

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه آزاد اسلامی

واحد علوم و تحقیقات

رساله دکتری رشته بیولوژی دریا

(Ph.D)

عنوان

بررسی اثرات علف کش آترازین بر بیومارکرهای  
فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و هیستولوژیک مراحل تکوین

لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر،

*Rutilus frisii kutum*

اساتید راهنما

دکتر شهلا جمیلی

دکتر صابر خدابنده

اساتید مشاور

دکتر علی ماشینچیان مرادی

دکتر عباسعلی مطلبی

نگارنده

زهرا خوشنود

سال تحصیلی ۱۳۹۱-۱۳۹۲

سپاسگزاری

تقديم

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
ج	سپاسگزاری
د	تقدیم
ه	فهرست مطالب
ک	فهرست جداول
ل	فهرست نمودارها
ن	فهرست تصاویر
۱	چکیده فارسی
<b>فصل اول</b>	
۲	۱      مقدمه و کلیات
۳	۱-۱      مقدمه
۴	۲-۱      اهداف
۴	۳-۱      اهمیت و ضرورت انجام تحقیق
۴	۴-۱      فرضیه ها
۵	۵-۱      کلیات
۵	۱-۵-۱      ماهی سفید
۷	۲-۵-۱      بیواندیکاتور
۹	۳-۵-۱      سمیت حاد و بررسی اثرات آن در جانداران
۱۱	۴-۵-۱      آترازین
۱۳	۵-۵-۱      انتوزنی و تنظیم اسمزی
۱۶	۶-۵-۱      هیستوپاتولوژی
۱۸	۷-۵-۱      مصرف سموم و آفت کش ها در ایران
<b>فصل دوم</b>	
۲۱	۲      سابقه تحقیق
۲۲	۱-۲      تحقیقات صورت گرفته در ایران
۲۲	۲-۲      تحقیقات صورت گرفته در خارج از ایران
۲۲	۱-۲-۲      اندازه گیری LC50 آترازین
۲۳	۲-۲-۲      اثرات آترازین بر بافت آبششی

۲۴	اثرات آترازین بر بافت کلیه	۳-۲-۲
۲۵	اثرات آترازین بر بافت کبد	۴-۲-۲
۲۶	اثرات آترازین بر ترکیب یونی، هورمونی و خونی بدن	۵-۲-۲
۲۷	اثرات آترازین بر آنزیم های بدن	۶-۲-۲
۲۸	اثرات آترازین بر رفتار، تولیدمثل و مراحل ابتدایی زندگی	۷-۲-۲
۳۰	سایر مطالعات	۸-۲-۲

## فصل سوم

۳۲	مواد و روش ها	۳
۳۳	ماهی ها	۱-۳
۳۳	تعیین غلظت LC50 آترازین	۲-۳
۳۳	تعیین غلظت LC50 برای لارو ماهی سفید	۱-۲-۳
۳۳	تعیین غلظت LC50 برای بچه ماهی سفید	۲-۲-۳
۳۴	بررسی اثرات آترازین	۳-۳
۳۴	بررسی اثرات آترازین بر لارو	۱-۳-۳
۳۴	بررسی اثرات آترازین بر بچه ماهی	۲-۳-۳
۳۵	مورفولوژی	۳-۳-۳
۳۶	بافت شناسی	۴-۳-۳
۳۸	مکان یابی آنزیم $Na^+, K^+-ATPase$ به روش ایمونوهیستوشیمی	۵-۳-۳
۴۰	شمارش و اندازه گیری یونوسیت های آبششی	۶-۳-۳
۴۰	میکروسکوپ الکترونی	۷-۳-۳
۴۰	میکروسکوپ الکترونی نگاره SEM	۱-۷-۳-۳
۴۳	میکروسکوپ الکترونی گذاره TEM	۲-۷-۳-۳
۴۵	اندازه گیری یون های بدن	۸-۳-۳
۴۵	مطالعات آماری	۹-۳-۳

## فصل چهارم

۴۶	نتایج	۴
۴۸	بافت شناسی و مطالعه ی انتوتونیک بافت های مختلف بدن لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر	۱-۴
۴۸	لارو ماهی سفید	۱-۱-۴
۴۸	ویژگی های مورفولوژیک لارو ماهی سفید در تیمار شاهد	۱-۱-۱-۴
۵۰	فاکتور وضعیت در لارو ماهی سفید	۱-۱-۱-۱-۴

۵۱	بافت شناسی و بررسی مراحل تکوین بافت های مختلف در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۲-۱-۱-۴
۵۱	بافت شناسی پوست در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۱-۲-۱-۱-۴
۵۳	بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۲-۲-۱-۱-۴
۵۳	ساختمان بافت آبششی	۱-۲-۲-۱-۱-۴
۵۴	انتوژنی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۲-۲-۲-۱-۱-۴
۵۹	بافت شناسی دستگاه گوارش در لارو ماهی سفید	۳-۲-۱-۱-۴
۵۹	ساختمان دستگاه گوارش	۱-۳-۲-۱-۱-۴
۶۶	انتوژنی دستگاه گوارش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۲-۳-۲-۱-۱-۴
۷۲	بافت شناسی کلیه در لارو ماهی سفید	۴-۲-۱-۱-۴
۷۲	ساختمان بافت کلیه	۱-۴-۲-۱-۱-۴
۷۶	انتوژنی کلیه و سیستم دفع ادراری در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۲-۴-۲-۱-۱-۴
۷۹	بافت شناسی چشم در لارو ماهی سفید	۵-۲-۱-۱-۴
۸۴	بافت شناسی سیستم عصبی در لارو ماهی سفید	۶-۲-۱-۱-۴
۸۶	اندام های حسی	۷-۲-۱-۱-۴
۸۶	گوش داخلی	۱-۷-۲-۱-۱-۴
۸۸	سیستم چشایی و بویایی	۲-۷-۲-۱-۱-۴
۸۹	مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در لارو ماهی سفید	۳-۱-۱-۴
۹۰	مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در آبشش لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۱-۳-۱-۱-۴
۹۲	شمارش و اندازه گیری یونوسیت های آبششی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۲-۳-۱-۱-۴
۹۳	مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در پوست لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۳-۳-۱-۱-۴
۹۴	شمارش و اندازه گیری یونوسیت های پوستی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۴-۳-۱-۱-۴
۹۷	مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در کلیه لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۵-۳-۱-۱-۴
۹۹	مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در دستگاه گوارش لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۶-۳-۱-۱-۴
۱۰۰	مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در چشم لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۷-۳-۱-۱-۴
۱۰۱	مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در سیستم عصبی لارو	۸-۳-۱-۱-۴

	تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	
۱۰۳	اندازه گیری یونهای بدن در لارو ماهی سفید	۴-۱-۱-۴
۱۰۶	فراساختار آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۵-۱-۱-۴
۱۰۶	میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)	۱-۵-۱-۱-۴
۱۰۸	میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)	۲-۵-۱-۱-۴
۱۱۰	بچه ماهی	۲-۱-۴
۱۱۰	ویژگی های مورفولوژیک بچه ماهی سفید دریای خزر در سن رهاسازی	۱-۲-۱-۴
۱۱۰	فاکتور وضعیت (CF: Condition Factor) بچه ماهی سفید دریای خزر در سن رهاسازی	۱-۱-۲-۱-۴
۱۱۱	بافت شناسی بچه ماهی سفید دریای خزر در سن رهاسازی	۲-۲-۱-۴
۱۱۱	بافت شناسی آبشش در بچه ماهی سفید دریای خزر	۱-۲-۲-۱-۴
۱۱۳	بافت شناسی دستگاه گوارش در بچه ماهی سفید دریای خزر	۲-۲-۲-۱-۴
۱۱۹	بافت شناسی کلیه در بچه ماهی سفید دریای خزر	۳-۲-۲-۱-۴
۱۲۳	بافت شناسی چشم در بچه ماهی سفید دریای خزر	۴-۲-۲-۱-۴
۱۲۴	بافت شناسی مغز و سیستم عصبی در بچه ماهی سفید دریای خزر	۵-۲-۲-۱-۴
۱۲۸	اندازه گیری یونهای بدن در بچه ماهی سفید	۳-۲-۱-۴
۱۳۱	مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در بچه ماهی سفید	۴-۲-۱-۴
۱۳۱	مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در آبشش بچه ماهی سفید	۱-۴-۲-۱-۴
۱۳۲	شمارش و اندازه گیری یونوسیت های آبششی در بچه ماهی سفید	۲-۴-۲-۱-۴
۱۳۳	مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در کلیه بچه ماهی سفید	۳-۴-۲-۱-۴
۱۳۶	مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در دستگاه گوارش بچه ماهی سفید	۴-۴-۲-۱-۴
۱۳۶	فراساختار بچه ماهی سفید	۵-۲-۱-۴
۱۳۶	میکروسکوپ الکترونی نگاره	۱-۵-۲-۱-۴
۱۳۸	میکروسکوپ الکترونی گذاره	۲-۵-۲-۱-۴
۱۴۰	بررسی اثرات علف کش آترازین بر لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر	۲-۴
۱۴۰	اثرات آترازین بر لارو ماهی سفید	۱-۲-۴
۱۴۰	تعیین میزان LC50 علف کش آترازین برای لارو ماهی سفید	۱-۱-۲-۴
۱۴۱	فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب	۲-۱-۲-۴
۱۴۱	تغییرات رفتاری در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در مواجهه با آترازین	۳-۱-۲-۴
۱۴۱	بازماندگی و بیومتری	۴-۱-۲-۴
۱۴۴	فاکتور وضعیت (CF: Condition Factor) لارو ماهی سفید	۵-۱-۲-۴



۱۴۵	اثرات آترازین بر ویژگی های مورفولوژیک لارو ماهی سفید	۶-۱-۲-۴
۱۴۶	بررسی اثرات علف کش آترازین بر بافت های مختلف در لارو ماهی سفید	۷-۱-۲-۴
۱۴۶	اثرات آترازین بر پوست لارو ماهی سفید	۱-۷-۱-۲-۴
۱۵۰	اثرات علف کش آترازین بر آبشش لارو ماهی سفید	۲-۷-۱-۲-۴
۱۵۵	اثرات علف کش آترازین بر دستگاه گوارش لارو ماهی سفید	۳-۷-۱-۲-۴
۱۵۸	اثرات علف کش آترازین بر کلیه لارو ماهی سفید	۴-۷-۱-۲-۴
۱۶۲	اثرات علف کش آترازین بر چشم لارو ماهی سفید	۵-۷-۱-۲-۴
۱۶۲	اثرات علف کش آترازین بر سیستم عصبی لارو ماهی سفید	۶-۷-۱-۲-۴
۱۶۴	اثرات مواجهه با آترازین بر ترکیب یونی بدن لارو ماهی سفید	۷-۷-۱-۲-۴
۱۶۹	بررسی اثرات آترازین بر بچه ماهی سفید دریای خزر	۲-۲-۴
۱۶۹	اندازه گیری LC50 علف کش آترازین برای بچه ماهی سفید	۱-۲-۲-۴
۱۶۹	بازماندگی و بیومتری	۲-۲-۲-۴
۱۷۰	فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب	۳-۲-۲-۴
۱۷۱	ویژگی های مورفولوژیک بچه ماهی سفید در تیمار آترازین	۴-۲-۲-۴
۱۷۱	تغییرات رفتاری بچه ماهیان مواجه شده با آترازین	۵-۲-۲-۴
۱۷۲	فاکتور وضعیت (CF: Condition Factor) بچه ماهی سفید	۶-۲-۲-۴
۱۷۲	بررسی اثرات علف کش آترازین بر بافت های مختلف در بچه ماهی سفید	۷-۲-۲-۴
۱۷۲	اثرات علف کش آترازین بر آبشش بچه ماهی سفید	۱-۷-۲-۲-۴
۱۷۹	اثرات علف کش آترازین بر دستگاه گوارش بچه ماهی سفید	۲-۷-۲-۲-۴
۱۸۲	اثرات علف کش آترازین بر کلیه بچه ماهی سفید	۳-۷-۲-۲-۴
۱۸۳	اثرات علف کش آترازین بر سیستم عصبی بچه ماهی سفید	۴-۷-۲-۲-۴
۱۸۴	اثرات آترازین بر ترکیب یونی بدن بچه ماهی سفید	۵-۷-۲-۲-۴
۱۸۶	نتایج کلی اثرات آترازین بر لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر	

## فصل پنجم

۱۸۷	بحث و نتیجه گیری	۵
۱۸۸	بافت شناسی و انتوزنی بافت های لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید و بافت شناسی بافت های بچه ماهی سفید دریای خزر <i>Rutilus frisii kutum</i>	۱-۵
۱۸۸	مورفولوژی	۱-۱-۵
۱۸۹	پوست	۲-۱-۵
۱۹۱	بافت آبششی	۳-۱-۵
۱۹۷	دستگاه گوارش	۴-۱-۵
۲۰۴	کلیه و سیستم دفع ادرار	۵-۱-۵
۲۰۷	چشم و بینایی	۶-۱-۵

۲۰۸	مغز و سیستم عصبی	۷-۱-۵
۲۱۱	بررسی اثرات آترازین بر لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر	۲-۵
۲۱۱	تعیین میزان LC50 علف کش آترازین برای لارو و بچه ماهی سفید	۱-۲-۵
۲۱۳	اثرات آترازین بر رشد و ویژگی های مورفولوژیک لارو و بچه ماهی سفید	۲-۲-۵
۲۱۶	اثرات آترازین بر بافت آبششی	۳-۲-۵
۲۲۰	اثرات آترازین بر پوست لارو و بچه ماهی سفید	۴-۲-۵
۲۲۱	اثرات آترازین بر دستگاه گوارش لارو و بچه ماهی سفید	۵-۲-۵
۲۲۵	اثرات آترازین بر کلیه ی لارو و بچه ماهی سفید	۶-۲-۵
۲۲۸	اثرات آترازین بر ترکیب یونی بدن در لارو و بچه ماهی سفید	۷-۲-۵
۲۲۹	اثرات آترازین بر مغز و سیستم عصبی لارو و بچه ماهی سفید	۸-۲-۵
۲۳۱	نتیجه گیری نهایی	۳-۵

۲۳۲

## منابع

۲۷۰

چکیده انگلیسی

## فهرست جداول

۵	رده بندی ماهی سفید	۱-۱
۱۱	ویژگی های علف کش آترازین	۲-۱
۲۰	برخی علف کش های ثبت شده و پرمصرف در ایران	۳-۱
۱۴۲	میانگین طول (mm) لارو ماهی سفید در تیمارهای مورد آزمایش	۱-۴
۱۴۲	میانگین وزن (mg) لارو ماهی سفید در تیمارهای مورد آزمایش	۲-۴
۱۴۵	فاکتور وضعیت لارو ماهی سفید در گروه های مختلف آزمایشی در طی هفت روز	۳-۴

## فهرست نمودارها

۱۸	وضعیت فروش آفت کش های مختلف در جهان	۱-۱
۱۹	روند تغییرات سطح مبارزه شیمیایی با علف های هرز در ایران	۲-۱
۴۹	رشد طولی و وزنی لارو ماهی سفید	۱-۴
۵۱	تغییرات فاکتور وضعیت لارو ماهی سفید در طی هفت روز پس از تفریح	۲-۴
۹۲	میانگین تعداد یونوسیت های آبششی در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید در طول دوره ی مطالعه	۳-۴
۹۳	ابعاد یونوسیت های آبششی در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید در طول دوره ی مطالعه	۴-۴
۹۵	میانگین تعداد یونوسیت های پوستی در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید در طول دوره ی مطالعه	۵-۴
۹۶	ابعاد یونوسیت های پوستی در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید در طول دوره ی مطالعه	۶-۴
۹۶	مقایسه ی میانگین کل تعداد یونوسیت های آبششی و پوستی در لارو ماهی سفید	۷-۴
۹۷	مقایسه ی ابعاد یونوسیت های آبششی و پوستی در لارو ماهی سفید	۸-۴
۱۰۴	مقایسه میانگین غلظت یون های مختلف در لارو ماهی سفید در طی هفت روز مطالعه	۹-۴
۱۰۴	تغییرات غلظت یون سدیم در لارو ماهی سفید در طی ۷ روز مطالعه	۱۰-۴
۱۰۵	تغییرات غلظت یون پتاسیم در لارو ماهی سفید در طی ۷ روز مطالعه	۱۱-۴
۱۰۵	تغییرات غلظت یون کلسیم در لارو ماهی سفید در طی ۷ روز مطالعه	۱۲-۴
۱۰۵	تغییرات غلظت یون منیزیم در لارو ماهی سفید در طی ۷ روز مطالعه	۱۳-۴
۱۰۶	تغییرات غلظت یون کلر در لارو ماهی سفید در طی ۷ روز مطالعه	۱۴-۴
۱۲۹	میانگین غلظت یون های مختلف در بدن بچه ماهی سفید	۱۵-۴
۱۲۹	تغییرات میزان غلظت یون سدیم در بچه ماهی سفید در طی دوره ی آزمایش	۱۶-۴
۱۳۰	تغییرات میزان غلظت یون پتاسیم در بچه ماهی سفید در طی دوره ی آزمایش	۱۷-۴
۱۳۰	تغییرات میزان غلظت یون کلسیم در بچه ماهی سفید در طی دوره ی آزمایش	۱۸-۴
۱۳۱	تغییرات میزان غلظت یون منیزیم در بچه ماهی سفید در طی دوره ی آزمایش	۱۹-۴
۱۳۱	تغییرات میزان غلظت یون کلر در بچه ماهی سفید در طی دوره ی آزمایش	۲۰-۴
۱۴۲	مقایسه میانگین طول در لارو ماهی سفید در چهار گروه آزمایشی در طی هفت روز آزمایش	۲۱-۴
۱۴۳	مقایسه میانگین وزن در لارو ماهی سفید در چهار گروه آزمایشی در طی هفت روز آزمایش	۲۲-۴
۱۴۳	تغییرات رشد وزنی لارو ماهی سفید در چهار گروه آزمایشی	۲۳-۴
۱۴۴	تغییرات رشد طولی لارو ماهی سفید در چهار گروه آزمایشی	۲۴-۴

- ۲۵-۴ میانگین فاکتور وضعیت در چهار گروه آزمایشی در لارو ماهی سفید
- ۲۶-۴ مقایسه تعداد یونوسیت های پوستی در لارو ماهی سفید مواجه شده با آترازین (غلظت ۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر) و گروه شاهد
- ۲۷-۴ تغییرات تعداد یونوسیت های پوستی در لارو ماهی سفید مواجه شده با آترازین (غلظت ۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر) و گروه شاهد
- ۲۸-۴ مقایسه ابعاد یونوسیت های پوستی در لارو ماهی سفید مواجه شده با آترازین (غلظت ۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر) و گروه شاهد
- ۲۹-۴ مقایسه روند تغییر تعداد یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید در دو گروه آزمایشی در طی دوره ی آزمایش
- ۳۰-۴ مقایسه تعداد کل یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید در دو گروه آزمایشی
- ۳۱-۴ مقایسه ابعاد یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید در دو گروه آزمایشی
- ۳۲-۴ تغییرات غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در لارو ماهی سفید در مواجهه با غلظت ۱ آترازین (۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر) در طول دوره ی آزمایش
- ۳۳-۴ تغییرات غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در لارو ماهی سفید در مواجهه با غلظت ۲ آترازین (۴/۶۳ میلی گرم بر لیتر) در طول دوره ی آزمایش
- ۳۴-۴ تغییرات غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در لارو ماهی سفید در مواجهه با غلظت ۳ آترازین (۲/۳۱ میلی گرم بر لیتر) در طول دوره ی آزمایش
- ۳۵-۴ مقایسه میانگین غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در لارو ماهی سفید در گروه های مختلف آزمایشی
- ۳۶-۴ میانگین طول بچه ماهیان سفید در دو گروه آزمایشی شاهد و مواجه شده با آترازین
- ۳۷-۴ میانگین وزن بچه ماهیان سفید در دو گروه آزمایشی شاهد و مواجه شده با آترازین
- ۳۸-۴ مقایسه میانگین فاکتور وضعیت در بچه ماهیان سفید در گروه شاهد و مواجه شده با آترازین
- ۳۹-۴ مقایسه میانگین تعداد سلول های یونوسیت آبششی در بچه ماهی سفید در دو گروه آزمایشی
- ۴۰-۴ مقایسه میانگین ابعاد سلول های یونوسیت آبششی در بچه ماهی سفید در دو گروه آزمایشی
- ۴۱-۴ مقایسه میانگین غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $Cl^-$  در بچه ماهی سفید در گروه شاهد و مواجه شده با آترازین

## فهرست تصاویر

۵	ماهی سفید بالغ	۱-۱
۶	محدوده پراکنش ماهی سفید در دریای خزر	۲-۱
۱۱	فرمول شیمیایی علف کش آترازین	۳-۱
۱۴	وضعیت تنظیم اسمزی در ماهی آب شیرین	۴-۱
۱۵	ساختمان پمپ سدیم- پتاسیم در غشای سلولی	۵-۱
۱۵	ساختار شماتیک یک سلول یونوسیت	۶-۱
۱۷	ساختمان عمومی بافت کبد	۷-۱
۳۴	بررسی اثرات غلظت های تحت کشنده ی آترازین بر لارو ماهی سفید	۱-۳
۳۵	بررسی اثرات غلظت تحت کشنده ی آترازین بر بچه ماهی سفید	۲-۳
۳۵	مطالعه مورفولوژیک لارو ماهی سفید	۳-۳
۳۶	مطالعه مورفولوژیک بچه ماهی سفید	۴-۳
۳۷	روش انجام مطالعه بافت شناسی	۵-۳
۳۸	عکسبرداری از نمونه های هیستولوژی	۶-۳
۴۰	روش انجام ایمونوهیستوشیمی	۷-۳
۴۲	روش آماده سازی نمونه های میکروسکوپ الکترونی نگاره	۸-۳
۴۲	پوشش نمونه های میکروسکوپ الکترونی توسط طلا	۹-۳
۴۲	میکروسکوپ الکترونی نگاره	۱۰-۳
۴۳	قالب گیری نمونه های میکروسکوپ الکترونی گذاره	۱۱-۳
۴۴	برش نمونه های میکروسکوپ الکترونی	۱۲-۳
۴۴	قرار دادن نمونه های میکروسکوپ الکترونی گذاره بر روی گرید	۱۳-۳
۴۴	میکروسکوپ الکترونی گذاره	۱۴-۳
۵۰	ویژگی های مورفولوژیک لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۱-۴
۵۲	بافت شناسی پوست در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۲-۴
۵۴	بافت شناسی بافت آبششی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید	۳-۴
۵۵	بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز اول پس از تفریخ	۴-۴
۵۶	بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز دوم پس از تفریخ	۵-۴
۵۶	بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز سوم پس از تفریخ	۶-۴
۵۷	بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز چهارم پس از تفریخ	۷-۴
۵۷	بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز پنجم پس از تفریخ	۸-۴
۵۸	بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز ششم پس از تفریخ	۹-۴
۵۹	بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز هفتم پس از تفریخ	۱۰-۴
۶۰	بافت شناسی بخش ابتدایی دستگاه گوارش (دهان) لارو ماهی سفید	۱۱-۴

- ۶۱ بافت شناسی بخش ابتدایی دستگاه گوارش (حلق) لارو ماهی سفید ۱۲-۴
- ۶۲ بافت شناسی بخش ابتدایی دستگاه گوارش (مری) لارو ماهی سفید ۱۳-۴
- ۶۳ بافت شناسی دستگاه گوارش (روده) لارو ماهی سفید ۱۴-۴
- ۶۳ بافت شناسی مقطع عرضی روده ی جلویی و عقبی در لارو ماهی سفید ۱۵-۴
- ۶۴ بافت شناسی کیسه ی زرده در لارو ماهی سفید ۱۶-۴
- ۶۵ بافت شناسی کبد در لارو ماهی سفید ۱۷-۴
- ۶۶ بافت شناسی کیسه ی صفرا در لارو ماهی سفید ۱۸-۴
- ۶۶ بافت شناسی هپاتوپانکراس در لارو ماهی سفید ۱۹-۴
- ۶۸ بافت شناسی دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در روز نخست پس از تفریح ۲۰-۴
- ۶۹ بافت شناسی دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در روز دوم پس از تفریح ۲۱-۴
- ۶۹ بافت شناسی دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در روز سوم پس از تفریح ۲۲-۴
- ۷۰ بافت شناسی دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در روز چهارم پس از تفریح ۲۳-۴
- ۷۲ بافت شناسی دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در روزهای پنجم تا هفتم پس از تفریح ۲۴-۴
- ۷۴ ساختار شماتیک بافت کلیه در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید ۲۵-۴
- ۷۴ ساختار شماتیک یک نفرون کلیوی ۲۶-۴
- ۷۵ بافت شناسی بافت کلیوی در لارو ماهی سفید ۲۷-۴
- ۷۶ بافت شناسی کلیه در لارو ماهی سفید در نخستین روز پس از تفریح ۲۸-۴
- ۷۷ بافت شناسی کلیه در لارو ماهی سفید در دومین روز پس از تفریح ۲۹-۴
- ۷۸ بافت شناسی کلیه در لارو ماهی سفید در روزهای سوم تا هفتم پس از تفریح ۳۰-۴
- ۸۲ بافت شناسی چشم در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید ۳۱-۴
- ۸۳ بافت شناسی شبکه چشم در لارو ماهی سفید ۳۲-۴
- ۸۵ ساختمان کلی مغز در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید ۳۳-۴
- ۸۶ بافت شناسی سیستم عصبی در لارو ماهی سفید ۳۴-۴
- ۸۷ بافت شناسی گوش داخلی در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید ۳۵-۴
- ۸۷ نمای نزدیک تر از اپی تلیوم حسی در گوش داخلی ۳۶-۴
- ۸۸ انواع جوانه های چشایی در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید ۳۷-۴
- ۸۹ بافت شناسی سیستم بویایی در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید ۳۸-۴
- ۹۱ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در بافت آبششی لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید ۳۹-۴
- ۹۴ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در بافت پوست لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید ۴۰-۴
- ۹۸ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در کلیه ی لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید ۴۱-۴

- ۴۲-۴ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase در دستگاه گوارش لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید
- ۴۳-۴ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase در چشم لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید
- ۴۴-۴ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase در سیستم عصبی لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید
- ۴۵-۴ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase در گوش داخلی لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید
- ۴۶-۴ فراساختار آبشش لارو ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره در روز نخست پس از تفریخ
- ۴۷-۴ فراساختار آبشش لارو ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره در روز هفتم پس از تفریخ
- ۴۸-۴ فراساختار آبشش لارو ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره
- ۴۹-۴ مورفولوژی بچه ماهی سفید
- ۵۰-۴ بافت شناسی آبشش در بچه ماهی سفید
- ۵۱-۴ بافت شناسی آبشش در بچه ماهی سفید
- ۵۲-۴ بافت شناسی بخش ابتدایی دستگاه گوارش در بچه ماهی سفید
- ۵۳-۴ دندان حلقی در بچه ماهی سفید
- ۵۴-۴ بافت شناسی دستگاه گوارش در بچه ماهی سفید
- ۵۵-۴ بافت شناسی کبد در بچه ماهی سفید
- ۵۶-۴ بافت شناسی غده ی تیروئید در بچه ماهی سفید
- ۵۷-۴ بافت شناسی کلیه در بچه ماهی سفید
- ۵۸-۴ بافت شناسی کپسول بومن در کلیه ی بچه ماهی سفید
- ۵۹-۴ بافت شناسی چشم در بچه ماهی سفید
- ۶۰-۴ بافت شناسی سیستم عصبی در بچه ماهی سفید
- ۶۱-۴ بافت شناسی سیستم عصبی در بچه ماهی سفید
- ۶۲-۴ بافت شناسی سیستم بویایی و گوش داخلی در بچه ماهی سفید
- ۶۳-۴ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase در بافت آبششی بچه ماهی سفید
- ۶۴-۴ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase در بافت کلیه بچه ماهی سفید
- ۶۵-۴ مکان یابی آنزیم  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase در بخش انتهایی بافت کلیوی بچه ماهی سفید
- ۶۶-۴ مکان یابی آنزیم  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase در توبول های مختلف کلیوی بچه ماهی سفید
- ۶۷-۴ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase در دستگاه گوارش بچه ماهی سفید
- ۶۸-۴ فراساختار بافت آبششی در بچه ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره
- ۶۹-۴ فراساختار بافت آبششی در بچه ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره



- ۷۰-۴ فراساختار بافت آبششی در بچه ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره
- ۷۱-۴ نتایج محاسبه ی LC50 توسط نرم افزار Probit 1.5
- ۷۲-۴ تغییرات مورفولوژیک لارو ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۷۳-۴ اثرات آتزازین بر پوست لارو ماهی سفید
- ۷۴-۴ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $Na^+, K^+$ -ATPase در یونوسیت های پوستی لارو ماهی سفید مواجهه شده با آتزازین (۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر)
- ۷۵-۴ بافت شناسی آبشش در لارو ماهی سفید مواجهه شده با آتزازین
- ۷۶-۴ تغییرات فراساختاری آبشش در لارو ماهی سفید در مواجهه با آتزازین توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره
- ۷۷-۴ تغییرات فراساختاری آبشش در لارو ماهی سفید در مواجهه با آتزازین توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره
- ۷۸-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۷۹-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کبد لارو ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۸۰-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کبد لارو ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۸۱-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه ی لارو ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۸۲-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه ی لارو ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۸۳-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه ی لارو ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۸۴-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه ی لارو ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۸۵-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت عصبی لارو ماهی سفید مواجهه شده با آتزازین
- ۸۶-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت عصبی لارو ماهی سفید مواجهه شده با آتزازین
- ۸۷-۴ نتایج محاسبه ی LC50 آتزازین در بچه ماهی سفید توسط نرم افزار Probit 1.5
- ۸۸-۴ تغییرات مورفولوژیک در بچه ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۸۹-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت آبششی بچه ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۹۰-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت آبششی بچه ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۹۱-۴ مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $Na^+, K^+$ -ATPase در سلول یونوسیت آبششی بچه ماهی سفید مواجهه شده با آتزازین
- ۹۲-۴ تغییرات فراساختاری در بافت آبششی بچه ماهی سفید در مواجهه با آتزازین توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره
- ۹۳-۴ تغییرات فراساختاری در بافت آبششی بچه ماهی سفید در مواجهه با آتزازین توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره
- ۹۴-۴ تغییرات فراساختاری در بافت آبششی بچه ماهی سفید در مواجهه با آتزازین توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره
- ۹۵-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک دستگاه گوارش بچه ماهی سفید در مواجهه با آتزازین
- ۹۶-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کبد بچه ماهی سفید در مواجهه با آتزازین

- ۹۷-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد و بافت ذخیره ای کبد بچه ماهی سفید در مواجهه با آتازین ۱۸۲
- ۹۸-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک کلیه بچه ماهی سفید در مواجهه با آتازین ۱۸۳
- ۹۹-۴ تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت عصبی بچه ماهی سفید در مواجهه با آتازین ۱۸۴

## چکیده:

به منظور بررسی اثرات علف کش آترازین بر لارو تازه تفریخ یافته و بچه ماهی سن رهاسازی ماهی سفید دریای خزر، *Rutilus frisii kutum*، غلظت کشنده ی نیمی از جمعیت (LC50) ۹۶ ساعته ی آترازین برای این ماهیان تعیین گردید. این غلظت برای لارو تازه تفریخ یافته ppm ۱۸/۵۳ و برای بچه ماهی سن رهاسازی ppm ۲۴/۹۵ بدست آمد. لاروهای تازه تفریخ یافته به مدت ۷ روز در مواجهه با سه غلظت تحت کشنده ( $1/2$ LC50،  $1/4$ LC50 و  $1/8$ LC50) قرار گرفتند. تغییرات هیستوپاتولوژیک مختلفی در بافت پوست و باله ها، بافت آبششی، کلیه، دستگاه گوارش، کبد و مغز این ماهیان در اثر مواجهه با این غلظت های آترازین مشاهده گردید. همچنین اندازه گیری میزان غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در بدن این لاروها و مقایسه ی آنها با گروه شاهد نشان داد که آترازین موجب تغییر در ترکیب یونی بدن این لاروها می گردد. بچه ماهیان سن رهاسازی نیز به مدت چهار روز در مواجهه با یک غلظت تحت کشنده ی آترازین ( $1/2$ LC50) قرار گرفتند و در این ماهیان نیز تغییرات هیستوپاتولوژیک مختلفی در بافت پوست و باله ها، بافت آبششی، کلیه، دستگاه گوارش، کبد و مغز در اثر مواجهه با آترازین مشاهده گردید. همچنین اندازه گیری میزان غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در بدن این بچه ماهی ها و مقایسه ی آنها با گروه شاهد نشان داد که آترازین موجب تغییر در ترکیب یونی بدن این بچه ماهیان می گردد. هیچگونه تغییر معنی داری در میزان رشد طولی، رشد وزنی و نیز فاکتور وضعیت بدنی لارو و بچه ماهی سفید در اثر مواجهه با آترازین مشاهده نگردید. همچنین مطالعه ی پراکنش یونوسیت های پوستی و آبششی بوسیله ی مکان یابی آنزیم  $Na^+$ ،  $K^+$ -ATPase به روش ایمونوهیستوشیمی و نیز شمارش تعداد و اندازه گیری ابعاد این یونوسیت ها نشان داد که آترازین تاثیری بر نحوه ی پراکنش این سلول ها نداشته اما موجب افزایش خفیف اندازه و کاهش خفیف تعداد این یونوسیت ها می گردد. مطالعات فراساختاری بافت آبششی به کمک میکروسکوپ الکترونی نگاره و گذاره نیز نشان داد که آترازین در سطوح سلولی نیز اثر گذار بوده و موجب ایجاد نکرور در سطوح سلول های سنگفرشی آبششی، نکرور در شبکه ی اندوپلاسمی سلول های یونوسیت و تغییر شکل میتوکندری های این سلول ها می گردد. نتایج نشان می دهد که آترازین در غلظت های تحت کشنده برای لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر، *Rutilus frisii kutum*، از سمیت بالایی برخوردار بوده و در این غلظت ها می تواند اثرات هیستوپاتولوژیک نسبتا شدیدی بر بافتهای مختلف بر جای بگذارد. همچنین توجه به تغییرات هیستوپاتولوژیک شدیدی که آترازین در بافت های دخیل در فرآیند تنظیم اسمزی مانند آبشش، کلیه و دستگاه گوارش ایجاد کرده است و نیز تغییراتی که در ترکیب یونی بدن لارو و بچه ماهی بوجود آورده است می توان بیان کرد که آترازین علف کشی است که می تواند فرآیند تنظیم اسمزی را در این ماهی در مراحل ابتدایی زندگی تحت تاثیر جدی قرار دهد.

## واژگان کلیدی:

آترازین، *Rutilus frisii kutum*، آبشش، کلیه، دستگاه گوارش، مغز، یون های بدن

فصل اول

# مقدمه و کلیات

## ۱-۱ مقدمه

گسترش ساخت و تولید علف کش ها و حشره کش ها و استفاده از آنها در کشاورزی در ۵۰ سال گذشته افزایش زیادی داشته است (Pimentel, ۱۹۹۶, FAO, ۲۰۰۲). از پیامدهای این گسترش، راه یافتن این مواد شیمیایی از راه رواناب های سطحی به آب های شیرین و اکوسیستم های سواحل دریاهاست (Pimentel, ۱۹۹۶؛ Pennington و همکاران، ۲۰۰۱؛ EPA, ۲۰۰۳, ۲۰۰۶)، جایی که حتی غلظت های اندک این ترکیبات بر فیزیولوژی و رشد آبزیان تاثیر می گذارد (Weis و Weis, ۱۹۸۹؛ Solomon و همکاران، ۱۹۹۶؛ EPA, ۲۰۰۳؛ Hayes و همکاران، ۲۰۰۶).

