

## اثرات نیترات روی $Zn(NO_3)_2$ بر بافت کبد ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)

علی حلاجیان<sup>(۱)\*</sup>؛ ایوب یوسفی جوردهی<sup>(۱)</sup>؛ رضوان اله کاظمی<sup>(۱)</sup>؛ سورنا عبدالی<sup>(۲)</sup>؛ مهزاد شکوری<sup>(۳)</sup>

alihallajian@gmail.com

۱- موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم و فنون دریایی.

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۲

فلز روی به عنوان یک ریز مغذی به منظور افزایش تولید فیتوپلانکتون ها و در نتیجه افزایش رشد ماهی به آب استخرها اضافه می شود. از آنجائیکه ماهی فیتوفاگ پرورشی از این فیتوپلانکتونها تغذیه می کند از این رو هدف از این تحقیق بررسی آسیب شناسی بافت کبد در ماهیانی که در معرض نیترات روی  $Zn(NO_3)_2$  در سیستم پرورشی قرار گرفته اند، بود. بدین منظور ماهیان در ۱۲ عدد آکواریوم ۲۰۰ لیتری و در گروههای ۱۵ تایی بامیانگین وزنی  $50 \pm 10$  گرم در ۳ تیمار (شاهد، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) در شرایط آزمایشگاهی تقسیم بندی شدند. جهت بررسی بافت کبد از ماهیان در زمان های ۱۲ الی ۹۶ ساعت نمونه برداری و پس از تثبیت نمونه ها در محلول بوئن، با استفاده از روش های مرسوم بافت شناسی مقاطع بافتی به ضخامت ۷ میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین-اوتوزین رنگ آمیزی شدند. نتایج مطالعات میکروسکوپی عوارضی از قبیل آتروفی سلولی، نکروز سلولی، دژنراسانس چربی، پرخونی و رکود صفراوی در تیمارهای مورد آزمون و در زمان های نمونه برداری در مقایسه با شاهد نشان داد. با افزایش غلظت نیترات روی و با افزایش زمان مجاورت ماهی در معرض سم تا ۹۶ ساعت، شدت آسیب های بافتی در کبد هم بیشتر شد، بطوریکه عوارض فوق در غلظت ۱۰ و در زمانهای ۷۲ و ۹۶ ساعت نسبت به سایر زمانها و تیمارها شدیدتر بود.

**واژگان کلیدی:** ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)، نیترات روی  $Zn(NO_3)_2$ ، کبد، آسیب شناسی.

\* نویسنده مسئول

## ۱. مقدمه

نوسانات عوامل زیستی و غیرزیستی در تعادل و پایداری هر اکوسیستم نقش عمده ای دارند. کلیه این عوامل در حد مطلوب مفید بوده، ولی کاهش یا افزایش زیاد آنها سبب بر هم زدن تعادل یا روابط موجود در محیط می گردد، که این امر تغییرات شدید در جمعیت موجودات زنده را به دنبال خواهد داشت. فلزات سنگین از جمله این عوامل می باشند، که بطور طبیعی کمتر از ۱ درصد از وزن بدن موجودات زنده را تشکیل می دهند و نوسانات غلظتی آنها سبب ناپایداری محیط و ایجاد اختلال در موجود می شود (۱۲).

رشد روزافزون صنایع و آلودگی بیرویه محیط زیست به موادشیمیایی موجب گردیده است که زندگی موجودات زنده بویژه آبزیان موردتهدید قرارگیرد. فاضلاب های صنعتی حاوی انواع آلاینده های سمی از جمله مواد جامد معلق، ترکیبات آلی، ترکیبات معدنی، سموم و آفت کشها و انواع ترکیبات فلز سمی می باشد (۲۰). آلودگی محیطهای آبی با فلزات سنگین به طور جدی در سراسر جهان افزایش یافته و با توجه به اینکه ماهی در شرایط محیطی خاصی زیست می کند ممکن است مقادیر زیادی از برخی فلزات سنگین موجود در آب در بافت های ماهی متمرکز شوند (۲۱). از این رو فلزات سنگین بعلت سمیت و تجمع در بافت های بدن ماهی بعنوان یکی از آلوده کننده ترین اکوسیستم های آبی مشکلات اساسی بویژه برای انسان می تواند ایجاد کنند (۱۸)، بنابراین آلودگی فلزات سنگین می تواند اثرات مخربی بر توازن زیست محیطی و تنوع موجودات آبی بگذارد (۲۶). یکی از این عناصر آلوده کننده، فلزروی (Zn) از گروه عناصر کمیاب است. این فلز به عنوان یک ریز مغذی به منظور افزایش تولید پلانکتون ها و در نتیجه افزایش رشد ماهی به آب استخرها اضافه می شود (۸). ماهی فیتوفاگ یکی از آندسته از ماهیان گرم آبی پرترفدار است که از

