن محل و اکوسیستم می گردد. فلزات سنگین می توانند باعث تغییراتی مانند تغییر در وظایف قلب،تغییر در پارامترهای خون،جلوگیری از سنتز DNA، اختلال در تولید اسپرم و مرگ شود.(۳).

در خصوص تعیین Lc_{50} فلزات سرب و روی برای گونه بچه ماهیان ازون برون مطالعه ای توسط میرزائی در سال ۱۳۸۳انجام شد (۸)،که با سختی آب متفاوت از این تحقیق بود که در نتیجه غلظت های متفاوتی از Lc_{50} بدست آمد .

مطالعات محققین نشان داد که سن، طول، جنسیت، عادات غذایی، نیازهای اکولوژیک، غلظت فلزات سنگین در آب و رسوب، مدت زمان ماندگاری در محیط های آبی، فصل صید و خواص فیزیکی و شیمیایی آب (شوری، pH، سختی و دما) از عوامل موثر در تجمع فلزات سنگین در اندام های مختلف ماهی می باشند(۱۱). لذا با توجه به موارد فوق و نقش ماهیان خاویاری بخصوص ماهی ازون برون در اقتصاد شیلاتی ایران و عدم مطالعات کافی در خصوص اثرات آلاینده ها بخصوص فلزات سنگین بر اندام های این ماهی در ایران ،تحقیق حاضر انجام گردید.

۲. مواد و روش ها

به منظور تعیین Lc_{50} فلزات سنگین روی و سرب برای گونه بچه ماهیان ازون برون آزمایشات مقدماتی انجام پذیرفت تا دامنه ی مناسب از غلظت های دو فلز روی و سرب تعیین گردد، سپس ۵ تیمار با غلظت های حداقل تا حداکثر به روش لگاریتمی انتخاب شدند سپس برای هر فلز ۳ تکرار در نظر گرفته شد که تعداد ۱۰ عدد ماهی برای هر تکرار در هر وان در نظر گرفته شد. آزمایشات تعیین سمیت حاد به روش سازمان (O.E.C.D , 1989)انجام گردید. مدت آزمایشات ۹۶ ساعت (۴شبانه روز) در نظر گرفته شد آزمایشات بصورت Static یا ساکن بود و در هر ۲۴ ساعت یکبار تلفات ثبت گردید. همچنین برخی از پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب نظیر pH، دما، سختی و اکسیژن محلول به روش استاندارد با کمک دستگاه WTW اندازگیری شدند برای تعیین سمیت غلظت حاد سرب و روی از دو ترکیب کلریدروی و نیترات سرب بدلیل حلالیت زیاد در آب استفاده شد. در پایان ۹۶ساعت میانگین غلظتی از فلزات که باعث کشته شدن ۵۰٪از ماهیان مورد آزمایش شدند به عنوان معیار اساسی در تعیین Lc_{50} در ۹۶ ساعت بکار برده شد نوع آب مصرفی آب چاه عمیق بوده که سختی آب آن ۱۹۰میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم تعیین گردید.در این آزمایشات از وان های با حجم آبگیری ۲۵ لیتر استفاده شد و هوادهی ۲۴ ساعت قبل از ریختن ماهیان در وان ها به طور مداوم صورت پذیرفت. بچه ماهیان مورد استفاده به وزن ۱-۳ گرمی بودند و از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی تهیه شدند.

پس از استخراج مقادیر Lc_{50} یک سطح پایین (Low) که ۲۵٪ غلظتLc_{50} می باشد و یک سطح بالا (High) که ۷۵٪ غلظتLc_{50} بوده را انتخاب و در هر وان ۱۰ عدد ماهی را به