آترازین در سال ۱۹۵۰ معرفی شد و از آن زمان تاکنون بطور گسترده در کشاورزی و جنگلداری مورد استفاده قرار می گیرد. برای مثال، آترازین جهت کنترل علف های هرز یکساله و علف های هرز پهن برگ در مزارع حبوبات، باغ های میوه، باغ های مرکبات، مزارع نیشکر، مراتع و جنگل ها مورد استفاده قرار می گیرد. آترازین بیشترین مصرف را در بین علف کش ها در دنیا داشته و سالانه بین ۷۰۰۰۰ تا ۹۰۰۰۰ تن از آن در سرتاسر دنیا مورد استفاده قرار می گیرد (Steinberg, ۱۹۹۵). آترازین در آب شیرین نسبتا پایدار بوده و بسته به شرایط فیزیکوشیمیایی محیط نیمه عمری بین ۸-۳۵۰ روز دارد (Diana و همکاران، ۲۰۰۰؛ Tavera-Mendoza, ۲۰۰۲). به دلیل این پایداری، آترازین یکی از مهمترین آلاینده های آب در باران، آب شیرین، دریا و آب های زیرزمینی به شمار می رود (Felding, ۱۹۹۲؛ Tasli و همکاران، ۱۹۹۶). مصرف گسترده آترازین سبب شده که توجه زیادی به اثرات آن در محیط جلب شود. در اکوسیستم های آبی، اثرات اکوتوکسیکولوژیک آترازین بطور گسترده با بکارگیری گیاهان آبی و جانوران آبی از جمله ماهیان مورد بررسی قرار گرفته است (Huber, ۱۹۹۳؛ Solomon و همکاران، ۱۹۹۶). امروزه ماهیان مدل آزمایشی خوبی جهت ارزیابی سلامت اکوسیستم های آبی در مواجهه با آلاینده های محیطی بر اساس تغییرات بیوشیایی و فیزیولوژیک محسوب می شوند. این در حالی است که مراحل ابتدای زندگی ماهیان به عنوان حساس ترین مرحله در مواجهه با آلاینده های شیمیایی شناخته می شوند (Weis و Weis, ۱۹۸۷). اثرات مواجهه کوتاه مدت و تحت کشنده (Sublethal) بر رشد، رفتار یا تنظیم اسمزی می تواند بازماندگی را در این مراحل حساس تحت تاثیر قرار داده و فرآیند احیای ذخایر را مختل نماید (Houde, ۱۹۸۷, ۱۹۸۹؛ Sclafani و همکاران، ۱۹۹۷؛ Alvarez و Fuiman, ۲۰۰۵).

ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*)، از خانواده کپور ماهیان، از جمله مهمترین ماهیان استخوانی اقتصادی سواحل و رودخانه های حاشیه جنوبی دریای خزر می باشد که ذخایر آن بدلیل صید بیش از حد مجاز در معرض خطر قرار گرفته است. به منظور بازسازی ذخایر این ماهی سالانه بیش از ۲۰۰ میلیون قطعه بچه ماهی ۱-۲ گرمی توسط سازمان شیلات ایران در کارگاههای تکثیر تولید و به رودخانه ها رهاسازی می شوند (Heyrati و همکاران، ۲۰۰۷). با وجود انجام تحقیقاتی در خصوص تأثیر آلودگی فاز محلول نفت خام بر ماهیان (Prasad, ۱۹۹۱؛ Stephens و همکاران، ۲۰۰۰؛ Dede و Kaglo, ۲۰۰۱؛ Rudolph و همکاران، ۲۰۰۱؛ Akaishi و همکاران، ۲۰۰۴؛ Kennedy و Farrell, ۲۰۰۵؛ Simonato و همکاران، ۲۰۰۸)، مطالعه ای در زمینه ی بررسی اثرات سموم علف کش بر روی ماهی سفید دریای خزر انجام نگرفته است. با در نظر

گرفتن حجم فعالیت های کشاورزی در حاشیه دریای خزر و از آنجاییکه سالانه میلیون ها قطعه بچه ماهی سفید در کارگاههای تکثیر و پرورش کشور تکثیر شده و به دریا رهاسازی می شوند به نظر می رسد انجام مطالعه در زمینه شناخت دقیق مراحل نمو این بچه ماهیان در ابتدای دوره زندگی و بررسی اثرات یکی از فراوان ترین آلاینده های محیطی بر این روند نمو جهت حفاظت بیشتر از این گونه ارزشمند مفید واقع گردد.

#### ۱-۲ اهداف

انجام این تحقیق دو هدف مشخص را جستجو می کند:

نخست، بررسی مراحل نمو بافتهای مختلف بدن لاروهای تازه تفریح یافته ماهی سفید، بویژه بافت ها و اندام های دخیل در تنظیم اسمزی (آبشش، کلیه و دستگاه گوارش).

و دوم، بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک و پاتومورفولوژیک و اثرات سمیت حاد آفت کش آترازین بر این بافت ها و اندامها.

#### ۱-۳ اهمیت و ضرورت انجام تحقیق

در ابتدای ساخت و تولید آفت کش ها، نخستین اثری که مورد بررسی قرار می گیرد، اثر آفت کش بر جانداران هدف است. عموماً پس از شروع مصرف چنین آفت کش هایی در طبیعت، اثرات نامطلوب این ترکیبات به تدریج بر سایر جانداران غیر هدف مشخص می گردد. شناخت به موقع این اثرات نامطلوب می تواند از بروز حوادث ناخوشایند زیست-محیطی و بیولوژیک (مانند بر هم خوردن تعادل اکوسیستم ها، نابودی و انقراض برخی گونه ها، اثر بر انسان و ...) جلوگیری نماید. آترازین علف کشی است که بیشترین استفاده را در میان سموم و آفت کش ها به خود اختصاص داده است. در ایران نیز این علف کش، همانند سایر کشورهای دنیا به میزان زیاد، در مزارع غلات، باغهای مرکبات و باغهای میوه و ... مورد استفاده قرار می گیرد. این در حالی است که دریای خزر یک دریای بسته بوده و حجم زیادی از آلاینده های کشاورزی، شهری و صنعتی را دریافت می کند، با وجود حجم بالای فعالیت های کشاورزی در حاشیه دریای خزر متأسفانه تاکنون هیچگونه پژوهشی در بررسی اثرات سم آترازین بر جانداران این اکوسیستم صورت نگرفته است، همچنین این نکته را نیز باید در نظر داشت که اکوسیستم هایی مانند دریای خزر که از تنوع زیستی پایینی برخوردار هستند بیشتر در معرض خطر قرار دارند چرا که به خطر افتادن یک یا چند گونه در آنها می تواند در نهایت به نابودی کل اکوسیستم منجر شود. همچنین مطالعات متعددی که همواره در کل دنیا بر روی بررسی اثرات آفت کش ها بر جانداران مختلف صورت می گیرد می تواند در نهایت به امر مجاز بودن یا ممنوع شدن مصرف آن آلاینده منتهی گردد، امری که پیشتر در مورد DDT اتفاق افتاد.

#### ۱-۴ فرضیه ها

- آفت کش آترازین موجب آسیب های شدید بافتی در بافتهای آبشش، کلیه، کبد، دستگاه گوارش و سیستم عصبی لاروهای تازه تفریح یافته ماهی سفید می گردد.
- آفت کش آترازین موجب نکرور در سلول های کلراید و تغییر ترکیب یونی بدن لاروهای تازه تفریح یافته ماهی سفید خواهد شد.
- آفت کش آترازین سبب کاهش تعداد سلول های کلراید خواهد شد.

## ۱-۵ کلیات

### ۱-۵-۱ ماهی سفید

ماهی سفید (تصویر ۱-۱) با توجه به ارزش غذایی بالا، کیفیت عالی گوشت و لذیذ بودن مورد توجه صیادان، ساحل نشینان و مردم کشور ما و حتی سایر کشورهای حاشیه دریای خزر می باشد. این ماهی رودکوچ (anadromous) است و بخش عمده زندگی خود را در دریا گذرانده و در فصل بهار و یا پاییز جهت تخم‌ریزی به رودخانه‌ها مهاجرت می‌کند. رده بندی این ماهی در جدول ۱-۱ ارائه شده است.



تصویر ۱-۱. ماهی سفید بالغ (www.fishbase.org)

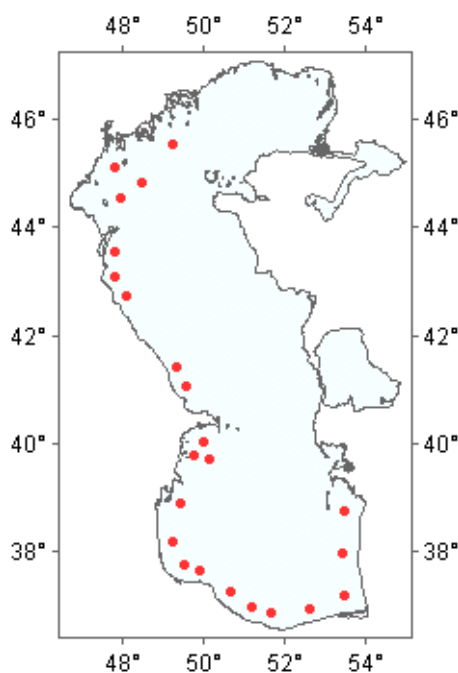
جدول ۱-۱. رده بندی ماهی سفید.

Cypriniformes	کپور ماهی شکلان	راسته
Cyprinidae	کپور ماهیان	خانواده
<i>Rutilus</i>	ماهی سفید	جنس
<i>Rutilus frisii</i>	ماهی سفید	گونه
<i>Rutilus frisii kutum</i>	ماهی سفید	زیر گونه
Kutum	-	نام انگلیسی
Kutuma	-	نام روسی
-	ماهی سفید	نام فارسی

ماهی سفید از نظر رژیم غذایی جزو ماهیان همه چیز خوار بوده ولی برخلاف سایر ماهیان همه چیز خوار به دلیل کوتاه بودن طول روده دارای طیف غذایی محدودی می باشد. این ماهی از انواع پلانکتون‌های گیاهی و جانوری و لارو حشرات به عنوان غذای آغازین استفاده نموده ولی پس از رسیدن به وزن بالاتر و در مراحل پس از مهاجرت به دریا عمدتاً از صدفهای دو کفه ای تغذیه می نماید (رضوی صیاد، ۱۳۷۴).

عمده پراکنش ماهی سفید در دریای خزر مربوط به مناطق جنوبی و جنوب غربی این دریا بوده و از رودخانه اترک واقع در منطقه قفقاز (ساحل غربی خزر میانی) تا سواحل جنوب ترکمنستان به عنوان یک ماهی اقتصادی ارزشمند توسط صیادان صید می گردد. حضور ماهی سفید در دیگر مناطق دریای خزر از جمله

خزر شمالی و رود ولگا به ندرت و موردی بوده و تاکنون هیچ گزارشی رسمی مبنی بر مهاجرت ماهی سفید به این مناطق ارائه نشده است. نقشه ی پراکنش ماهی سفید در دریای خزر در تصویر ۱-۲ ارائه شده است.



تصویر ۱-۲. محدوده پراکنش ماهی سفید در دریای خزر. بیشترین پراکنش این ماهی در نواحی جنوبی و غربی دریای خزر می باشد. (<http://www.caspianenvironment.org>)

به هر حال بیشترین تراکم و میزان صید ماهی سفید در طی سالیان متمادی مربوط به حدفاصل رودخانه های کورا در جمهوری آذربایجان و رودخانه سفیدرود در ایران بوده است، ولی در طی ۲۵ سال گذشته و پس از رهاسازی انبوه بچه ماهیان سفید در تمامی سواحل ایرانی دریای خزر، پراکنش آن نسبت به گذشته با تغییراتی مواجه بوده و تراکم آن در سواحل استان های مازندران و گلستان نیز بیشتر گردیده است اما ذخایر این ماهی در منطقه گیلان به مراتب بیشتر از منطقه مازندران است (رضوی صیاد، ۱۳۷۴).

مهمترین مناطق تخم‌ریزی ماهی سفید در شمال کشور به شرح زیر می باشد:

الف) غرب استان گیلان: رودخانه ی آستارا، رودخانه ی چلوند، رودخانه ی چوپار، رودخانه ی لمیر، رودخانه ی شیروود، رودخانه ی گرگانرود، رودخانه ی تکی، رودخانه ی کلفارود، رودخانه ی ناورود، رودخانه ی خاله سرا، رودخانه ی دیناچال، رودخانه ی حویق و رودخانه ی سفارود.

ب) تالاب انزلی: ماهی سفید در گذشته از طریق کانال انزلی وارد رودخانه های سوسرروگا، پیربازار، نهنگ روگا و راسته خاله شده و از طریق این رودخانه ها وارد تالاب انزلی می شد. در تالاب انزلی گروهی از ماهیان سفید ماندگار شده و تخم‌ریزی در همان محل انجام می دادند. ولی گروهی دیگر از ماهیان سفید به مهاجرت خود ادامه داده و از طریق تالاب وارد ۱۲ رشته رودخانه منتهی به تالاب می شوند، که مهمترین آنها عبارتند از: رودخانه ی سیاه درویشان، رودخانه ی پیربازار، رودخانه ی کوله سر، رودخانه ی پسیخان، رودخانه ی



باغبان خاله، در حال حاضر رودخانه ی سیاه درویشان یکی از مهمترین مناطق تخم ریزی ماهی سفید به شمار می رود.

ج) شرق استان گیلان: رودخانه ی سفیدرود، رودخانه ی شلمان رود، رودخانه ی خشک رود و رودخانه ی چابکسر.

د) منطقه ی مازندران: رودخانه ی شیروود، رودخانه ی تنکابن، رودخانه ی تجن، رودخانه ی بابلرود، رودخانه ی گرگانرود و رودخانه ی سرخرود.

دریای خزر به عنوان زیستگاه اصلی ماهی سفید بوده، منابع زنده ی دریای خزر بویژه ذخایر ماهیان اقتصادی آن در سالهای اخیر به علت بحران های مختلف مورد تهاجمات جدی قرار گرفته است، که از آن جمله می توان به هجوم شانه دار دریای خزر (*Mnemiopsis leydi*)، و لطمات آن بر چرخه ی غذایی دریای خزر در سال ۱۳۷۸، اثرات سوء ناشی از اکتشاف و بهره برداری منابع نفتی بر ذخایر آبزیان (خصوصا در نواحی شمال دریای خزر و همچنین در حوالی جزایر آشوراده، شبه جزیره میانکاله، خلیج گرگان و تالاب گمیشان، ایجاد سدهای عظیم بر روی رودخانه های محل مهاجرت ماهیان رودکوج (Anadromous)، برداشت شن و ماسه از محل های تخم ریزی ماهیان در بستر رودخانه ها، افزایش ادواری سطح آب دریای خزر و تغییر مسیر رودخانه ها، ورود مقادیر زیاد سموم و کودهای شیمیایی از طریق رودخانه ها به دریا، و صید قاچاق و بی رویه ماهیان اقتصادی دریای خزر اشاره کرد.

در حال حاضر میزان صید ماهی سفید به عنوان یکی از ماهیان استخوانی و اقتصادی دریای خزر قریب به ۶۶۰۰ تن بوده و حدودا ۱۲۰۰۰ صیاد قانونی در حوضه ی جنوبی دریای خزر مشغول به فعالیت می باشند. سیر صعودی بهره برداری از ذخایر آب های شمال طی سنوات آینده امری اجتناب ناپذیر بوده، لذا، ضرورت توجه و بازنگری به فرآیند بازسازی ذخایر ماهی سفید را دوچندان می سازد.

باتوجه به عوامل تهدید کننده ی ذخایر ماهی سفید طی سال های گذشته رهاسازی بچه ماهی سفید در دستور کار بازسازی قرار گرفته است. امروزه رهاسازی سالیانه قریب به ۲۰۰ میلیون قطعه بچه ماهی به رودخانه های منتهی به حوضه ی جنوبی دریای خزر را می توان به عنوان یک برنامه ی راهبردی مشخص در نظام بهره برداری از ذخایر ماهی سفید تلقی نمود. اگرچه رهاسازی ۲۰۰ میلیون قطعه بچه ماهی سفید بصورت سالیانه گامی موثر در ترمیم و بازسازی ذخایر ماهی سفید می باشد لیکن درصد قابل توجهی از لاروهای تکثیر یافته و نیز بچه ماهیان رهاسازی شده می توانند تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی از جمله آلودگی آب و ... قرار گیرند.

#### ۱-۵-۲ بیواندیکاتور

ماهیان می توانند به عنوان بیواندیکاتور جهت برآورد آلودگی های محیطی بکار گرفته شوند و به دلیل تماس مستقیم با مواد شیمیایی موجود در محیط ناشی از کشاورزی که از راه رواناب های سطحی و یا از راه زنجیره ی غذایی اکوسیستم به محیط راه می یابند، نقش مهمی جهت ارزیابی خطرات احتمالی آلودگی محیط های آبی ایفا می کنند (Lakra و همکاران، ۲۰۰۹).

جمعیت های ماهیان نقش فزاینده مهمی را در پایش آلودگی آب ایفا می کنند چرا که در پاسخ به تغییرات محیطی بسیار حساس هستند (Siroka و Drastichova, ۲۰۰۴). ماهی ها به عنوان شاخص های زیستی بکار می روند چرا که اثرات مواجهه با زنبیوتیک ها را می توان در آنها از راه پاسخ های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مورد اندازه گیری قرار داد (Mondon و همکاران، ۲۰۰۱). تغییر در سن و پراکنش گونه ها در یک جمعیت از ماهی ها شاخص های عمومی آلودگی آب هستند اما می توانند پاسخ اختصاصی نسبت به یک آلاینده یا گروه خاصی از زنبیوتیک ها باشند (Siroka و همکاران، ۲۰۰۴). بیومارکرها پاسخ های بیوشیمیایی القا شده در حضور گروه خاصی از آلاینده ها با مکانیسم سمیت مشابه هستند. بیومارکرها در زمینه های مختلفی نظیر توکسیکولوژی، داروشناسی و اکوتوکسیکولوژی بکار گرفته می شوند. مزیت بزرگ بیومارکرها فراهم کردن زمینه ای جهت ارتباط دادن حضور یک آلاینده با اثرات سینرژیستی، آنتاگونیستی، القا یا سرکوب بیومارکری خاص است.

مارکهای بیوشیمیایی پاسخ هایی هستند که در حضور گروه خاصی از آلاینده هایی که مکانیسم سمیت مشابهی دارند القا می شوند (Siroka و Drastichova, ۲۰۰۴). این قبیل مارکها پاسخ هایی قابل اندازه گیری هستند که در مواجهه ی یک موجود زنده با زنبیوتیک ها ایجاد می شوند. زمانی که یک زنبیوتیک به بدن یک موجود زنده راه می یابد، به گیرنده های خاصی متصل می شود که ممکن است فرآیندهای سلولی را القا کنند که اثرات سمی یا شدیدی در سطح سلولی ایجاد می کنند (Siroka و Drastichova, ۲۰۰۴). مارکهای بیوشیمیایی همانطور که پیشتر اشاره گردید در مطالعات توکسیکولوژی، اکوتوکسیکولوژی و مطالعات دارویی هم در بدن موجودات زنده و هم در شرایط در شیشه مورد استفاده قرار می گیرند. بسیاری از مطالعات شیمیایی بررسی آلاینده های محیطی تنها نشان دهنده ی حضور این آلاینده هاست. هر چند که آنالیز شیمیایی توانایی اندازه گیری گستره ی وسیعی از آلاینده ها را دارد، اما این آنالیزها قادر به نشان دادن فرآیندهای ایجاد شده در بدن موجودات زنده نیستند. بکارگیری بیومارکهای بیوشیمیایی این عملکرد را امکان پذیر می سازد. پاسخ های بیومارکری اغلب دو دسته هستند: آنهایی که تنها مواجهه با آلاینده را نشان می دهند (شاخص های زیستی)، و آنهاییکه هم مواجهه و هم اثرات سمیت مواد آلاینده را نشان می دهند (بیومارکهای بیوشیمیایی) (Peakall, ۱۹۹۲).

زمانی که بزرگی آلاینده به قدری زیاد باشد که بتواند تغییرات سلولی ایجاد کند اما موجب مرگ جاندار نگردد، تغییرات می تواند توسط میکروسکوپ نوری یا الکترونی مورد مطالعه قرار گیرند. تغییرات قابل اندازه گیری در اندامک های سلول های تحت تاثیر قرار گرفته اغلب مشخص کننده ی اثرات ناشی از مواجهه ی حاد و یا مزمن هستند. این تغییرات شامل دژنره شدن، نکروز و یا تورم سلولی، تجمع ذرات سیتوپلاسمی و تغییرات در حجم سلول و یا هسته ی آن است.

به بیان دیگر بیومارکها ابزار اندازه گیری پاسخ های درونی جانداران و یا سیستم های بیولوژیک هستند که می توانند نشان دهنده ی مواجهه با آلاینده ها و یا نشان دهنده ی اثرات آلاینده های محیطی باشند (SETAC, ۱۹۹۲). در طول دو دهه ی گذشته، دانش بیومارکها بطور وسیعی گسترش داشته است (SETAC, ۱۹۹۲)، و رویکردی جهانی جهت بکارگیری پارامترهای شیمیایی و فیزیکی همراه با بیومارکها

در پایش آلاینده های دریایی بوجود آمده است (ANZECC، ۱۹۹۲). گستره ی مختلفی از پاسخ های ملکولی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیک، هیستوسیتوپاتولوژیک، ارگانسمی، جمعیتی و یا جامعه ای می تواند جهت بررسی مواجهه با آلاینده های مختلف بکار گرفته شود و نتایجی در زمینه ی غلظت آلاینده، تعیین وضعیت محیطی و یا اثرات اکولوژیک آلاینده بدست آورد. بطور کلی، پاسخ هایی که در سطوح پایین تر بیولوژیک (مانند پاسخ های ملکولی و بیوشیمیایی) بدست می آیند اختصاصی تر، حساس تر و قابلیت تعیین آسان تری دارند، اما به سختی می توان آنها را به تغییرات محیطی ارتباط داد. از سوی دیگر، پاسخ های سطوح بالاتر بیولوژیک (مانند پاسخ های جمعیت و جامعه) نشان دهنده ی مستقیم وضعیت محیط می باشند و جهت مدیریت زیست محیطی کاربرد بیشتری دارند. هرچند که تعیین آنها مشکل تر بوده، کمتر اختصاصی هستند و تنها نشان دهنده ی مواجهه ی طولانی مدتی هستند که در نهایت موجب آسیب به اکوسیستم شده است (Connell و همکاران، ۱۹۹۹). پاسخ های هیستوسیتوپاتولوژیک را نسبتا به آسانی می توان مشخص کرد و ارتباط آنها با سلامت و وضعیت موجودات مورد بررسی ارتباط مستقیم دارد، در نتیجه امکان بررسی بیشتر وضعیت جامعه/جمعیت را فراهم می کنند. گستره ای از تغییرات هیستوسیتوپاتولوژیک در ماهی ها، دوزیستان، سخت پوستان، و دوکفه ای ها مورد بررسی قرار گرفته است که به عنوان بیومارکرهایی جهت پایش اثرات آلاینده ها در اکوسیستم های آبی مورد استفاده قرار می گیرند.

### ۱-۵-۳ سمیت حاد و بررسی اثرات آن در جانداران

سمیت حاد قابلیت است که یک ماده می تواند اثرات مخربی بلافاصله پس از یکبار مواجهه یا یک دوز ایجاد کند و یا اثرات سمی ناشی از مواجهه ی کوتاه مدت با یک ماده سمی، سمیت حاد نامیده می شود. هر چند شناخت اثرات مختلف مواد شیمیایی مختلف موجود در محیط (آلاینده های شیمیایی) فرآیندی پیچیده است که کاملا شناخته شده نیست، اما مطالعات بسیاری در این زمینه صورت گرفته است (Guillette و همکاران، ۲۰۰۲؛ Carson، ۱۹۶۲؛ Hayes و همکاران، ۲۰۰۶؛ Colborn و همکاران، ۱۹۹۶؛ Weselak و همکاران، ۲۰۰۷). مواد شیمیایی می توانند به سرعت سلامتی را بصورت حاد و یا در طولانی مدت بصورت مزمن تحت تاثیر قرار دهند. اثرات مزمن آفت کش ها را می توان به دو بخش مستقیم و غیر مستقیم تقسیم بندی کرد. اثرات مستقیم زمانی رخ می دهند که مستقیما ساختار سلول را تحت تاثیر قرار داده و یا موجب آسیب به اطلاعات ژنتیکی (موتازن)، تمایز و نمو (ترانوژنیک)، و موجب القای تکثیر سرطانی (کارسینوژنی) در موجود زنده شوند. اثرات غیر مستقیم زمانی رخ می دهد که ترکیب مورد نظر بر ارتباط بین سلول های یک موجود زنده از راه اثرگذاری بر استروئیدها و هورمون ها رخ دهد که در اثرات مواد مختل کننده ی سیستم اندوکراین (EDC's: Endocrine Disrupting Chemicals) دیده می شود (Vogel، ۲۰۰۴). در هر حال، اثرات ترکیبات با منشا خارجی بر فیزیولوژی موجودات زنده می تواند بسیار پیچیده باشد، چرا که تغییر سطوح هورمونی می تواند به خودی خود، اثرات مستقیم بصورت ترکیبات ترانوژنیک و کارسینوژنیک داشته باشند.

در ماهی ها، مانند سایر گونه های جانوری، تفاوت های بزرگی بین فعالیت افراد یک جمعیت و افراد جمعیت های مختلف وجود دارد، این امر را می توان به عواملی نظیر گونه، جنسیت، تغذیه و یا فصل ارتباط داد (Schlenk و Perkins، ۱۹۹۸).

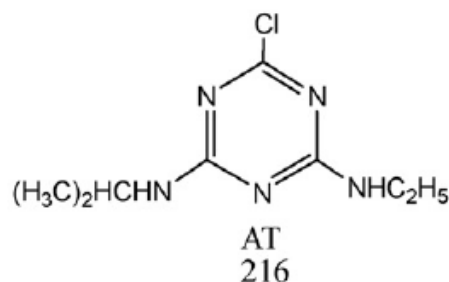
سمیت مواد شیمیایی اساسا وابسته به غلظت آن درون بدن جاندار و یا حتی میزان غلظت برخورد کرده با گیرنده ی نهایی در بدن جاندار است. تنها بخش قابل جذب از نظر زیستی آفت کش ها می تواند در جانداران آبی تجمع یافته و به گیرنده ی نهایی در بدن آن جاندار راه یابد (Hamelink و Spacie، ۱۹۷۷). میزان حقیقی آفت کشی که به بدن جاندار راه می یابد بسیار مهم بوده و مشخص کننده ی اثرات آن آفت کش خواهد بود. در سم شناسی محیطی، میزان غلظت محیطی اغلب به عنوان جایگزینی جهت میزان غلظت وارد شده به بدن جاندار به کار گرفته می شود. اما باید توجه داشت که غلظتی که به بدن وارد می شود ممکن است تنها بصورت غیر مستقیم با غلظت محیطی ارتباط داشته باشد. شکل، ویژگی های پوشش خارجی بدن جاندار، نوع سیستم تنفسی و ویژگی های تغذیه ای جاندار می توانند مشخص کننده ی نرخ جذب آلاینده از محیط باشند (Bruner و همکاران، ۱۹۹۴a؛ Bruner و همکاران، ۱۹۹۴b؛ Gossiaux و همکاران، ۱۹۹۸؛ Landrum و Fisher، ۱۹۹۸). به همین دلیل دوز وارد شده به بدن جاندار و میزان غلظت محیطی لزوما وابسته به یکدیگر و یا کسری از هم محسوب نمی شوند و از گونه ای به گونه ای دیگر می توانند بسیار متفاوت باشند (Yu و Landis، ۱۹۹۵).

مواد شیمیایی ناشی از فعالیت های کشاورزی از راه بارش های جوی، رواناب های سطحی و یا نشت کردن از راه خاک در محیط گسترش می یابند (Kreuger، ۱۹۹۹) و معمولا در رسوبات نرم بستر و جانداران آبی تجمع می یابند (Miles و Pfeuffer، ۱۹۹۷؛ Lehotay و همکاران، ۱۹۹۸؛ Kreuger و همکاران، ۱۹۹۹). در تمامی مناطق دنیا آفت کش ها در اکوسیستم های آبی یافت می شوند اما اثرات آنها بر آبیان این مناطق اغلب نامشخص است. در کانال های جنوب فلوریدا بیش از ۷۰۰ آفت کش که بین سالهای ۱۹۹۱ تا ۱۹۹۵ ساخته شده اند یافت شده است (Pfeuffer و Miles، ۱۹۹۷). آترازین، آمترین و بروماسیل بیشترین فراوانی را در نمونه های آب داشته اند و آفت کش های دیگری که بیشترین قدرت اتصال به خاک را داشته اند مانند DDD، DDE و آمترین بیشترین آفت کش هایی بودند که در نمونه های خاک مشاهده گردید (Pfeuffer و Miles، ۱۹۹۷). در خلیج چسپایک، باز هم در ایالات متحده، علف کش هایی نظیر آترازین، سیمازین، سیانازین، و متولاکلر در نمونه های آب یافت شده اما در نمونه های اویستر مشاهده نگردیدند (Lehotay و همکاران، ۱۹۹۸).

ریخته شدن اتفاقی و نیز مکانهای دفن زباله نیز می توانند به عنوان راههای ورود آفت کش ها به محیط در نظر گرفته شوند. بر خلاف دیگر محصولات شیمیایی ساخت انسان که در محیط وجود دارند، آفت کش ها به راحتی و به وفور در محیط پراکنش می یابند. این مواد به گونه ای ساخته می شوند که موجب آسیب به یک یا گروهی جاندار بخصوص شوند، و ویژگی های سمی آنها جهت عملکرد سمی آنها بسیار اهمیت دارد. بر اساس ویژگی های سمی آفت کش ها، ضریب خطر پیچیده ای جهت آلوده شدن جانداران غیر هدف، چه در محل مورد استفاده ی آفت کش و چه به دلیل گسترش ناخواسته به مناطق نزدیک و یا دور وجود دارد.

### ۱-۵-۴ آترازین

مصرف علف کش ها جهت کنترل علف های هرز به عنوان بخشی از فعالیت های معمول کشاورزی در سرتاسر جهان به شمار می رود. متاسفانه، مصرف نادرست این علف کش ها جهت افزایش بهره وری کشاورزی بر جانداران غیرهدف بویژه جانداران آبی و زیستگاه های آنها اثرات منفی زیادی بر جای می گذارد. آترازین (۲-کلرو-۴-اتیل آمینو-۶-ایزوپروپیل آمینو-s-تریازین) یکی از معمول ترین علف کش هایی است که در مناطق کشاورزی یافت می شود (تصویر ۱-۳).



تصویر ۱-۳. فرمول شیمیایی علف کش آترازین.

این علف کش بصورت گسترده در مزارع گندم، جو، برنج، ذرت، نیشکر، سیب زمینی، مرکبات، آناناس و نیز بسیاری دیگر از محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار می گیرد. ویژگی های این علف کش در جدول ارائه شده است.

جدول ۱-۲. ویژگی های علف کش آترازین.

نام	آترازین
نام های تجاری	آترکس، آآترام، آتراسول، کریزازانا، گزاپریم، پریماتول، زئازین
ویژگی فیزیکی	پودر سفید رنگ
وزن ملکولی	۲۱۵/۷
فرمول شیمیایی	$C_8H_{14}N_5Cl$
نقطه ذوب	۱۷۳-۱۷۷ درجه سانتیگراد
دانسیته	$1/187 \text{ g/cm}^3$
نیمه عمر محیطی	۶۰ روز

این علف کش به عنوان ترکیبی نسبتاً سمی برای گونه های آبی دسته بندی شده است، این ترکیب در محیط بسیار پایدار بوده و در جویبارها، رودخانه ها، دریاچه ها، مخازن آب و آب های زیرزمینی یافت می شود (Battaglin و همکاران، ۲۰۰۳؛ Battaglin و همکاران، ۲۰۰۸؛ Scrubner و همکاران، ۲۰۰۵). این ترکیب نیمه عمر هیدرولیزی در حدود ۳۰ روز داشته و در آب با نسبت زیادی محلول است (۳۲ میلی گرم در لیتر)، که همین خاصیت موجب نفوذ آن به آبهای زیرزمینی می گردد (Orme و همکاران، ۲۰۰۴). غلظت

هایی از آترازین در حد ۲۰ میکروگرم در لیتر بطور معمول در رواناب های سطحی یافت می شود، این در حالی است که در این رواناب ها غلظت هایی در حد ۷۰۰ میکروگرم نیز گزارش شده است (Perry, ۱۹۹۰؛ Solomon و همکاران، ۱۹۹۶؛ Selim, ۲۰۰۳). بدلیل پایداری نسبتا اندک علف کش آترازین، این علف کش چندین بار در طول کشت محصولات مورد استفاده قرار می گیرد، و در نتیجه، مقادیر زیادی آترازین به محیط های آبی راه می یابد. روش عملکرد آترازین بلوکه کردن مسیر انتقال الکترون در فتوسیستم II است که منجر به مختل شدن فرآیند فتوسنتز می گردد. زمانی که آترازین برای نخستین بار در کشاورزی مورد استفاده قرار گرفت، این انتظار می رفت که به دلیل محدود بودن فرآیند فتوسنتز به گیاهان، این ترکیب بر جانوران بی اثر خواهد بود. این در حالی بود که اندکی پس از این، اثرات آترازین بر جانداران غیر هدف شامل اثرات ژنوتوکسیک (De Ventura و همکاران، ۲۰۰۸)، کلاستوژنیک (Yoder و همکاران، ۲۰۰۳) و اثرات بیوشیمیایی (Weigand و همکاران، ۲۰۰۱) مشاهده گردید. مصرف بی رویه ی این علف کش، استفاده ی نامناسب، راه یافتن ناخواسته ی پساب ها به آبهای محیطی موجب اثرات منفی این ترکیب بر آبزیان مختلف، از جمله جمعیت های ماهیان شده و در نهایت موجب آسیب به محیط زیست می گردد. اثرات تحت کشنده ی آترازین شامل تغییرات بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک در بافت های ماهیان می تواند در مواجهه ی طولانی مدت با مقادیر حتی کمتر از ۲ میلی گرم در لیتر آترازین رخ دهد (Neškovic و همکاران، ۱۹۹۳).

آترازین به گروه علف کش های کلره تریازینه تعلق دارد که پرمصرف ترین علف کش ها در سراسر دنیا محسوب می شوند. به دلیل مصرف گسترده، نیمه عمر طولانی، و ویژگی های سمی متعدد این آفت کش از نظر زیست محیطی اهمیت فراوانی دارد. از آنجایی که آترازین بوفور در دریاچه ها، رودخانه ها و جویبارها یافت می شود، گونه های مختلف آبزیان در معرض خطر مواجهه با آن قرار دارند. مطالعات آزمایشگاهی و محیطی نشان داده است که آترازین برخی فرآیندهای بیولوژیک را از جمله رشد، متابولیسم، سیستم ایمنی و هورمونی را در گونه های مختلفی از قورباغه ها و ماهی ها تحت تاثیر قرار می دهد (Fatima و همکاران، ۲۰۰۷؛ Forson و Storfer، ۲۰۰۶؛ Freeman و Rayburn، ۲۰۰۵؛ Houck و Sessions، ۲۰۰۶؛ Nieves-Puigdoller و همکاران، ۲۰۰۷؛ Rowe و همکاران، ۲۰۰۸؛ Rymuszka و همکاران، ۲۰۰۷؛ Srinivas و همکاران، ۱۹۹۱). آترازین در ماهی ها، در بافت هایی نظیر کبد، آبشش، خون، مغز و عضله تجمع می یابد (Streit و Gunkel، ۱۹۸۰؛ du Preez و van Vuren، ۱۹۹۲). در نتیجه به نظر می رسد که همین امر یکی از عوامل بررسی اثرات این آلاینده بر آبزیان توسط بسیاری از محققین باشد. این اثرات بخوبی شناخته نشده اند، اما آشفتگی هایی در: خون (Prasad و همکاران، ۱۹۹۱؛ Hussein و همکاران، ۱۹۹۶)؛ سلول های کلیوی (Fischer-Scherl و همکاران، ۱۹۹۱؛ Neskovic و همکاران، ۱۹۹۳)؛ متابولیسم چربی ها (Srinivas و همکاران، ۱۹۹۱)؛ و میزان مصرف اکسیژن (Grobler و همکاران، ۱۹۸۹؛ Prasad و همکاران، ۱۹۹۱، ۱۹۹۵) تا کنون مشخص شده است. برخی محققین همچنین به نقش احتمالی آترازین به عنوان یک مختل کننده ی سیستم هورمونی در ماهی آزاد (Moore و Waring، ۱۹۹۸) و حتی اثرات حاد بر رفتار شنای گورخرماهی (Steinberg و همکاران، ۱۹۹۵) اشاره کرده اند. آترازین همچنین می تواند بر قابلیت های تنظیم اسمزی ماهی ها (McBride و Richards، ۱۹۷۵؛ Hanke و همکاران، ۱۹۸۳؛ Prasad و Reddy،

۱۹۹۴) و خرچنگ ها (Prasad و همکاران، ۱۹۹۰) اثر بگذارد، اما مکانیسم های این اثر بخوبی شناخته نشده اند.