پلانکتون ها تغذیه می کنند، بنابراین تاثیر مصرف زیاد روی از این نظر هم حائز اهمیت بوده و احتمال جذب روی از طریق پلانکتون به ماهی و از ماهی به انسان وجود دارد و در نهایت ایجاد عارضه در ماهی و بدنال آن انسان می نماید. مقادیر بیش از آن باعث بروز ضایعات پاتولوژیک در بافت های ماهی و در نهایت میتواند منجر به مرگ ماهی گردد.

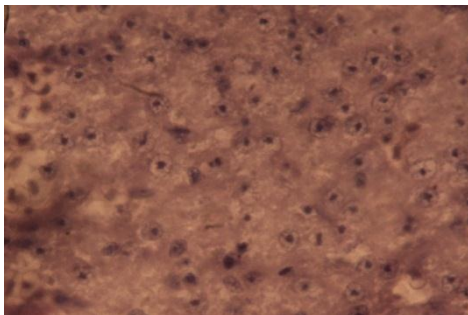
فلزروی به طبقه میکروالمانها تعلق دارد که برای فعالیت مناسب بدن موردنیاز است (۱۹). افزایش سطوح روی درسیستم های آبی میتواند ناشی از تخلیه مایعات، رسوبات اتمسفر، نشت فاضلابهای خانگی وحشره کشها و فرایندهای مربوطه گالوانیزه کردن وسایل باشد (۲۳). سمیت روی در حیات آبی به طور وسیع طی دهه های اخیر مورد مطالعه قرار گرفته و اطلاعات زیادی در دسترس میباشد. در همه موارد مطالعه شده، فلزروی سبب ایجاد آسیبهای ساختاری در بدن ماهیان گردید و رشد، تکامل و زندگی آنها را تحت تأثیر قرارداد (۱۰). Ogini و Ololade (۲۰۰۹) اثرات روی رفتارگره ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) را مورد مطالعه قرار دادند (۱).

بنابراین اثرات زیست محیطی فلز روی بیش از اندازه می تواند به طور جدی در بقای موجودات آبی مانند ماهی تاثیر گذار باشد (۲۷ و ۲۸). میزان LC<sub>50</sub> روی در زمان ۹۶ ساعت برای آب های سبک ۱ تا ۱۰ میلی گرم در لیتر و برای آبهای سخت ۳ تا ۲۰ میلی گرم در لیتر و دامنه نوسانات آن را ۰/۰۹ تا ۴۰ میلی گرم در لیتر تخمین می زنند (۱۶).

بسیاری از فلزات، یا به تنهایی و یا بصورت ترکیبی در انواع مختلفی از ماهی مورد مطالعه قرار گرفته است، که در ایران می توان به اثر فلز روی بر بافتهای مختلف در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۲، ۳، ۶) در قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (۵) و در بچه

در مطالعات بالینی در ماهیانی که در معرض غلظتهای نیترات روی قرار داشتند، علائم ظاهری از قبیل بیقراری شدید، باز و بسته شدن شدید سرپوشهای آبششی و حفره دهان، حرکات تشنجی و برخورد با کناره های آکواریوم، بلعیدن هوا از سطح آب و قرمز شدن آبشش در هر دو تیمار نسبت به شاهد مشاهده گردید و با گذشت زمان شدت آن بیشتر شده بطوریکه در ۹۶ ساعت در تیمار ۱۰ میلی گرم بیشترین شدت را دارا بودند.