مدت یک هفته در غلظت های مشخص از فلزات سرب و روی قرار دادیم. به عبارت دیگردر ابتدا با محاسبات انجام شده در خصوص آنالیز آماری به روش مقدار حداقل انحراف از میزان متوسط(Probit value)میزان Lc_{50} طی ۹۶ ساعت تعیین گردید و آزمایشات مجدد با مقادیر ۲۵٪، ۵۰٪ و ۷۵٪ غلظت Lc_{50}به دست آمده طی سه تیمار و در هر کدام با سه تکرار برای فلزات سنگین سرب و روی بر بچه ماهیان (ازون برون) انجام شد یک گروه شاهد هم در نظر گرفته شد پس از پایان این مرحله از هر تیمار تعدادی ماهی بصورت تصادفی جهت بررسی هیستوپاتولوژیکی(بافت های کبد و آبشش) برداشت شد و نمونه برداری از بافت های کبد و آبشش صورت پذیرفت بدین منظور نمونه ها در محلول بوئن تثبیت شدند پس از پایدار شدن کامل نمونه ها و انتقال آنها به آزمایشگاه نمونه ها با روش (Paraffin sectioning)شامل مراحل زیر بررسی شدند :آب گیری (Dehydration)-شفاف کردن (Clearing)-آغشتگی به پارافین (Impregnation)-قالب گیری (Blocking)-برش بافت(Sectioning)-چسبانیدن برش ها بر روی لام (Mounting)-رنگ آمیزی (Staining) وچسبانیدن لامل (Mounting)و سپس جهت تهیه برش های بافتی مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور استحکام بخشیدن بافت جهت تهیه برش های نازک نمونه ها با پارافین خالص قالب گیری شدند (۱، ۲).

با استفاده از میکروتوم دوار از قالب های تهیه شده برش های بافتی به ضخامت ۷ میکرون تهیه برش های بافتی حاصل به روش هماتوکسلین-ائوزین رنگ آمیزی گردیدند. نمونه بافت ها پس از رنگ آمیزی بوسیله میکروسکوپ نوری مجهز به مانیتور مورد مطالعه و عکسبرداری کامپیوتری قرار گرفت. در این تحقیق اطلاعات جمع آوری شده از بررسی و مطالعات میدانی و آزمایشگاهی با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای اطمینان از نرمال بودن داده ها ازتست Shapiro wilk استفاده شد ودر صورت نرمال بودن از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و جهت مقایسه میانگین ها از تست دانکن استفاده شد.نمودارها نیز در نرم افزار Excel,Microsoft windows,2007 رسم شدند.

۳. نتایج

با انجام آزمایشات متعدد فلزات سنگین بر روی بچه ماهیان ازون برون دامنه کشندگی فلز سرب ۴۵۰ تا ۵۲۴ میلی گرم در لیتر و دامنه کشندگی فلز روی ۲۲/۸ تا ۴۶/۸ میلی گرم در لیتر تشخیص داده شد، سپس این دامنه غلظتی به روش لگاریتمی در ۵ تیمار تعیین و در سه مرحله مورد آزمایش قرار گرفت میزان تلفات هر ۲۴ ساعت در ۴ شبانه روز (۹۶ ساعت) ثبت و درصد تغییرات آن نسبت به شاهدتعیین و عدد مقدار حداقل انحراف از میزان متوسط(Probit value) آن از جداول مخصوص

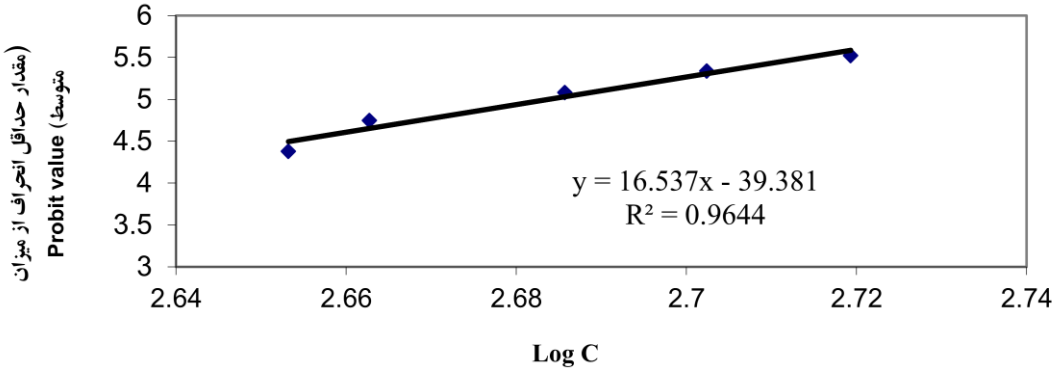
جدول ۱ : مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف فلز سرب روی مرگ و میر بچه ماهیان ازون برون (*Acipenser stellatus*) ۳-۱ گرمی در طی ۹۶ ساعت