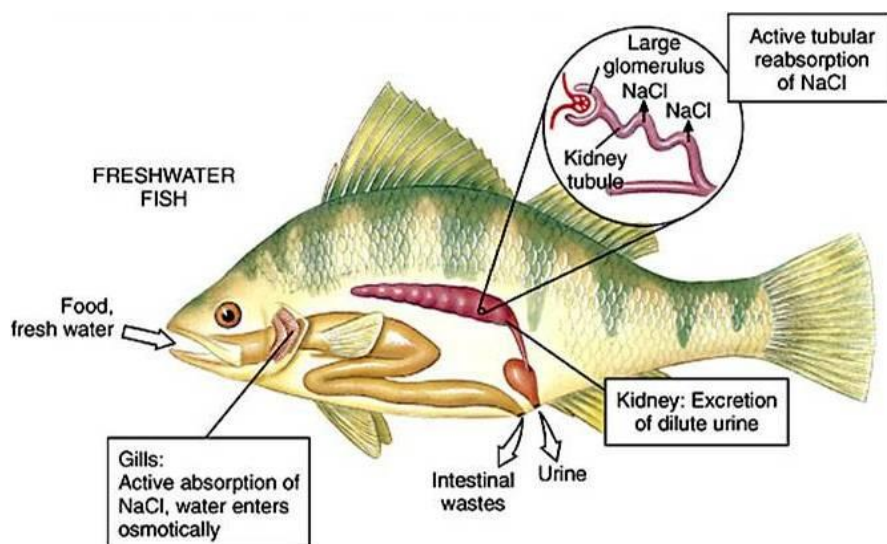
### ۱-۵-۵ انتوژنی و تنظیم اسمزی

بررسی و مطالعه مراحل نمو یک موجود زنده از ابتدای شروع زندگی انتوژنی (Ontogeny) نامیده می شود، مراحل ابتدایی نمو به عنوان حساس ترین مراحل چرخه ی زندگی نسبت به اثرات آلاینده های شیمیایی شناخته می شوند. اثرات کوتاه مدت تحت کشنده بر رشد، رفتار و یا تنظیم اسمزی می توانند میزان بازماندگی را در این مراحل حساس تحت تاثیر قرار داده و بر فرآیند احیای ذخایر اثر بگذارند. برای مثال، از دست دادن توانایی تنظیم اسمزی، سبب تغییر در میزان آب بدن شده و می تواند دانسیته و شناوری لارو را تحت تاثیر قرار دهد. موقعیت قرار گیری لارو در ستون آب می تواند برهمکنش های آن با شکار و یا شکارچی را تحت تاثیر قرار دهد. در نتیجه کاهش موقتی کنترل اسمزی در لارو ماهیان می تواند قابلیت شکار شدن آنها را توسط شکارچیان افزایش داده و یا قابلیت های تغذیه ای آنها را تحت تاثیر قرار دهد. اختلال در ترشح طبیعی هورمون کورتیزول در مراحل اولیه ی چرخه زندگی می تواند بازماندگی را در اثر تحت تاثیر قرار دادن توانایی سازگاری با استرس های محیطی و نیز با اثرات ثانویه بر سیستم تنظیم اسمزی، رشد، نمو و سیستم ایمنی کاهش دهد.

حفظ ثبات تقریبی اسمولالیته خون در دامنه ای حدود ۳۶۰-۲۸۰ میلی اسمول بر کیلوگرم به کمک مکانیسم های تنظیم کننده ای انجام می شود که بسته به گونه ی ماهی در نواحی مختلف پوست، دستگاه گوارش، حفره های آبششی (خصوصاً آبشش ها) و دستگاه ادراری، با توجه به مرحله رشد و نمو ماهی فعالند (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۵). توانایی تنظیم یونی و اسمزی علاوه بر گونه، به میزان تکوین انتوژنیک اندام های درگیر در فرآیند تنظیم نیز بستگی دارد (Semenova و همکاران، ۲۰۰۰). سلول هایی که در تنظیم اسمزی شرکت دارند، سلول های یونوسیت یا سلول های غنی از میتوکندری می باشند، این سلول ها در ماهیان مختلف به اشکال مختلفی دیده می شوند اما شکل عمومی آنها گرد تا تخم مرغی شکل بوده و دارای چین خوردگی های فراوانی در غشاهای قاعده ای- جانبی خود می باشند، مهمترین مشخصه ی این سلول ها داشتن تعداد زیادی میتوکندری در سیتوپلاسم و دانسیته ی بالایی از پمپ سدیم-پتاسیم در غشاهای قاعده ای- جانبی می باشد، این سلول ها به دلیل نقشی که در ترشح یون کلر دارند گاه سلول های کلراید نیز نامیده می شوند (تصویر ۱-۶) (Khodabandeh و همکاران، ۲۰۰۵؛ Evans و همکاران، ۲۰۰۵؛ Nebel و همکاران، ۲۰۰۵).

بطور کلی در ماهیانی که ساکن در آب شیرین زندگی می کنند، ماهیان در محیطی با اسمولالیته ی پایین و میزان اندک یون های محیطی مواجه هستند، این در حالی است که میزان یون ها و اسمولالیته ی بدن آنها از محیط بالاتر است، به همین دلیل این ماهیان همواره در مواجهه با مشکل از دست دادن یونهای بدن، و تجمع آب در بدن می باشند، به همین دلیل لازم است که فعالانه یون های اندک محیطی را جذب کرده و با تولید ادرار رقیق با حجم زیاد، آب اضافی را از بدن خود دفع کنند (تصویر ۱-۴).

اندام های تنظیم اسمزی ماهیان بالغ و جوان یعنی روده، کلیه و آبشش در لارو کاملاً شکل نگرفته اند و پوست محل اصلی فرآیند تنظیم اسمزی است. با باز شدن دهان و تمایز تدریجی سیستم دفعی و تنفسی از اندازه، تعداد و تراکم یونوسیت های پوستی کاسته می شود (Hiroi و همکاران، ۱۹۹۸) و سیستم تنظیمی تدریجاً از پوست به سیستم های کلیوی، گوارشی و آبششی منتقل می گردد (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۵). از این رو با پیشرفت رشد و نمو، فیزیولوژی تنظیم اسمزی و قدرت بردباری ماهیان نسبت به شوری تغییر می کند (Schreiber، ۲۰۰۱). هر چند مطالعه مکانیسم های فیزیولوژیک همچون تنظیم اسمزی در مورد آبزیان جوان و بالغ اهمیت زیادی دارد اما بررسی تکوینی این مکانیسم ها از ارزش بالاتری برخوردار بوده و به عبارت دیگر شناخت این مکانیسم ها در مراحل جنینی، پیش لاروی و لاروی، پایه و اساس درک کارکرد آنها در مراحل بعدی چرخه حیات محسوب می شود.

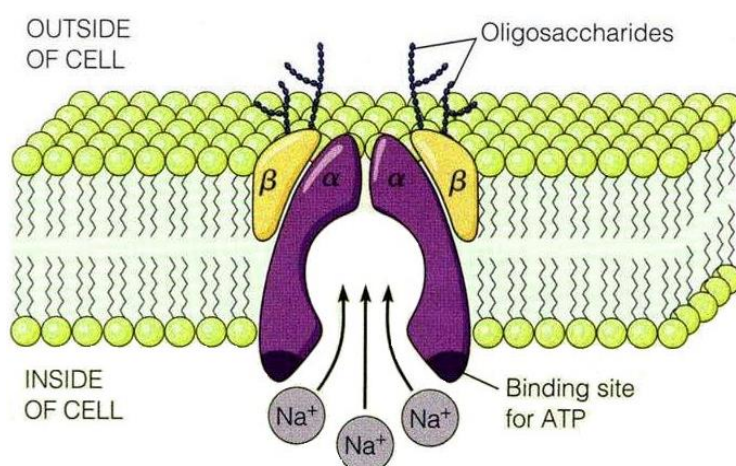


**تصویر ۱-۴. وضعیت تنظیم اسمزی در ماهی آب شیرین.** ماهیان آب شیرین یون های مختلف را بصورت فعالانه از محیط و از راه آبشش ها جذب می کنند، آب براساس خاصیت اسمزی از راه آبشش ها، از راه بلعیدن غذا از راه دهان جذب می شود، کلیه ها یون های در حال دفع از بدن را بصورت فعالانه بازجذب می کنند و ادرار رقیق با حجم زیاد از بدن دفع می کنند.

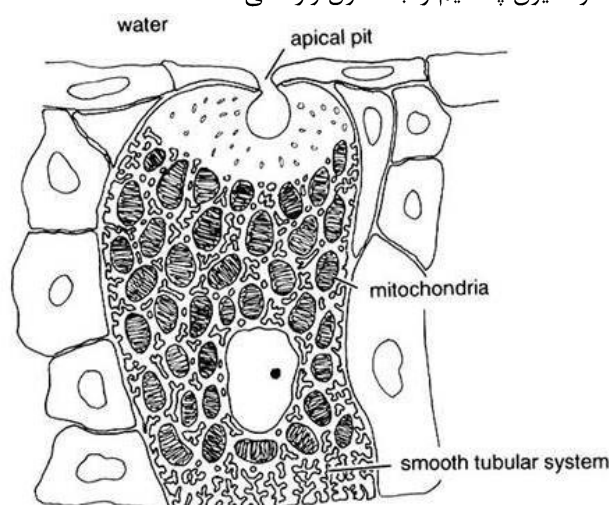
اساس مکانیسم تنظیم اسمزی و فعالیت سلول های یونوسیت بر انتقال فعال پمپ سدیم- پتاسیم استوار است که در قسمت قاعده ای- جانبی این سلول ها و خصوصاً بر روی فرورفتگی ها و چین خوردگی های غشای قاعده ای- جانبی قرار دارد (Khodabandeh و همکاران، ۲۰۰۵؛ Evans و همکاران، ۲۰۰۵). پمپ سدیم- پتاسیم نقشی حیاتی در تبادل یون ها در سلول های یونوسیت و در تنظیم اسمزی ایفا می کند (Wendelaar Bonga، ۱۹۹۷). این پمپ در تمام سلول های بدن وجود دارد اما میزان حضور آن در سلول های یونوسیت آبششی بویژه در غشای قاعده ای- جانبی بسیار زیاد بوده و مکان یابی آنزیم  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ATPase آن بوسیله آنتی بادی ها در مطالعات ایمونوهیستوشیمی به عنوان شاخصی برای شناسایی این سلول ها در بافت آبششی به کار می رود (Hirose و همکاران، ۲۰۰۳؛ Lignot و همکاران، ۲۰۰۱؛ Nebel و



همکاران، ۲۰۰۵، Khodabandeh و همکاران (۲۰۰۶c). پمپ سدیم-پتاسیم از دو زیرواحد  $\alpha$  و  $\beta$  تشکیل شده است (تصویر ۱-۵). زیر واحد  $\alpha$  یا زیر واحد کاتالیتیک، مسئول فعالیت آنزیمی بوده و محل اتصال ATP می باشد، زیرواحد  $\beta$  نقش نگهداری پمپ را در غشای پلاسمایی بر عهده دارد (Reuss و همکاران، ۱۹۹۶). آنزیم  $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$  به ازای هیدرولیز هر ملکول ATP سه یون  $\text{Na}^+$  را از سلول خارج کرده (به طرف خون یا لنف) و دو یون  $\text{K}^+$  را به سلول وارد می کند. این انتقال علاوه بر ایجاد گرادیان الکتروشیمیایی برای این دو یون، انرژی لازم را برای فعالیت سایر پروتئین های ناقل سلول فراهم می کند (شکل ۱-۴). آنزیم  $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$  همچنین در حفظ حجم طبیعی سلول دخالت داشته و نسبت به تغییرات آن واکنش می دهد (Scheiner-Bobis, ۲۰۰۲).



**تصویر ۱-۵. ساختمان پمپ سدیم-پتاسیم در غشای سلولی.** پمپ از دو زیرواحد  $\alpha$  و  $\beta$  تشکیل شده است. زیرواحد  $\alpha$  مسئول فعالیت آنزیمی بوده و زیرواحد  $\beta$  مسئول نگهداری پمپ در غشا است. این پمپ به ازای هیدرولیز هر ملکول ATP، ۳ یون سدیم را از سلول خارج کرده و ۲ یون پتاسیم را به سلول وارد می کند.



**تصویر ۱-۶. ساختار شماتیک یک سلول یونوسیت.** مشخص ترین ویژگی های یک سلول یونوسیت داشتن فرورفتگی های غشاهای قاعده ای- جانبی، شبکه ی اندوپلاسمی گسترده و داشتن تعداد زیادی میتوکندری است. برخی یونوسیت ها دارای چاله ی راسی می باشند.

## ۱-۵-۶ هیستوپاتولوژی

هیستوپاتولوژی علمی است که به مطالعه تغییرات میکروسکوپی ساختاری و بافتی اندام‌های مواجه شده با آلودگی‌ها و عوامل مختل‌کننده نظم طبیعی بدن می‌پردازد. هیستوپاتولوژی به دلیل هزینه‌های بالا عمدتاً به عنوان ابزار استاندارد در پایش آلودگی‌های اکوسیستم‌های آبی استفاده نمی‌گردد، اما روش بسیار مناسبی برای درک اثرات آلاینده‌ها بر سلامت موجودات آبی محسوب می‌گردد.

مورفولوژی تغییر یافته اندام‌ها و یا تغییر ساختار آنها یکی از نمودهای پروسه‌های بیماری است که توسط پاتولوژیست‌ها بررسی می‌گردد. هیستوپاتولوژی بررسی میکروسکوپی این روندهای بیماری است. آبشش‌ها دارای سطح بسیار وسیعی هستند، گاهی این سطح حتی به ۱۰ برابر کل سطح بدن می‌رسد، علاوه بر این، سطح تنفسی لاملاها توسط اپیتلیوم بسیار نازکی پوشیده شده است که به راحتی تحت تاثیر آلاینده‌های محیطی قرار می‌گیرد (Ferguson, ۱۹۸۹).

آبشش‌ها اندامی چندمنظوره هستند، این اندام‌ها علاوه بر عملکرد تنفسی در بسیاری از عملکردهای تنظیمی بدن نظیر تنظیم اسمزی، دفع مواد زائد نیتروژنی و نیز در تنظیم تعادل اسیدی-بازی بدن نقش دارند.

اپیتلیوم آبشش‌ها به سرعت نسبت به عوامل مختلف مختل‌کننده تعادل محیط اطرافشان پاسخ می‌دهند و دچار تغییرات مختلف فیزیولوژیک و یا مورفولوژیک می‌شوند، چنین پاسخ‌هایی عمدتاً عملکردهایی دفاعی در برابر آلودگی‌ها به شمار می‌روند.

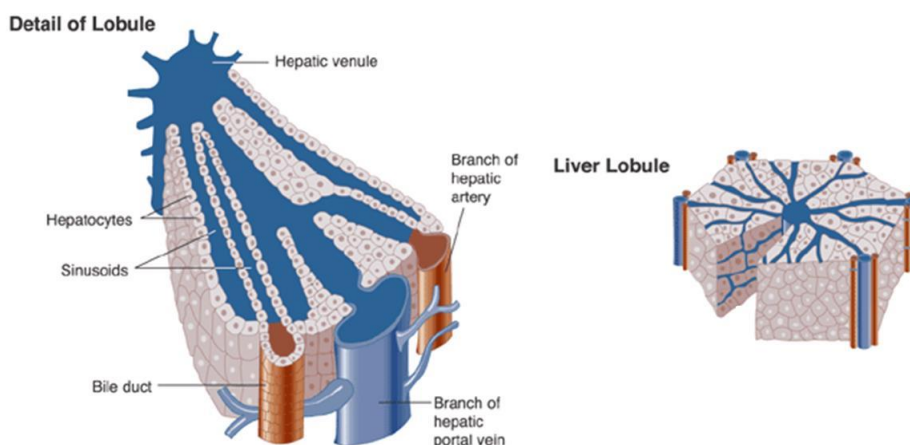
اپیتلیوم آبشش‌ها جایگاه تبادل گازها، تنظیم یونی، حفظ تعادل اسیدی-بازی و نیز دفع مواد زائد نیتروژنی است. سه پروسه آخر توسط انتقال فعال یا غیر فعال بسیاری از محلول‌ها از خلال غشای پلاسمایی کنترل می‌شوند. آلاینده‌های مختلف محیطی (مانند فلزات سنگین، باران‌های اسیدی و...) سبب ایجاد تغییر در مورفولوژی اپیتلیوم آبششی می‌شوند، سطوح یونی پلاسما، فعالیت  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase و تبادلات یونی آبششی نیز در پی این تغییر دستخوش تغییر می‌گردند (Evans, ۱۹۸۷).

سیستم تنفسی سطح گسترده‌ای میان ماهی و آب پیرامونی ایجاد می‌کند که مشخصاً اولین جایی است که توسط آلاینده‌ها مورد تهاجم قرار می‌گیرد. به دلیل فعالیت‌های مهمی که آبشش‌ها انجام می‌دهند مانند تنفس، تنظیم اسید و باز، دفع و تنظیم اسمزی، این اندامها یکی از بهترین شاخص‌های سلامت و کیفیت آب به شمار می‌روند (Lewis و Kirk, ۱۹۹۳). در مواجهه با آلاینده‌های مختلف آسیب‌های بافتی مانند هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول‌های سنگفرشی، فیوزن و چسبندگی لاملاها، هایپرپلازی سلول‌های موکوسی در بافت آبشش گزارش شده است (ناجی و همکاران، ۱۳۸۶؛ گروبی و همکاران، ۱۳۸۷؛ Khoshnood و همکاران، ۲۰۱۱).

از سوی دیگر، بافت دستگاه گوارش نیز همانند آبشش‌ها به گونه‌ی دیگری با آب پیرامون ماهی در ارتباط است چرا که در هنگام تغذیه همواره مقداری از آب نیز وارد دستگاه گوارش می‌گردد و از سوی دیگر در مواقعی ماهی مستقیماً از آب پیرامون می‌نوشد، به همین دلیل بسیاری از آلاینده‌های محیطی می‌توانند مستقیماً بر سلول‌های اپیتلیومی این دستگاه و در مواقعی به بافت‌های زیرین آن آسیب برسانند. برای مثال

مواجهه ی ماهیان با علف کش آلمیکس، فلزات سنگین آرسنیک، سرب، کادمیوم، و علف کش گلایفوزات، موجب ایجاد آسیب های بافتی نظیر تخریب بخش راسی سلول های اپی تلیالی سنگفرشی مطبق دهان، حلق و مری، برهم خوردن نظم سلول های اپی تلیال استوانه ای، ترشح بسیار زیاد موکوس از سلول های موکوسی، و نکروز در چین های روده ای در دستگاه گوارش می گردد (Senapati و همکاران، ۲۰۱۲؛ Ghosh و Chakrabarty، ۲۰۰۱؛ Bose، ۲۰۰۵؛ Senapati و همکاران، ۲۰۰۹).

کبد بزرگترین غده ی ضمیمه ی دستگاه گوارش به شمار رفته و وظایف مختلفی بر عهده ی آن می باشد که مهمترین آنها عبارتند از: سنتز و ترشح صفرا، خنثی کردن سموم، خنثی کردن فضولات باقیمانده از مواد متابولیک، برداشتن گلبول های قرمز فرسوده از خون، سنتز برخی از پروتئین های پلاسما و ...، سلول های کبدی یا هپاتوسیت ها (Hepatic cell=Hepatocyte)، سلول هایی درشت و چندسطحی هستند که یک یا دو هسته ی مدور واضح در وسط دارند، اندازه ی برخی از سلول های کبدی ممکن است خیلی بزرگتر از هپاتوسیت های دیگر بوده و هسته ی کاملاً درشتی داشته باشند. بطور کلی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوژین، سیتوپلاسم هپاتوسیت ها دانه دار است. این منظره به علت وجود میتوکندری های زیاد و شبکه ی اندوپلاسمی می باشد. در فاصله ی بین صفحات سلول های کبدی، شکاف های واضحی با منظره ی شعاعی دیده می شود که به سینوزوئید موسوم اند، سینوزوئیدها مویرگ های مخصوص پیچ و خم داری هستند که از مرکز لوبول های کبدی تا ورید مرکز لوبولی در جهت شعاعی قرار گرفته اند. بافت کبد یکی از مهمترین بافت های دخیل در فرآیند سمیت زدایی محسوب می شود، این بافت محل اصلی فرآیندهای سمیت زدایی در مورد آلاینده های مختلف به شمار می رود. این در حالی است که بسیاری از سموم و آلاینده ها می توانند خود منجر به ایجاد آسیب بافتی در بافت کبد گردند که از این منظر آسیب هایی نظیر سرکوب فعالیت آنزیم هم-اکسیژناز کبدی، کاهش ذخیره ی گلیکوژنی کبد، تجمع ذرات لیپیدی در کبد، دژنراسانس بافت چربی، پرخونی، خونریزی، نکروز بافت کبدی، هجوم لنفوسیتها، تورم کپسول کبدی، ادم هپاتوسیت ها، در مواجهه ی ماهی ها با آترازین، مس، آمونیاک، سوین، آلاینده های نفتی و جیوه در بافت کبد مشاهده شده است (شاپوری و همکاران، ۱۳۸۸؛ ناجی و همکاران، ۱۳۸۸).

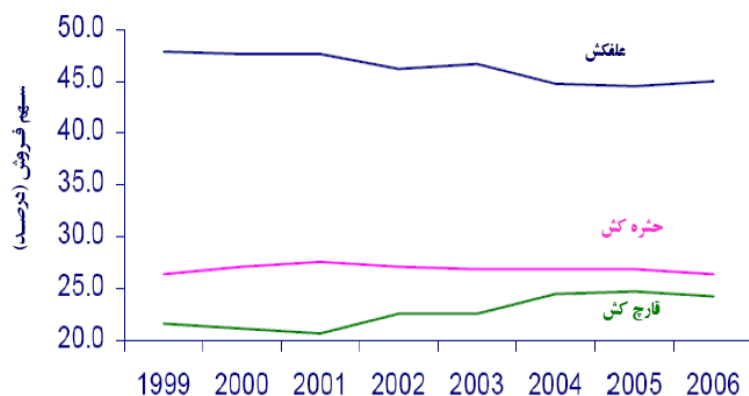


**تصویر ۱-۷. ساختمان عمومی بافت کبد.** هپاتوسیت های کبدی در اصراف مویرگ های ویژه ی کبدی که سینوزوئید نامیده می شوند چیده شده اند.

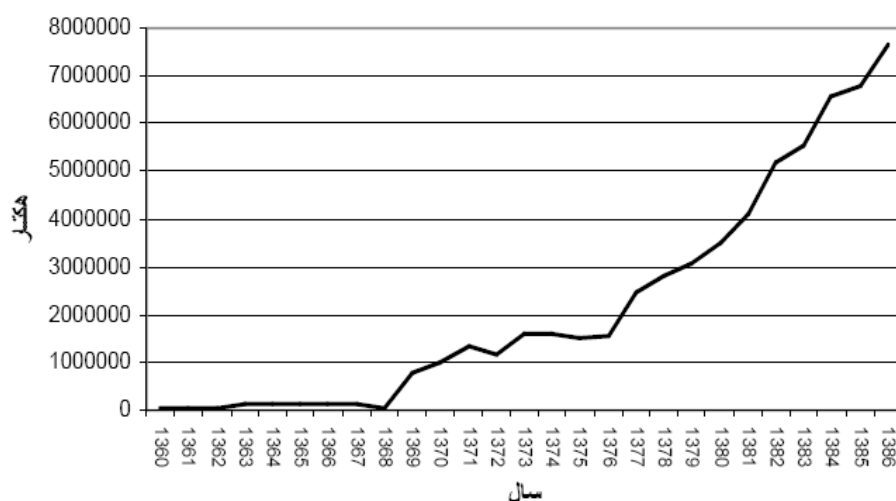
کلیه و سیستم دفع مواد زائد نیز یکی از مهمترین بخش های بدن در زمینه ی حفظ وضعیت هموستاتیک بدن (از نظر آب و مواد معدنی، یون ها، سموم و ...) به شمار می رود. کلیه در ماهیان تلوست اندامی متشکل از بافت های هماتوپویتیک، فاگوسیتیک، اندوکرین و عوامل ترشحی است. بخش ترشحی کلیه متشکل از لوله ها و مجاری کلیوی است که در هر بخشی سلول های مخصوصی دیده می شود که در ترشح و بازجذب مواد مختلف نقش دارند. این سلول ها تحت تاثیر سموم و آلاینده های مختلف دستخوش تغییر و آسیب می شوند، به همین دلیل مطالعه ی بافت کلیوی در بررسی آسیب های ناشی از آلاینده های محیطی نقش بسزایی ایفا می کند. به بیانی دیگر این باور وجود دارد که کلیه ها اندیکاتورهای حساسی نسبت به آلاینده های محیطی به شمار می روند زیرا به عنوان یکی از اصلی ترین اندام های تنظیم اسمزی و سیستم ایمنی بدن در ماهی ها به شمار می روند. به عنوان مثال، چروکیدگی در گلومرول، افزایش فضای کپسول بومن، تخریب بافتی توبول های پروکسیمال کلیه و ... از مواردی است که در مواجهه ی ماهیان با آلاینده های مختلف گزارش شده است (رستمی بشمن و همکاران، ۱۳۷۹).

### ۱-۵-۷ مصرف سموم و آفت کش ها در ایران

علیرغم مشکلات زیست محیطی متعددی که تاکنون برای علف کش ها ذکر شده است، این ترکیبات هنوز هم به عنوان یکی از اجزای مهم مدیریت علف های هرز در جهان مورد استفاده قرار می گیرند. در طی سالهای گذشته همواره سهم فروش علف کش ها از کل سموم آفت کش (Pesticide)، شامل علف کش ها (Herbicides)، حشره کش ها (Insecticides) و قارچ کش ها (Fungicides)، فروخته شده در دنیا بیشتر بوده است (زند و همکاران، ۱۳۸۲) (نمودار ۱-۱). امروزه علف کش ها یکی از بخش های مهم و ضروری در سیستم های کشت کشورهای پیشرفته محسوب شده و بخش قابل توجهی از عملکرد محصولات زراعی این کشورها مرهون مصرف علف کش است. در کشور ما نیز به منظور افزایش بهره وری زمین های کشاورزی و افزایش محصولات زمین های زراعی و باغات، مصرف علف کش های شیمیایی هر ساله افزایش یافته است (زند و همکاران، ۱۳۸۸) (نمودار ۱-۲).



نمودار ۱-۱. وضعیت فروش آفت کش های مختلف در جهان. سهم جهانی فروش علف کش ها، حشره کش ها و قارچ کش ها از کل سموم کشاورزی فروخته شده در فاصله ی سال های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۶.



نمودار ۱-۲. روند تغییرات سطح مبارزه شیمیایی با علف های هرز در ایران. نمودار نشان می دهد که مصرف سالانه ی علف کش های شیمیایی روندی افزایشی است.

محصول برنج با داشتن ۱۲۰۰۰۰۰ واریته شاید متنوع ترین محصول دنیاست و نیمی از شالیزارهای دنیا به روش آبی کشت می شوند که بیش از ۷۰٪ محصول را تولید می کنند و بیش از ۹۰٪ برنج روی ۱۴۵ میلیون هکتار اراضی آبی آسیا کشت می شود. فراهم بودن شرایط ویژه کشت محصول برنج در استان گیلان سبب شده تا بیش از نیمی از اراضی با مساحت ۲۳۸۰۰۰ هکتار بدان اختصاص یابد (زند و همکاران، ۱۳۸۸). از سویی افزایش تقاضا برای محصول به جهت افزایش جمعیت دست در خسارات ناشی از آفات و بیماریهای برنج نهاده، کشاورزان به سوی مصرف هر چه بیشتر سموم سوق می دهد. البته در این میان نباید سهم سیستم ویژه کشت محصول مورد نظر را فراموش کرد، به گونه ای که میزان استفاده از آفت کش ها در جهان برابر ۲۱۵ میلیون تن در سال با سرانه مصرف ۰/۴۵ کیلوگرم است و حدود ۸۵٪ از این مقدار در کشورهای در حال توسعه به مصرف می رسد (Miller، ۱۹۹۱).

از نظر میزان مصرف علف کش ها در ایران، استان گیلان رتبه ی نخست و استان سیستان و بلوچستان رتبه ی آخر را به خود اختصاص می دهند. مصرف علف کش ها در استان گیلان بر طبق برآوردهای انجام شده چندین برابر مصرف سرانه ی جهانی می باشد. چنین بی رویگی در مصرف و کاربری این سموم سبب شده تا فشار اجتناب ناپذیری بر اکوسیستم های آبی استان تحمیل گردد چرا که کلیه زهکش های مزارع به سیستم های طبیعی راه یافته، سموم مصرفی به ناچار حیات آبیان و سایر موجودات را تهدید می کند (زند و همکاران، ۱۳۸۸). گروه وسیعی از علف کش ها در ایران ثبت شده است که در کشت محصولات زراعی و باغی مختلف مورد استفاده قرار می گیرند که از جمله ی آنها می توان به موارد ذکر شده در جدول- اشاره کرد (زند و همکاران، ۱۳۸۸).

جدول ۱-۳. برخی علف کش های ثبت شده و پرمصرف در ایران.

نام عمومی	نام تجاری	خانواده شیمیایی
دیکلوفوپ- متیل	ایلوکسان	آریل اکسی فنوکسی پروپیونات (فوپ ها)
هالوکسی فوپ اتوکسی- اتیل	گالانت	
سیکلوسیدیم	فوکوس	سیکلوهاگزانییدیون (دیم ها)
ترالکوکسیدیم	گراسپ	
پینوکسادن	اکسیال	فنیل پیرازولین (دن ها)
نیکوسولفورون	کروز	سولفونیل اوره ها
فورام سولفورون	اکوئپ	
ایمازتاپیر	پرسوئیت	ایمیدازولیتون ها
تری فلورالین	ترفلان	دی نیتروآنیلین ها
کلرتال دی متیل	داکتال	بنزن دی کربوکسیلیک اسید
ام سی پی آ	آگروکسون	فنوکسی ها
آترازین	گزاپریم	تریازین ها
آترین	گزاپاکس	
سیانازین	بلادکس	
پاراکوآت	گراماکسون	بای پیریدیلیوم ها
آلاکلر	لاسو	کلرواستامیدها
بوتاکلر	ماچتی	
گلایفوزات	رونداپ	گلایسین

فصل دوم

# سابقه تحقیق

در زمینه بررسی اثرات سموم و آلاینده های مختلف محیطی بر آبزیان بویژه ماهیان، تاکنون مطالعات مختلفی در ایران و نیز سایر کشورهای مختلف دنیا صورت گرفته است، اما در زمینه بررسی اثرات علف کش آترازین بر آبزیان در ایران تاکنون هیچگونه مطالعه ای صورت نگرفته است، لذا در اینجا در بخش مربوط به مطالعات صورت گرفته در ایران تنها به ذکر مواردی که در زمینه ی سایر بخش های عملی این مطالعه کارهای مشابهی صورت داده اند اشاره می گردد:

## ۲-۱ تحقیقات صورت گرفته در ایران

غلامی و همکاران (۱۳۸۶) در مطالعه ای به بررسی اثرات فلزات سنگین مس و کادمیوم و شوینده ی LAS بر بچه ماهی ۱ گرمی ماهی سفید پرداخته و LC50 این آلاینده ها را برای این بچه ماهی تعیین نمودند. حسین زاده صحافی و همکاران (۱۳۸۷) به بررسی شاخص های شد و ضریب فاکتور بدنی بچه ماهی کپور هندی *Labeo rohita* پرداختند.

تقی زاده و همکاران (۱۳۸۵) انتوژنی بافت آبشش و کلیه را در تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus* مورد مطالعه قرار داد.

ضیایی و همکاران (۱۳۸۷) به بررسی انتوژنیک بافت کلیه در ماهی آزاد دزیای خزر *Salmo trutta caspia* پرداخت.

خوشنود و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی اثرات فلزات سنگین Ni و V بر بافت کبدی *Psettodes erumei* و *Euryglossa orientalis* پرداخته و نشان دادند که مواجهه با این فلزات موجب نکروز در بافت کبدی این ماهیان می گردد.

ناجی و همکاران (۱۳۸۶) در مطالعه ی اثرات سولفات روی بر بافت آبششی کپور معمولی نشان دادند که مواجهه با این آلاینده موجب هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول های پوششی آبشش، چسبندگی تیغه های آبششی و افزایش تعداد سلول های موکوسی می گردد.

## ۲-۲ تحقیقات صورت گرفته در خارج از ایران

### ۲-۲-۱- اندازه گیری میزان LC50 آترازین

میزان LC50 آترازین برای *Salmo gairdeneri* توسط Solomon و همکاران (۱۹۹۶) برابر با ۸۸۰۰ میکروگرم بر لیتر گزارش شده است.

مقادیر LC50 ۹۶ ساعته ی آترازین برای جنین و لاروهای قزل آلا بین ۰/۸۷ تا ۱/۱۱ میلی گرم در لیتر است و غلظت هایی به اندکی ۱۰ میکروگرم در لیتر می تواند موجب آسیب کلیوی در قزل آلا ی رنگین کمان مواجه شده بصورت مزمن با این ترکیب گردد (Olumi و همکاران، ۱۹۹۵).



برای *Tilapia mossambicus*، مقادیر LC50 ۹۶ ساعته ی آترازین ۸/۸ میلی گرم در لیتر می باشد، اثرات مواجهه ی مزمین با این ترکیب نیز در تیلاپیا با بکارگیری ۱/۸ این دوز صورت گرفته و آشفتهگی هایی در تعادل اسمزی ماهیان مواجهه شده مشاهده گردید (Reddy و Prasad، ۱۹۹۴).

در کپور معمولی، *Cyprinus carpio*، LC50 ۹۶ ساعته ی آترازین ۱۸/۸ میلی گرم در لیتر بدست آمده است (Neskovick و همکاران، ۱۹۹۳).

همچنین، LC50 ۹۶ ساعته ی آترازین برای *Rhamdia quelen* (۱۰/۲ میلی گرم در لیتر) مشابه مقادیر بدست آمده برای *T. mossambicus* بود؛ در هر حال، *Rhamdia quelen* در مقایسه با *C. carpio* نسبت به آترازین بسیار حساس تر بوده اما مقاوم تر از قزل آلی رنگین کمان می باشد (Neskovick و همکاران، ۱۹۹۳).

در مطالعه ی Ramesh و همکاران (۲۰۰۹) بر روی اثرات آترازین بر کپور معمولی *Cyprinus carpio*، میزان LC50 ۲۴ ساعته برای این ماهیان ۱۸/۵ ppm محاسبه گردید.

میزان LC50 آترازین برای صدف سخت *Mercenaria mercenaria* در مطالعه ی Lawton و همکاران (۲۰۰۶) برابر با ۵۶۰۸ میکروگرم بر لیتر محاسبه گردید.

در مطالعه ای که توسط Kreutz و همکاران (۲۰۰۸) صورت گرفته است، میزان LC50 آترازین برای گربه ماهی نقره ای *Rhamdia quelen*، ۱۰/۲ میلی گرم بر لیتر محاسبه گردید.

در مطالعه ی بررسی اثرات سمیت آترازین بر ماهی کوهوسالمون، *Oncorhynchus kisutch*، میزان LC50، ۱۸۰۰۰ میکروگرم بر لیتر محاسبه گردید (Lorz و همکاران، ۱۹۷۹).

میزان LC50 آترازین برای ماهیان جوان بروک، *Salvelinus fontinalis*، ۶۳۰۰ میکروگرم بر لیتر محاسبه شده است (Macek و همکاران، ۱۹۷۶).

همچنین میزان LC50 آترازین برای ماهیان جوان *Pimephales promelas*، ۴۹۰۰ میکروگرم بر لیتر گزارش شده است (Jop، ۱۹۹۱).

در مطالعه ی Nwani و همکاران (۲۰۱۰) LC50 ۹۶ ساعته ی آترازین برای *Channa punctatus* برابر با ۴۲/۳۸۱ میلی گرم بر لیتر گزارش شده است.

## ۲-۲-۲- اثرات آترازین بر بافت آبششی

تغییرات مورفولوژیک مشخصی در اپی تلیوم آبششی بچه ماهیان *Oncorhynchus kisutch* در مواجهه با آترازین (۱۵ppm به مدت ۱۴۰ ساعت) مشاهده شده است که شامل نکروز، تخریب سلول های سنگفرشی، هایپرتروفی، هایپرپلازی و تلانژیکتازی (تورم رگها) می باشد (Evans، ۱۹۸۷).

آترازین موجب آسیب به اپیتلیوم آبشش ها در قزل آلی رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss* (Fisher-) Scherl و همکاران، (۱۹۹۱) و کپور معمولی، *Cyprinus carpio* (Neskovic و همکاران، ۱۹۹۳) می گردد.

Alazemi و همکاران (۱۹۹۶) آسیب آبشش را در ماهی *Gnathonemus petersii* در غلظت  $500 \mu\text{g/L}$  آترازین مشاهده کردند. در غلظت بیشتر، حدود  $5000 \mu\text{g/L}$  حفره های عمیقی در آبشش مشاهده گردید و به نظر می رسد که آترازین موجب تغییر شکل اپیتلیوم آبششی می گردد. نتایج نشان داد که آسیب ناشی از آترازین در آبشش ها موجب اختلال در عمل تنظیم یونی آنها می شود. همچنین آترازین موجب تخریب چین خوردگی های سطح سلول ها شده و نقش حفاظتی موکوس سطحی را مختل می کند و این امر به نوبه خود موجب اختلال در تبادل گازها می گردد. نتایج مشابهی نیز در مواجهه کپور معمولی با آترازین گزارش شده است (Alazemi و همکاران، ۱۹۹۶).

Nieves-Puigdoller و همکاران (۲۰۰۷) همچنین گزارش داده اند که یک کاهش غیر معنی دار در میزان فعالیت آبششی در ماهی آزاد اطلس پس از مواجهه ی ۲۱ روزه با آترازین مشاهده شده است. در مطالعه ی دیگری که توسط Paulino و همکاران (۲۰۱۲) صورت گرفته است و این محققین به بررسی اثرات آترازین بر *Prochilodus lineatus* پرداخته و نشان دادند که آترازین در این ماهی موجب افزایش در تعداد و اندازه ی یونوسیت های پوستی می گردد.

در بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک آترازین بر *Gobiocypris rarus* که توسط Yang و همکاران (۲۰۱۰) صورت گرفته است، تغییراتی از قبیل هایپرپلازی و نکروز سلول های اپیتلیال آبششی، خونریزی و پرخونی در تیغه های آبششی، و چسبندگی تیغه های آبششی مشاهده شده است.

در بررسی اثرات آترازین بر بافت آبششی *Labeo rohita* نشان داده شد که مواجهه با آترازین موجب ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیکی مانند جداشدگی اپی تلیوم تیغه های آبششی، هایپرپلازی سلول های اپی تلیال آبششی، جمع شدن و پیچ خوردگی تیغه های آبششی، تغییرات در سلول های یونوسیت مانند ایجاد هسته های پیکنوتیک، واکوئوله شدن سیتوپلاسم، و نیز دژنره شدن یونوسیت ها، سلول های سنگفرشی و سلول های پیلار می گردد (Jayachandran و Pugazhendy، ۲۰۰۹).

## ۲-۲-۳- اثرات آترازین بر بافت کلیه

در مطالعه ی Fisher-Scherl و همکاران (۱۹۹۱) گزارش شده است که متابولیسم آترازین در کلیه صورت گرفته و این ترکیب توسط آبشش ها از بدن دفع می گردد. این محققین گزارش کرده اند که آترازین سبب تجمع ضایعات سلولی در کیسول بومن، بدلیل تکثیر زیاد پودوسیت ها شده و فیلتراسیون گلومرولی را حتی در غلظت بسیار اندک ۵ میکروگرم در لیتر تحت تاثیر قرار می دهد.

گزارش شده است که آترازین موجب آسیب به اپیتلیوم توبول های کلیوی، در قزل آلابی رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss* (Fisher-Scherl و همکاران، ۱۹۹۱) و کپور معمولی، *Cyprinus carpio* (Neskovic و همکاران، ۱۹۹۳) می گردد.

در قزل آلالی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) دوز تحت کشنده آترازین ( $10-160 \mu\text{g/L}$ ) سبب گستره ای از تغییرات در توبول های کلیوی گردید، از جمله گسترش شبکه اندوپلاسمی صاف، میتوکندری ها و لیزوزوم های تغییر شکل یافته، تکثیر پراکسی زوم ها و به هم خوردن نظم دستگاه گلژی (Olumi و همکاران، ۱۹۹۵). در قزل آلالی رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* دوزهای تحت کشنده ی آترازین (در محدوده ی ۱۰ تا ۱۶۰ میکروگرم بر لیتر) سبب گستره ای از تغییرات در توبول های کلیوی، شامل تکثیر شبکه اندوپلاسمی صاف، میتوکندری ها و لیزوزوم های غیرطبیعی، تکثیر پراکسی زوم ها و برهم خوردن نظم طبیعی دستگاه گلژی می گردد (Fisher-Scherl و همکاران، ۱۹۹۱).

در بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک آترازین بر *Gobiocypris rarus* که توسط Yang و همکاران (۲۰۱۰) صورت گرفته است، تغییراتی مانند گشادشدن لومن توبول های کلیوی، دژنره شدن و نکروز در سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی، و افزایش فضای کپسول بومن مشاهده شده است.

در بررسی اثرات آترازین بر *Caquetaia kraussii* و *Colossoma macropomum* که توسط Segnini de Bravo و همکاران (۲۰۰۵) صورت گرفته است، نشان داده شده است که آترازین موجب تخریب غشای پلاسمایی و زوائد سلولی سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی، تغییرشکل میتوکندری ها، کاهش شبکه ی اندوپلاسمایی خشن، و افزایش وزیکول های اتوفاژی در این سلول ها می گردد.

در مطالعه ای که توسط Fischer-Scherl و همکاران، ۱۹۹۱ بر روی اثرات آترازین بر ماهیان جوان قزل آلالی رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss*، گزارش شده است که آترازین موجب تغییرات فراساختاری بر بافت کلیوی این ماهیان می گردد، و با ایجاد تخریب در توبول های کلیوی موجب افزایش دفع کلیوی سدیم، پتاسیم، کلر و پروتئین ها در این ماهی می گردد.

## ۲-۲-۴- اثرات آترازین بر بافت کبد

در مطالعه ی Hussein و همکاران (۲۰۱۱) بر روی اثرات آترازین بر بافت کبدی بلدرچین ژاپنی، *Coturnix japonica*، تخریب بصورت واکوئله شدن کبد در غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن آترازین که بصورت خوراکی که به مدت ۴۵ روز مصرف شده است گزارش شده است، علاوه بر این هایپرپلازی مجرای صفراوی نیز در این بلدرچین ها مشاهده شده است.

در مطالعه ی Zaya و همکاران (۲۰۱۰) بر روی اثرات آترازین بر لاروهای وزغ *Xenopus laevis* مواجه شده با غلظت های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر لیتر، هیچگونه تغییری در میزان ذخیره ی گلیکوژنی یا لیپیدی کبد و یا اثرات هیستوپاتولوژیکی برجای نمی گذارد.

در مطالعه ی دیگری، Curic و همکاران (۱۹۹۹) که به بررسی اثرات مواجهه ی دوهفته ای ماهی gilthead sea bream با ۲ میلی گرم بر کیلوگرم آترازین پرداختند، گزارش شده است که کاهش ذخیره ی گلیکوژنی کبد و افزایش لیپیدهای آن مشاهده شده است.

در مطالعه ی اثرات سمیت آترازین بر بافت کبدی، در موش های نژاد ویستار که دوزی خوراکی به میزان ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن آترازین را به مدت ۱۴ روز دریافت کرده بودند، میزان ذخیره ی گلیکوژنی کبد کاهش یافته و موش ها علائم اولیه ی سمیت را از خود نشان دادند. این پدیده به خاصیت سمی بودن آترازین برای سلول های کبدی برمی گردد که از فعالیت آنزیم های اصلی دخیل در فرآیند گلیکونئوژنز (مانند هگزوکیناز، گلیکوژن سنتاز و گلوکوکیناز) ممانعت به عمل می آورد (Gluszczak و همکاران، ۲۰۰۶)، چنین نتیجه گیری شده است که این امر می تواند به کاهش وزن بدن منتهی گردد (Severi-Aguiar و Silva-Zacarin، ۲۰۱۲).

تغییرات هیستوپاتولوژیکی نیز در بافت کبدی گورخرماهی، *Danio rario* مواجه شده با آترازین مشاهده شده است (Yuanxiang و همکاران، ۲۰۱۱).

در مطالعه ی Yang و همکاران (۲۰۱۰) هایپرتروفی هیپاتوسیت ها در تیمار مواجه شده با ۳۳۳ میکروگرم در لیتر آترازین در ماهیان *Grobicypris rarus*، مشاهده گردید.

در مطالعه ای Nwani و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کرده اند که مواجهه ی *Channa punctatus* با آترازین موجب استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسیده شدن لیپیدها در بافت کبدی می گردد.

## ۲-۲-۵- اثرات آترازین بر ترکیب یونی، هورمونی و خونی بدن

Gluth و Hanke (۱۹۸۵) بیان کردند که مواجهه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با ۱۰۰  $\mu\text{g/L}$  آترازین سبب افزایش گلوکز و کورتیزول پلاسما و کاهش غلظت پروتئین ها و کلسترول خون و نیز کاهش گلیکوژن کبدی و عضله ای می گردد.

گزارش شده است که آترازین موجب افزایش دفع کلیوی سدیم، کلر و پروتئین ها در قزل آلاهی رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss* (Fisher-Scherl و همکاران، ۱۹۹۱) و کپور معمولی، *Cyprinus carpio* (Neskovic و همکاران، ۱۹۹۳) می گردد.

مطالعات *in vitro* نشان داده است که آترازین ترشح هورمون کورتیزول که در تنظیم اسمزی و پاسخ های استرس نقش دارد را تحت تاثیر قرار می دهد (Bisson و Hontela، ۲۰۰۲).

مواجهه اسمولت های ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) در غلظت ۵  $\mu\text{g/L}$  و بیشتر، افزایش کورتیزول پلاسما و افزایش یونهای تک ظرفیتی مشاهده گردید. از سوی دیگر معرفی ماهیان مواجه شده با غلظت های ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۲/۷  $\mu\text{g/L}$  آترازین، به آب دریا سبب مرگ و میر در این ماهیان شد و ماهیان زنده مانده نیز علائم

شدیدی از استرس فیزیولوژیک مانند افزایش کورتیزول پلاسما، افزایش تیروکسین، افزایش اسمولاریته و افزایش غلظت یونهای تک ظرفیتی را نشان دادند (Moore و Waring، ۲۰۰۴). این محققین نشان دادند که مواجهه با آترازین پس از ۷ روز موجب کاهش تحمل شوری در ماهی آزاد اطلس می گردد.

اسمولت های آب شیرین ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) مواجهه شده با  $100 \mu\text{g/L}$  آترازین دچار کاهش یون های  $\text{Cl}^-$ ،  $\text{Mg}^{2+}$ ،  $\text{Na}^+$  و  $\text{Ca}^{2+}$  پلاسما و افزایش سطح کورتیزول شدند. این ماهیان پس از انتقال به آب شور دچار افزایش هماتوکریت، کورتیزول پلاسمایی و افزایش یون های  $\text{Cl}^-$ ،  $\text{Mg}^{2+}$ ،  $\text{Na}^+$  و  $\text{Ca}^{2+}$  و کاهش هورمون های  $\text{T}_3$  و  $\text{T}_4$  گردیدند. نتایج نشان داد که آترازین موجب اختلال در فرآیندهای تنظیم یونی، رشد و هورمونی در این ماهی می گردد (Nieves-Puigdoller و همکاران، ۲۰۰۷).

مطالعات Ventura و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که آترازین در غلظت های  $6/25$ ،  $12/5$  و  $25 \mu\text{g/L}$  موجب ایجاد ناهنجاری های متعدد در هسته های گلبول های قرمز خون و در DNA تیلایپیا (*Oreochromis niloticus*) می گردد.

آترازین موجب کاهش تستوسترون پلاسمایی، کاهش حس بویایی و کاهش تحمل شوری در نرهای بالغ ماهی آزاد اطلس می گردد (Moore و Waring، ۱۹۹۸؛ Moore و Waring، ۲۰۰۴).

همچنین Paulino و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی اثرات آترازین بر *Prochilodus lineatus* پرداخته و نشان دادند که آترازین موجب تغییر در اسمولاریته بدن و نیز غلظت یون های سدیم و کلر می شود. در مطالعه ی Matsumoto و همکاران (۲۰۱۰) بر روی اثرات آترازین بر اسمولت های ماهی آزاد آتلانتیک *Salmo salar*، نشان دادند که مواجهه حاد و کوتاه مدت با مقادیر محیطی آترازین اثری بر میزان غلظت یون های سدیم، پتاسیم، منیزیم و کلر نداشته است.

در مطالعه ی Ramesh و همکاران (۲۰۰۹) بر روی اثرات آترازین بر کپور معمولی *Cyprinus carpio*، مواجهه ی ۲۴ ساعته با غلظت  $18/5 \text{ ppm}$  از آترازین موجب کاهش میزان هموگلوبین، تعداد گلبول های قرمز، و میزان گلوکز و پروتئین پلاسمایی می گردد.

در مطالعه ی که توسط Prasad و Reddy (۱۹۹۴) صورت گرفته است، این محققین نشان دادند که آترازین موجب افزایش وزن بدن، افزایش سدیم و پتاسیم سرم و کاهش یون های کلسیم و منیزیم می گردد. مطالعه ی Nwani و همکاران (۲۰۱۰) بر روی اثرات آترازین بر *Channa punctatus*، نشان می دهد که مواجهه با آترازین موجب افزایش فعالیت آنزیم های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتیون ردوکتاز می گردد.

## ۲-۲-۶- اثرات آترازین بر آنزیم های بدن

Hanke و همکاران (۱۹۸۳) نشان دادند که مواجهه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در آب شیرین با  $100 \mu\text{g/L}$  آترازین سبب کاهش فعالیت آنزیم  $\text{Na}^+$ ،  $\text{K}^+$ -ATPase و اختلال در تنظیم اسمزی آن می شود.

مواجهه اسمولت های ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) با غلظت های ۲، ۵ و ۱۰  $\mu\text{g/L}$  آترازین در آب شیرین سبب کاهش فعالیت آنزیم  $\text{Na}^+, \text{K}^+\text{-ATPase}$  آبششی می گردد (Waring و Moore، ۲۰۰۴). مطالعات Moore و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد مواجهه اسمولت های ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) با غلظت  $0.5 \mu\text{g/L}$  آترازین سبب کاهش فعالیت آنزیم  $\text{Na}^+, \text{K}^+\text{-ATPase}$  آبششی می گردد. مواجهه قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با غلظت های ۲ و ۲۰۰  $\mu\text{g/Kg}$  آترازین نشان داد که آترازین متابولیسم کبدی را تحت تاثیر قرار داده و بر استروژن ها اثر داشته و موجب ایجاد استرس اکسیداتیو می شود (Salaberia و همکاران، ۲۰۰۹). مواجهه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با آترازین سبب کاهش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز مغزی و عضله ای می گردد (Xing و همکاران، ۲۰۱۰).

## ۲-۲-۷- اثرات آترازین بر رفتار، تولیدمثل و مراحل ابتدایی زندگی

در مطالعه ی Tillitt و همکاران (۲۰۱۰) نشان داده شده است که آترازین در غلظت های ۰/۵، ۵ و ۵۰ میکروگرم در لیتر موجب کاهش توانایی تولید تخم در fathead minnow می گردد. در همین مطالعه تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت گنادی این ماهیان نیز گزارش شده است. در مطالعه ی Suzawa و همکاران (۲۰۰۸) نشان داده شده است که آترازین موجب تشدید بیان ژن آروماتاز گنادی شده و بر تولیدمثل ماهیان تاثیر می گذارد، و موجب تغییر نسبت نرها به ماده ها می گردد. همچنین در مطالعه ی Moore و همکاران (۱۹۹۸) گزارش شده است که آترازین بر توانایی های تولیدمثلی ماهیان بالغ آزاد آتلانتیک تاثیر می گذارد. در گورخرماهی، *Danio rario*، مواجهه با آترازین در غلظت  $1/3$  میکروگرم بر لیتر موجب کاهش بازماندگی ماهیان جوان و افزایش نقص و نیز تورم در مراحل اولیه زندگی می گردد (Görge و Nagel، ۱۹۹۰). در مطالعه ی دیگری بر روی گورخرماهی نشان داده شده است که مواجهه با آترازین در غلظت  $0.4$  میلی گرم بر لیتر موجب اختلال در ارگانوژنز، کاهش حرکات و نقص عملکرد قلب و سیستم گردش خون می شود (Wiegand و همکاران، ۲۰۰۱).

مطالعات اخیر اثرات مواجهه ی آبی با آترازین و مالاتیون را بر رشد و رفتار لارو ماهی رد درام نشان می دهد (Alvarez و Fuiman، ۲۰۰۵، ۲۰۰۶). این مطالعه نشان داده است که مواجهه با دوزی برابر با غلظت محیطی و زیر حد کشنده ی آترازین (۴۰-۸۰ میکروگرم بر لیتر)، که در رواناب های پس از توفان دیده می شود می تواند سبب کاهش نرخ رشد، افزایش سرعت شنا، شنا در مسیرهای مارپیچی و نیز افزایش تحرکات لاروها نسبت به گروه شاهد گردد (Fuiman و Alvarez، ۲۰۰۵). این تغییرات در رفتار همچنین موجب دو برابر شدن نرخ کلی

متابولیسم در لاروهای مواجه شده با آترازین می گردد. Alvarez و Fuiman (۲۰۰۵) پیشنهاد داده اند که این امر می تواند سبب افزایش مرگ و میر شده و منجر به کاهش حدود ۲۴٪ در جمعیت ماهیان جوان گردد. مواجهه بچه ماهیان brook trout، *Salvelinus fantinalis* با ۱۲۰  $\mu\text{g/L}$  آترازین موجب کاهش نرخ رشد این ماهیان گردید (Dewey، ۱۹۸۶).

در گورخر ماهی، *Danio rerio*، آترازین با غلظت ۱/۳  $\mu\text{g/L}$  موجب کاهش بازماندگی ماهیان جوان و افزایش نقص و نیز تورم در مراحل اولیه زندگی می گردد (Gorge و همکاران، ۱۹۹۰).

مطالعات Hussein و همکاران (۱۹۹۶) نشان داد که آترازین اثرات سمی مشخصی بر رشد و تولیدمثل گربه ماهی دارد.

مطالعات Weigand و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد که آترازین می تواند اثرات مشخصی بر نمو لاروی ماهیان داشته باشد.

مواجهه لاروهای ۷ میلی متری ماهی *(Scienops ocellatus)* red drum با غلظت های ۴۰ و ۸۰  $\mu\text{g/L}$  آترازین به مدت ۴ روز سبب کاهش نرخ رشد، افزایش سرعت شنا، تغییر مسیرهای شنا و افزایش حرکات گردید (Alvarez و Fuiman، ۲۰۰۵).

مطالعات Steinberg و همکاران (۱۹۹۵) نشان داد که مواجهه با ۵  $\mu\text{g/L}$  آترازین سبب تغییر رفتار شنای گورخر ماهی (*Danio rerio*) می شود.

مواجهه لاروهای ماهی *(Scienops ocellatus)* red drum با آترازین (۴۰ و ۸۰  $\mu\text{g/L}$ ) موجب کاهش رشد وزنی و محتوای پروتئینی لاروها گردید (Fuiman و McCarthy، ۲۰۰۸).

مواجهه ی لارو قورباغه های *Rana pipiens* و *Rana sylvatica* و لارو وزغ *Bufo americanus* با آترازین (Allran و Korosov، ۲۰۰۱) هیچ اثری بر رشد و بقای لاروها نداشته اما موجب اختلال در تنفس و ایجاد اشکال غیرطبیعی در این لاروها می شود.

در مطالعه ای، Fortin و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که آترازین موجب کاهش فاکتور وضعیت در لاروهای *Fundulus heteroclitus* می گردد.

Matsumoto و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی اثرات آترازین بر اسمولت های ماهی آزاد آتلانتیک *Salmo salar*، نشان دادند که مواجهه حاد و کوتاه مدت با مقادیر محیطی آترازین اثری بر بازماندگی و وزن بدن ندارد.

در مطالعه ی McCarthy و Fuiman (۲۰۰۸) بر روی اثرات آترازین بر *Sciaenops ocellatus*، مواجهه با آترازین بر میزان طول بدن ماهی ها بی اثر بوده ولی موجب کاهش وزن و محتوای پروتئینی بدن شده است.

در مطالعه ی اثرات آترازین بر لارو قورباغه ی چنگال دار آفریقایی، *Xenopus laevis* (Sullivan و Spence، ۲۰۰۳) نشان داده شده است که آترازین موجب کاهش وزن در زمان متامورفوز می گردد.

در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۴ توسط Spanó و همکاران بر روی اثرات آتزازین بر روی ماهی *Carassius auratus* صورت گرفته است نشان داده شده است که آتزازین بر سیستم هورمونی تولیدمثلی این ماهی اثر گذاشته و موجب آسیب های هیستوپاتولوژیک به بافت های گنادی در ماهیان نر و ماده می گردد.

## ۲-۸- سایر مطالعات

آتزازین موجب آسیب به اپیتلیوم آبششی (Alzemi و همکاران، ۱۹۹۶)؛ اختلالات فیزیولوژیک، شامل اختلالات تنظیم اسمزی، افزایش تنفس، کاهش واکنشها و ممانعت از فعالیت استیل کولین استراز در سرم خون و مغز (Hanke و همکاران، ۱۹۸۳؛ Gluth و Hanke، ۱۹۸۵؛ Hussein و همکاران، ۱۹۹۶)؛ نکروز سلول های اندوتلیال کلیوی و بافت هماتوپوئیک کلیوی، افزایش دفع کلیوی سدیم، پتاسیم، کلر و پروتئین ها (SantaMaria و همکاران، ۱۹۸۶؛ Fischer-Scherl و همکاران، ۱۹۹۱) می گردد. آتزازین همچنین می تواند در غلظت محیطی خود (۵ میکروگرم در لیتر)، رفتار گورخرماهی را تغییر دهد (و همکاران، ۱۹۹۵).

اثرات آتزازین بر گیاهان آبی و تولید اولیه بخوبی بررسی شده است (EPA، ۲۰۰۳). بیشتر مطالعات جانوری نیز متمرکز بر اثرات آتزازین بر بی مهرگان آب شیرین، ماهیان و دوزیستان آب شیرین می باشد (Gruessner و Watkin، ۱۹۹۶؛ Moore و Waring، ۱۹۹۸؛ Graymore و همکاران، ۲۰۰۱؛ EPA، ۲۰۰۳؛ Moore و همکاران، ۲۰۰۳؛ Rohr و Grumrine، ۲۰۰۵؛ Hayes و همکاران، ۲۰۰۶). مطالعات اندکی نیز اثرات آتزازین را بر ماهیان دریایی بررسی کرده اند (EPA، ۲۰۰۳؛ Marchand و همکاران، ۲۰۰۶) و تنها یک مطالعه بر اثرات آتزازین بر مراحل ابتدای زندگی ماهیان دریایی صورت گرفته است (Alvarez و Fuiman، ۲۰۰۵).

در مطالعه ای که توسط Poleksic و همکاران (۱۹۹۷) صورت گرفته است، این محققین نشان دادند که آتزازین موجب ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک در آبشش، کبد و کلیه ی کپور معمولی، *Cyprinus carpio*، می گردد. گزارش شده است که آتزازین موجب ایجاد آسیب به اپیتلیوم آبششی و کلیوی شده و موجب افزایش دفع کلیوی سدیم، کلر و پروتئین ها در قزل آلی رنگین کمان (Fisher-Scherl و همکاران، ۱۹۹۱) و کپور (Neskovic و همکاران، ۱۹۹۳) می گردد.

تجمع زیستی آتزازین در تیلایا، *Tilapia sparrmanii*، بویژه در تخمدان ها (۵۰ میکروگرم بر گرم پس از ۷۲ ساعت مواجهه با ۱۶ میلی گرم بر لیتر آتزازین)، و در کبد (۴۰ میکروگرم بر گرم پس از ۷۲ ساعت مواجهه با ۱۶ میلی گرم بر لیتر آتزازین) گزارش شده است (du Preez و van Vuren، ۱۹۹۲).

در سالهای اخیر کاهش جمعیت های دوزیستان در آمریکای شمالی را به میزان غلظت محیطی آتزازین ارتباط می دهند، هر چند که این امر هنوز با قطعیت تمام اثبات نشده است (Allran و Korosov، ۲۰۰۱).



مطالعات نشان داده است که نوزادان *Xenopus laevis* مواجه شده با تنها ۲۱ میکروگرم بر لیتر آترازین در طی دوران تمایز جنسی، سبب نمو زودرس بیضه ها می گردد. این دوز در مطالعات قبلی به عنوان دوزی از آترازین که فاقد اثرات محیطی است گزارش شده بود (Freeman و Rayburn, ۲۰۰۵).

در مطالعات اخیری که توسط Zaya و همکاران (۲۰۱۱) صورت گرفته است، نشان داده شده است که آترازین می تواند سبب القای هرمافرودیتیسیم و کاهش حجم عضلانی *Xenopus laevis* گردد (در مواجهه با دوز ۰/۰۱ ppb-). در مقابل این نتایج، مطالعات دیگری، اثرات بسیار ناچیز این دوز بر همین گونه را نشان می دهد. کمتر از ۵٪ جمعیت مواجه شده با غلظت ۲۵ میکروگرم بر لیتر آترازین در طی حساس ترین مرحله ی نمو جنسی، حالت هرمافرودیتیسیم را از خود نشان داده اند.

فصل سوم

# مواد و روش ها

### ۳-۱- ماهی ها

لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در فروردین ماه ۱۳۹۰ از مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان شهید انصاری رشت و بچه ماهیان سن رهاسازی ماهی سفید در تیرماه ۱۳۹۰ از این مجتمع تهیه و در مطالعه ی حاضر مورد استفاده قرار گرفتند.

### ۳-۲- تعیین غلظت LC50 آترازین

#### ۳-۲-۱- تعیین غلظت LC50 برای لارو ماهی سفید

جهت تعیین میزان LC50 در لارو ماهی سفید، غلظت های مختلفی از آترازین (WP 80%، ساخت شرکت Hangzhou Ruijiang Chemical، ساخت کشور چین) بصورت آزمایش اولیه تهیه شد، این غلظت ها شامل غلظت های ۱، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm بودند که پس از ۲۴ ساعت غلظت هایی که ۱۰۰٪ دچار مرگ و میر شده بودند حذف گردیده و غلظت های جدید جایگزین آنها گردید. در هر مورد ۳ تکرار از هر غلظت تهیه گردید. غلظت ها در ظروف پلاستیکی ۵۰۰ میلی لیتری تهیه شد و در هر ظرف ۳۰ لارو قرار گرفت و در تمام مدت آزمایش ظروف از هوادهی یکسانی برخوردار بودند، میزان مرگ و میر لاروها در هر غلظت بصورت روزانه مورد شمارش قرار گرفت. باتوجه به غلظت های اولیه، غلظت های ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲ و ۲۳ ppm تهیه و به مدت ۹۶ ساعت مورد آزمایش قرار گرفتند و میزان مرگ و میر روزانه ی آنها ثبت گردید. در نهایت LC50 ۹۶ ساعته ی آترازین برای لارو ماهی سفید با استفاده از نرم افزار Probit 1.5 محاسبه گردید. سپس با توجه به غلظت محاسبه شده، ۳ غلظت آزمایشی تحت کشنده، بصورت  $1/2 LC50$ ،  $1/4 LC50$  و  $1/8 LC50$  جهت بررسی اثرات آترازین طی ۷ روز محاسبه گردید (Finney, ۱۹۷۱).

#### ۳-۲-۲- تعیین غلظت LC50 برای بچه ماهی سفید

جهت تعیین میزان LC50 در بچه ماهی سفید، غلظت های مختلفی از آترازین بصورت آزمایش اولیه تهیه شد، این غلظت ها شامل غلظت های ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm بودند که پس از ۲۴ ساعت غلظت هایی که ۱۰۰٪ دچار مرگ و میر شده بودند حذف گردیده و غلظت های جدید جایگزین آنها گردید. در هر مورد ۳ تکرار از هر غلظت تهیه گردید. غلظت ها در ظروف پلاستیکی ۶ لیتری تهیه شد و در هر ظرف ۱۰ بچه ماهی قرار گرفت و در تمام مدت آزمایش ظروف از هوادهی یکسانی برخوردار بودند، میزان مرگ و میر لاروها در هر غلظت بصورت روزانه مورد شمارش قرار گرفت. با توجه به غلظت های اولیه، غلظت های ۲۰، ۲۲، ۲۴، ۲۶، ۲۸ و ۳۰ ppm تهیه و به مدت ۹۶ ساعت مورد آزمایش قرار گرفتند و میزان مرگ و میر روزانه ی آنها ثبت گردید. در نهایت LC50 ۹۶ ساعته ی آترازین برای بچه ماهی سفید با استفاده از نرم افزار Probit 1.5 محاسبه گردید. سپس با توجه به غلظت محاسبه شده، ۱ غلظت آزمایشی تحت کشنده، بصورت  $1/2 LC50$  جهت بررسی اثرات آترازین طی ۴ روز محاسبه گردید (Finney, ۱۹۷۱).

### ۳-۳- بررسی اثرات آتزازین

#### ۳-۳-۱- بررسی اثرات آتزازین بر لارو

جهت بررسی اثرات غلظت های تحت کشنده (Sublethal) آتزازین بر لارو ماهی سفید دریای خزر، با توجه به نتایج بخش LC50، ۳ غلظت تهیه گردید، و یک گروه نیز به عنوان تیمار شاهد قرار گرفت. از هر غلظت ۳ تکرار تهیه شد، لاروها در ظروف پلاستیکی ۶ لیتری قرار گرفتند و در هر ظرف حدودا ۸۰۰ لارو قرار داده شد، کلیه ی ظروف از هوادهی یکسانی برخوردار بودند، تمامی ظروف حاوی لاروهای مورد آزمایش جهت یکسان بودن دما در یک ونیروی بزرگ فایبرگلاس حاوی مقداری آب قرار داده شده بودند. اندازه گیری فاکتورهای آب در طول مدت آزمایش، با استفاده از دستگاه پارامتر سنج پرتابل (Eutech instruments, pcd650) صورت گرفت. نمونه برداری در ۴ روز اول بصورت هر ۶ ساعت یکبار صورت گرفت و نمونه ها جهت مطالعات بعدی در محلول بوئن، گلوآرآلدئید، و نیتروژن مایع فیکس گردیدند. نمونه برداری در ۳ روز آخر بصورت هر ۲۴ ساعت یکبار انجام گردید.



تصویر ۳-۱- بررسی اثرات غلظت های تحت کشنده ی آتزازین بر لارو ماهی سفید. جهت بررسی اثرات آتزازین، لارو ماهی سفید در مواجهه با ۳ غلظت تحت کشنده قرار گرفت، یک گروه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد، از هر گروه ۳ تکرار تهیه گردید. به منظور اطمینان از یکسان بودن دمای آب در تمامی گروه های آزمایشی، این ظروف در یک ونیروی بزرگ حاوی مقداری آب قرار داده شدند.

#### ۳-۳-۲- بررسی اثرات آتزازین بر بچه ماهی

جهت بررسی اثرات غلظت های تحت کشنده (Sublethal) آتزازین بر بچه ماهی سفید دریای خزر، باتوجه به نتایج بخش LC50 ۱ غلظت تهیه گردید، و یک گروه نیز به عنوان تیمار شاهد قرار گرفت. از هر غلظت ۳ تکرار تهیه شد، بچه ماهی ها در آکواریوم های ۳۰ لیتری قرار گرفتند و در هر آکواریوم حدودا ۵۰ بچه ماهی قرار داده شد، کلیه ی آکواریوم ها از هوادهی یکسانی برخوردار بودند و اندازه گیری فاکتورهای آب در طول مدت آزمایش، با استفاده از دستگاه پارامتر سنج پرتابل (Eutech instruments, pcd650) صورت گرفت. نمونه برداری بصورت

۲۴ ساعته از بچه ماهی ها صورت گرفت و نمونه ها در محلول بوئن، گلو تار آلدئید، اتانول ۷۰، و نیتروژن مایع فیکس گردیدند.



تصویر ۳-۲. بررسی اثرات غلظت تحت کشنده ی آتزازین بر بچه ماهی سفید. جهت بررسی اثرات آتزازین بر بچه ماهی سفید، یک غلظت تحت کشنده در نظر گرفته شد و بچه ماهیان در سه تکرار در مواجهه با این غلظت قرار داده شدند.

### ۳-۳-۳- مورفولوژی

به منظور بررسی ویژگی های مورفولوژیک لاروها و بچه ماهی ها و بررسی اثرات آتزازین بر این ویژگی ها، ابتدا نمونه ها در اتانول ۷۰ فیکس گردیدند. سپس با استفاده از استریومیکروسکوپ و دوربین ( Dino Digital Microscope) مورد مطالعه و عکس برداری قرار گرفتند. وزن نمونه ها به کمک ترازوی دیجیتال (-EJ, AND 300) با دقت ۰/۰۰۱ گرم مورد اندازه گیری قرار گرفت. اندازه گیری طول نمونه ها به کمک خط کش بیومتری انجام گردید.



تصویر ۳-۳. مطالعه مورفولوژیک لارو ماهی سفید. عکسبرداری از ویژگی های مورفولوژیک لارو ماهی سفید توسط دوربین پرتابل Dino Digital Microscope انجام گردید.



تصویر ۳-۴. مطالعه مورفولوژیک بچه ماهی سفید. عکسبرداری از ویژگی های مورفولوژیک بچه ماهی سفید توسط استریومیکروسکوپ Leica EZ4D مجهز به دوربین دیجیتال انجام گردید.

### ۳-۳-۴- بافت شناسی

نمونه های فیکس شده در محلول بوئن جهت خارج شدن رنگ زرد بوئن از بافت ها چندین بار توسط اتانول ۷۰ مورد شستشو قرار گرفتند و در نهایت طی روند زیر جهت انجام مطالعات بافت شناسی، توسط پارافین قالب گیری گردیدند:

۱. آبگیری: اتانول ۹۰٪ دوبار هر بار ۴ ساعت
۲. آبگیری: اتانول ۱۰۰٪ دوبار هر بار ۱ ساعت
۳. شفاف سازی: بوتانول، دوبار هر بار ۱۲ ساعت
۴. شفاف سازی: زایلن، ۳ ساعت
۵. پارافینه کردن: پارافین مایع در دمای ۵۶-۶۰ درجه ی سانتیگراد در آون سه بار هر بار ۲ ساعت و در نهایت ۱۲ ساعت پس از آن،
۶. قالب گیری توسط پارافین

سپس، از قالب های تهیه شده، به کمک میکروتوم (Leica RM2255)، برش های ۶ میکرومتری تهیه و بر روی لام های شیشه ای قرار داده شد. لام ها به روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H & E) بصورت زیر توسط دستگاه رنگ آمیزی (Microm) رنگ آمیزی شدند:

- زایلن: سه بار، هر بار ۲ دقیقه
- اتانول ۱۰۰٪: دوبار، هر بار ۲ دقیقه
- اتانول ۹۵٪: دوبار، هر بار ۲ دقیقه

هماتوکسیلین: ۱۵ دقیقه  
 شستشو با آب جاری: چند ثانیه  
 اسیدالکل: ۳-۱۰ بار غوطه وری سریع  
 شستشو با آب جاری: چند ثانیه  
 آب آمونیاک: ۳-۵ بار غوطه وری  
 شستشو با آب جاری: ۱۰-۲۰ دقیقه  
 ائوزین: ۱۵ ثانیه تا ۲ دقیقه  
 اتانول ۹۵٪: دوبار، هر بار ۲ دقیقه  
 اتانول ۱۰۰٪: دوبار، هر بار ۳ دقیقه  
 زایلن: دوبار، هر بار ۲ دقیقه

سپس لام ها بوسیله ی لامل و چسب انتالن (Merck) مونتاژ گردیده و به کمک میکروسکوپ نوری ( Nikon Olympus DP72 و DS-Fi1) مجهز به دوربین دیجیتال مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفتند ( Mortoja & Khodabandeh، ۱۹۶۷؛ و همکاران، ۲۰۰۸).



تصویر ۳-۵. روش انجام مطالعه بافت شناسی. از نمونه های بافتی به کمک پارافین قالب تهیه گردید، قالب ها توسط میکروتوم Leica RM2255 برش خورده و برش ها توسط دستگاه رنگ آمیزی Microm رنگ آمیزی گردیدند.



تصویر ۳-۶. عکسبرداری از نمونه های هیستولوژی. از لام های تهیه شده به روش هیستولوژی توسط میکروسکوپ نوری Nikon DS-Fi1 (چپ) و میکروسکوپ نوری Olympus DP72 (راست) مجهز به دوربین دیجیتال عکسبرداری گردید.

### ۳-۳-۵- مکان یابی آنزیم $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase به روش ایمونوهیستوشیمی

جهت مکان یابی آنزیم  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase به روش ایمونوهیستوشیمی، نمونه ها ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن فیکس گردیدند و پس از طی مراحل آبگیری، شفاف سازی و قالب گیری که در بخش هیستولوژی شرح داده شد، به کمک میکروتوم برش های ۶ میکرومتری از بافت ها تهیه و بر روی لام های شیشه ای مخصوص که قبلا آماده سازی شده بودند قرار داده شدند. آماده سازی این لام ها به روش زیر صورت گرفت: لام ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول حاوی ۹۰ میلی لیتر اتانول ۹۰٪ + ۱۰ میلی لیتر اسیدکلریدریک قرار داده شدند، پس از طی این مدت لامها با آب مقطر شستشو داده شده و سپس در دمای ۳۷° سانتی گراد در داخل آون به مدت ۲۴ ساعت خشک گردیدند و تا زمان استفاده در جعبه ی لام و به دور از هر گونه آلودگی نگهداری گردیدند.

به منظور انجام ایمونوهیستوشیمی ابتدا یکسری محلول ها به روش زیر تهیه گردید:

S<sub>1</sub>: تعداد ۳ قرص PBS بزرگ (Phosphate Buffer Saline) در ۱۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و pH را به ۷/۳ می رسانیم.

S<sub>2</sub>: از محلول S<sub>1</sub>، ۲۵۰ میلی لیتر برداشته و به آن ۲/۱۸ گرم NaCl اضافه و بخوبی حل می کنیم.

S<sub>3</sub>: ابتدا ۲ گرم شیرخشک (Regiler) را در ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و سپس ۱۵۰ میلی لیتر از محلول حاصل را با ۱۵۰ میلی لیتر از محلول S<sub>1</sub> مخلوط می کنیم.

S<sub>4</sub>: ۲ میلی لیتر از محلول S<sub>3</sub> را با ۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط می کنیم.