در بررسی و مطالعه نمونه های میکروسکوپی تهیه شده در بافت کبد ضایعاتی از قبیل آتروفی سلولی، نکروز سلولی، دژنراسانس چربی، پرخونی، رکود صفرا و ملانوماکروفاژ در هر دو تیمار ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر نسبت به شاهد مشاهده گردید. شکلهای ۱ تا ۳ کبد ماهی شاهد و ضایعات ایجاد شده در این بافت در تیمارهای مورد آزمون را نشان می دهد. جدول ۱ میزان کیفی تغییرات آسیب شناسی بافت کبد هر تیمار در زمانهای مختلف را نشان می دهد. طبق جدول فوق ضایعات کبدی در غلظت ۵ میلی گرم نسبت به ۱۰ میلی گرم در لیتر کمتر بود بنابراین، با افزایش غلظت نیترات روی و با افزایش زمانی از ۰ تا ۷۲ ساعت که ماهی ها در معرض این فلز قرار داشتند شدت آسیب های بافتی در کبد هم تشدید گردید، و در ساعات ۷۲ و ۹۶ ساعت ضایعات آسیبی نزدیک به هم بود.



شکل ۱: نمایی از سلولهای هپاتوسیت کبدی (H) در

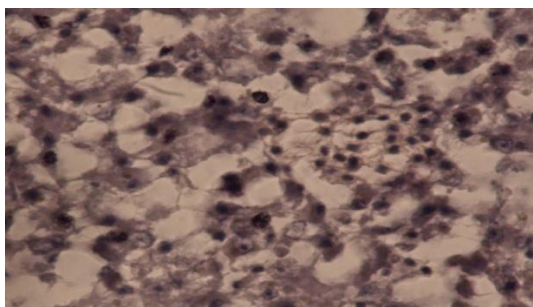
تیمار شاهد (H&E, X۷۵۰)

تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) (۴،۷) اشاره نمود. از این رو هدف از این تحقیق تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد ناشی از اثرات نیترات روی در ماهی فیتوفاگ پرورشی بوده است.

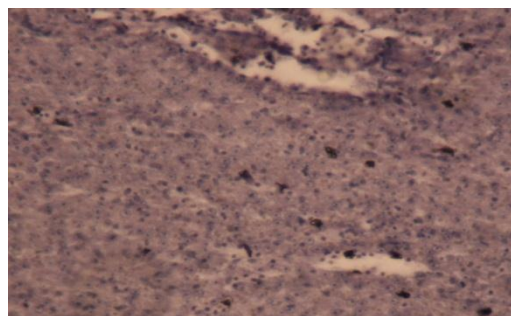
## ۲. مواد و روشها

جهت انجام این تحقیق، تعداد ۱۳۵ عدد ماهی فیتوفاگ پرورشی در بهار ۱۳۹۰ از استخرهای خاکی پرورشی ماهیان- گرمابی بخش خصوصی واقع در رشت (استان گیلان) خریداری و به آکواریوم های با گنجایش حجمی ۲۰۰ لیتر در آزمایشگاه بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انتقال یافتند. پس از زیست سنجی، ماهیان در ۳ تیمار شامل شاهد، و غلظت های ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر از نیترات روی  $Zn(NO_3)_2$  (۱۶) و هر تیمار با ۳ تکرار، در هر آکواریوم ۱۵ عدد ماهی فیتوفاگ پرورشی با متوسط وزنی  $50 \pm 10$  گرم و متوسط طول کل  $13 \pm 1$  سانتی متر ریخته شد. در این بررسی ابتدا ماهیان به شرایط آزمایشگاهی سازگار شده سپس در غلظت های تعیین شده معرفی گردیدند. جهت بررسی ضایعات بافتی، نمونه بافت کبد از ماهیان زنده در زمان های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تهیه گردید. این نمونه- هادر محلول بوئنتشیت، سپس با استفاده از روش استاندارد بافتشناسی به کمک دستگاه عمل آوری بافت (Tissue processors) ساخت ارومیه مدل DS2000/H آب گیری، شفاف سازی، بعد قالب گیری، و با استفاده از میکروتوم ساخت آلمان مدل Litz 1512 برش های ۷ میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) رنگ آمیزی شدند (۱)، در نهایت با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