تیمار	غلظت (ppm)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	تغییرات نسبت به شاهد				لگاریتم غلظت	Probit value(مقدار حداقل انحراف از میزان متوسط)			
		مرده	مرده	مرده	مرده	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت		۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
I	۴۵۰	۱/۳۳	۱/۳۳	۲	۲/۶۷	۱۳/۳	۱۳/۳	۲۰	۲۶/۷	۲/۶۵۳۲	۳/۸۸۷۷	۳/۸۸۷۷	۴/۱۵۸۴	۴/۳۷۸۱
II	۴۶۰	۱/۶۷	۲/۳۳	۳	۴	۱۶/۷	۲۳/۳	۳۰	۴۰	۲/۶۶۲۷	۴/۰۳۳۹	۴/۲۷۱۰	۴/۴۷۵۶	۴/۷۴۶۷
III	۴۸۵	۲/۳۳	۳	۴	۵/۳۳	۲۳/۳	۳۰	۴۰	۵۳/۳	۲/۶۸۵۷	۴/۲۷۱۰	۴/۴۷۵۶	۴/۷۴۶۷	۵/۰۸۲۸
IV	۵۰۴	۲/۶۷	۳/۳۳	۵/۳۳	۶/۳۳	۲۶/۷	۳۳/۳	۵۳/۳	۶۳/۳	۲/۷۰۲۴	۴/۳۷۸۱	۴/۵۶۸۴	۵/۰۸۲۸	۵/۳۳۹۸
V	۵۲۴	۳/۳۳	۵	۶	۷	۳۳/۳	۵۰	۶۰	۷۰	۲/۷۱۹۳	۴/۵۶۸۴	۵/۰۰۰۰	۵/۲۵۳۳	۵/۵۲۴۴

استخراج گردید که نشان دهنده افزایش میزان تلفات و در نتیجه افزایش در صد تغییرات نسبی در عدد پروبیت گردیده است. سپس با استفاده از روش های آماری و با انجام تجزیه و تحلیل داده های بدست آمده ضرایب خاص معادله رگراسیون و ضریب همبستگی داده های عددی مشخص گردید که در نهایت با تشکیل معادله خط رگراسیون با استفاده از ضرایب خاص آن مبادرت به تعیین غلظت های حاد Lc_{90}-LC_{50}-Lc_{10} در هر ۲۴ ساعت تا ۹۶ ساعت گردید.که در جداول ۱تا۴ برخی از نتایج نشان داده شده اند.

جدول ۲: غلظت های کشنده فلز سرب در طی ۴ روز روی بچه ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) (واحد میلی گرم در لیتر)

نام فلز	مقدار LC	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
سرب	LC_{10}	۴۲۹/۵۳۶۴	۴۳۰/۸۲۴۱	۴۱۷/۵۴۱۸	۴۰۳/۸۳۱۳
	LC_{50}	۵۷۹/۲۹۵۲	۵۲۹/۲۹۷۶	۵۰۱/۷۶۴۵	۴۸۲/۷۲۵۲
	LC_{90}	۷۸۱/۴۴۷۸	۶۵۰/۴۲۹۱	۶۰۲/۹۷۵۹	۵۷۷/۰۳۲۱



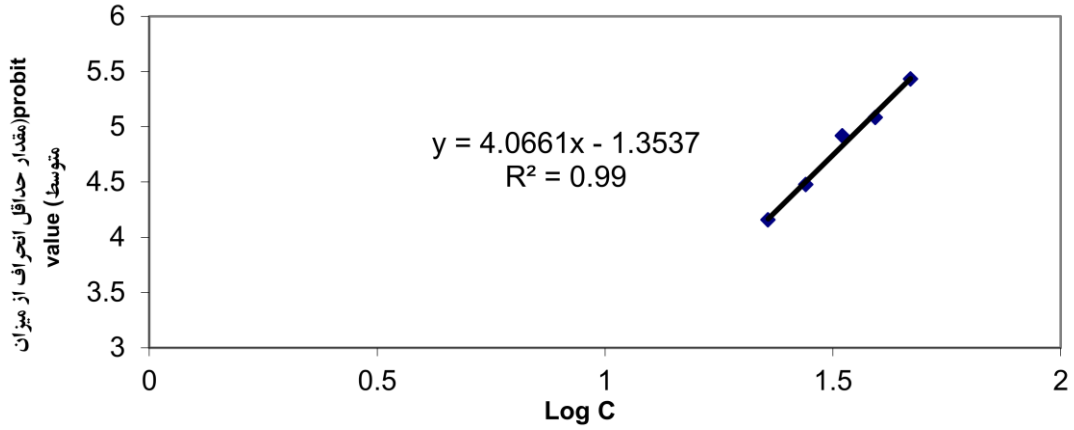
شکل ۱ : تغییرات سمیت حاد فلز سرب در طی ۹۶ ساعت روی بچه ماهیان ازون برون(*Acipenser stellatus*)