رقیق کردن و تهیه ی آنتی بادی ها به روش زیر انجام گرفت: از محلول اصلی آنتی بادی IgG $\alpha_5$  با غلظت ۲۹ میکرولیتر در میلی لیتر استفاده شد و از این منبع برای ۳۷ لام، ۱۴۸۰ میکرولیتر از آنتی بادی IgG $\alpha_5$  به اضافه ی ۲۲۲۰ میکرولیتر محلول S<sub>4</sub> رقیق سازی شده و به هر لام ۱۰۰ میکرولیتر از این محلول اضافه گردید. به



منظور تهیه و آماده سازی آنتی بادی دوم (FITC) برای ۴۰ لام، ۵۳ میکرولیتر از آنتی بادی FITC با ۳۹۴۷ میکرولیتر محلول S<sub>4</sub> رقیق شده و به همه ی لام ها اضافه گردید (هر لام ۱۰۰ میکرولیتر). در انجام ایمونوهیستوشیمی آنتی بادی اول به ۳ لام اضافه نگردید، اما آنتی بادی دوم به همه ی لام ها افزوده شد، این لام ها به عنوان شاهد منفی جهت مقایسه با لام های دیگر در نظر گرفته شدند. تمامی مراحل کار در جعبه ی مرطوب مخصوص صورت گرفت و از مرحله ی افزودن آنتی بادی دوم، لام ها در تاریکی مورد مطالعه قرار گرفتند.

ایمونوهیستوشیمی آنزیم Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase به روش زیر صورت گرفت:

(۱) زایلن: ۱۰ دقیقه

(۲) زایلن: ۵ دقیقه

(۳) اتانول ۱۰۰٪: ۵ دقیقه

(۴) اتانول ۹۵٪: ۵ دقیقه

(۵) اتانول ۹۰٪: ۵ دقیقه

(۶) اتانول ۷۰٪: ۵ دقیقه

(۷) اتانول ۵۰٪: ۵ دقیقه

(۸) S<sub>1</sub>: ۱۰ دقیقه

(۹) S<sub>2</sub>: ۱۰ دقیقه

(۱۰) S<sub>3</sub>: ۲۰ دقیقه

(۱۱) S<sub>1</sub>: ۱ دقیقه

(۱۲) آنتی بادی I (IgGα<sub>5</sub>): ۲ ساعت

(۱۳) S<sub>1</sub>: ۲ دقیقه

(۱۴) آنتی بادی II (FITC): ۱/۵ ساعت (در تاریکی)

(۱۵) S<sub>1</sub>: ۸ دقیقه

(۱۶) S<sub>1</sub>: ۵ دقیقه

(۱۷) مونتاز با چسب مخصوص ایمونوهیستوشیمی

پس از مونتاز، لام ها با میکروسکوپ نوری فلورسنت مورد مطالعه قرار گرفته و بوسیله ی دوربین DP72 Olympus از آنها عکسبرداری صورت گرفت (Khodabandeh و همکاران، ۲۰۰۸).



تصویر ۳-۷. روش انجام ایمونوهیستوشیمی. ظرف مرطوب مخصوص انجام ایمونوهیستوشیمی که در هنگام کار توسط پوشش تیره رنگی پوشیده شده و در تاریکی قرار می گیرد.

### ۳-۳-۶- شمارش و اندازه گیری یونوسیت های آبخشی

شمارش سلول های یونوسیت با استفاده از تصاویر تهیه شده از مطالعات ایمونوهیستوشیمی صورت گرفت. سلول های یونوسیت در هر گروه آزمایشی از ترانسکت های تصادفی با ابعاد  $161/89 \mu\text{m} \times 217/68$  بر روی برش طولی فیلامنت مورد شمارش قرار گرفتند (McCormick و Pelis، ۲۰۰۱). به منظور اندازه گیری ابعاد سلول های یونوسیت در هر گروه آزمایشی از ۷ ترانسکت تصادفی با ابعاد  $161/89 \mu\text{m} \times 217/68$  بر روی برش طولی فیلامنت سلول ها به صورت تصادفی مورد اندازه گیری قرار گرفتند (McCormick و Pelis، ۲۰۰۱). در هر سلول بیشترین ارتفاع به عنوان طول و بیشترین پهنا به عنوان عرض در نظر گرفته شد. میانگین هر گروه محاسبه و مورد مقایسه قرار گرفت. کلیه اندازه گیری ها توسط نرم افزار Image Tools (2.0) انجام شد (Varsamos، ۲۰۰۲).

### ۳-۳-۷- میکروسکوپ الکترونی

#### ۳-۳-۷-۱- میکروسکوپ الکترونی نگاره SEM

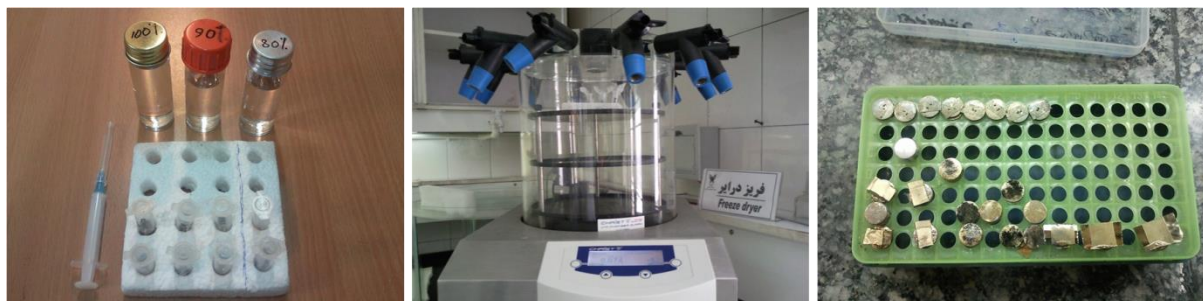
الف) فیکس:

جهت بررسی نمونه ها (لارو و بچه ماهی) به وسیله میکروسکوپ الکترونی، نمونه ها ابتدا به مدت ۱۲ ساعت در محلول حاوی ۵۰٪ گلوتارآلدهید + ۲/۵٪ PBS (فسفات بافر سالین) فیکس شدند. پس از گذشت ۱۲ الی ۲۴ ساعت، به محلول PBS منتقل گردیدند و در این مرحله، فیکس نمونه ها به پایان رسید.

ب) پست فیکس:

جهت پست فیکس (PostFix) نمونه ها پروتکل زیر مورد اجرا قرار گرفت:

۱. تهیه محلول رقیق شده ی تترااکسیداسمیوم: (۱۰ میلی لیتر تترااکسید اسمیوم ۲٪+ ۴۰ سی سی آب مقطر) + ۵۰ سی سی PBS: ۱۰۰ سی سی محلول نهایی
  ۲. محلول PBS ی که از قبل روی هر نمونه هست دور ریخته شده و به جای آن محلول فوق ریخته شد.
  ۳. بعد از ۱ ساعت با PBS شسته شد. (در طی این مدت بهتر است ظرفها تکان داده شوند)
  ۴. ۱ ساعت در PBS ماند.
  ۵. با آب مقطر چندبار شسته شد (چندتا ۱ ساعت)
  ۶. سپس به اتانول ۳۵٪ منتقل شد (۱ ساعت)
  ۷. اتانول ۵۰٪ (۱ ساعت)
  ۸. اتانول ۷۰٪ (در این مرحله تا زمان کار با میکروسکوپ) در یخچال نگهداری می گردد.
- (تمام این مراحل باید با ماسک و دستکش و در زیر هود انجام شود و مواد آغشته به تترااکسید نباید در فاضلاب ریخته شده یا با پوست و تنفس در ارتباط باشند).
- ج) آب گیری:
- به منظور آب گیری از نمونه ها، سری افزایشی اتانول (۸۰، ۹۰ و ۱۰۰) مورد استفاده قرار گرفت و نمونه ها در هرکدام از این الکل ها به مدت ۱ ساعت قرار داده شدند.
- د) خشک کردن:
- به دلیل اینکه در مرحله ی قبل از پوشش دادن نمونه ها بوسیله ی طلا، نمونه باید کاملاً عاری از هرگونه رطوبت باشد، بلافاصله پس از انجام آبگیری به کمک اتانول، نمونه ها به مدت ۲ ساعت به کمک دستگاه فریز درایر خشک گردیدند.
- ه) پوشش دادن نمونه ها (Coating)
- بلافاصله پس از خشک کردن نمونه ها توسط فریز درایر، نمونه ها به کمک نوارچسب کربن برروی پایه های سربی قرار داده شده و سپس توسط دستگاه Sputter coater Pelco SC-6 بوسیله ی فلز طلا پوشش داده شدند.
- و) مشاهده و عکسبرداری
- از نمونه ها بوسیله ی میکروسکوپ الکترونی نگاره KYKY-EM3200 مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفتند (Glauert، ۱۹۷۴؛ Khoshnood و همکاران، ۲۰۱۱).



تصویر ۳-۸. روش آماده سازی نمونه های میکروسکوپ الکترونی نگاره. جهت مطالعات میکروسکوپ الکترونی نگاره، نمونه ها فیکس و پس فیکس شده و سپس توسط سری افزایشی اتانول آبیگری شدند (چپ)، نمونه ها توسط دستگاه فریز درایر خشک شده (وسط) و سپس توسط طلا پوشش داده شدند (راست).



تصویر ۳-۹. پوشش نمونه های میکروسکوپ الکترونی توسط طلا. نمونه ها جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی نگاره توسط دستگاه Sputter coater Pelco SC-6 توسط طلا پوشش داده شدند.



تصویر ۳-۱۰. میکروسکوپ الکترونی نگاره.

### ۳-۳-۷-۲- میکروسکوپ الکترونی گذاره TEM

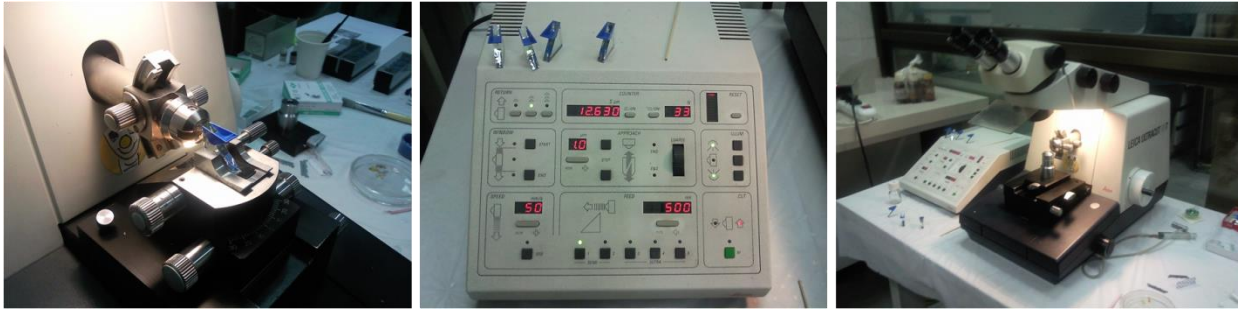
مراحل فیکس و پست فیکس نمونه ها جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی گذاره مشابه با مراحل انجام کار جهت میکروسکوپ الکترونی نگاره بوده اما پس از مرحله ی پست فیکس، آماده سازی نمونه ها به روش زیر ادامه یافت:

نمونه ها در سری افزایشی اتانول (۵۰٪، ۷۵٪، ۹۵٪ و ۱۰۰٪) آبگیری شده، با اکسید پروپیلن شستشو داده شده (۲ بار هر بار ۳۰ دقیقه) و سپس در محلول رزین- حلال (اکسید پروپیلن) به صورت زیر قرار داده شدند: ۱ حجم رزین+ ۱ حجم حلال (به مدت ۱ ساعت)، ۲ حجم رزین+ ۱ حجم حلال (به مدت ۳-۴ ساعت)، ۳ حجم رزین+ ۱ حجم حلال (به مدت ۱ شب).

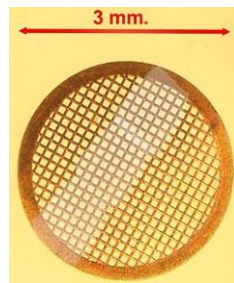
سپس نمونه ها در قالب های مخصوص توسط رزین قالب گیری شدند. پس از تهیه قالب ها، توسط اولترامیکروتوم (Leica Ultracut UCT) ابتدا برش های اولیه با ضخامت ۵۰۰ نانومتر تهیه، بلافاصله توسط بلودومتلین رنگ آمیزی شده و پس از اطمینان از حضور بافت مورد نظر در برش، برش های نهایی با ضخامت حدود ۵۰ نانومتر تهیه گردید. نمونه های برش خورده بر روی صفحات ظریف مسی به نام گرید قرار داده شده و در نهایت توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفتند (Glauert، ۱۹۷۴؛ Khoshnood و همکاران، ۲۰۱۱).



تصویر ۳-۱۱. قالب گیری نمونه های میکروسکوپ الکترونی گذاره. نمونه ها جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی گذاره توسط قالب های مخصوص و توسط ماده ی رزین قالب گیری شدند.



تصویر ۳-۱۲. برش نمونه های میکروسکوپ الکترونی. نمونه ها جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی گذاره توسط اولترامیکروتوم برش زده شدند.



تصویر ۳-۱۳. قرار دادن نمونه های میکروسکوپ الکترونی گذاره بر روی گرید. گرید، صفحه ی مشبک مسی و بسیار ظریفی است که نمونه های برش خورده جهت قرار گرفتن در میکروسکوپ بر روی این شبکه ها قرار می گیرند.



تصویر ۳-۱۴. میکروسکوپ الکترونی گذاره.

### ۳-۳-۸- اندازه گیری یون های بدن

جهت اندازه گیری میزان یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در بافت های بدن لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر، نمونه های مورد نظر در هنگام نمونه برداری در نیتروژن مایع فیکس شده و سپس به دمای  $20^{\circ}C$  منتقل گردیدند.

جهت اندازه گیری میزان یونهای  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  در بدن در بافت لارو و بچه ماهی، بافت ابتدا مورد اندازه گیری وزن قرار گرفته و سپس در کروزه (بوته ی چینی) به آن ۵ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ (Merck) اضافه گردید و نمونه ها تا هضم کامل در معرض حرارت ملایمی قرار داده شدند. سپس نمونه ها توسط دستگاه جذب اتمی (Flame atomic absorption spectrometry GBS Avanta PM) مورد اندازه گیری قرار گرفتند (MooPAM، ۱۹۸۹؛ Whiteside و Miner، ۱۹۸۴؛ Luczyńska و همکاران، ۲۰۰۹؛ Khoshnood، ۲۰۱۰). اندازه گیری میزان یون  $Cl^-$  در بافت های بدن لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر توسط دستگاه فلیم اسپکتروفتومتری (UV-Vis HACH DR 5000) اندازه گیری گردید (O'Brien، ۱۹۶۲؛ Metz و همکاران، ۲۰۰۳).

### ۳-۳-۹- مطالعات آماری

در مقایسه داده های مربوط به اندازه گیری طول و وزن لاروها و بچه ماهی ها، میزان فعالیت آنزیم  $Na^+$ ،  $K^+$  ATPase در لاروها و بچه ماهی ها و میزان غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$ ، ابتدا به منظور تعیین نرمال بودن داده ها از آزمون Shapiro-Wilk جهت تعیین همگن بودن واریانس ها از آزمون Leven و پس از آن در مورد داده های نرمال از آزمون Independent sample t-test و در مورد داده های غیر نرمال از آزمون Mann Whitney-U استفاده شد. در مقایسه داده های مربوط به شمارش سلول های یونوسیت به دلیل غیرپارامتریک بودن داده ها از آزمون مربع کای استفاده گردید. همچنین به منظور مقایسه مکان های حضور سلول های یونوسیت در یک گروه آزمایشی و گروه های دیگر ابتدا از آزمون همگنی واریانس Leven سپس به منظور تعیین اختلاف کلی بین میانگین ها از آزمون One-Way ANOVA و در نهایت جهت تعیین اختلاف میان تک تک داده ها در مورد گروههای با واریانس همگن از آنالیز Duncan و در مورد گروههای با واریانس ناهمگن از آزمون Dunnett  $t_3$  استفاده شد. کلیه آزمون ها با استفاده از نرم افزار SPSS (15.0) انجام گرفت.

فصل چہارم

# نتائج



بدلیل گستردگی داده ها و به منظور مطالعه ی آسان تر نتایج، نتایج مطالعه ی حاضر به شرح زیر ارائه شده اند:

**بخش اول: بافت شناسی و مطالعه ی انتوژنیک بافت های مختلف بدن لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر**

**بخش دوم: بررسی اثرات علف کش آنرازین بر لارو و بچه ماهی دریای خزر**

#### ۴-۱- بافت شناسی و مطالعه ی انتوژنیک بافت های مختلف بدن لارو و بچه ماهی سفید دریای

خزر

#### ۴-۱-۱- لارو ماهی سفید

#### ۴-۱-۱-۱- ویژگی های مورفولوژیک لارو ماهی سفید در تیمار شاهد

- روز اول

لاروها در نخستین روز بعد از تفریح (۱۰ روز پس از لقاح) مورد بررسی قرار گرفتند. طول کل در این روز  $6/27 \pm 0/09$  میلی متر بود. بدن شفاف بود و کیسه ی زرده بصورت یک قطره اشک کشیده بود. لاروها در بیشتر مدت، بر روی پهلوئی خود در کف مخزن باقی مانده، اما بصورت موردی به سوی سطح آب حرکت می کنند. باله ی سینه ای گرد و هلالی شکل است. باله ی دم ی گرد است. دهان قابل تشخیص اما شکاف آن بسته است. سرپوش آبششی و کمانهای آبششی قابل تشخیص هستند. بر روی بخش هایی از بدن از جمله بخش فوقانی سر، بخش جلویی کیسه ی زرده، بخش های جانبی بدن، در طول شکم، در طول بخش پشتی- فوقانی بدن، و باله ی دم ی ملانوفورهای نقطه ای شکل دیده می شوند. بر روی بخش جلویی کیسه ی زرده تعدادی ملانوفور ستاره ای شکل دیده می شود. باله ی پشتی و باله های شکمی و مخرجی و دم ی همگی به یکدیگر متصل بوده و بصورت نواری دورتادور بدن در نیمه ی انتهایی بدن دیده می شوند. میومرها به شکل خط شکسته و قابل تشخیص هستند. بر روی بخش فوقانی سر دو نوستریل دیده می شود.

- روز دوم

طول کل در روز دوم پس از تفریح برابر با  $6/59 \pm 0/05$  میلی متر بود. منفذ مخرج در بخش شکمی بدن واضح تر شده و فرورفتگی کوچکی در اتصال باله های شکمی و مخرجی بوجود آورده است. به نظر می رسد که تعداد ملانوفورهای شکمی و جانبی بدن افزایش یافته اند.

- روز سوم

طول کل در روز سوم پس از تفریح برابر با  $6/85 \pm 0/04$  بود. کیسه ی زرده کوچک شده و تنها بخش جلویی آن باقی مانده است. گشودگی دهان قابل تشخیص است. رشته های آبششی قابل تشخیص هستند.

- روز چهارم

طول کل در روز چهارم پس از تفریح برابر با  $7/11 \pm 0/03$  بود. کیسه ی زرده به کوچک شدن و باریک شدن ادامه می دهد.

- روز پنجم

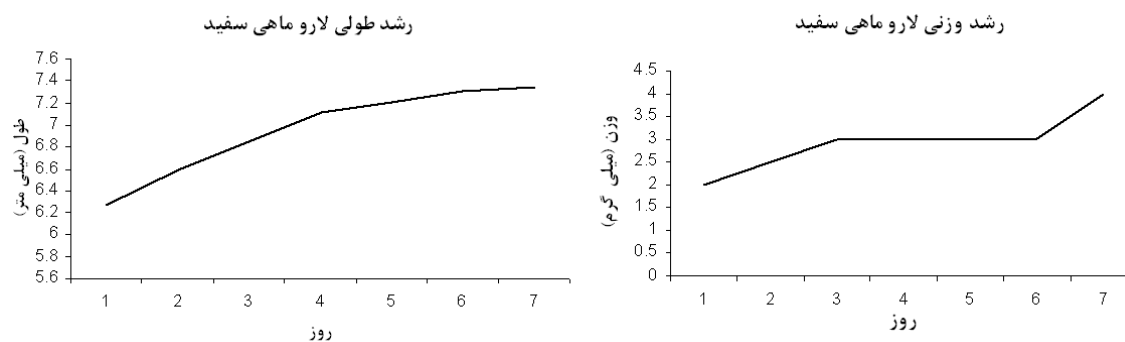
طول کل در روز پنجم پس از تفریح برابر با  $7/21 \pm 0/04$  بود. انتهای باله ی دم ی از حالت گرد به فرم خط راست نزدیک می شود.

- روز ششم

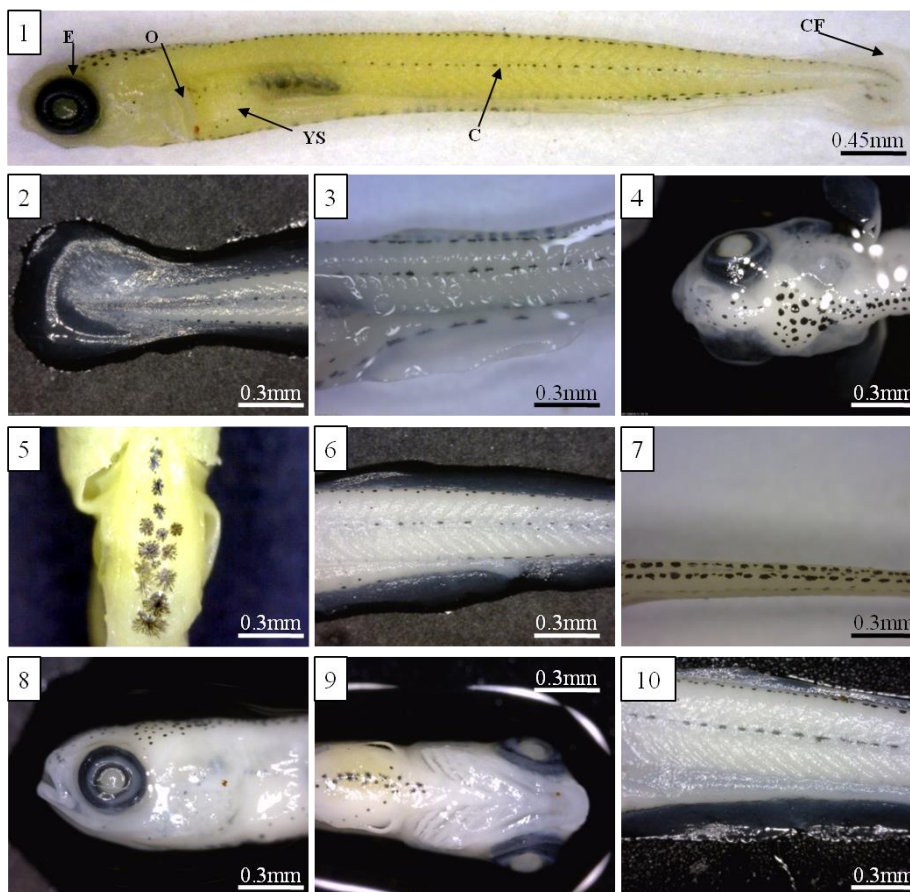
طول کل در روز پنجم پس از تفریح برابر با  $7/3 \pm 0/03$  بود. کیسه ی زرده کوچک تر شده و ملانوفورهای روی بخش جلویی آن بصورت گروهی مجتمع شده اند.

- روز هفتم

طول کل در روز پنجم پس از تفریح برابر با  $7/35 \pm 0/04$  بود. دهان کاملاً انتهایی و گشوده است. ویژگی های مورفولوژیک لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید در تصویر ۴-۱ و نمودار رشد طولی و وزنی لارو ماهی سفید در نمودار ۴-۱ نشان داده شده است.



**نمودار ۴-۱. رشد طولی و وزنی لارو ماهی سفید.** الف) رشد وزنی لارو ماهی سفید در تیمار شاهد. ب) رشد طولی لارو ماهی سفید در تیمار شاهد. هر دو نمودار نشان می دهند که در طی دوره ی آزمایش لارو ماهی سفید از نظر وزنی و طولی رشد داشته است.



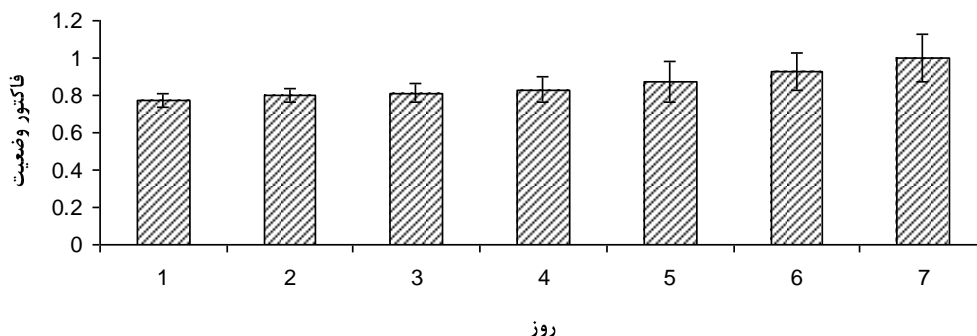
تصویر ۱-۴. ویژگی های مورفولوژیک لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید. مورفولوژی کلی لارو ماهی سفید (۱). باله دم (۲). باله ی مخرجی که در انتهای کیسه ی زرده دیده می شود، و روی آن ملانوسیت ها مشخص می باشند، همچنین کروماتوفورها در پهلو ی بدن و در مرز شکستگی میومرها قابل مشاهده هستند (۳). مورفولوژی سر در لارو، کروماتوفورهای نقطه ای در اندازه های مختلف بر روی بخش پشتی سر دیده می شوند، باله های سینه ای، چشم ها و منافذ بینی که در بخش جلویی - فوقانی پوزه قرار دارند قابل مشاهده هستند (۴). بخش شکمی - جلویی کیسه ی زرده که بر روی آن کروماتوفورهای ستاره ای قابل مشاهده هستند (۵). منفذ مخرج و بخش انتهایی روده در لارو به همراه باله های شکمی و مخرجی قابل مشاهده هستند (۶). بخش شکمی انتهایی بدن در لارو که دارای دو ردیف کروماتوفورهای نقطه ای می باشد (۷). نمای جانبی سر در لارو ماهی سفید، موقعیت دهان که جلویی بوده و شکاف آن به سمت بالا تمایل دارد، چشم و نیز کروماتوفورهای نقطه ای بر روی بخش فوقانی سر قابل مشاهده هستند (۸). نمای شکمی سر در لارو، شکاف محفظه های آبششی، کمان های آبششی، و کروماتوفور های روی بخش شکمی کیسه ی زرده قابل مشاهده هستند (۹). بخش جانبی تنه، میومرهای < شکل و کروماتوفورهای بخش میانی آنها قابل مشاهده هستند (۱۰).

E: چشم (Eye); O: اپرکول یا سرپوش آبششی (Operculum); C: کروماتوفور یا سلول رنگدانه ای (Chromatophore); YS: کیسه ی زرده (Yolk Sac); CF: باله ی دم (Caudal Fin).

#### ۴-۱-۱-۱-۱-۱-۱ فاکتور وضعیت در لارو ماهی سفید

با استفاده از نتایج اندازه گیری میانگین طول و میانگین وزن لارو ماهی سفید در طی هفت روز نخست پس از تفریخ، فاکتور وضعیت برابر با ۰/۸۵ اندازه گیری گردید. فاکتور وضعیت در طی این دوره ی هفت روزه ی مطالعه به تدریج افزایش یافته و به دلیل رشد وزنی بدن به عدد ۱ نزدیکتر می شود (نمودار ۲-۴).

تغییرات فاکتور وضعیت لارو ماهی سفید در طی هفت روز پس از تفریح



نمودار ۴-۲. تغییرات فاکتور وضعیت لارو ماهی سفید در طی هفت روز پس از تفریح. به دلیل رشد وزنی کم در روزهای ابتدایی پس از تفریح، فاکتور وضعیت پایین بوده ولی در ادامه ی روند نمو و افزایش رشد وزنی به عدد ۱ نزدیکتر می شود.

#### ۴-۱-۱-۲- بافت شناسی و بررسی مراحل تکوین بافت های مختلف در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید

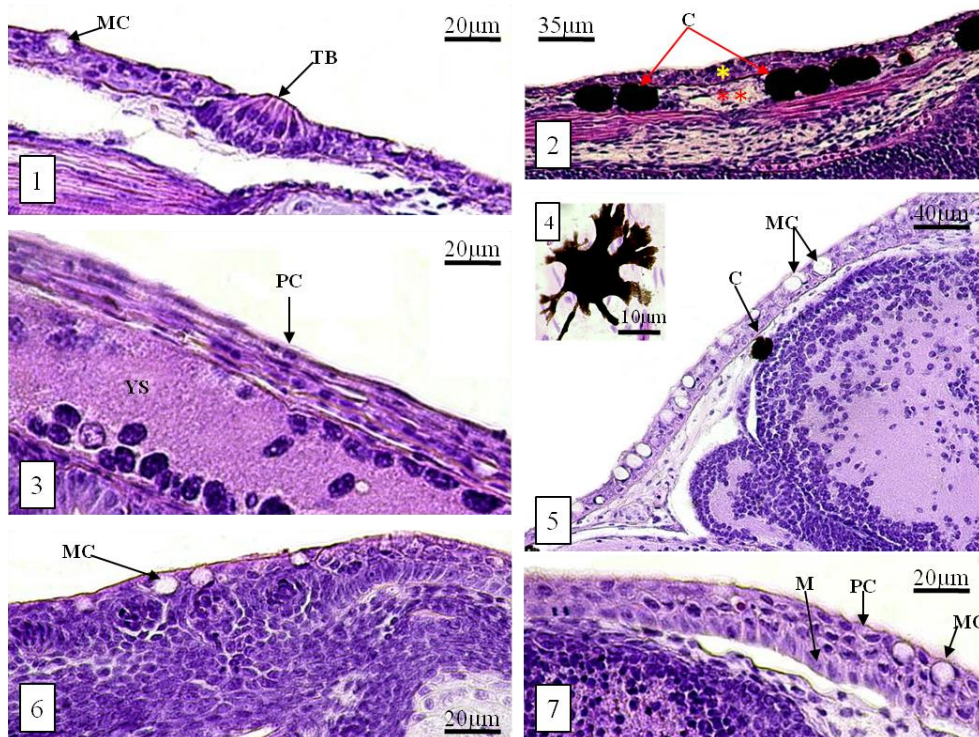
##### ۴-۱-۱-۲-۱- بافت شناسی پوست در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید

پوست (integument or skin) بیرونی ترین پوشش بدن می باشد. این لایه علاوه بر نقش حفاظتی در برابر عوامل مکانیکی و شیمیایی، در مراحل از زندگی، در تنفس، تنظیم اسمز و دفع مواد زائد از بدن نیز نقش ایفا می کند. پوست بطور کلی از دو لایه ی اساسی تشکیل شده است: اپیدرم (epidermis) در بیرون، و درم (dermis) در زیر آن (تصویر ۴-۲-۲).

اپیدرم دارای اپیتلیوم غیرکراتینه و متشکل از سلول های سنگفرشی مطبق می باشد که تعداد آنها از ۳-۵ ردیف سلول (در بخش دمی-شکمی) تا ۲۰-۲۵ سلول در بخش سری-پشتی متغیر است. سلول هایی که در اپیدرم دیده می شوند شامل: سلول های مالپیگی یا رشته دار که اصلی ترین سلول ها می باشند، سلول های موکوسی مسئول ترشح گلیکوپروتئین ها (موکوس) می باشند که یک لایه ی مخاطی محافظ را در سرتاسر بدن ایجاد می کند. عملکرد این لایه کاهش نیروی اصطکاک در زمان شنا کردن، دور کردن شکارچیان و دور نگه داشتن سلول های اپی تلیومی از دسترس باکتری ها می باشد. این موکوس همچنین حاوی برخی ایمونوگلوبولین ها بوده و مقاومت بیشتری در برابر عفونت را موجب می شود (تصویر ۴-۲).

درم از دو لایه ی مشخص شکل گرفته است: لایه ی اسفنجی (spongiosum or laxum) و لایه ی متراکم (compactum). ضخامت لایه ی اسفنجی که در زیر اپیدرم قرار گرفته است در بخش های مختلف بدن متفاوت است و حاوی رشته های کلاژن و رتیکولین، اعصاب، مویرگ ها، فیبروبلاست ها و سلول های رنگدانه ای است. لایه ی متراکم، نسبت به لایه ی اسفنجی از نمو بیشتری برخوردار بوده و از دستجات متراکم رشته های کلاژن که به موازات سطح پوست قرار گرفته اند تشکیل شده است (تصویر ۴-۲-۲).

کروماتوفورها که معمول ترین سلول های رنگدانه ای در ماهی ها به شمار می روند در پوست دیده می شوند. رنگدانه ی این سلول ها ملانین نام دارد که به رنگ قهوه ای بسیار تیره مایل به سیاه دیده می شود. سنتز ملانین از راه تبدیل اسیدآمیننه ی تیروزین توسط آنزیم های حاوی فلز مس صورت می گیرد. ملانین در کروماتوفورها درون وزیکول هایی به نام ملانوزوم تجمع می یابد. کروماتوفورها عموماً ستاره ای شکل بوده و منشا عصبی - پوستی دارند (تصویر ۲-۴-۲، تصویر ۴-۴-۲ و تصویر ۵-۴-۲).



**تصویر ۲-۴. بافت شناسی پوست در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید.** پوست در بخش های مختلف دارای تعدادی جوانه های چشایی می باشد (۱). پوست به طور مشخص از دو لایه اپیدرم (\*) و درم (\*\*\*) تشکیل شده است، اپیدرم بطور مشخص از سلول های سنگفرشی تشکیل شده است که در چند لایه دیده می شوند، تعداد این لایه ها در بخش های مختلف بدن متفاوت است، در حد فاصل اپیدرم و درم معمولاً سلول های رنگدانه ای یا کروماتوفورها دیده می شوند، درم مشخصاً دارای سلول های مالپیگی بوده و دارای رشته های کلاژن می باشد (۲). بیشترین سلول های تشکیل دهنده ی پوست، سلول های سنگفرشی هستند که سطح بدن را می پوشانند، در تصویر، سلول های سنگفرشی پوشاننده ی کیسه ی زرده قابل مشاهده می باشند (۳). کروماتوفورها به اشکال نقطه ای و ستاره ای در پوست دیده می شوند، این سلول ها به رنگ قهوه ای بسیار تیره تا سیاه می باشند (۴). سلول های موکوسی که ترشح کننده ی گلیکوپروتئین ها هستند در ترشح موکوس محافظ سطح بدن نقش داشته و موکوس ترشچی علاوه بر نقش محافظتی در برابر عوامل میکروبی و آلاینده، در لغزنده کردن بدن جهت شنای بهتر نیز نقش دارد (۵ و ۶). سلول های اصلی تشکیل دهنده ی اپیدرم، سلول های سنگفرشی و سلول های اصلی تشکیل دهنده ی درم، سلول های مالپیگی می باشند (۷).

MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); TB: جوانه چشایی (Taste Bud); C: کروماتوفور (Chromatophore); PC: سلول سنگفرشی (Pavement Cell); YS: کیسه زرده (Yolk Sac); M: سلول مالپیگی (Malpighian Cell).