## ۳. نتایج



شکل ۳: نکروز سلولی (N) و دژنراسانس چربی (F) بافت کبد در تیمار با غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت (H&E, X۷۵۰)



شکل ۲: پرخونی (H) و رکود صفراوی (Bs) بافت کبد در تیمار با غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت (H&E, X۳۵۰)

جدول ۱: تغییرات آسیب شناسی بافت کبد (Camargo & Martinez;2007) مطالعه شده با میکروسکوپ نوری متصل به مانیتور (علامت + میزان شدت عوارض مشاهده شده در زمانهای مختلف (بر حسب ساعت) را نشان می دهد)

تیمار		غلظت ۵ میلی گرم در لیتر				غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر					
عوارض آسیبی		۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
آتروفی سلولی		+	+	+	++	++	+	+	+	+++	+++
نکروز سلولی		+	+	+	++	++	+	+	++	+++	++++
دژنراسانس چربی		+	+	+	++	++	+	+	++	+++	++++
پرخونی		+	+	+	++	++	+	+	++	+++	+++
رکود صفرا		+	+	+	++	++	+	+	++	++	++
ملانوماکروفاژ		+	+	+	++	++	+	+	++	++	++

#### ۴. بحث

میشود. در محیطهای آبی غلظتهای بالای روی اثرات معکوسی بر رشد، تکامل و زندگی ماهی از طریق اثر بر ساختار بدن میگذارد (۲۵). کبد در تمام ماهیان استخوانی حقیقی اولین اندام است که در اوایل دوران زندگی بوجود می آید.

اکوسیستمهای آبی هر روز توسط منابع مختلف آلودگی، آلوده شده و عواقب شوم آن سلامت انسان را تهدید می نماید (۲۲) که از آن جمله می توان به آبیان اشاره نمود بطور غیر مستقیم به مصرف انسان می رسد. فلز روی، عنصری ضروری برای گیاهان و حیوانات محسوب

خودپالایشی پیدا کرد، بطوریکه در ۹۶ ساعت ضایعات در حد ضایعات ۷۲ ساعت بوده است. از این رو سمیت فلز با توجه به اثرات ایجاد شده در ماهی و انسان بعنوان مصرف کننده از اهمیت بسزایی برخوردار می باشد.

در پژوهش فوق ضایعات هیستوپاتولوژیک مشاهده شده در بافت کبد ماهی فیتوفاگ همانند مطالعات صورت گرفته توسط سایر محققین بود. مطالعات صورت گرفته توسط Dobreva و همکاران (۲۰۰۸) بر روی ماهی کاراس که در معرض سولفات روی قرار گرفته بودند همانند تحقیق حاضر نشان داد که با گذشت ۹۶ ساعت، ماهیان با کاهش شدید اکسیژن و تلفات در ماهیان همراه بود. مطالعات صورت گرفته توسط رستمی بشمن و همکاران (۱۳۷۹)، رستمی بشمن و سلطانی (۱۳۸۸)، نشان داد که در مجاورت قرار گرفتن ماهی کپور با فلزات سنگین از جمله سولفات روی ضایعاتی چون نکروز سلولی، پرخونی، افزایش رنگدانه هموسیدرین و التهاب همراه بوده است. افزایش غلظت کلرید نیکل در کبد ماهی فیتوفاگ با کاهش سطوح کلیگوژن (۱۷) و با افزایش غلظت روی (Zn) باعث تیره تر شدن رنگیدن و با تلفات بیشتر گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) (۲۴)، همچنین افزایش غلظت سولفات کادمیوم در گونه (*Leuciscus cephalus*) از خانواده کپورماهیان با افزایش ضایعات کبدی همچون دژنراسانس چربی، نکروز سلولی و سلولهای کویفر همراه بوده است (۲۹).