جدول۳ : مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف فلز روی - روی مرگ و میر بچه ماهیان ازون برون (*Acipenser stellatus*) ۳ـ ۱ گرمی در طی ۹۶ ساعت

تیمار	غلظت (ppm)	۲۴ ساعت مرده	۴۸ ساعت مرده	۷۲ ساعت مرده	۹۶ ساعت مرده	تغییرات نسبت به شاهد ۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	لگاریتم غلظت	Probit value(مقدار حداقل انحراف از میزان متوسط) ۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
I	۲۲/۸	۰/۶۷	۱/۳۳	۱/۶۷	۲	۶/۷	۱۳/۳	۱۶/۷	۲۰	۱/۳۵۷۹	۳/۵۰۱۵	۳/۸۸۷۷	۴/۰۳۳۹	۴/۱۵۸۴
II	۲۷/۶	۱/۳۳	۱/۶۷	۲/۳۳	۳	۱۳/۳	۱۶/۷	۲۳/۳	۳۰	۱/۴۴۰۹	۳/۸۸۷۷	۴/۰۳۳۹	۴/۲۷۱۰	۴/۴۷۵۶
III	۳۳/۲	۲	۲/۳۳	۳/۶۷	۴/۶۷	۲۰	۲۳/۳	۳۶/۷	۴۶/۷	۱/۵۲۱۱	۴/۱۵۸۴	۴/۲۷۱۰	۴/۶۶۰۲	۴/۹۱۷۲
IV	۳۹/۲	۲/۳۳	۳	۴/۶۷	۵/۳۳	۲۳/۳	۳۰	۴۶/۷	۵۳/۳	۱/۵۹۳۲	۴/۲۷۱۰	۴/۴۷۵۶	۴/۹۱۷۲	۵/۰۸۲۸
V	۴۶/۸	۳	۴	۵/۳۳	۶/۶۷	۳۰	۴۰	۵۳/۳	۶۶/۷	۱/۶۷۰۲	۴/۴۷۵۶	۴/۷۴۶۷	۵/۰۸۲۷	۵/۴۳۱۶

جدول ۴ : غلظت های کشنده فلز روی در طی ۴ روز روی بچه ماهی ازون برون(*Acipenser stellatus*) (واحد میلی گرم در لیتر)

نام فلز	مقدار LC	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
روی	LC_{10}	۲۵/۳۳۳۷	۲۰/۵۵۸۹	۱۸/۵۸۲۳	۱۷/۶۷۶۶
	LC_{50}	۶۷/۴۰۶۲	۵۹/۵۷۹۹	۴۲/۸۳۵۱	۳۶/۵۲۵۸
	LC_{90}	۱۷۹/۳۴۹۴	۱۷۲/۶۶۳۲	۹۸/۷۱۸۸	۷۵/۴۵۷



شکل ۲ : تغییرات سمیت حاد فلز روی در طی ۹۶ ساعت روی بچه ماهیان ازون برون(*Acipenser stellatus*)

در مرحله بعد غلظت های ۲۵-۵۰ و ۷۵ درصد Lc_{50} فلزات سرب و روی مشخص گردید و سپس بچه ماهیان ازون برون در معرض این غلظت ها قرار گرفتند در جدول زیر غلظت های در نظر گرفته شده آمده است(واحد میلی گرم در لیتر).

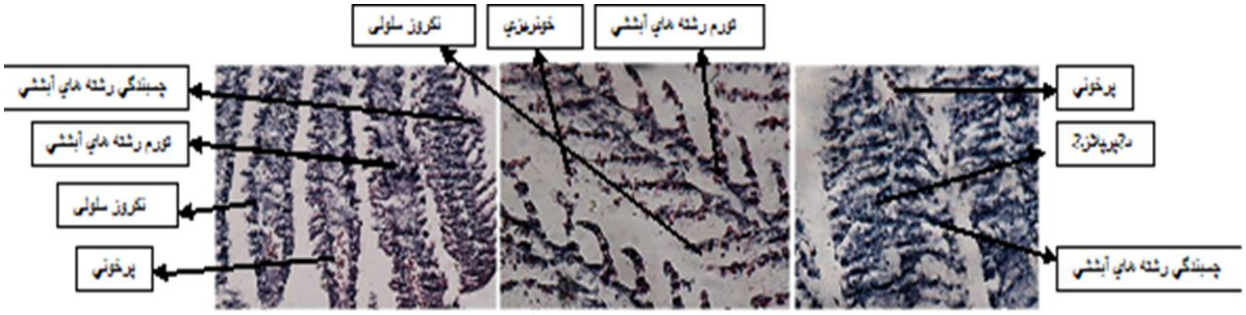
جدول ۵ : غلظت های(۲۵،۵۰ و ۷۵) درصد Lc_{50} فلزات سرب و روی