#### ۴-۱-۱-۲-۲-بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید

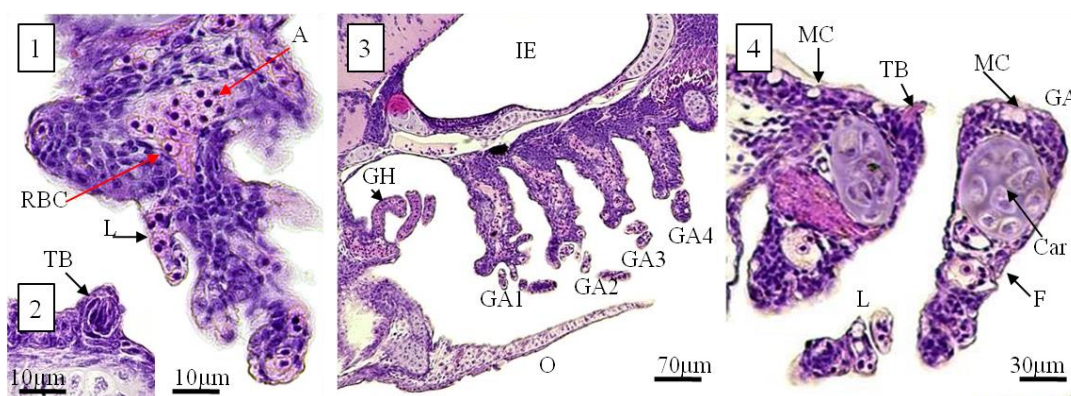
#### ۴-۱-۱-۲-۱-ساختمان بافت آبششی

آبشش (gill) مهمترین اندام تنفسی در ماهیان به شمار می رود. آبشش ها از چهار جفت کمان آبششی (gill arch) تشکیل شده اند. هر کمان توسط اسکلتی غضروفی و استخوانی همراه با ماهیچه های مخطط نزدیک کننده و دورکننده حمایت می شود، که ایجاد کننده ی حرکت این بخش ها جهت انجام بهتر تنفس می باشند. آبشش ها توسط سرپوش آبششی (operculum) پوشیده و محافظت می شوند. هر کمان آبششی حاوی رشته های آبششی است که هولوبرانش (holobranch) نامیده می شوند، هر هولوبرانش از دو نیمه به نام همی برانش (hemibranch) تشکیل می شود. هر همی برانش حاوی تعداد زیادی برجستگی های ظریف است که تیغه های آبششی یا لاملا (lamellae) نامیده می شوند. حضور این برجستگی ها موجب افزایش سطح اپیتلیوم آبششی شده و عملکرد تنفسی و ترشحی آن را گسترش می دهد. رشته های آبششی دارای یک محور مرکزی غضروفی می باشند، که در کنار آن مویرگ های آوران (afferent) و وابران (efferent) قرار گرفته اند. سطح این بخش ها از اپیتلیوم سنگفرشی (pavement cell) نازکی پوشیده شده است که دنباله ی سطح پوشاننده ی کمان های آبششی و حفره ی دهانی می باشد. سطح بیرونی تیغه های آبششی از سلول های سنگفرشی نازکی پوشیده شده است که توسط سلول های ستونی شکل پیلار به هم متصل شده اند. فضای بین سلول های پیلار لاکونا (lacunae) نامیده می شوند که محل ارتباط مویرگ های آوران و وابران می باشد. سلول های پیلار قابل انقباض بوده و با انقباضات خود قطر فضای لاکونا را جهت تنظیم میزان خون عبوری تنظیم می کند. سلول های کلراید که توسط سلول های سنگفرشی احاطه شده اند بطور ویژه در پایه ی لاملاها قابل مشاهده هستند. این سلول ها نقش اصلی را در تنظیم اسمزی و یونی توسط آبشش ایفا می کنند. سلول های موکوسی بخش جدایی ناپذیر اپی تلیوم آبششی می باشند. برروی کمان های آبششی در سطح مقابل رشته های آبششی برجستگی هایی وجود دارد که خارهای آبششی (gill racker) نامیده می شوند. این خارها جهت جلوگیری از ورود مواد غذایی از حفره ی دهانی- حلقی به محفظه ی آبششی بکار گرفته می شوند. خارهای آبششی نسبتا بلند بوده و نسبت به هم بصورت فاصله دار قرار گرفته اند. هر خار آبششی از یک تیغه ی غضروفی که توسط اپی تلیوم مطبق و بافت پیوندی محافظت می شود. برروی کمان های آبششی و درون محفظه ی آبششی تعدادی جوانه های چشایی پیازی شکل دیده می شود. در لارو ماهی سفید، یک همی برانش دارای تیغه های آبششی رشد یافته در دیواره ی داخلی محفظه ی آبششی دیده می شود، بافت شناسی این همی برانش مشابه با رشته ها و تیغه های آبششی اصلی بوده و تیغه ها از سلول های سنگفرشی و پیلار تشکیل شده اند و درون آنها گلبول های قرمز خون دیده می شود (تصویر ۴-۳).





و تصویر ۴-۴-۴). در بخش سری محفظه ی آبششی یک همی برانش که دارای تعداد اندکی تیغه های آبششی رشد یافته و مشخصی است قابل مشاهده است (تصویر ۳-۴-۴). محفظه ی آبششی نسبت به کمان ها رشد کامل نداشته و اپرکول موجب بسته شدن محفظه نمی گردد (تصویر ۳-۴-۴) و بخش انتهایی محفظه ی آبششی و کمان های آبششی انتهایی از محفظه بیرون هستند. هیچگونه سودوبرانشی مشاهده نمی شود. بر روی کمان های آبششی خارهای آبششی شکل نگرفته اند اما تعداد اندکی جوانه ی چشایی بر روی کمان ها و درون محفظه ی آبششی قابل مشاهده هستند (تصویر ۲-۴-۴). مویرگ های خونی آوران و وبران (FA) در رشته های آبششی دیده می شوند (تصویر ۱-۴-۴). این مویرگ ها با لومن های پهن خود سطح زیادی از مقطع عرضی رشته را به خود اختصاص داده اند و از سمت خارج با سلول های بافت آبششی فرش شده اند. رشته های اولیه با بافت مکعبی ساده دارای هسته های کروی درشت پوشیده شده اند که به سمت انتهای رشته آبششی و در بیرون منفذ آبششی به بافت سنگفرشی نازکی تبدیل می شود.



**تصویر ۴-۴-۴. بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز اول پس از تفریخ.** رشته های آبششی کوتاه بوده و در انتهای آنها تعداد اندکی تیغه های آبششی کوتاه دیده می شود، سرخرگ آوران خون را به رشته ی آبششی وارد می کند، بر روی کمان های آبششی جوانه های چشایی دیده می شود (۱ و ۲). نمای کلی محفظه ی آبششی، چهار کمان آبششی که دارای رشته ها و تیغه های رشد نیافته هستند قابل مشاهده می باشند، یک همی برانش کوچک در بخش جلویی محفظه ی آبششی دیده می شود که دارای تعداد اندکی تیغه های آبششی است که نسبت به تیغه های آبششی اصلی رشد بیشتری دارند، سرپوش آبششی رشد نیافته بوده و نمی تواند تمامی محفظه ی آبششی را از محیط بیرون جدا کند (۳). مقطع عرضی کمان های آبششی که دارای رشته ها و تیغه های رشد نیافته هستند و بر روی آنها جوانه های چشایی و سلول های موکوسی دیده می شود (۴).

A: سرخرگ آوران؛ RBC: گلبول قرمز؛ L: تیغه آبششی؛ TB: جوانه ی چشایی؛ IE: گوش داخلی؛ GH: همی برانش آبششی؛ GA: کمان آبششی؛ MC: سلول موکوسی؛ Car: غضروف؛ F: رشته ی آبششی.

#### - روز دوم

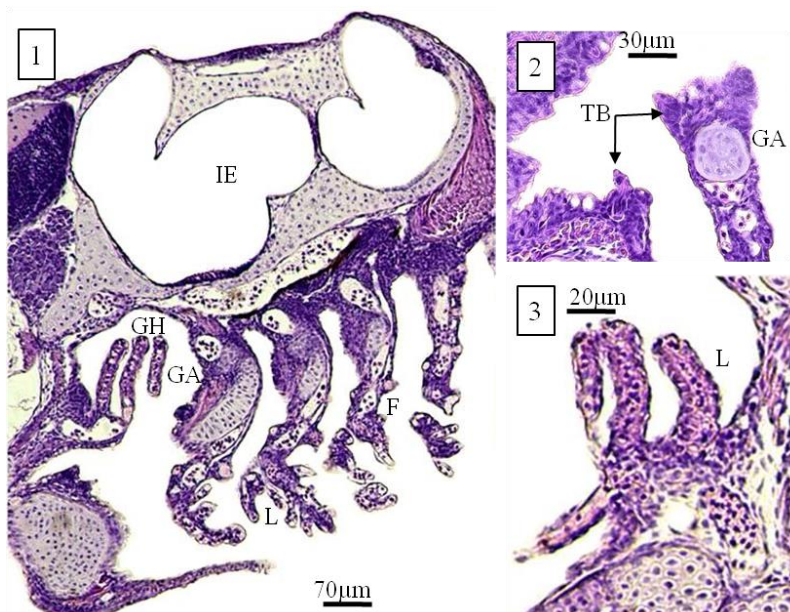
رشته های آبششی و تیغه های آبششی رشد بیشتری یافته اند (تصویر ۵-۴) و تیغه های آبششی به تدریج بصورت لاملاهای کشیده ظاهر می شوند (تصویر ۵-۴). در بخش عقبی کمان های آبششی جوانه های خارهای آبششی قابل مشاهده هستند که در حال شکل گیری می باشند (تصویر ۵-۴).



تصویر ۴-۵. بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز دوم پس از تفریخ. مشخص ترین تغییری که در این روز دیده می شود، ادامه ی رشد تیغه های آبششی می باشد. IE: گوش داخلی؛ GA: کمان آبششی؛ F: رشته ی آبششی؛ L: تیغه ی آبششی.

#### - روز سوم

رشته های آبششی بر روی کمان های آبششی در دو ردیف کاملاً قابل مشاهده هستند (تصویر ۴-۶-۱) و تیغه های آبششی آنها کاملاً کشیده شده اند (تصویر ۴-۶-۱). در بخش همی برانش رشد بیشتری دیده می شود و بر تعداد لاملاهای آن و طول فیلامنت و لاملای آن افزوده شده است (تصویر ۴-۷۹-۳). در بخش های عقبی کمان های آبششی تعداد بیشتری جوانه ی چشایی دیده می شود (تصویر ۴-۷-۲).



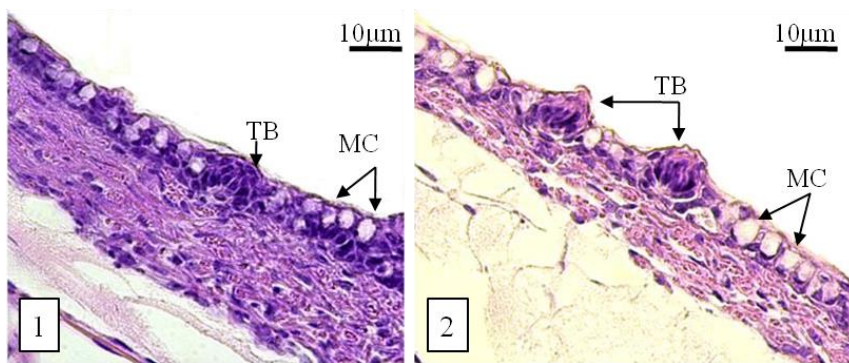
تصویر ۴-۶. بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز سوم پس از تفریخ. تعداد و اندازه ی تیغه های آبششی بطور مشخصی نسبت به روزهای قبل افزایش یافته است (۱). تعداد جوانه های چشایی در محفظه ی

آبششی و روی کمان های آبششی افزایش یافته است (۲). بر تعداد و طول تیغه های آبششی همی برانش افزوده شده است (۱) و (۳).

IE: گوش داخلی (Inner Ear); GA: کمان آبششی (Gill Arch); F: رشته ی آبششی (Filament); L: تیغه ی آبششی (Lamellae); TB: جوانه ی چشایی (Taste Bud); GH: همی برانش آبششی (Gill Hemibranch).

#### - روز چهارم

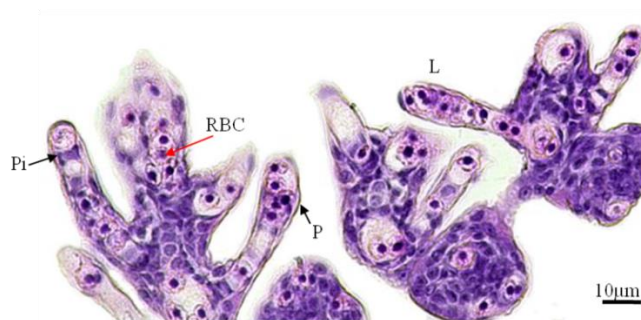
از آنجایی که در این روز همزمان با ادامه ی رشد کمان ها و رشته های آبششی، تغییر مهمی در بخش ابتدایی دستگاه گوارش یعنی گشودگی دهان رخ داده است، مهمترین تغییر مشاهده شده در این روز افزایش تعداد سلول های موکوسی در محفظه ی آبششی شامل دیواره ها و بخش های عقبی کمان های آبششی می باشد (تصویر ۴-۷).



تصویر ۴-۷. بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز چهارم پس از تفریخ. بطور مشخصی بر تعداد سلول های موکوسی در سطح پوشاننده ی محفظه ی آبششی افزوده شده است. این امر همزمان با گشودگی دهان و شروع تغذیه ی خارجی می باشد. MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); TB: جوانه چشایی (Taste Bud).

#### - روز پنجم

در این روز رشد تیغه های آبششی بیشتر شده و بر تعداد آنها افزوده شده است (تصویر ۴-۸).

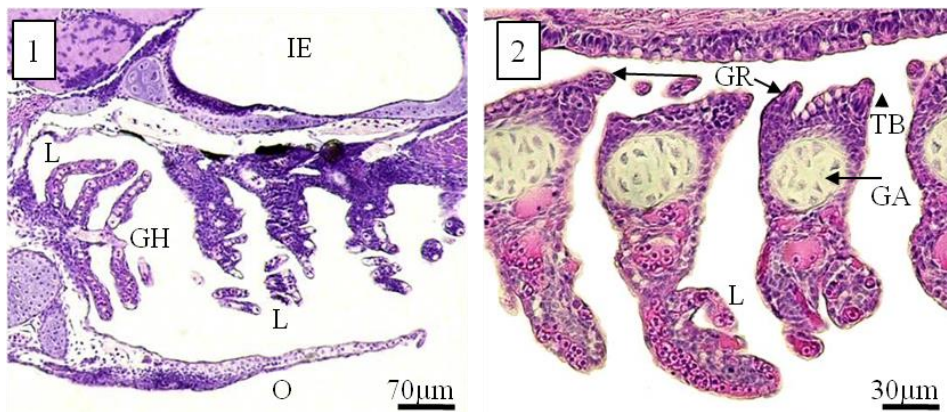


تصویر ۴-۸. بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز پنجم پس از تفریخ. تیغه های آبششی بطور مشخصی بلندتر و کشیده تر شده و بر تعداد آنها نیز افزوده شده است.

L: تیغه آبششی (Lamellae)؛ P سلول سنگفرشی (Pavement Cell)؛ Pi: سلول پیلار (Pillar Cell)؛ RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell).  
 (Blood Cell).

#### - روز ششم

علاوه بر ادامه ی رشد رشته ها و تیغه های آبششی، به نظر می رسد که سرپوش آبششی نیز رشد زیادی داشته و از محفظه ی آبششی تنها شکاف کوچکی به بیرون باقی مانده است (تصویر ۴-۹-۱). همچنین خارهای آبششی در تعداد و اندازه های بیشتری نسبت به روزهای قبل دیده می شوند (تصویر ۴-۹-۲).

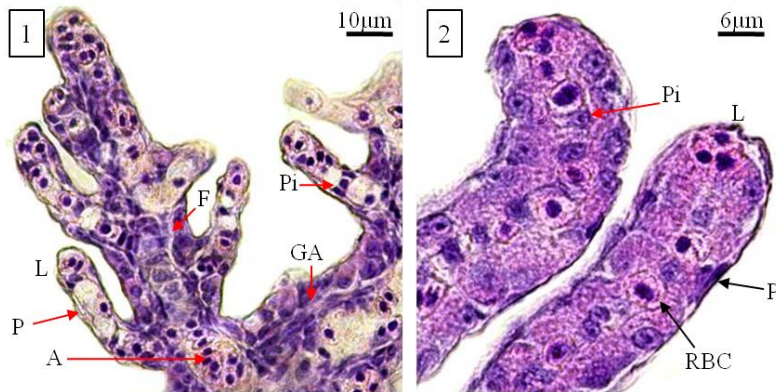


تصویر ۴-۹. بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز ششم پس از تفریخ. در نمای کلی محفظه ی آبششی رشد سرپوش آبششی نسبت به روزهای قبل قابل توجه است و به نظر می رسد که بخش بیشتری از شکاف محفظه ی آبششی را می پوشاند، همی برانش آبششی رشد بسیار زیادی داشته و تیغه های آبششی آن بسیار بلند و کشیده می باشند (۱). برجستگی های روی کمان های آبششی بیشتر شده و به نظر می رسد که رشد خارهای آبششی در این بخش مشخص می باشد (۲).

GH: همی برانش آبششی (Gill Hemibranch)؛ L: تیغه آبششی (Lamellae)؛ IE: گوش داخلی (Inner Ear)؛ GR: خار آبششی (Gill Racker)؛ TB: جوانه چشایی (Taste Bud)؛ GA: کمان آبششی (Gill Arch).

#### - روز هفتم

رشد تیغه های آبششی همچنان در این روز نیز ادامه داشته و سلول های سنگفرشی بر روی تیغه های آبششی و نیز سلول های پیلار آنها بخوبی قابل مشاهده هستند (تصویر ۴-۱۰-۱). در بخش همی برانش نیز همانطور که در روزهای پیشین دیده می شود لاملاها رشد خوبی داشته و کاملا ساختار تنفسی دارند (تصویر ۴-۱۰-۲).



تصویر ۴-۱۰. بافت شناسی آبشش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در روز هفتم پس از تفریخ. رشد تیغه های آبششی به حد چشمگیری افزایش یافته و نظم سلولی آنها بسیار بیشتر شده است (۱). رشد تیغه های آبششی همی برانش نیز افزایش یافته و این تیغه ها بسیار بلند و کشیده شده اند (۲).

L: تیغه آبششی (Lamellae); P: سلول سنگفرشی (Pavement Cell); A: سرخرگ آوران رشته ی آبششی (Afferent filamental artery); F: رشته ی آبششی (Filament); GA: کمان آبششی (Gill Arch); Pi: سلول پیلار (Pillar cell); RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell).

#### ۴-۱-۱-۲-۳- بافت شناسی دستگاه گوارش در لارو ماهی سفید

#### ۴-۱-۱-۲-۳-۱- ساختمان دستگاه گوارش

دستگاه گوارش، مشخصا با لوله ی گوارش (digestive tract or gut) شناخته می شود، لوله ای طویل با دیواره ی عضلانی که از دهان شروع شده و به مخرج منتهی می شود. از محفظه ی دهانی (oral cavity)، این لوله به ترتیب شامل دهان، حلق (pharynx)، مری (esophagus)، روده (intestine) شامل بخش قدامی و خلفی است و دارای غدد ضمیمه ی اصلی مانند کبد و لوزالمعده نیز می باشد. بافت دستگاه گوارش در طول لوله ی گوارش تقریبا آرایش منظمی داشته و از چهار لایه ی اصلی تشکیل شده است:

۱) لایه ی مخاطی (mucosa)، که به سمت لومن لوله قرار گرفته است و خود از سه لایه تشکیل شده است: اپیتلیوم داخلی، آستر مخاط (lamina propria) یا لایه ی بافت پیوندی سلول دار، که حاوی رگ های خونی و اعصاب است، و در سمت بیرونی از لایه ی عضله ی مخاطی (muscularis mucosae) تشکیل شده است؛

۲) لایه ی زیرمخاط (submucosa)، لایه ای است که مخاط را پشتیبانی می کند، و از بافت پیوندی کمتر سلولی شده، رگ های خونی، بافت لنفاتیک و شبکه ی عصبی تشکیل شده است و فاقد غدد زیرموکوسی می باشد؛

۳) لایه ی عضلانی، که عموما از یک لایه داخلی عضلات حلقوی و یک لایه ی عضلانی عمودی تشکیل شده است؛

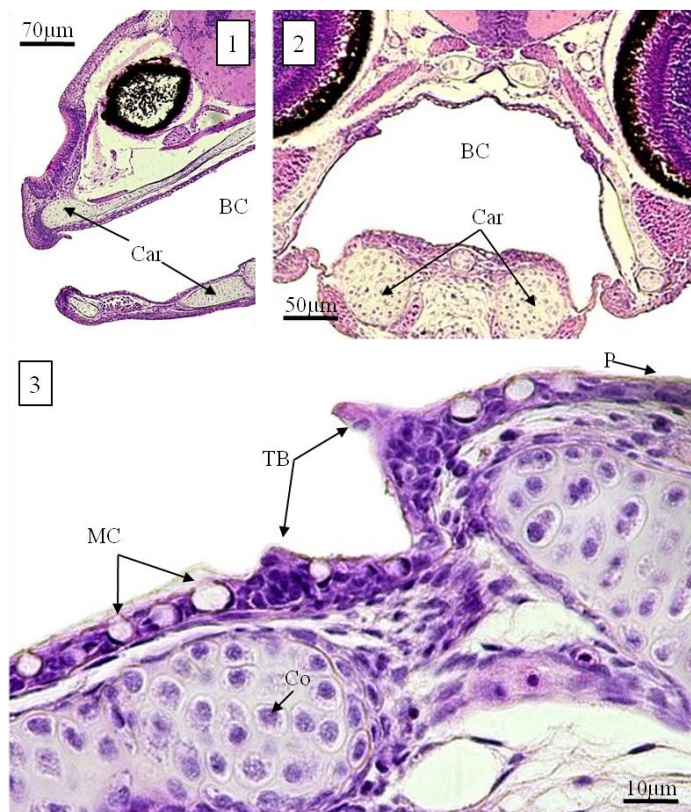
۴) سروز (serosa)، که از بافت پیوندی تشکیل شده است که توسط یک لایه ی سلول های سنگفرشی ساده از اپیتلیوم مزانتیری پوشیده شده است.

- حفره ی دهانی (oral cavity) و حلق (pharynx)

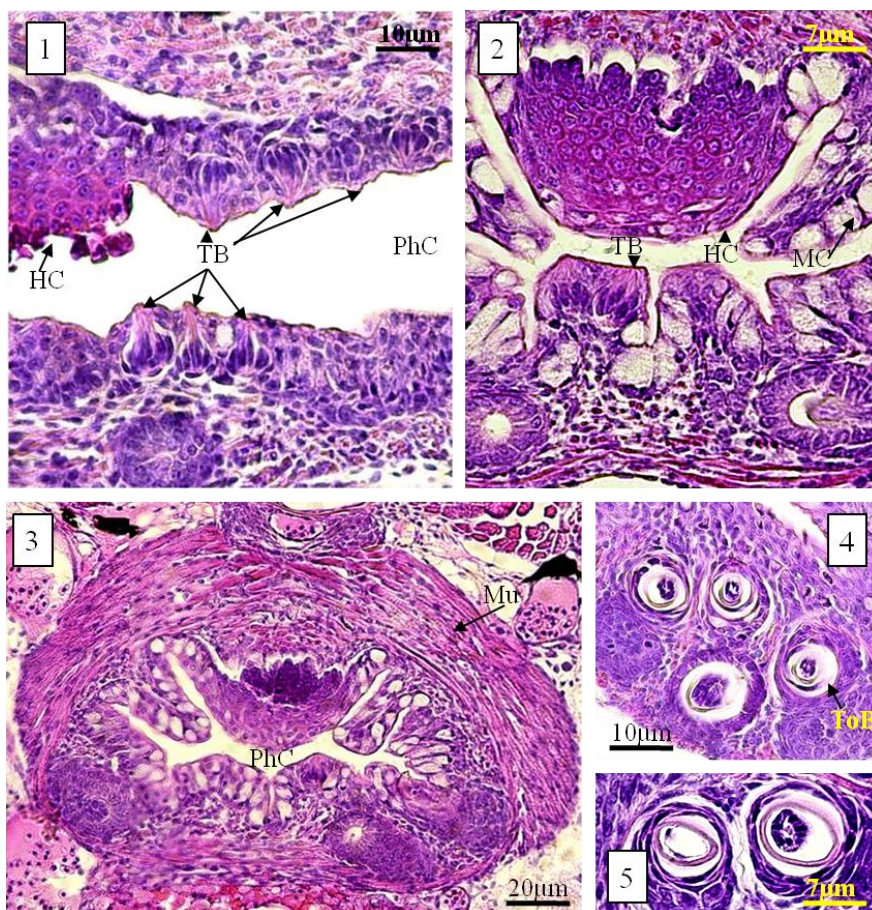
حفره ی دهانی و حلق توسط اپیتلیوم مطابق سنگفرشی پوشیده شده اند که دارای تعداد زیادی سلول های ترشح کننده ی موکوس (goblet cell) و نیز سلول های حسی تشکیل دهنده ی جوانه های چشایی (taste

(buds) می باشد. غضروف نیز در بخش هایی از حفره ی دهانی و حلق دیده می شود (تصویر ۴-۱۱ و تصویر ۴-۱۲).

در مرحله ی لاروی دندانی در دهان یا حلق مشاهده نگردید. اما جوانه های چهار دندان حلقی در دیواره ی پایینی حلق مشاهده گردید. این دندان ها متشکل از پوشش مینا (enamel)، لایه ی عاج (dentine) و مرکز متشکل از پولپ (pulp) می باشند، لایه ی عضلانی ضخیمی حلق را در بر گرفته است (تصویر ۴-۱۲).



**تصویر ۴-۱۱. بافت شناسی بخش ابتدایی دستگاه گوارش (دهان) لارو ماهی سفید.** محفظه دهانی حفره ای فراخ بوده که از سلول های سنگفرشی پوشیده شده است، بافت محافظ این بخش غضروف می باشد که در دو سمت فوقانی و تحتانی محفظه ی دهانی دیده می شود (۱ و ۲). سطح داخلی محفظه ی دهانی را سلول های سنگفرشی، موکوسی و نیز جوانه های چشایی پوشانده اند، این بافت ها توسط بافت غضروفی حمایت می شود (۳).  
 BC: حفره دهانی (Buccal Cavity); Car: غضروف (Cartilage); P: سلول سنگفرشی (Pavement Cell); TB: جوانه چشایی (Taste Bud); MC: سلول موکوسی (Mucus Cell).

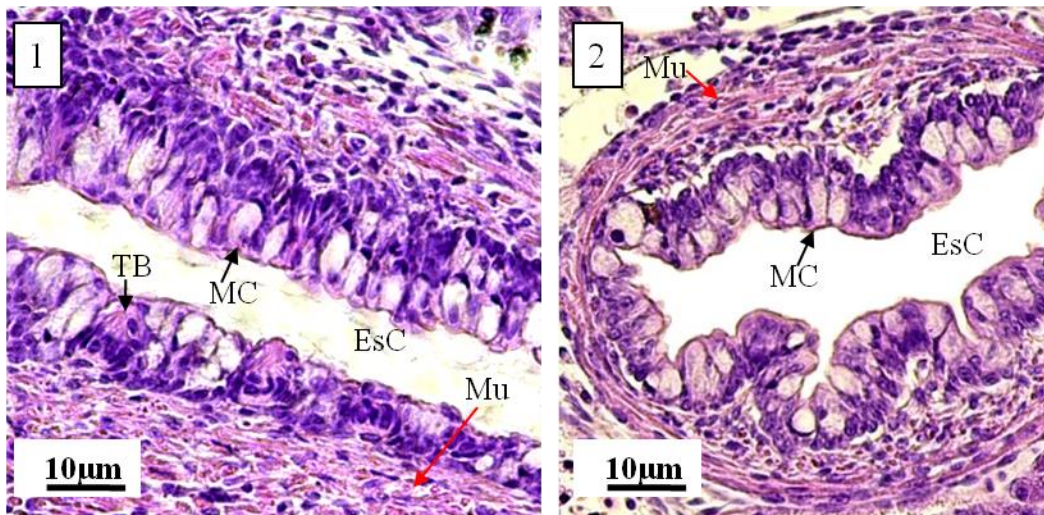


تصویر ۴-۱۲. بافت شناسی بخش ابتدایی دستگاه گوارش (حلق) لارو ماهی سفید. در بخش حلق تعداد زیادی جوانه های چشایی و سلول موکوسی دیده می شود، بخش فوقانی حلق دارای سلول های شاخی شده ای می باشد که به نرم کردن غذای بلعیده شده کمک می کند (۱ و ۲). دور تا دور حلق را لایه ی ضخیم عضلانی در بر گرفته است که موجب انقباضاتی می شود که در له کردن مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد (۳). در بخش تحتانی حلق جوانه های چهار دندان حلقی دیده می شود که در بافت های زیرین نهفته می باشند (۴ و ۵).

PhC: حفره ی حلقی (Pharyngeal Cavity); HC: سلول های شاخی (Horny cell); TB: جوانه چشایی (Taste Bud); MC: سلول های موکوسی (Mucus Cell); Mu: لایه عضلانی (Muscle layer); ToB: جوانه دندانی (Tooth Bud).

#### - مری (esophagus)

مری کوتاه است و دیواره ی ضخیمی دارد، لایه ی عضلانی آن از رشته های درهم پیچیده ی عضلانی شکل گرفته است. اپی تلیوم پوششی آن مکعبی مطبق می باشد و در طول آن سلول های پراکنده ی ترشحی دیده می شود که ترشح کننده ی ترکیبات اسیدی یا خنثی می باشد که می توانند در لغزنده کردن اپی تلیوم و برهمکنش با باکتری ها یا ویروس ها نقش ایفا کند. جوانه های چشایی نیز در این اپیتلیوم دیده می شوند. لایه ی مخاطی مری دارای چین خوردگی های طولی می باشد. غدد بزاقی وجود ندارند و به نظر می رسد که به جای آنها سلول های موکوسی منفرد نقش ایفا می کنند. هیچ نوع غده ی دیگری نیز در بافت پیوندی زیر اپی تلیوم مری دیده نمی شود (تصویر ۴-۱۳).



تصویر ۴-۱۳. بافت شناسی بخش ابتدایی دستگاه گوارش (مری) لارو ماهی سفید. مشخصه ی مری داشتن تعداد زیادی سلول موکوسی می باشد، این بخش در دنباله ی حلق قرار گرفته و به همین دلیل بخش کوچکی از لایه ی عضلانی احاطه کننده ی حلق همچنان در اطراف آن دیده می شود، تعدادی جوانه ی چشایی نیز در این بخش دیده می شوند (۱ و ۲). TB: جوانه چشایی (Taste Bud); MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); EsC: حفره ی مری (Esophageal Cavity); Mu: لایه ی عضلانی (Muscle layer).

#### - معده (stomach)

معده به عنوان یک بخش مشخص در سیستم گوارشی ماهی سفید دیده نمی شود و مری با تغییرات اندکی مستقیماً به روده متصل می شود.

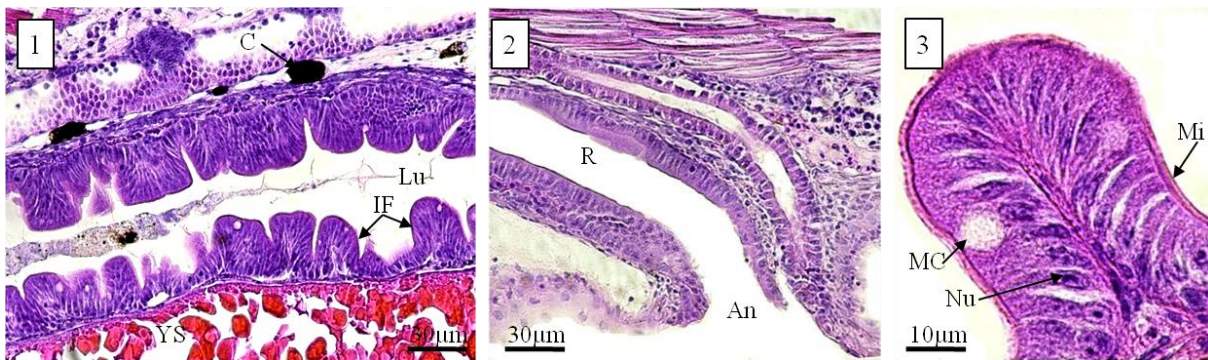
#### - روده (intestine)

روده بطور کلی به دو بخش جلویی و عقبی تقسیم می شود، روده ی جلویی دارای چین خوردگی های عمیق و لومن تنگ و روده ی عقبی دارای چین خوردگی های کم عمق تر و لومن فراخ تر می باشد (تصویر ۴-۱۵). روده ی جلویی ادامه ی بخش مری بوده و دارای چین خوردگی های انگشتی شکل مشخص می باشد که چین (villi) نامیده می شوند. هر چین برجستگی انگشتی شکلی از لایه ی مخاطی بوده که از پوشش اپیتلیومی و بخش مرکزی از جنس بافت پیوندی حاوی مویرگ های خونی و لنفاوی تشکیل شده است. اپی تلیوم روده در این بخش، از سلول های استوانه ای ساده با طبق کاذب تشکیل شده است که دارای میکروویلی های راسی مشخص و نیز تعداد قابل توجهی سلول موکوسی می باشند (تصویر ۴-۱۴-۱ و تصویر ۴-۱۴-۳).

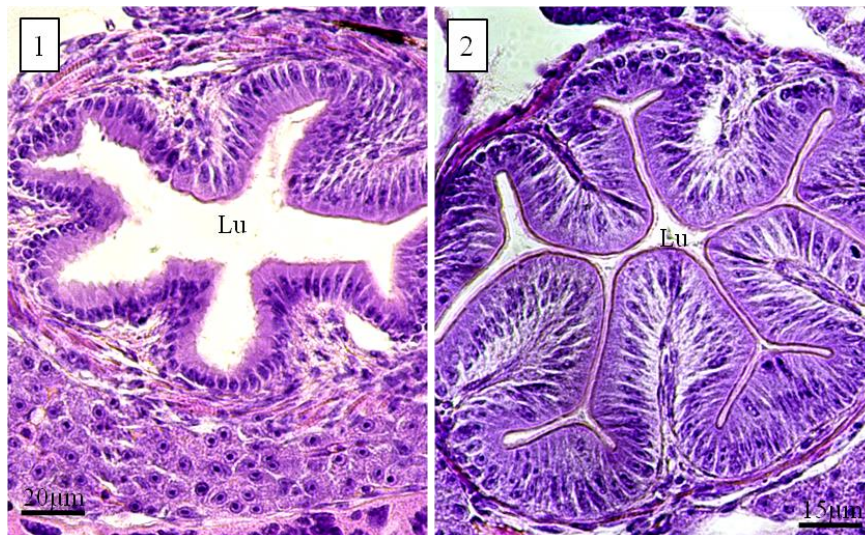
چین خوردگی ها در بخش انتهایی روده کمتر شده و بصورت لوله ی نسبتاً عریضی شکل می گیرد که رکتوم (rectum) نامیده می شود (تصویر ۴-۱۴-۲). رکتوم در انتها توسط منفذ مخرج به بیرون باز می شود. سلول های این بخش از دستگاه گوارش استوانه ای ساده بوده و هسته های بیضی درشت قاعده ای دارند. سلول



های جامی به ندرت در رکتوم مشاهده می شوند. مخرج با بافت استوانه ای ساده که به رو به انتها به بافت سنگ فرشی مطبق تبدیل می شود پوشیده شده است.



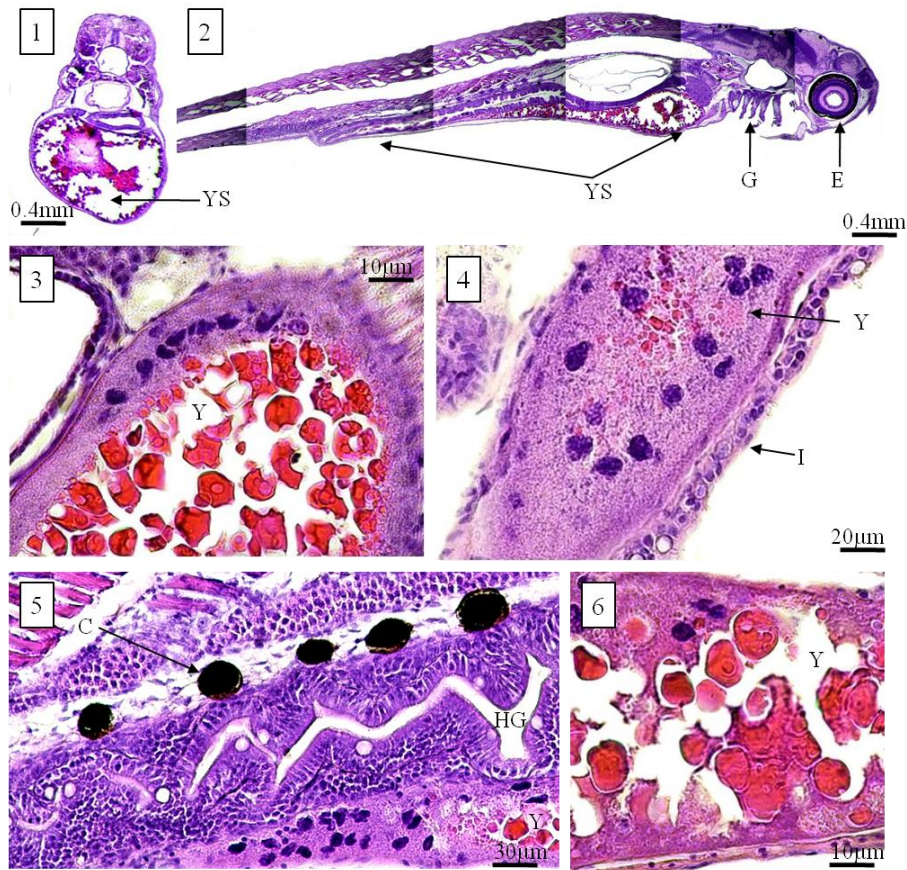
**تصویر ۴-۱۴. بافت شناسی دستگاه گوارش (روده) لارو ماهی سفید.** روده دارای چین خوردگی هایی است که سطح جذب آن را افزایش می دهند، در بخش شکمی روده کیسه ی زرده قابل مشاهده می باشد (۱). بخش انتهایی روده یا رکتوم فاقد این چین های روده ای بوده و سلول های آن در نزدیکی مخرج سنگفرشی می شوند (۲). نگاه نزدیکتری به چین های روده ای نشان می دهد که سلول های اپی تلیال روده استوانه ای شکل بوده و دارای هسته های درشت قاعده ای می باشند، این سلول ها در بخش راسی خود دارای پرزهای بسیار ریزی به نام ریزپرز یا میکروویلی هستند (۳).  
 Lu: لومن روده (Lumen); IF: چین های روده ای (Intestinal Folds); C: کروماتوفور (Chromatophore); YS: کیسه زرده (Yolk Sac); R: رکتوم (Rectum); An: مخرج (Anus); Mi: میکروویلی یا ریزپرز (Mirovilli); MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); Nu: هسته (Nucleus).