با توجه به نتایج حاصل نیترات روی با غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر باعث ظهور ضایعات هیستوپاتولوژی و به دنبال آن با گذشت زمان از ۷۲ ساعت به بعد علی الخصوص در ۹۶ ساعت با مرگ ماهی همراه گردید. غلظت های کمتر از ۵ میلی گرم بر لیتر ضایعات بافتی نیز ایجاد می گردد. از آنجاییکه کبد خاصیت سم زدایی دارد، با گذشت زمان

چند ضلعی هستند، این سلول های اعمال حیاتی زیادی از جمله دفع مواد زاید (شامل مواد سمی، هورمون ها، داروها و مواد خارجی) از خون انجام می دهند.

فلزات سنگین آلاینده های خطرناک زیست محیطی هستند که قادر به تجمع در طول زنجیره غذایی آبزیان می باشد و خطر جدی برای سلامت انسان ها و حیوانات گزارش شده است (۱۵). این فلزات با وجود مقادیر بسیار اندک، تاثیرات فیزیولوژیک قابل ملاحظه ای ایجاد میکنند، کمبودی افزایش این عناصر باعث بروز بیماریهای متعدد میشود، فلزروی که یکی از این عناصر کمیاب بدن محسوب میشود، مسمومیت با آن آثار سوء متعددی در اندامهای مختلف بدن به جای میگذارد (۱۴).

مطالعات هیستوپاتولوژی کبد در گروه شاهد طبیعی بوده ولی در گروه های آزمایشی ضایعات حاد ناشی از به کارگیری فلز نیترات روی بر بافت کبد بطور واضح به مواردی همچون آتروفی سلولی، نکروز سلولی، پرخونی و رکود صفراوی اشاره کرد که بعد از ۱۲ ساعت مجاورت با روی در هر دو تیمار حادث گردید ولی بیشترین شدت ضایعات در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر بوده است. بنابراین با افزایش غلظت نیترات روی و ماندگاری بیشتر در چنین محیطی، ماهی با مسمومیت بیشتری مواجه می شود. بطوریکه کبد این ماهیان در زمان ۷۲ ساعت با افزایش سلولهای کویفر همراه بود. در این پژوهش ضایعات مشاهده شده در تیمار با غلظت ۵ میلی گرم در لیتر نسبت به غلظت ۱۰ میلیگرم در لیتر کمتر بود. ولی با گذشت زمان ضایعات کبدی هر تیمار بیشتر شد، بطوریکه بیشترین ضایعات در نمونه های ۷۲ ساعت نسبت به نمونه های ۱۲ ساعت در هر تیمار مشاهده شد.

کبد نقش عمده ای در فرایند سم زدایی دارد. در مطالعه حاضر بنظر می رسد که بافت کبد بعد از ۷۲ ساعت خاصیت

(*Cyprinus carpio*). مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۵. شماره ۴: ص ۱ تا ۳.

۴-فتح الهی، ر. ح. خارا، ذ. پزند، ع. ر. شناور، ع. حلاجیان و ب. مشتاقی. ۱۳۸۹. تعیین غلظت کشندگی (LC50) 96h کلرید سدیم و اثرات آن بر بافت آبشش بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، مجله علوم زیستی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. سال چهارم. شماره ۳: ص ۶۵ تا ۷۲.

۵-فرهنگی، م. و ع. م. حاجی مرادلو. ۱۳۸۶. علائم بالینی و اثرات آسیب شناسی مسمومیت حاد با آمونیاک در قزل آلی (*Oncorhynchus mykiss*) رنگین کمان. مجله شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر. سال اول. پیش شماره چهارم: ص ۷۲ تا ۷۹.

۶-محمد خانلو عشایری، ص. ۱۳۸۲. تعیین LC50 بررسی اثرات حاد فلز روی بر تغییرات بافتی عضله، گنادها و کبد در ماهی کپور معمولی. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال: ۱۱۴ صفحه.

۷-مشتاقی، ب. ش. ع. نظامی، ح. خارا، ذ. پزند، ع. ر. شناور، ع. حلاجیان و ر. فتح الهی. ۱۳۸۸. تعیین غلظت کشندگی پرمنگنات پتاسیم ( $Kmno_4$ ) و سولفات مس ( $Cuso_4.5H_2O$ ) در بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*)، مجله علوم زیستی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. شماره ۴ (شماره پیاپی ۱۱): ص ۶۷ تا ۸۷.