	غلظت های مختلف فلزات		
تیمارها	از Lc_{50} مقدار25%	از Lc_{50} مقدار50%	از Lc_{50} مقدار75%
سرب	120.68	241.36	362.04
روی	9.13	18.29	27.39

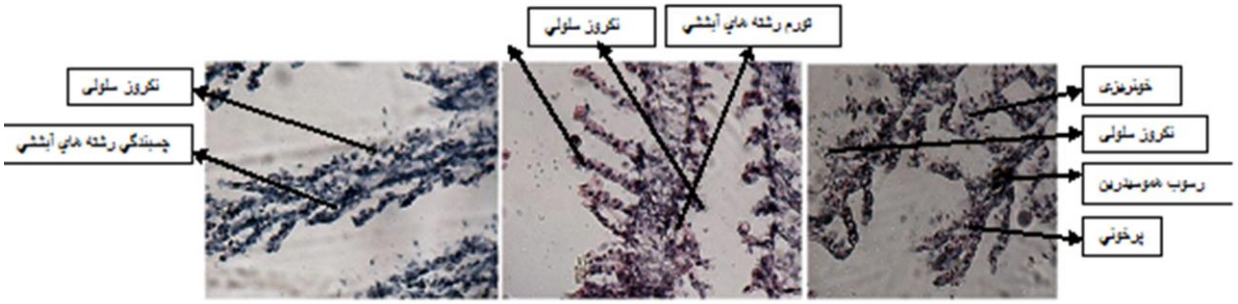
نتایج مربوط به بافت شناسی آبشش در ماهی ازون برون: بطور کلی در آبشش این ماهیان که در معرض غلظت های مشخص شده فلزات سرب و روی قرار گرفتند در مورد هر دو نوع فلز عوارضی از قبیل هیپرپلازی، پرخونی، خونریزی، چسبندگی لاملا، نکروزسلولی، رسوبات هموسیدرین و تورم رشته اولیه آبشش مشاهده گردید ولی شدت این عوارض در تیمار ۷۵٪ نسبت به تیمار۵۰٪ و تیمار ۵۰٪ نسبت به تیمار۲۵٪ بیشتر بوده است.

نتایج مربوط به بافت شناسی کبد در ماهی ازون برون: عوارض دیده شده در کبدشامل پرخونی و خونریزی، رکود صفراوی، نکروز سلولی، تورم ابری و آتروفی سلولی و دژنرسانس چربی بوده است. این عوارض از تیمار ۱ به سمت تیمار ۳ (در هر دو حالت Pbو Zn) بیشتر دیده می شد.

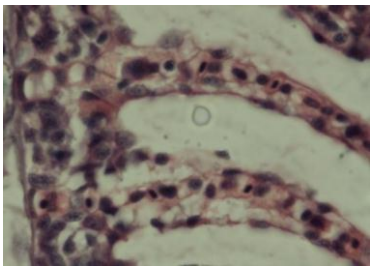
بطورکلی کبد ماهیان سالمتر و عارضه کمتری نسبت به آبشش ها داشته است و بیشترین صدمه در آبشش این ماهیان دیده شده است.



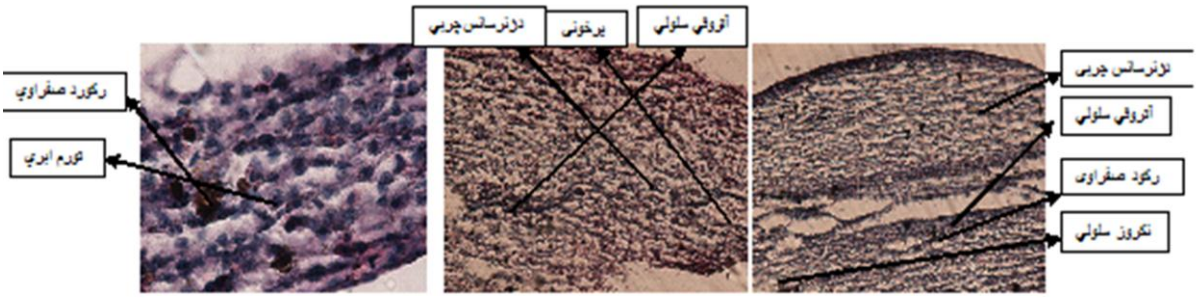
اشکال ۱، ۲ و ۳: اثرات بافت شناسی فلز سرب بر آبشش