**تصویر ۴-۱۵. بافت شناسی مقطع عرضی روده ی جلویی و عقبی در لارو ماهی سفید.** روده جلویی دارای مجرای تنگتر بوده و چین های روده ای بسیار عمیق تر می باشند (۲). مجرای روده در بخش عقبی آن فراخ تر شده و فاصله ی چین های روده ای از یکدیگر بیشتر می گردد (۱).  
 Lu: لومن یا مجرای روده (Lumen).

## کیسه ی زرده (yolk sac)

کیسه ی زرده اندام مهمی در دوران جنینی و روزهای آغازین تفریخ به شمار می رود. این کیسه محل ذخیره ی زرده ای یا ذخیره ی غذایی جنین و لارو تازه تفریخ یافته است و وظیفه ی تغذیه ای خود را حتی بعد از گشودگی دهان تا مدت زمانی پس از آن ادامه می دهد. کیسه ی زرده در سطح شکمی بدن قرار گرفته است، این کیسه که متشکل از پلاک های زرده ای محتوی مواد غذایی ذخیره ای می باشد در بخش جلویی بدن بزرگتر بوده و به سمت انتهای بدن باریک تر می شود، در روز ابتدایی پس از تفریخ این کیسه بسیار بزرگ بوده و به همین دلیل لاروهای تازه تفریخ یافته در حفظ تعادل خود در هنگام شنا با سختی مواجه هستند. در طول نمو با مصرف ذخیره ی زرده ای این کیسه، به تدریج از حجم این کیسه کاسته شده و در نهایت ناپدید می شود. سطح بیرونی کیسه ی زرده در سطح شکمی توسط سلول های اپی تلیال سنگفرشی پوشیده شده است که در لابلای آنها تعدادی سلول های موکوسی نیز مشاهده می شود (تصویر ۴-۱۶).

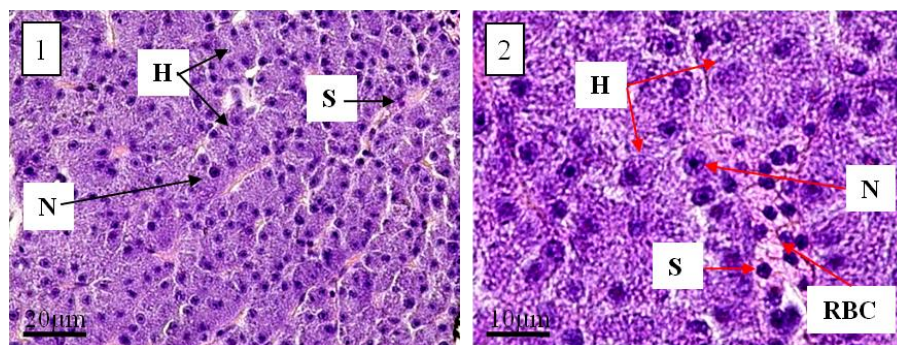


**تصویر ۴-۱۶. بافت شناسی کیسه ی زرده در لارو ماهی سفید.** کیسه ی زرده در سطح شکمی بدن قرار گرفته و در روزهای ابتدایی بسیار بزرگ (۱) و قطره اشکی شکل بوده و در طول بدن امتداد دارد (۲). این کیسه از پلاکت های زرده ای پر شده است (۳ و ۶) و توسط بافت سنگفرشی پوست پوشیده می شود (۴). کیسه ی زرده در ارتباط مستقیم با بافت دستگاه گوارش می باشد (۵).

E: چشم (Eye)؛ G: آبشش (Gill)؛ YS: کیسه زرده (Yolk Sac)؛ Y: زرده (Yolk)؛ I: پوست (Integument)؛ C: کروماتوفور (Chromatophore)؛ HG: روده عقبی (Hind Gut).

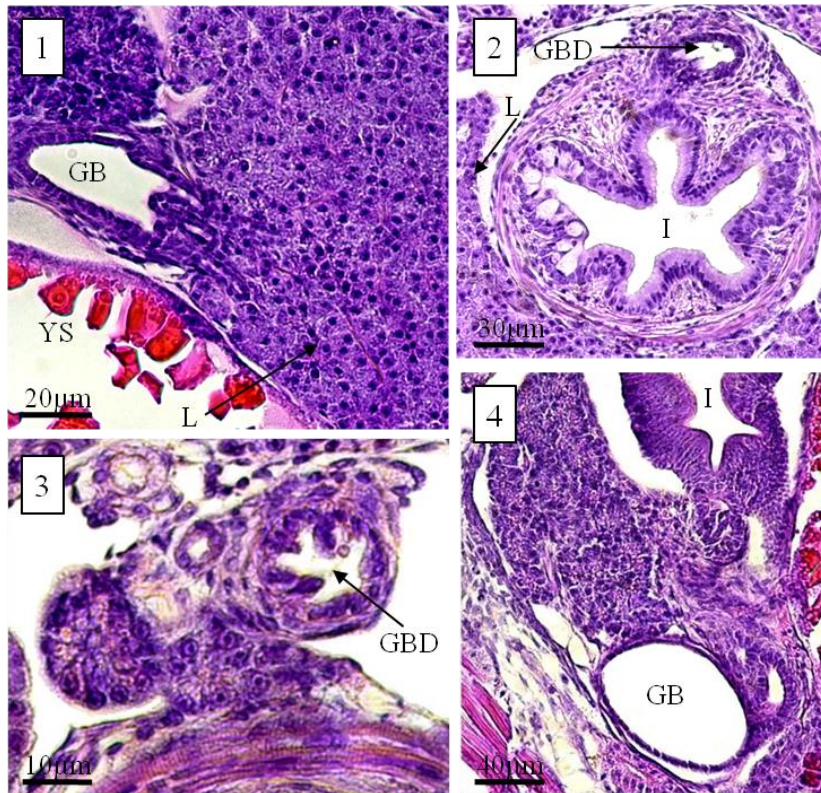
#### - کبد (liver)

کبد بزرگترین غده ی ضمیمه ی دستگاه گوارش به شمار می رود. وظیفه ی این اندام شامل جذب نوترینت ها، تولید صفرا، سم زدایی، حفظ هموستاز متابولیک بدن، شامل کنترل متابولیسم کربوهیدرات ها، پروتئین ها، لیپیدها و ویتامین ها می باشد. کبد همچنین نقش مهمی در سنتز پروتئین های پلاسما مانند آلبومین، فیبرینوژن و عوامل سیستم کمپلمان برعهده دارد. این اندام توسط کپسولی از جنس بافت پیوندی فیبری احاطه شده است. بافت پارانشیم کبد اصولاً از سلول های هپاتوسیت (hepatocytes) چندوجهی که دارای هسته های مرکزی می باشند تشکیل شده است. سینوزوئیدها توسط لایه ی نازکی از یک ردیف سلول اندوتلیال پوشیده شده اند. هسته های این سلول های اندوتلیال کشیده بوده و به طرف فضای داخلی سینوزوئید برجسته شده اند. این اندوتلیوم توسط منافذ بسیار ریزی به شکل سوراخدار درآمده است (تصویر ۴-۱۷). مجاری صفراوی (Bile ducts) نیز در پارانشیم کبد دیده می شوند، مجاری بزرگتر از به هم پیوستن جاری کوچکتر شکل می گیرند. این مجاری صفراوی تشکیل شده را به کیسه ی صفرا (gall bladder) می ریزند که توسط اپی تلیوم سنگفرشی مطبق کاذب پوشیده شده است. در نهایت صفراوی ذخیره شده در کیسه ی صفرا از راه مجرای صفراوی به ابتدای روده می ریزد. مجاری کوچک صفراوی در کبد توسط یک لایه اپی تلیوم مکعبی پوشیده شده اند. اما مجاری بزرگتر ممکن است توسط بافت پیوندی و یا حتی لایه ای از بافت عضلانی احاطه شده باشند (تصویر ۴-۱۸). در کبد، حالت لوبوله نظیر آنچه بطور مشخصی در پستانداران دیده می شود وجود ندارد. در بخش انتهایی بافت کبد بافت هپاتوپانکراس وجود دارد، سلول های اگزوکراین بافت پانکراس که در لابلاهی هپاتوسیت ها پراکنده هستند دارای تعداد زیادی وزیکول های ترشحی ائوزینوفیل در سیتوپلاسم خود می باشند. این وزیکول ها حاوی آنزیم هایی جهت هضم پروتئین ها، کربوهیدرات ها، لیپیدها و نوکلئوتیدها می باشند (تصویر ۴-۱۹).

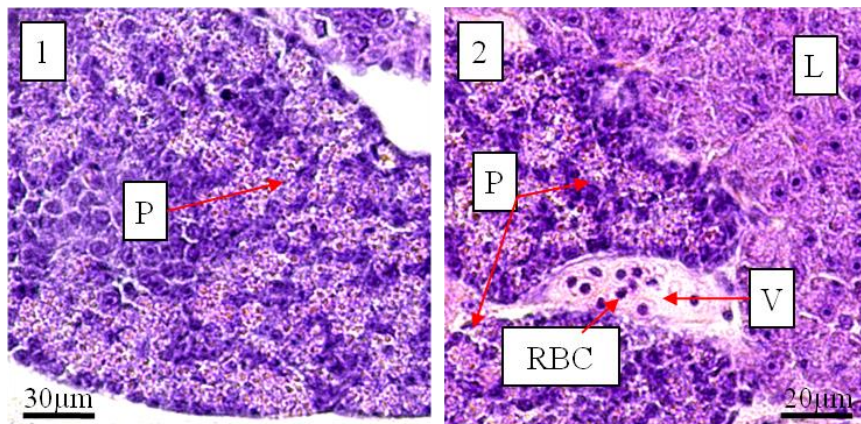


**تصویر ۴-۱۷. بافت شناسی کبد در لارو ماهی سفید.** کبد بافتی نسبتاً یکدست داشته که بیشترین سلول های تشکیل دهنده ی آن هپاتوسیت ها می باشند، که در لابلاهی آنها مویرگ های ویژه ی کبدی که سینوزوئید نامیده می شوند دیده می شوند (۱). هپاتوسیت ها دارای هسته های درشتی هستند (۲).

H: هپاتوسیت (Hepatocyte)؛ N: هسته (Nucleus)؛ S: سینوزوئید (Sinusoid)؛ RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell).



تصویر ۴-۱۸. بافت شناسی کیسه ی صفرا در لارو ماهی سفید. کیسه ی صفرا کیسه ی نسبتاً کوچکی است که در سطح شکمی بافت کبدی قرار گرفته است (۱ و ۴). این کیسه ترشحات خود را که مهمترین آنها صفرا می باشد توسط مجرای صفراوی به ریزد (۲ و ۳). سطح درونی این کیسه از بافت سنگفرشی پوشیده شده است (۱ و ۴). GB: کیسه صفرا (Gall Bladder); YS: کیسه زرده (Yolk Sac); L: کبد (Liver); GBD: مجرای کیسه صفرا (Gall Bladder Duct); I: روده (Intestine).

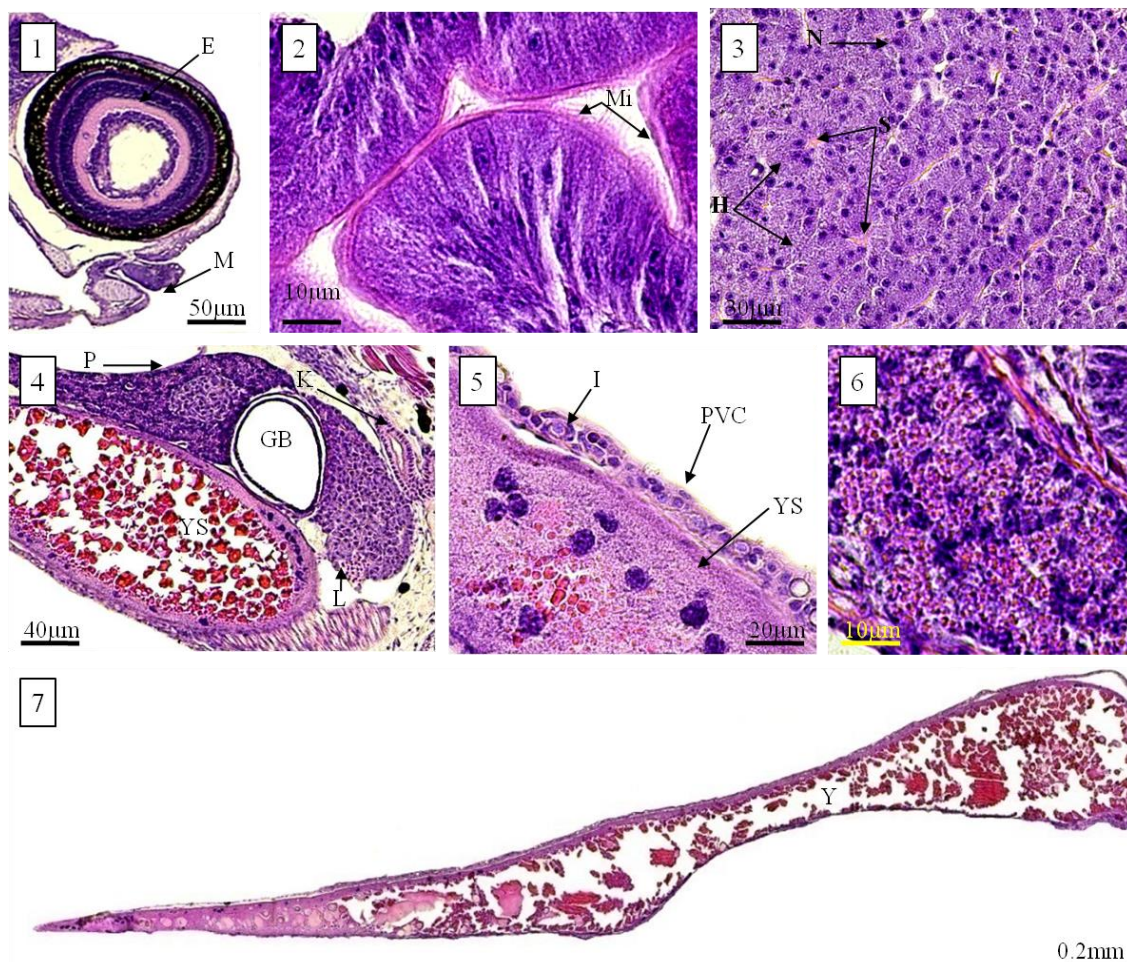


تصویر ۴-۱۹. بافت شناسی هیپاتوپانکراس در لارو ماهی سفید. بافت پانکراس که خود متشکل از بخش های درون ریز و برون ریز می باشد (۱) در لارو ماهی سفید در دنباله ی بافت کبدی دیده می شود به همین دلیل هیپاتوپانکراس خوانده می شود، سلول های این بافت در اطراف وریدهای کبدی چیده شده اند (۲). P: پانکراس (Pancreas); L: کبد (Liver); V: ورید (Vein); RBC: گلبول های قرمز (Red Blood Cell).

#### ۴-۱-۱-۲-۳-۲-۱-۱-۴- انتوزنی دستگاه گوارش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید

- روز اول

در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید حفره ی دهانی- حلقی بسته بوده (تصویر ۴-۲۰-۱) و دستگاه گوارش ارتباطی با محیط بیرونی ندارد. روده در بخش عقبی نسبتاً شکل گرفته و از سلول های بلند و مرتب استوانه ی مژکدار تشکیل یافته است (تصویر ۴-۲۰-۲). از غدد ضمیمه ی دستگاه گوارش، کبد قابل تشخیص می باشد و هپاتوسیت ها کوچک اما با هسته های کاملاً مشخص می باشند و سینوزوئیدهای کبدی در بین آنها دیده می شوند (تصویر ۴-۲۰-۳). کبد مشخصاً به دو بخش جلویی و عقبی تقسیم می شود (تصویر ۴-۲۰-۴)، بخش جلویی از هپاتوسیت های معمولی (تصویر ۴-۲۰-۴) و بخش عقبی بصورت هپاتوپانکراس دیده می شود که متشکل از هپاتوسیت های معمولی و نیز سلول های تشکیل دهنده ی پانکراس می باشد (تصویر ۴-۲۰-۵). در بین این دو بخش کیسه ی صفرا قابل تشخیص می باشد (تصویر ۴-۲۰-۴) اما به نظر می رسد که هنوز مجرای این کیسه برای اتصال به روده شکل نگرفته است. کیسه ی زرده بزرگ بوده و سطح بیرونی آن از سلول های سنگفرشی ساده و سلول های موکوسی تشکیل یافته است (تصویر ۴-۲۰-۵). این کیسه در بخش جلویی بدن به شکل قطره اشک کشیده بوده و و به سمت انتهای بدن باریک می شود (تصویر ۴-۲۰-۷).

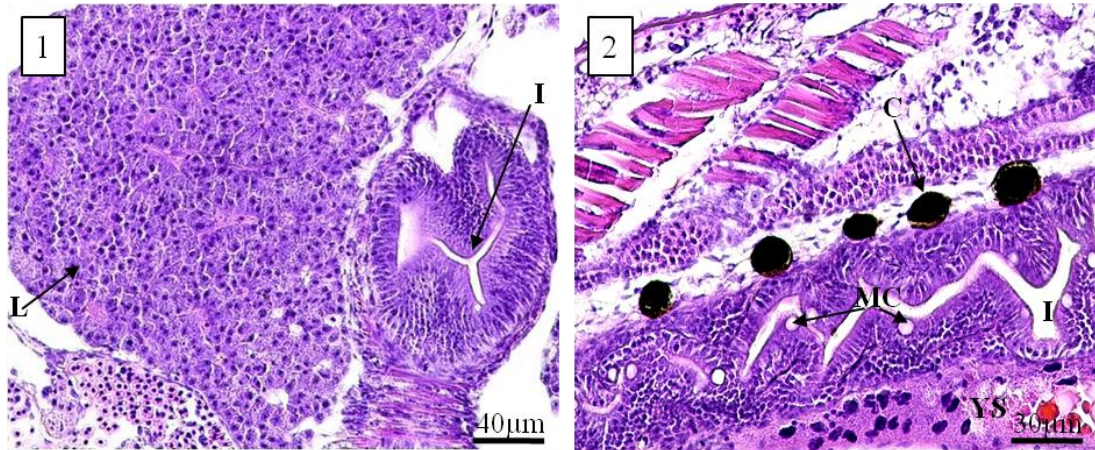


**تصویر ۴-۲۰. بافت شناسی دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در روز نخست پس از تفریخ.** دهان در نخستین روز پس از تفریخ بسته است (۱). سلول های اپیتلیال روده شکل گرفته و دارای میکروویلی می باشند اما حفره ی روده ای هنوز مسدود می باشد (۲). کبد بخوبی شکل گرفته و می توان هپاتوسیت ها و سینوزوئیدهای کبدی را در آن تشخیص داد (۳). در بخش خلفی شکمی کبد بافت پانکراس بصورت پیوسته با کبد و به شکل هپاتوپانکراس دیده می شود، حفره ی کیسه ی صفرا در کبد شکل گرفته است (۴). کیسه ی زرده بسیار بزرگ، قطره اشکی شکل بوده و در سطح شکمی در امتداد بدن کشیده شده است (۷). کیسه ی زرده توسط سلول های سنگفرشی پوست پوشیده شده است (۵). بافت هپاتوپانکراس شکل گرفته و در ارتباط با کبد می باشد (۶).

M: دهان (Mouth); E: چشم (Eye); Mi: میکروویلی (Microvilli); N: هسته (Nucleus); S: سینوزوئید (Sinusoid); H: هپاتوسیت (Hepatocyte); P: پانکراس (Pancreas); K: کلیه (Kidney); L: کبد (Liver); GB: کیسه صفرا (Gall Bladder); YS: کیسه زرده (Yolk Sac); I: روده (Intestine); PVC: سلول سنگفرشی (Pavement Cell); Y: زرده (Yolk).

- روز دوم

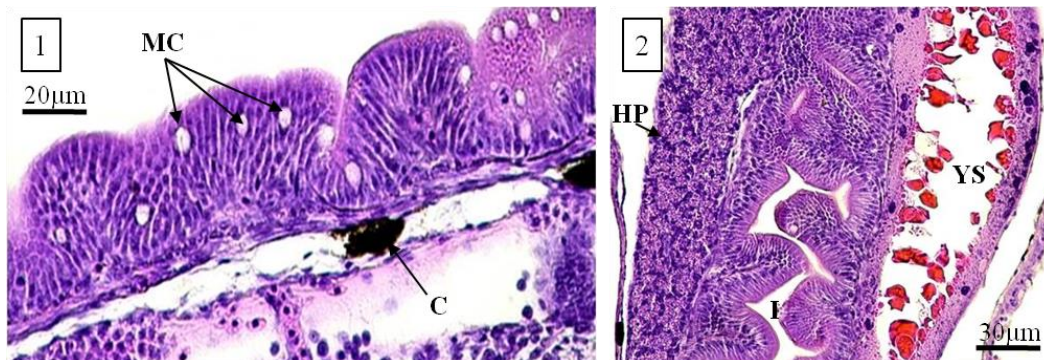
مهمترین تغییری که در روز دوم نسبت به روز نخست پس از تفریخ در دستگاه گوارش مشاهده می شود، افزایش اندازه ی بافت کبدی است که بخش قابل توجهی از حفره ی شکمی را به خود اختصاص داده است (تصویر ۴-۲۱-۱). همچنین تعداد اندکی سلول های موکوسی در اپیتلیوم روده ی عقبی بوجود آمده اند (تصویر ۴-۲۱-۲).



تصویر ۴-۲۱. بافت شناسی دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در روز دوم پس از تفریخ. کبد بخش زیادی از حفره ی شکمی را به خود اختصاص داده است و نسبت به روز نخست رشد بیشتری پیدا کرده است (۱). در بخش انتهایی روده فضای اندکی در وسط لومن باز شده و تعدادی سلول های موکوسی دیده می شود (۲).  
 L: کبد (Liver); I: روده (Intestine); MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); C: کروماتوفور (Chromatophore); YS: کیسه زرده (Yolk Sac).

- روز سوم

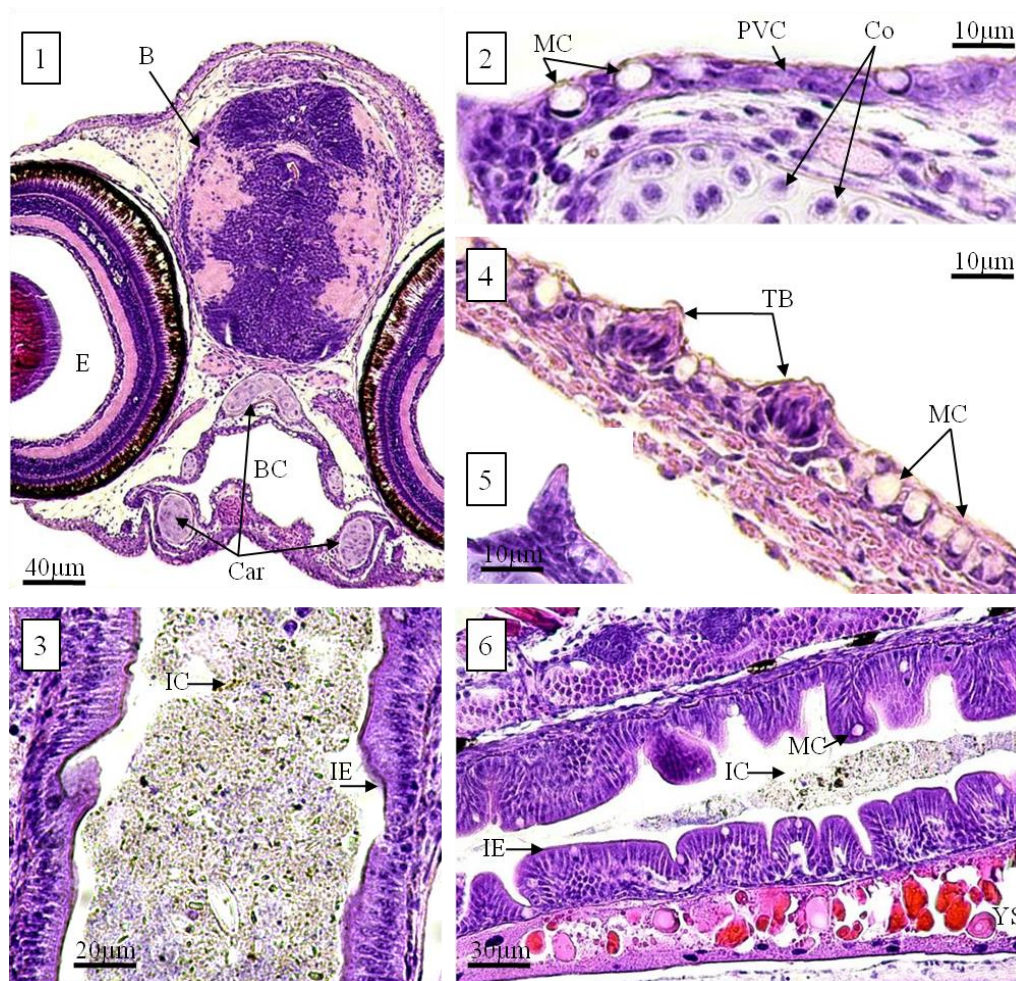
در این روز بر تعداد سلول های موکوسی اپیتلیوم دستگاه گوارش افزوده شده و تعداد و اندازه های آنها نسبت به روز قبل بسیار قابل توجه است (تصویر ۴-۲۲-۱). کیسه ی زرده همچنان دیده می شود اما از اندازه ی آن بطور واضحی کاسته شده است (تصویر ۴-۲۲-۲).



تصویر ۴-۲۲. بافت شناسی دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در روز سوم پس از تفریخ. افزایش تعداد سلول های موکوسی در بخش انتهایی روده یکی از مشخص ترین تغییرات دستگاه گوارش در این روز می باشد (۱). کیسه ی زرده همچنان در ارتباط با دستگاه گوارش دیده می شود اما از حجم آن بطور مشخصی کاسته شده است (۲).  
 MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); C: کروماتوفور (Chromatophore); HP: هپاتوپانکراس (Hepatopancreas); I: روده (Intestine); YS: کیسه زرده (Yolk Sac).

- روز چهارم

مهمترین پدیده ی این روز گشودگی دهان و آغاز ارتباط دستگاه گوارش با محیط بیرون می باشد (تصویر ۴-۲۳-۱). سطح داخلی حفره ی دهانی را سلول های اپی تلیالی سنگفرشی مفروش کرده اند و در بین آنها سلول های موکوسی دیده می شوند که در تعداد و اندازه های قابل توجه وجود دارند، لایه ی زیرین دهان توسط غضروف حمایت می شود (تصویر ۴-۲۳-۱ و ۴-۲۳-۲). همچنین در لابلا ی آنها تعداد زیادی جوانه ی چشایی قابل مشاهده می باشد (تصویر ۴-۲۳-۴)، اغلب آنها پیازی شکل بوده (تصویر ۴-۲۳-۴)، اما تعدادی نیز بسیار کشیده شده و حالت نوک تیز پیدا کرده اند (تصویر ۴-۲۳-۵). در لوله ی گوارش محتویاتی شامل موکوس و ذرات بسیار ریز غذایی دیده می شود که نشان دهنده ی شروع تغذیه ی خارجی در لارو می باشد (تصویر ۴-۲۳-۳). کیسه ی زرده همچنان وجود داشته ولی اندازه ی آن رو به کاهش می باشد (تصویر ۴-۲۳-۶).



تصویر ۴-۲۳. بافت شناسی دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در روز چهارم پس از تفریخ. حفره دهانی کاملا گشوده شده است، این حفره در بالا و پایین توسط بخش های غضروفی حمایت می شود (۱). سطح داخلی حفره ی دهانی توسط سلول های سنگفرشی و موکوسی پوشیده شده است (۲). لومن روده کاملا فراخ شده و درون آن ذرات ریز به همراه موکوس دیده می شوند که نشان دهنده ی شروع تغذیه ی خارجی هستند (۳). در سطح داخلی حفره دهانی علاوه بر سلول های

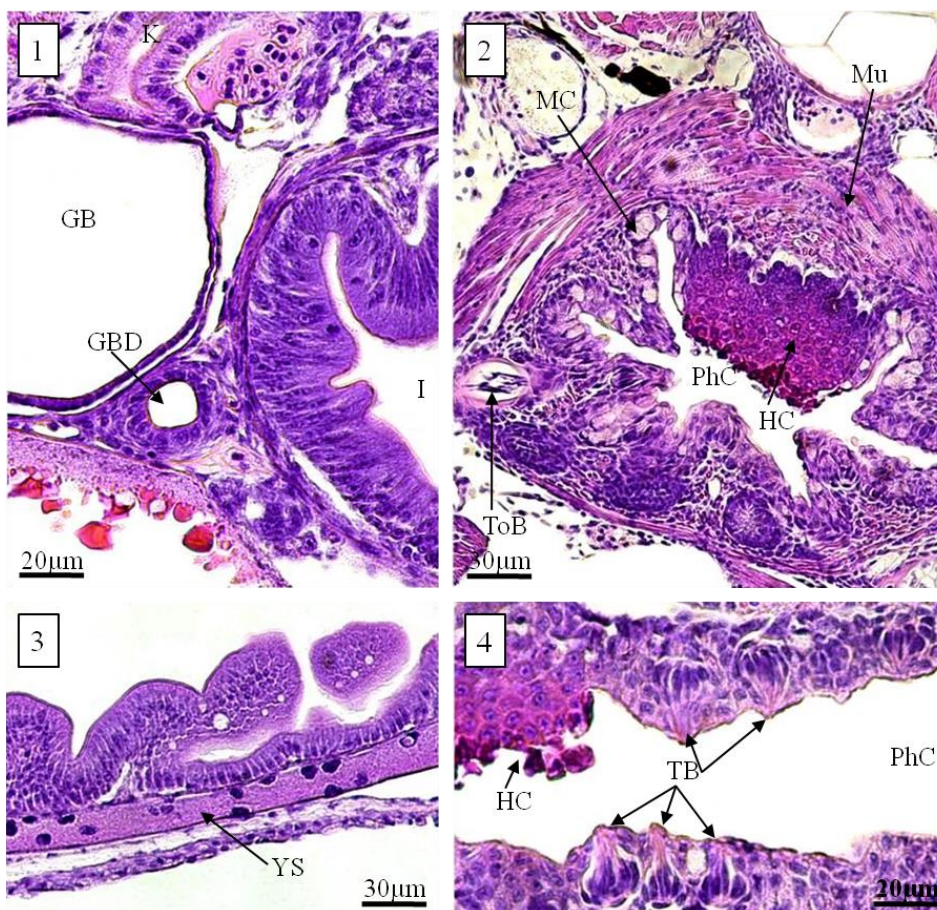


سنگفرشی و موکوسی تعدادی جوانه های چشایی نیز دیده می شود که یا پیازی شکل (۴) و یا نوک تیز و کشیده می باشند (۵). با وجود شروع تغذیه ی خارجی کیسه ی زرده همچنان وجود دارد و نسبتا بزرگ است اما بطور مشخصی از اندازه ی آن نسبت به روزهای قبل کاسته شده است (۶).

E: چشم (Eye)؛ B: مغز (Brain)؛ BC: حفره دهانی (Buccal Cavity)؛ Car: غضروف (Cartilage)؛ MC: سلول موکوسی (Mucus Cell)؛ PVC: سلول سنگفرشی (Pavement Cell)؛ Co: کندروسیت (Condroyte)؛ IC: محتویات روده ای (Intestinal Content)؛ IE: اپیتلیوم روده (Intestinal Epithelium)؛ TB: جوانه چشایی (Taste Bud)؛ YS: کیسه زرده (Yolk Sac).

- روز پنجم تا هفتم

مهمترین تغییراتی که در طی این روزها دیده می شود، شامل تشکیل مجرای کیسه ی صفرا و ایجاد ارتباط آن با بخش ابتدایی روده می باشد (تصویر ۴-۲۴-۱). حلق به خوبی شکل گرفته و اپتلیوم آن از سلول های سنگفرشی مطبق پوشده شده و تعداد زیادی سلول های موکوسی در آن دیده می شود (تصویر ۴-۲۴-۲)، اپی تلیوم تحتانی حلق دارای تعدادی جوانه های چشایی می باشد و اپی تلیوم فوقانی آن دارای سلول های کراتینه شده است، در زیر اپی تلیوم تحتانی حلق جوانه های دندان های حلقی قابل مشاهده هستند، دور تا دور حلق را لایه ی عضلانی ضخیمی در بر گرفته است، داشتن دندان های حلقی، حلق کراتینه شده و نیز لایه ی ضخیم عضلانی در حلق به ماهی کمک می کند که غذای بلیده شده را در حلق خرد و نرم کند (تصویر ۴-۲۴-۲ و تصویر ۴-۲۴-۴). باریکه ی کوچکی از کیسه ی زرده همچنان در بخش زیرین تنه دیده می شود (تصویر ۴-۲۴-۳).



تصویر ۴-۲۴. بافت شناسی دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در روزهای پنجم تا هفتم پس از تفریح. کیسه ی صفرا رشد زیادی داشته و مجرای صفراوی شکل گرفته و اتصال آن با روده برقرار شده است (۱). حلق بخوبی شکل گرفته و سقف آن توسط لایه هایی از سلول های شاخی پوشیده شده است، در دیواره های فوقانی و تحتانی آن جوانه های چشایی و سلول های موکوسی دیده می شوند و در بخش زیرین حلق جوانه های دندان های حلقی دیده می شود، لایه ی عضلانی ضخیمی دورتادور حلق را در بر گرفته است (۲ و ۴). باریکه ی کوچکی از کیسه ی زرده تا روز هفتم همچنان در بخش شکمی روده دیده می شود (۳).

GB: کیسه صفرا (Gall Bladder); PhC: حفره حلق (Pharyngeal Cavity); HC: سلول های شاخی (Horny Cell); ToB: جوانه دندانی (Tooth Bud); Mu: لایه عضلانی (Muscle Layer); MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); YS: کیسه زرده (Yolk Sac); GBD: مجرای کیسه صفرا (Gall Bladder Duct); I: روده (Intestine); K: کلیه (Kidney); TB: جوانه چشایی (Taste Bud).

#### ۴-۱-۱-۲-۴- بافت شناسی کلیه در لارو ماهی سفید

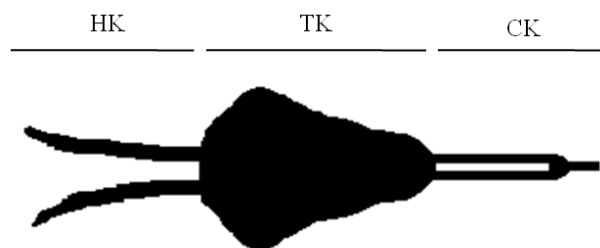
#### ۴-۱-۱-۲-۱-۴- ساختمان بافت کلیه

بافت کلیه بلافاصله پس از محفظه ی آبششی و از ابتدای بخش تنه آغاز می شود. ساختمان کلی بافت کلیوی در این ماهی در تصویر شماتیک ۴-۲۵ نشان داده شده است، که از سه بخش سری، تنه و دمی تشکیل شده است، در بخش هایی این بافت به دو قطعه ی مجزا تقسیم شده و در بخش هایی پیوسته می باشد. واحد عملکردی کلیه نفرون نام دارد، هر نفرون از یک بخش متسع ابتدایی به نام کپسول بومن تشکیل

شده است که دربرگیرنده ی یک شبکه ی مویرگی به نام گلومرول می باشد، وظیفه ی این بخش تصفیه ی خون از مواد زائد می باشد، پس از این قسمت، مجموعه ای از توپول های کلیوی قرار دارند که وظیفه ی ترشح و بازجذب مواد را برعهده دارند و در نهایت مجاری انتهایی به عنوان مجرای جمع کننده ی ادرار قرار گرفته است که ترکیب نهایی ادرار را تعیین می کنند (تصویر ۴-۲۶).