8-Adhikari, S. and S. Ayyappan, 2004. Behavioral role of zinc on primary productivity, plankton and grow of a fresh

17-Kamaraju, S. and K. Ramasamy, 2011. Effect of camium chloride on glycogen content in gill, liver and kidney of edible

خود را ترمیم خواهد نمود. بطور کلی از نقطه نظربهداشت عمومی چنانچه مواد آلاینده زیست محیطی از جمله فلز روی باعث بروزچنین آسیبهایی بافتی شده میزان این آلاینده هادربدن ماهیها از حد مجاز و استاندارد بیشترشود، مصرف چنین ماهیانی میتواند برای انسان خطرآفرین و بیماریزا باشد. به علت تاثیر سوء سمیت فلزات سنگین، مطالعات تحقیقاتی بیشتر در مورد هیستوپاتولوژیک بافت های مختلف در ماهی بایستی ارزیابی شود.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از ریاست و معاونین محترم وقت موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، از مسئولین محترم حراست و ترابری آن مرکز و همچنین از جناب آقای مهندس مروتی در اجرای این طرح کمال همکاری را داشتند تشکر و قدردانی را داریم.

### منابع

- ۱-حلاجیان، ع. ۱۳۸۹. روشهای آزمایشگاهی بافت شناسی. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان: ۲۱۲ صفحه
- ۲-رستمی بوشمن، م. و م. سلطانی. ۱۳۸۸. مطالعه اثرات بافتی دوز مزمن سولفات مس بر برخی اندام های ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی تهران. دوره ۶۴. شماره ۳: ص ۱۹۳ تا ۱۹۸.
- ۳-رستمی بوشمن، م. م. سلطانی و ف. ساسانی. ۱۳۷۹. مطالعه اثرات هیستوپاتولوژی برخی از فلزات سنگین (سولفات مس، سولفات روی، سولفات جیوه و کلرورکادمیوم) بر بافت های ماهی کپور معمولی

- Water teleost. *Labeo rohita*. (Homilton). Aquaculture. 231 (14): 327- 336
- 9-Akaheri, A. and Z. Jozwiak, 1999. Effect of zinc on common carp (*Cyprinus carpio*) erythrocytes, El-sevier Science Inc.: 16-17
- 10-Bagdonas, E. and M.Z. Vosylien, 2006. A study of toxicity and genotoxicity of copper, zinc and their mixture to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Biologija. 1: 8-13.
- 11-Camargo, M.M.P., and C.B.R. Martinez, 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. Neotrop. Ichthyol. 5(3): 327-336.
- 12-Clark, R. , 1986. Marine pollution clarendon press. oxford. Pp: 64-82
- 13-Dobrova, V., A. Tsekov and I. Velchva, 2008. Study of the effect of zinc on gill functions of the crucian carp *Carassius gibelio* Bloch. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 14 (No 2) 2008, 182-185
- 14-Donmez H., N. Dursun, Y. Ozkul and H. Demiratas, 1993. Increased sister chromatid exchange in workers exposed to occupational lead and zinc. Biol. Trace Elem. Res. 61(1): 105-109
- 15-Hassanin S.I.A., 2008. Metals residues, histological alterations and cooking methods of fish cultured in wastewater ponds. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 2008. Cairo International Convention & Exhibition Center (CICC), Cairo. 12 -14 Oct 2008
- 16-Hogstrand, C. and C. M. Wood, 1996. The physiology and toxicology of zinc in fish. In Toxicology of Aquatic Pollution. Physiological, Cellular and Molecular Approaches (ed. Taylor, E. W.), pp. 61-84. Cambridge University Press, Cambridge.
- exotic fish *Hypophthalmichthys molitrix*. International Journal of Current Research Vol. 33. Issue 5. pp: 053-057
- 18-Karan, V., S. Victoric, V. Tutundic, and V. Poleksic, 2002. Functional Enzymes Activity and Histology of Carp after Copper Sulfate Exposure and Recovery. Ecotoxicol. Environ. Saf. 40: 49-55.
- 19-Kotze, P., H.H. Preez, and J.H.J. Van Vuren, 1999. Bioaccumulation of copper and in *Oreochromis mossambicus* and *Clarias gariepinus* from the Olifants River, Mpumalaga, South Africa. Water SA. 25: 99-110
- 20-Kumar, P. and A. Singh, 2010. Cadmium toxicity in fish: An overview. GERF Bulletin of Biosciences, 1(1): 41-47
- 21-Mansour, S. A. and M.M. Sidky, 2002. Ecotoxicological studies. 3: Heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt. Food Chem., 78: 15-22.
- 22-Morhit, M. El., M. Fekhaoui, A. El. Morhit, P. Elie, A. Yahyaoui, 2013. Hydrochemical characteristics and metallic quality in fish in the Loukkos river estuary of Morocco. J. Mater. Environ. Sci. 4 (6) 893-904
- 23-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.
- 24-Ololade, I.A. and O.Ogini, 2009. Behavioural and hematological effects of zinc on African Catfish (*Clarias gariepinus*). International Journal of Fisheries and Aquaculture. 2: 022-027.