اشکال۴، ۵ و ۶: اثرات بافت شناسی فلز روی بر آبشش



شکل۷: آبشش در گروه شاهد



اشکال۸، ۹ و ۱۰: اثرات بافت شناسی فلز سرب بر روی کبد

اشکال۱۱، ۱۲ و ۱۳:اثرات بافت شناسی فلز روی بر روی کبد

شکل۱۴:کبد در گروه شاهد

۴. بحث

به طور کلی آبشش ها ،کلیه و کبد عمده ترین راه های جذب فلزات در بدن ماهیان می باشند(۱۶). Filazi *et al.*,2003 تجمع بیشتر فلزات را در بافت هایی مانند کبد،کلیه و آبشش ها در مقایسه با بافت ماهیچه اعلام نمودند تفاوت تجمع فلزات سنگین در بدن ماهیان با توجه به شرایط اکولوژیک و زیستی و فعالیت متابولیکی متفاوت است(۱۱). همچنین بافت عضله معمولا دارای پایین ترین مقادیر فلزات سنگین در ماهیان می باشد (۱۰).سرب در کبد و عضله ماهیان بیشتر تجمع می یابد(۳).

در تحقیقی که میرزائی در سال ۱۳۸۳ انجام داد میزان Lc_{50} فلز سرب را برای بچه ماهیان ازون برون ۱۲۰/۶۱ میلی گرم در لیتر بدست آورد(۸). همچنین میزان Lc_{50}فلز روی را برای بچه ماهیان ازون برون ۸/۶۵ میلی گرم در لیتر بدست آورد که اصلی ترین علت تفاوت در اعداد Lcبه دست آمده در این تحقیق در مقایسه با تحقیق میرزائی را این طور می توان تفسیر کرد که در آن آزمایش میزان سختی آب۶۰ میلی گرم در لیتر $Caco_3$ اما در این تحقیق سختی آب ۱۹۰ میلی گرم در لیتر $Caco_3$ بود و هر چه سختی بیشتر باشد اثرات سمیت فلزات سنگین کاهش می یابد. آزمایشات نشان داد که با افزایش زمان آزمایش از ۲۴ ساعت به ۹۶ سا عت از غلظت Lc_{50} کاسته شده که این موضوع برای مقادیرLC_{10} و LC_{90} نیز صادق است. به بیانی دیگر در ۲۴ساعت نسبت به ۴۸ ، ۷۲ و ۹۶ ساعت مقادیر بیشتری از فلزات لازم است تا تأثیرات کشندهٔ خود را نمایان سازد. و هر چقدر ساعات آزمایش افزایش یابد میزان غلظت کمتری از فلزات لازم است تا ۵۰ درصد از جمعیت ماهیان تلف شوند. علت این امر را چنین می توان ذکر کرد که یکی از عوامل تأثیرگذار در مسمومیت آبزیان عامل زمان است. هنگامی که ماهی در معرض غلظت ثابتی از فلز باشد، به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می رود و هم فلز فرصت بیشتری برای تاثیر گذاری روی ماهی پیدا می کند، علاوه بر این در مواردی تجمع فلز در بافتهای ماهی

نیز باعث افزایش تاثیر سوء آن بر بدن ماهی می شود. تحقیقات انجام شده در مورد اثرات حاد فلزات سنگین روی سایر ماهیان حاکی از آن است کهLc_{50}فلز سرب در ۹۶ ساعت برای ماهی کپور معمولی ۴۴ /۰و ۰/۸ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای بچه ماهیان کوچکتر از ۳/۵ سانتی متر و بزرگتر از ۶ سانتی متر می باشد(۹)، برای بچه ماهیان انگشت قدفیتوفاک و آمور به ترتیب ۵۰/۴۸ و ۷۲/۲ میلی گرم در لیتر (۶) و برای ماهی آزاد ۸ ماهه وقزل آلا ی رنگین کمان (۱۶-۹ ماهه) به ترتیب ۰/۴۳۸ و ۰/۸۲۵ میلی گرم در لیترمی باشد. (۱۵).

بنابراین از مقایسه تحقیقات مذکور با این تحقیق می توان اظهار داشت که از نظر حساسیت گونه های ماهیان در برابر فلزسرب به ترتیب ماهی آزاد> قزل آلای رنگین کمان> کپور معمولی > فیتوفاک> آمور>ازون برون بیشترین حساسیت رابه خود اختصاص می دهند. همانگونه که ملاحظه می گردد ماهی ازون برون نسبت به فلز سرب مقاومتر از سایر ماهیان نشان می دهد. در عین حال تحقیقات انجام شده درمورد اثرات حاد فلز روی نشان می دهد که Lc_{50} 96hاین فلز برای کپور معمولی (بالغ) ، قزل آلای رنگین کمان و آزاد ماهی چشمه ای (جوان) به ترتیب ۸/ ۷، ۱/۱۹ و ۲ میلی گرم در لیترمی باشد.(۱۵). برای بچه ماهی نورس خامه ماهی برابر ۱۲ میلی گرم در لیتربوده(۱۴)، بنابراین در مقایسه گونه های مختلف ماهیان با ماهیان خاویاری پیداست که به ترتیب قزل آلای رنگین کمان >آزاد ماهی چشمه ای>کپور معمولی> *خامه ماهی*>ازون برون ازحساسیت های بالاتری در برابر فلز روی برخوردارند. بطوریکه همچنان ماهیان خاویاری مقاومتر از ماهیان آزمایش شده نشان می دهند . همچنین در بررسی بافت شناسی این ماهیان که در مجاورت غلظت های مشخص فلزات سنگین روی و سرب قرار گرفتند عوارض مختلفی در بافت آبشش و کبد آنها دیده شد و این صدمات از تیمار ۲۵٪ غلظت کشنده به تیمار ۷۵٪غلظت کشنده افزایش می یابد. در ماهی کپور ضایعات میکروسکوپیک بافت های کبد و آبشش که درمجاورت سولفات روی قرار گرفته بودندبررسی شد که نتایج آن مشابه این تحقیق است (۵). در بررسی بافت های کبد و آبشش ماهیان سوف و آزاددر حوضه جنوبی دریای خزر که در معرض آلاینده ها از جمله فلزات سنگین بودند نتایج مشابهی بدست آمد (۷).

سپاسگزاری

از کارشناسان بخش فیزیولوژی موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر که در انجام این تحقیق بنده را کمک کردند نهایت تشکر را دارم.

منابع

۱-بهمنی ،م . کاظمی ،ر.۱۳۷۷ . مطالعه بافت شناسی غدد جنسی در تاسماهیان جوان پرورشی.مجله علمی شیلات ایران.سال هفتم ، شماره ۱،ص۱تا۱۵.

۲-پوستی ، ا.،۱۳۶۸.بافت شناسی مقایسه ای و هیستو تکنیک . انتشارات دانشگاه تهران. ص ۵۱۹.

۳-جلالی جعفری ،ب. آقازاده مشگی ،م.۱۳۸۵. مسمومیت ماهیان در اثر فلزات سنگین آب و اهمیت آن در بهداشت عمومی . نشر تهران مان کتاب . صفحات ۹-۱۳ و ۱۷- ص ۱۳۴.۷۹.

۴- خدابنده ، ص.،۱۳۷۹.تجمع فلزات سنگین در رسوبات و آبزیان دریای خزر.آب و فاضلاب ، شماره ۲۹ ، صفحات ۱۹ تا ۴۲.

۵-رستمی بشمن ،م. سلطانی ، م . ساسانی ، ف .۱۳۷۹. مطالعه اثرات هیستوپاتولوژی برخی فلزات سنگین (سولفات مس ، سولفات روی و سولفات جیوه – کلرورکادمیوم) بر بافتهای ماهی کپور معمولی . مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.دوره۵۵.شماره ۴.ص۱-۳.

۶-زمینی، ع.۱۳۷۵ . تعیین غلظت کشنده Lc_{50} 96h فلزات سنگین سرب و کادمیوم روی دو گونه کپور ماهیان چینی آمور و فیتوفاگ. پایان نامه کارشناسی ارشد- دانشگاه آزاد واحد لاهیجان.ص ۵۲.

۷-شریف پور ، ع. رضوانی گیل کلایی، س. کاظمی ،ر.۱۳۸۷.آسیب شناسی برخی اندامهای مهم ماهیان سوف (*Sander iucioperca*) و آزاد (*Salmo trutta caspius*) در حوضه جنوبی دریای خزر با تاکید بر آلاینده ها. مجله علمی شیلات ایران . سال نوزدهم . شماره۴.زمستان ۱۳۸۹.