- 25-Turala, H. and Soivio, A. 1982. Structural and circulatory changes in the secondary lamellae of *Salmo gaidneri* gills to ethyodabietic acid and zinc. *Aquatic Toxicology*. 2: 21-29.
- 26-Vinodhini, R. and M. Narayanan, 2008. Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 5 (2): 179-182
- 27-Widianarko, B., C. A. M. van Gestel, R. A. Verweij and N. M. van Straalen, 2000. Associations between trace metals in sediment, water, and guppy, *Poeciliareticulata* (Peters), from urban streams of Semarang, Indonesia. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 46B, 101-107.
- 28-Widianarko, B., F. X. S. Kuntoro, C. A. M. van Gestel, R. A. Verweij, and N. M. van Straalen, 2001. Toxicokinetics and toxicity of zinc under time-varying exposure in the guppy (*Poeciliareticulata*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 763-768.
- 29-Yilmaz, M., Y. Ersan, E. Koc, H. Ozen, and M. Karaman, 2011. Toxic Effects of Cadmium Sulphate on Tissue Histopathology and Serum Protein Expression in European Chub, (*Leuciscus cephalus*) (Linnaeus, 1758). *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 17(Suppl A): S131-S135.



## Effects of Zn (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> on Liver tissue of Silver carp, (*Hypophthalmichthys molitrix*)

Hallajian A. <sup>(1)\*</sup>; Yousefi Jourdehi A <sup>(1)</sup>; Kazemi R. <sup>(1)</sup>; Abdali S. <sup>(2)</sup>; Shakuri M. <sup>(2)</sup>

alihallajian@gmail.com

1- International Sturgeon Research Organization of the Caspian Sea, Rasht, Iran,

P.O.Box: 41635– 3464

2-Tehran North Branch, Islamic Azad University, Faculty of Marine Science and Technology.

Received: May2013

Accepted: December 2013

### Abstract

Zinc heavy metal was added as a micronutrient to water in order to increase of phytoplankton production and fish growth. By respect to feeding of silver carp from phytoplankton, the aim of this study is histopathological investigation of silver carp liver tissue that exposed to Zn (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in farmed conditions. A totally of 135 fish with mean weight  $50 \pm 10$  gr were stocked in 12 aquariums (with 200 liter capacity) and divided into 3 treatments such as 0, 0.5 and 10 mg/lit of Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> concentration with 3 replicates in each trail including 15 fish in each aquarium. Sampling of livers was carried out at 12, 24, 48, and 72 and 96 hours after next to Zinc. After fixing of samples in Bruin's solution, they sectioned with 7 micrometer and stained with Haematoxilen and Eozin (H & E) method. Microscopically results showed cell atrophy and necrosis, hyperemia, fatty degeneration and bile stagnation disorders in 5 and 10 mg/lit treatments as comparison to control. Results showed that with increase of Zn (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> concentrations and duration next to Zn up to 96 hours, histopathological damages of liver was increased, so that damages severity was more at concentration 10 mg/l in 72 and 96 hours than other times and treatments.

**Keywords:** Silver carp(*Hypophthalmichthys molitrix*), Zn (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Liver.

---

\*Corresponding author