۸-میرزائی ،ج .۱۳۸۳.مطالعه سمیت حاد فلزات سنگین سرب ، روی ،مس و کادمیوم روی دو گونه از ماهیان خاویاری دریای خزر (تاسماهی ایرانی و ازون برون) . پایان نامه کارشناسی ارشد-دانشگاه آزاد واحد لاهیجان . ص۵۱-۵۲-۶۳تا۷۲

9-Alam,-M.K.,Maughan,-O.E.,1995.Acute toxicity of heavy metals to common carp *(Cyprinus carpio*) ,Journal. Vol , A30. No, 8.PP.1807-1816.

10-Al-Yousuf M.H., El-Shahawi M.S. and Al-Ghais S.M. 2000.Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex.journal of Scientific Total Environment, 256:87-94.

11-Calni M. and Atli G., 2002.The relation-ships detween heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. E nvironment pollution, 121:129-136.

12-Chale F.M.M., 2002.Trace metal concentr-ation in water,sediments and fish tissue from Lake Tanganyika.Total E nvironment,229:115

13-Filazi A.,Baskaya R. and Kum C.,2003. Metal concentration in tissues of the Black Sea fish Mugil auratus from Siniop-Icliman,Turkey.H UMAN AND Experimental Toxicology,22:85-87-

14-Herrera,-A.A.,Amparado,-E.A.,Santos ,-M.D.,1995.Laboratory studies on the effect of heavy metals (Zn andCU) and on organophosphate (Gusathion) on *Chanus chanus* .Journal,-eds.Vp.

15-Mance,G.,1990.Pollution threat of heavy metals in aquatic environmental, Elsvier science publishers LTD.PP.32-123.T.R.C.

16-Newman M.C and Unger M.A. 2003. Fundamentals of ecotoxicology.CRC Press,p:458

17-O.E.C.D.1989:Guideline Draft Updated guideline 203 fish Acute toxicity test.OECD, 1989

The amount determination of Lc_{50} heavy metals, Lead and Zinc, at *Acipenser stellatus* frys, and their histopatological effects on liver and gills tissues

Abedini Larksar N.[(1)*]; Zamini A.A.[(2)]; Vahab Zadeh Roudsari H.[(3)]; Pazhand Z.[(4)]

Narjesabedini@yahoo.com

1- M.Adegree in fishery field, from Islamic Azad University Lahijan Branch.

2- Training Master of M.A fishery group, from Islamic Azad university, Lahijan Branch.

3- Master and head of fishery Science and Marine technology searching center founded by Dr.Keyvan.

4- Scientific Board's member and searching instructor International searching of Caspian sea Acipencers.

Received: December 2012 Accepted: March 2013

Abstract

Heavy metals like Zinc and Lead are Known as the main important pollutants of water in rivers wich run and last in Caspian sea.The gool of this study was to determine the Lc_{50} of Zinc and Leads for *Acipencer stellatus* frys and also Analyzing their histopathological effects an liver and gill tissues.This economical fish in Caspian sea is facing toward the densities lower than fatal amount (25%-50%-75%) of lead and zinc . According to the above mentioned, first of all, the Lc_{50} of these metals were estimated during 96 hours of standard method(O.E.C.D,1989) and static style.All the chemical and physical characters of water Such as,PH,hardness,Dissolved oxygen,… were measured during each experiment.In the next level,the concentrations of Lc_{50}(25%-50% and75%) was determined and in addition in each measuring, fish were in expose of the noted concentration three times.In the following,a witness group was chosen to be taken(the fish)randomly after a week . the work of this group was tube separated all the kidney and gills tissue toward Paraffin style.By applying a microscope with was equipped with a camera,they captured some evidences by the tissues,After this stage the results were expressing ahealthy tissue in both parts (liver-gills).However in the other group with was kept in a special environment fatal concentrations of histopathological side effects was obvious. Symptoms such as cellular necrosis, bleeding Hyperplasia, ect .These side effects were in an increasing line when recorded by 25%. Sample toward the 75% sample .Totally expressing, while comparing these two groups, the liver of special group in our study that has been analyzed, was shown a more healthy stage than the gills of taken fish.

Keywords: *Acipencer stellatus* frys, Lead, Zinc, Liver tissue, gill tissue,Lc_{50}.

*Corresponding author