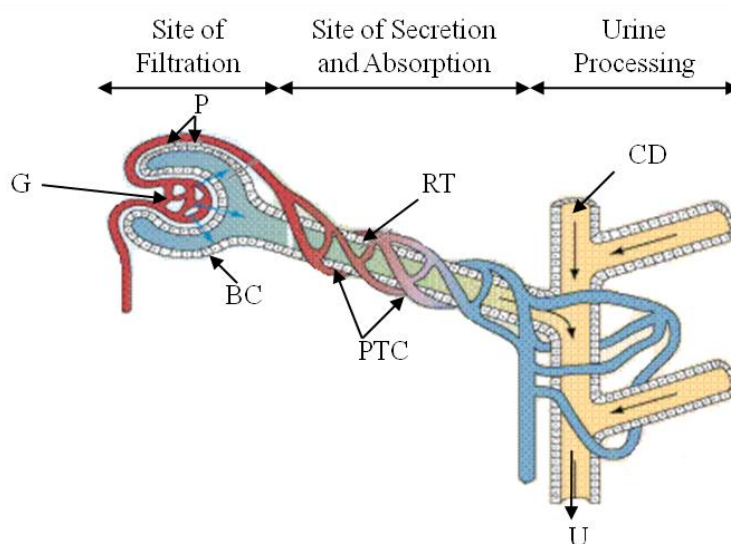
ساختار بافت کلیه در این ماهی شامل بخش ابتدایی یا سر کلیه (Head Kidney) می باشد که از توپول های پرونفروس تشکیل شده است. این توپول ها شبیه به توپول پروکسیمال بوده و سلول های اپیتلیومی آنها از یک ردیف سلول مکعبی ساده با هسته های قاعده ای تشکیل شده است که در لبه ی راسی خود دارای حاشیه ی مسواکی مشخصی می باشند (تصویر ۴-۲۷-۱، تصویر ۴-۲۷-۵ و تصویر ۴-۲۷-۱۰). در بخش ابتدایی بافت کلیوی، بافت خونساز یا هماتوپوئیتیک وجود دارد که توپول های کلیوی را در بر گرفته است (تصویر ۴-۲۷-۱، تصویر ۴-۲۷-۵ و تصویر ۴-۲۷-۱۰). کمی بعد از این توپول های اولیه، نخستین کپسول های بومن قابل مشاهده هستند که بسیار کوچک و ابتدایی می باشند، شبکه ی گلومرولی درون این کپسول ها بسیار کوچک و توسعه نیافته است و دارای فضای بومن نسبتا زیاد می باشند (تصویر ۴-۲۷-۲). قطعه ی گردنی در این بخش قابل تشخیص نیست. اما توپول های پروکسیمال که در بالا شرح داده شدند، و نیز توپول دیستال که دارای سلول های اپیتلیومی مکعبی ساده بوده و مشخصه ی آن نسبت به توپول پروکسیمال نداشتن حاشیه ی مسواکی می باشد، قابل مشاهده هستند (تصویر ۴-۲۷-۳ و تصویر ۴-۲۷-۴). همانطور که گفته شد بافت کلیه در لارو ماهی سفید دریای خزر بلافاصله بعد از محفظه ی آبششی و از ابتدای بخش تنه آغاز می شود، این بافت در بخش ابتدایی خود بصورت دو بخش جداگانه در دو طرف بدن ماهی و درست در زیر ستون مهره ها قرار گرفته است، این بخش جدا بودن کلیه ها نسبتا کوتاه است (تصویر ۴-۲۷-۱۰) و تقریبا از نیمه ی تنه هر دو بخش یکی شده و با هم یک توده ی کلیوی واحد را تشکیل می دهند (تصویر ۴-۲۷-۵). در این بخش به نسبت به بخش ابتدایی کلیه توسعه ی بیشتری یافته است، کپسول های بومن بزرگتری دیده می شود که در بخش مرکزی تنه قرار گرفته و بصورت دو کپسول بومن متصل به یکدیگر دیده می شوند، شبکه ی گلومرولی در این کپسول ها توسعه ی بیشتری یافته و از فضای کپسول بومن کاسته شده است (تصویر ۴-۲۷-۸). در این شبکه های گلومرولی گلبول های قرمز خون و هسته های سلول های پودوسیت قابل تشخیص هستند (تصویر ۴-۲۷-۸). همچنین بر تعداد توپول های کلیوی در این بخش بطور واضحی افزوده شده است و تعداد بیشتری توپول پروکسیمال و دیستال و نیز توپول جمع کننده دیده می شود (تصویر ۴-۲۷-۵ و تصویر ۴-۲۷-۷). توپول های جمع کننده، مجرای وسیع تری نسبت به سایر توپول ها داشته و اپی تلیوم آنها از سلول های مکعبی ساده و کوچک تشکیل شده است که هسته های گرد و درشت مرکزی دارند (تصویر ۴-۲۷-۷). در نهایت بخش پایانی کلیه به دو مجرای میزنای ختم می گردد که دارای لومن تنگ بوده و از سلول های مکعبی با هسته های میانی تشکیل شده است (تصویر ۴-۲۷-۶). این دو میزنای در بخش پایانی تنه به هم متصل شده و یک لوله ی فراخ تر تشکیل می دهند که دارای سلول های استوانه ای کوچک (مکعبی تا استوانه ای) می باشد که در بخش راسی خود دارای مژک های کوتاهی

می باشند، این بخش می تواند به عنوان مثانه ی کوچکی شناخته شود که در نهایت از راه یک منفذ نزدیک به منفذ مخرج به بیرون باز می شود (تصویر ۴-۲۷-۹).



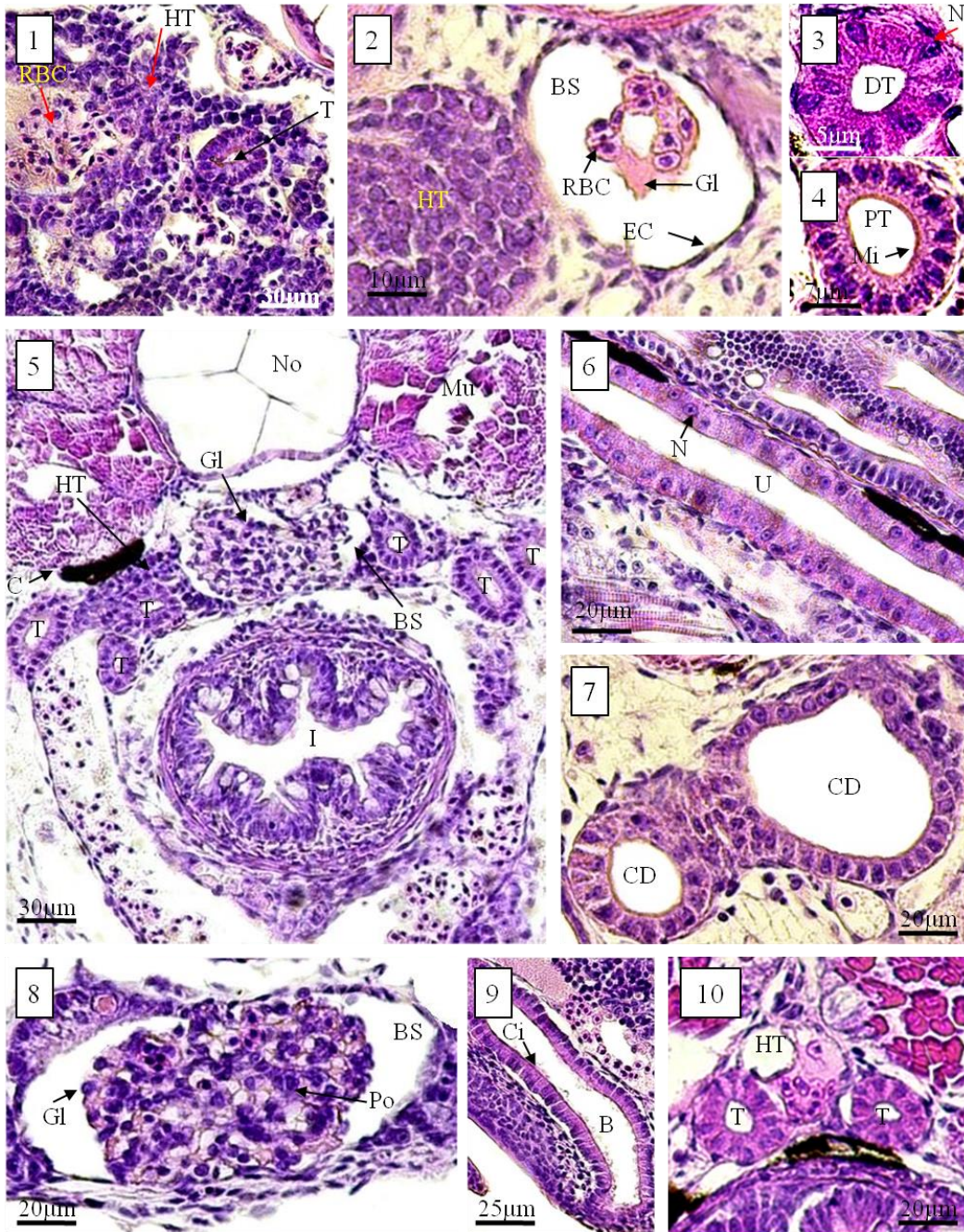
تصویر ۴-۲۵. ساختار شماتیک بافت کلیه در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید. در بخش راسی کلیه که از دو بخش مجزا تشکیل شده است توپول های کلیوی در کنار بافت هماتوپوئیتیک قرار دارند، در بخش تنه ی کلیه توپول های کلیوی و گلمرول ها دیده می شوند و پس از آن در بخش دمی کلیه دو میزنا ی امتداد یافته و به بخش مثانه مانند کوتاهی ختم می شوند و در پایان توسط منفذ ادراری به بیرون می ریزند.

HK: راس کلیه (Head Kidney); TK: تنه ی کلیه (Trunk Kidney); CK: کلیه دمی (Caudal Kidney).



تصویر ۴-۲۶. ساختار شماتیک یک نفرون کلیوی. بخش ابتدایی کلیه کپسول بومن است که دارای یک شبکه ی مویرگی به نام گلمرول می باشد، بخش توپولار کلیه (شامل قطعه ی گردنی، توپول پروکسیمال و توپول دیستال) پس از این بخش قرار گرفته و بخش پایانی نفرون مجرای جمع کننده ی ادرار می باشد. در بخش ابتدایی کلیه خون فیلتر شده و مواد از درون خون به لومن توپول ها وارد می شوند، در بخش میانی، ترشح و جذب مواد صورت می گیرد و در بخش پایانی ادرار نهایی تشکیل می گردد.

G: گلمرول (Glomerulus); P: پودوسیت (Podocyte); BC: کپسول بومن (Bowman's Capsule); RT: توپول کلیوی (Renal Tubule); PTC: مویرگ های اطراف توپولی (Peritubular Capillaries); CD: مجرای جمع کننده (Collecting Duct); U: ادرار (Urine).



**تصویر ۴-۲۷. بافت شناسی بافت کلیوی در لارو ماهی سفید.** در بخش ابتدایی بافت کلیوی تعداد اندکی توپول های اولیه پرونفروس وجود دارد که اطراف آنها را بافت هماتوپوئیتیک در بر گرفته است، و بطور کلی بخش راسی کلیه متشکل از بافت هماتوپوئیتیک یا خونساز می باشد (۱). کپسول های بومن در انتهای بخش راسی کلیه مشاهده می شوند جایی که بخش کوچکی از بافت هماتوپوئیتیک باقی مانده است، درون کپسول بومن کلاف مویرگی گلوبمرول قرار گرفته است که گلبول های قرمز خون درون آن قابل مشاهده هستند (۲). توپول های پروکسیمال که سلول های آن دارای لبه ی برسی یا میکروویلی هستند (۴) و توپول های دیستال که فاقد این لبه می باشند در بافت کلیه قابل تشخیص هستند (۳). در مقطع عرضی بدن بافت کلیوی در سطح شکمی نوتوکورد و در بالای لوله ی گوارش قرار گرفته است، این بافت در میانه ی بدن از کپسول های بومن بزرگی تشکیل شده است که شبیه به دو کپسول بومن به هم پیوسته می باشند و در دو سمت آنها توپول های کلیوی و نیز انتهای بافت هماتوپوئیتیک دیده می شود (۵). توپول های دیستال نهایتاً به مجاری جمع کننده متصل می شوند، این

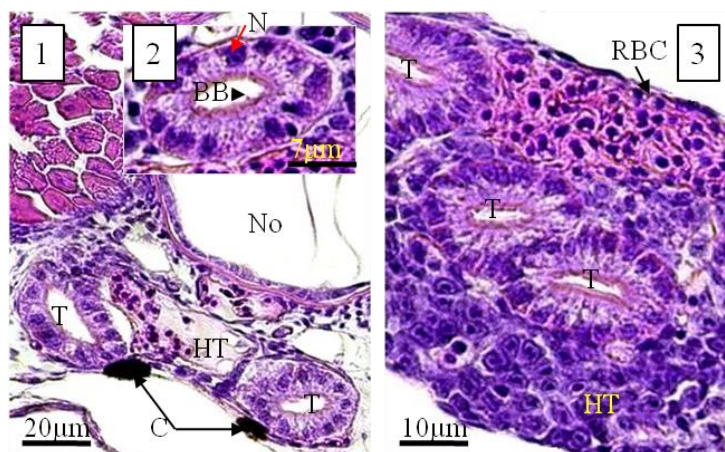
مجاری لومن فراخ داشته و اپی تلیوم آنها از سلول های مکعبی کوچک با هسته های مرکزی شکل گرفته است (۷). مجاری جمع کننده نیز به نوبه ی خود به میزنا ی متصل می شوند که در امتداد بدن و در زیر نوتوکورد به طرف انتهای بدن کشیده شده است، سلول های اپی تلیال میزنا ی عموماً مکعبی و کوچک بوده و دارای هسته های درشت قاعده ای می باشند، لومن این مجرا نسبتاً تنگ است (۶). نگاه نزدیکتری به کپسول بومن نشان می دهد که درون آن کلاف پیچ خورده ای از مویرگ ها وجود دارد که گلو مریول نامیده می شود، سلول های ویژه ای به نام پودوسیت این مویرگ ها را در بر گرفته اند، بین گلو مریول و سلول های اپیتلیومی کپسول بومن فضایی خالی وجود دارد که فضای بومن نامیده می شود (۸). میزنا ی ها در انتهای بدن به هم پیوسته و یک مجرای فراخ تر را تشکیل می دهند، سلول های این مجرا دارای مژک می باشند و به نظر می رسد که این بخش که نهایتاً توسط منفذی به بیرون باز می شود نقش مثانه را بر عهده دارد (۹). در تصویر (۱۰) تو بول های پرو نفرس در بخش راس کلیه در کنار بافت هماتوپوئیتیک دیده می شوند، در بخش ابتدایی کلیه تنها همین دو تو بول کلیوی دیده می شوند.

RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell); HT: بافت هماتوپوئیتیک (Heamatopoitic Tissue); T: تو بول کلیوی (Tubule); BS: فضای بومن (Bowman's Space); Gl: گلو مریول (Glomerulus); EC: سلول اپی تلیال (Epithelial Cell); DT: تو بول دیستال (Distal Tubule); N: هسته (Nucleus); PT: تو بول پروکسیمال (Proximal Tubule); Mi: میکروویلی (Microvilli); No: نوتوکورد (Notochord); Mu: عضله (Muscle); C: کروماتوفور (Chromatophore); I: روده (Intestine); U: میزنا ی (Ureter); CD: مجرای جمع کننده (Collecting Duct); Po: پودوسیت (Podocyte); Ci: مژک (Cillia); B: مثانه (Bladder).

#### ۴-۱-۱-۲-۴-۲- انتوزنی کلیه و سیستم دفع ادراری در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید

- روز اول

در روز اول پس از تفریخ کلیه ی پرو نفرس وجود دارد که از دو تو بول ابتدایی در بخش پشتی- بالایی تنه و در دو سمت پایینی نوتوکورد دیده می شوند (تصویر ۴-۲۸-۱). اپیتلیوم این تو بول ها از سلول های مکعبی ساده تشکیل شده است که در بخش راسی دارای میکروویلی های کوتاهی می باشند که یک حاشیه ی مسواکی را شکل می دهند (تصویر ۴-۲۸-۲). هیچگونه گلو مریولی در این مرحله دیده نمی شود. در اطراف این تو بول های ابتدایی بافت هماتوپوئیتیک قابل تشخیص می باشد (تصویر ۴-۲۸-۳).

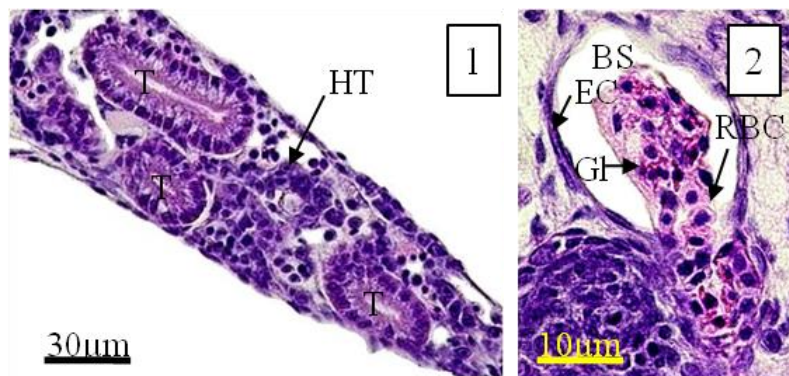


تصویر ۴-۲۸. بافت شناسی کلیه در لارو ماهی سفید در نخستین روز پس از تفریخ. در این روز در مقطع عرضی بدن بلافاصله پس از محافظه ی آبششی دو تو بول اولیه دیده می شود که سلول های اپی تلیال آنها از سلول های مکعبی نسبتاً بلندی تشکیل شده است که دارای هسته های قاعده ای بوده و لبه ی راسی آنها با داشتن میکروویلی تشکیل یک حاشیه ی

برسی را می دهد، در بین و اطراف این توبول های اولیه، بافت هماتوپوئیتیک قرار گرفته است (۱ و ۲). در مقطع طولی کلیه در این روز مقطع همین توبول ها قابل مشاهده است که توسط بافت هماتوپوئیتیک احاطه شده اند (۳).  
 N: هسته (Nucleus); BB: لبه ی برسی (Brush Border); T: توبول کلیوی (Tubule); No: نوتوکورد (Notochord); C: کروماتوفور (Chromatophore); RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell); HT: بافت هماتوپوئیتیک (Hematopoietic Tissue).

- روز دوم

پرونیفرس با تعداد اندک توبول همچنان در بخش قدامی تنه دیده می شود اما نسبت به روز اول بر تعداد توبول ها افزوده شده است (تصویر ۴-۲۹-۱). همچنان هیچگونه گلومرولی دیده نمی شود. اما یک ساختاری بسیار ابتدایی شبیه به گلومرول قابل مشاهده است (تصویر ۴-۲۹-۲). از سوی دیگر، علاوه بر افزایش تعداد توبول ها، بر میزان بافت هماتوپوئیتیک نیز بطور مشخصی افزوده شده است (تصویر ۴-۲۹-۱).



تصویر ۴-۲۹. بافت شناسی کلیه در لارو ماهی سفید در دومین روز پس از تفریح. در روز دوم پس از تفریح بر تعداد و اندازه ی توبول های اولیه ی پرونیفرسی و نیز بافت هماتوپوئیتیک راس کلیه افزوده شده است (۱). تعداد اندکی کپسول های بومن دارای گلومرول های کوچک دیده می شود (۲).

T: توبول کلیوی (Tubule); HT: بافت هماتوپوئیتیک (Hematopoietic Tissue); BS: فضای بومن (Bowman's Space); EC: سلول اپی تلیال (Epithelial Cell); GI: گلومرول (Glomerulus); RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell).

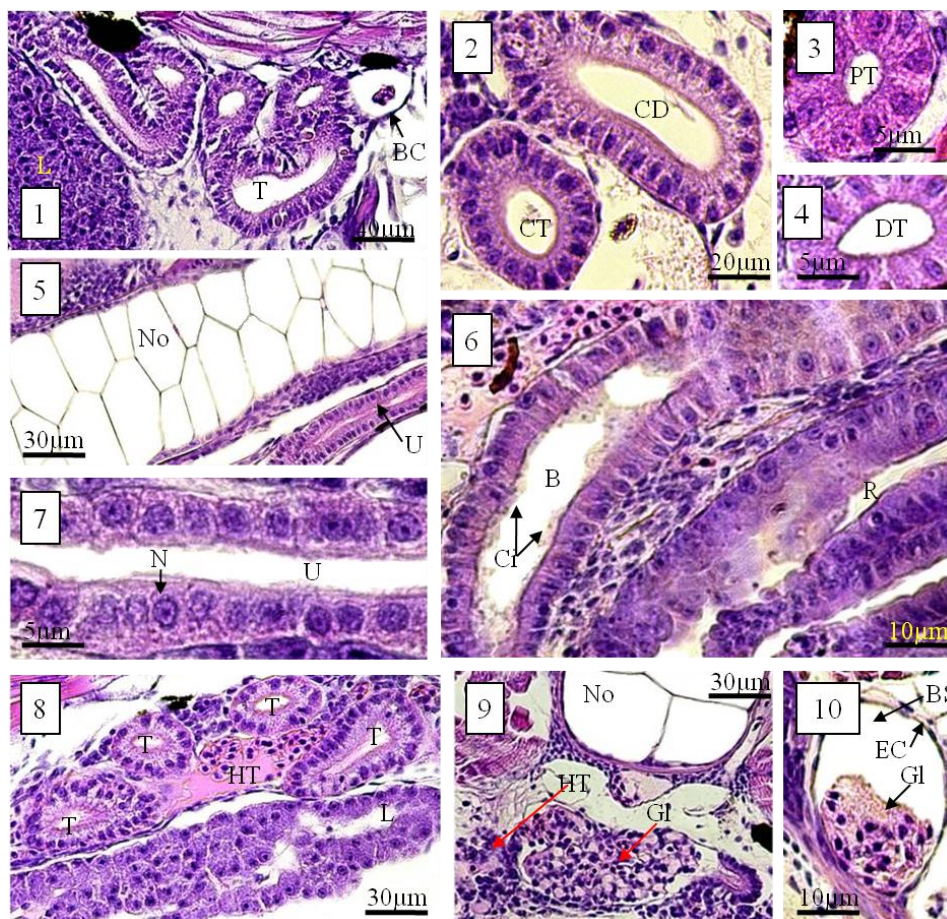
- روز سوم تا هفتم

پدیده ی مشخص روزهای سوم تا هفتم افزایش توبول های کلیوی و تشکیل گلومرول های کوچک در بخش ابتدایی بافت کلیه و نیز کشیدگی میزنا ی در بخش شکمی نخاع می باشد (تصویر ۴-۳۰-۱ و تصویر ۴-۳۰-۳). میزنا ی بطور مشخص از سلول های اپیتلیومی مکعبی ساده تشکیل شده است (تصویر ۴-۳۰-۷) و در بخش انتهایی اندکی متسع شده و دارای سلول های مکعبی تا استوانه ای می باشد که در بخش راسی خود دارای مژک می باشند و یک مئانه ی کوچک را بوجود می آورد (تصویر ۴-۳۰-۶) و منفذ خروج ادرار در کنار منفذ مخرج گشوده می شود (تصویر ۴-۳۰-۶).

در بخش ابتدایی کلیه ی پرونیفرس که تنها تعداد معدودی توبول کلیوی مشاهده می شود، توبول ها (پروکسیمال I) از سلول های مکعبی تشکیل شده اند که دارای هسته های درشت قاعده ای می باشند و مجرای لومن آنها بسیار تنگ است، لبه ی راسی این سلول ها دارای حاشیه ی مسواکی مشخصی می باشد

(تصویر ۴-۳۰-۳). اطراف این توبول ها را بافت هماتوپوئیتیک در بر گرفته است (تصویر ۴-۳۰-۸). گروه دوم توبول هایی که در این ناحیه دیده می شوند دارای مجرای لومن بزرگتری بوده ولی همچنان حاشیه ی مسواکی در لبه ی راسی سلول های آنها دیده می شود (پروکسیمال II) (تصویر ۴-۳۰-۱ و تصویر ۴-۳۰-۸).

کپسول های بومن اولیه ای که دیده می شود ساختاری بسیار ساده داشته و دیواره ی اصلی آن از یک لایه سلول سنگفرشی تشکیل شده است، کلاف مویرگی درون کپسول کوچک و ساده می باشد، هیچ قطعه ی گردنی در این کپسول بومن اولیه وجود ندارد. این کپسول های بومن اولیه که به تعداد اندک قابل مشاهده هستند در بخش ابتدایی کلیه اما بعد از بخش سر کلیه (شامل توبول های اولیه ی پرونفروس و بافت هماتوپوئیتیک) دیده می شوند، و بافت هماتوپوئیتیک اندکی در اطراف آنها باقی مانده است، در ابتدای بخشی که دارای کپسول های بومن می باشد این کپسول ها به شکل دو کپسول چسبیده به یکدیگر و در مرکز مقطع عرضی بدن قرار دارند اما در ادامه ی بافت کلیه در امتداد بدن، در دو سمت قاعده ی نوتوکورد دیده می شوند (تصویر ۴-۳۰-۱، تصویر ۴-۳۰-۹ و تصویر ۴-۳۰-۱۰).



تصویر ۴-۳۰. بافت شناسی کلیه در لارو ماهی سفید در روزهای سوم تا هفتم پس از تفریخ. در ادامه رشد لارو تعداد توبول های بخش راسی کلیه افزایش یافته و کپسول های بومن بخوبی دیده می شوند (۱). در تنه ی کلیه توبول های



پروکسیمال که دارای سلول های مکعبی با هسته های درشت قاعده ای هستند و لبه راسی سلول ها دارای حاشیه ی برسی است (۳)، توبول های دیستال که مشخص ترین تفاوت آنها با توبول های پروکسیمال نداشتن لبه ی برسی است (۴)، توبول جمع کننده و مجاری جمع کننده (۲) قابل تشخیص هستند. مجاری جمع کننده به میزنا ی متصل می شوند که در امتداد بدن و در زیر نخاع و سطح شکمی نوتوکورد کشیده شده است (۵). سلول های اپی تلیال میزنا ی مکعبی و کوتاه بوده و دارای هسته های درشت مرکزی هستند (۷). میزنا ی در نهایت به بک بخش متسع شده منتهی می گردد که دارای سلول های مکعبی بلند دارای هسته های قاعده ای می باشد که در بخش راسی برخی از آنها مژک وجود دارد و این بخش مثانه محسوب می شود که در نهایت توسط منفذی به بیرون باز می شود (۶). در بخش راسی کلیه توبول های کلیوی همچنان در کنار بافت هماتوپوئیتیک قابل مشاهده هستند (۸). در برش عرضی میانه ی بدن بافت کلیوی به شکل یکپارچه و در مرکز بدن دیده می شود، در مرکز این بافت کپسول های بومن بزرگی دیده می شود که شبیه به پیوسته شدن دو کپسول بومن به یکدیگر می باشند و در اطراف آنها بافت هماتوپوئیتیک و توبول های کلیوی قابل مشاهده هستند (۹). کپسول های بومن بخوبی قابل تشخیص بوده و شبکه ی گلومرولی درون آنها در اندازه های مختلف مشاهده می شود، در فاصله ی بین شبکه ی گلومرولی و دیواره ی کپسول بومن یک فضای خالی وجود دارد که فضای بومن نامیده می شود (۱۰).

T: توبول کلیوی (Tubule)؛ BC: کپسول بومن (Bowman's Capsule)؛ L: کبد (Liver)؛ CT: توبول جمع کننده (Collecting Tubule)؛ CD: مجرای جمع کننده (Collecting Duct)؛ PT: توبول پروکسیمال (Proximal Tubule)؛ DT: توبول دیستال (Distal Tubule)؛ No: نوتوکورد (Notochord)؛ U: میزنا ی (Ureter)؛ N: هسته (Nucleus)؛ B: مثانه (Bladder)؛ Ci: مژک (Cilia)؛ R: رکتوم (Rectum)؛ HT: بافت هماتوپوئیتیک (Hematopoietic Tissue)؛ GI: گلومرول (Glomerulus)؛ EC: سلول اپی تلیال (Epithelial Cell)؛ BS: فضای بومن (Bowman's Space).

#### ۴-۱-۱-۲-۵- بافت شناسی چشم در لارو ماهی سفید

بافت چشم، یکی از بافت هایی است که مراحل تکوین آن پیش از تفریح لارو، و در طی مراحل جنینی آغاز شده و در زمان تفریح لارو ساختاری عملکردی برای این اندام ایجاد نموده است. ساختار چشم در لارو ماهی سفید دریای خزر شامل چشم های گرد نسبتا بزرگ، با قرنیه ی صاف و فاقد پلک می باشد (تصویر ۴-۳۱-۱). هر چشم از سه لایه ی اصلی تشکیل شده است: لایه ی بیرونی یا طبقه ی فیبروزی (Fibrous corneoscleral coat) که خود شامل دو قسمت است، صلبیه (Sclera) که از بافت پیوندی تشکیل شده و در بخش جلو قرنیه ی شفاف (Cornea). لایه ی میانی یا طبقه ی عروقی- رنگدانه ای (Uvea or Vascular pigment coat)، این لایه علاوه بر تامین تغذیه ی بافت های چشم، وظیفه ی تطابق چشم با نور ورودی را نیز بر عهده دارد؛ و در نهایت لایه ی سوم یا داخلی که لایه ی حساس به نور یا شبکیه (Photosensitive retina) نامیده می شود. سایر بخش های اصلی چشم شامل مایع زجاجیه (Vitreous humor) و زلالیه (Aqueous humor) و نیز عدسی (Lense) می باشد. عدسی کاملا گرد بوده و در فضای مایع زلالیه و چسبیده به داخل قرنیه قرار گرفته است (تصویر ۴-۳۱-۱)، این وضعیت فراهم کننده ی میدان دید وسیعی می باشد. عدسی از یک بافت غیرمویرگی تشکیل شده است، سلول های تشکیل دهنده ی عدسی سلول های منشوری نسبتا کشیده ای هستند که بصورت منظم در کنار یکدیگر چیده شده اند. عدسی از بیرون با پوششی به نام کپسول عدسی احاطه شده است، این کپسول از جنس کربوهیدرات و گلیکوپروتئین است (تصویر ۴-۳۱-۳).

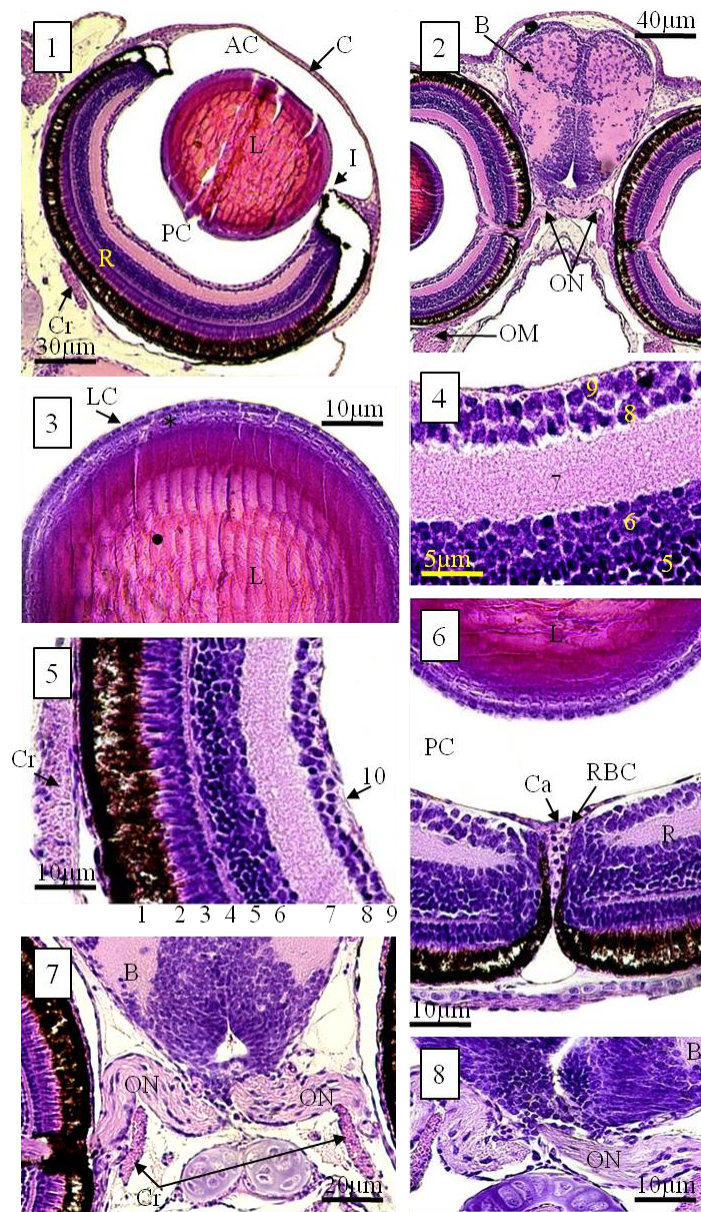
در لایه ی صلبیه-قرنیه، قرنیه از اپیتلیوم سنگفرشی فاقد رنگدانه، یک غشای پایه ی ساده و اندوتلیوم نازکی تشکیل شده است. اپیتلیوم قرنیه چندلایه بوده و در ادامه ی پوست سر کشیده شده است. دیواره ی بخش پشتی کره ی چشم از صلبیه ی فیبروبلاستیک ضخیم تشکیل شده است که دنباله ی غشای بخش قرنیه می باشد. در حالی که قرنیه فاقد رنگدانه و در نتیجه شفاف است، صلبیه غیرانعکاسی بوده و توسط لایه ای بیرونی از غضروف شفاف (Hyaline cartilage) پوشیده شده است (تصویر ۴-۳۱-۱ و تصویر ۴-۳۱-۲).

لایه ی میانی چشم از مشیمیه (Choroid) و عنبیه (Iris) تشکیل شده است. شبکه ی مویرگی مشیمیه عصب بینایی را در بر گرفته است و از نظر مویرگی بسیار توسعه یافته و شبکه ی رته میرابلی را ایجاد می کند. این اندام جهت تامین اکسیژن مورد نیاز شبکه فعالیت می کند. عنبیه ادامه ی بافت مشیمیه می باشد، این بخش بصورت لایه ی نازکی در بخش جلویی عدسی قرار گرفته است (تصویر ۴-۳۱-۱).

لایه ی شبکیه خود از ۱۰ لایه ی مشخص تشکیل شده است: (۱) لایه ی پیگمان دار یا رنگدانه ای (Pigment epithelium)، که نزدیک ترین لایه به مشیمیه می باشد، این لایه از یک طبقه سلول شش ضلعی پیگمان دار تشکیل شده است، (۲) بخش کشیده ی راس سلول های مخروطی و استوانه ای (Rods and cones)، این طبقه متشکل از سیتوپلاسم بدون هسته ی سلول های استوانه ای و مخروطی است، (۳) لایه ی غشای محدودکننده ی خارجی (outer limiting membrane)، این لایه عبارت است از انتهای خارجی سلول های نوروگلی و به رشته ی مولر (Fibers of muller) نیز نامیده می شود، (۴) لایه ی هسته دار خارجی حاوی جسم سلولی و هسته های فتورسپتورها (outer nuclear zone)، این طبقه حاوی تقریباً پنج تا شش ردیف هسته است. هسته های خارجی مربوط به سلول های مخروطی و هسته های داخلی مربوط به سلول های استوانه ای می باشند، (۵) لایه ی مشبک خارجی (outer plexiform layer)، یک ناحیه ی صورتی رنگ یکنواخت می باشد، در این طبقه اکسون سلول های استوانه ای و مخروطی با دندریت سلول های دوقطبی و سلول های افقی سیناپس برقرار می کند، (۶) لایه ی هسته دار داخلی (inner nuclear layer) که از سلول های دوقطبی تشکیل شده است، در این طبقه هسته ی سلول های دوقطبی گانگلیونی و هسته ی سلول های آماکرین و هسته ی سلول های نوروگلی به نام سلول های مولر قرار دارند، (۷) لایه ی مشبک داخلی (inner plexiform layer)، ناحیه ی صورتی یکنواختی است که در آن بین اکسون سلول های گانگلیونی دوقطبی و دندریت سلول های گانگلیونی چندقطبی سیناپس حاصل می شود، (۸) لایه ی هسته دار سلول های گانگلیونی (nuclear of ganglion cell layer) که پیام را از سلول های دوقطبی و فیبرهای فرستنده ی پیام دریافت می کند، در این لایه سلول های چندقطبی گانگلیونی به اندازه های مختلف قرار دارند، این سلول ها چون با اکسون خود رشته های عصب بینایی را تشکیل می دهند به سلول های عصب بینایی (optic nerve cells) نیز موسوم اند، (۹) لایه ی رشته ی عصبی (nerve fiber layer) که در طول عصب بینایی به سمت مغز قرار گرفته است، این لایه عبارت است از رشته هایی که اکسون بدون میلین سلول های گانگلیونی چندقطبی هستند، (۱۰) لایه ی غشای محدودکننده ی داخلی (inner limiting membrane) که از استتاله های سلول های گلیال تشکیل شده است. و محل اختتام رشته های سلول های مولر می باشد (تصویر ۴-۳۱-۴، تصویر ۴-۳۱-۵ و تصویر ۴-۳۲).

محور بینایی چشم از محلی می گذرد که در آنجا شبکیه فشرده شده و چاله ی کوچکی (fovea) ایجاد می نماید. این ناحیه به علت اینکه پیگمان زرد دارد به نام کانون زرد (macula lutea) نامیده می شود. کانون زرد حساس ترین و فعال ترین ناحیه ی حساس به نور شبکیه می باشد، اما رشته های عصبی آوران که از شبکیه می آیند به هم نزدیک شده (optic papilla) تا عصب بینایی (optic nerve) را تشکیل دهند. در محلی که عصب بینایی چشم را ترک می کند، شبکیه فاقد فتورسپتور است و لذا پاپیلای بینایی یا نقطه ی کور (blind spot or optic papilla) نامیده می شود (تصویر ۴-۳۱-۶ و تصویر ۴-۳۲-۶).

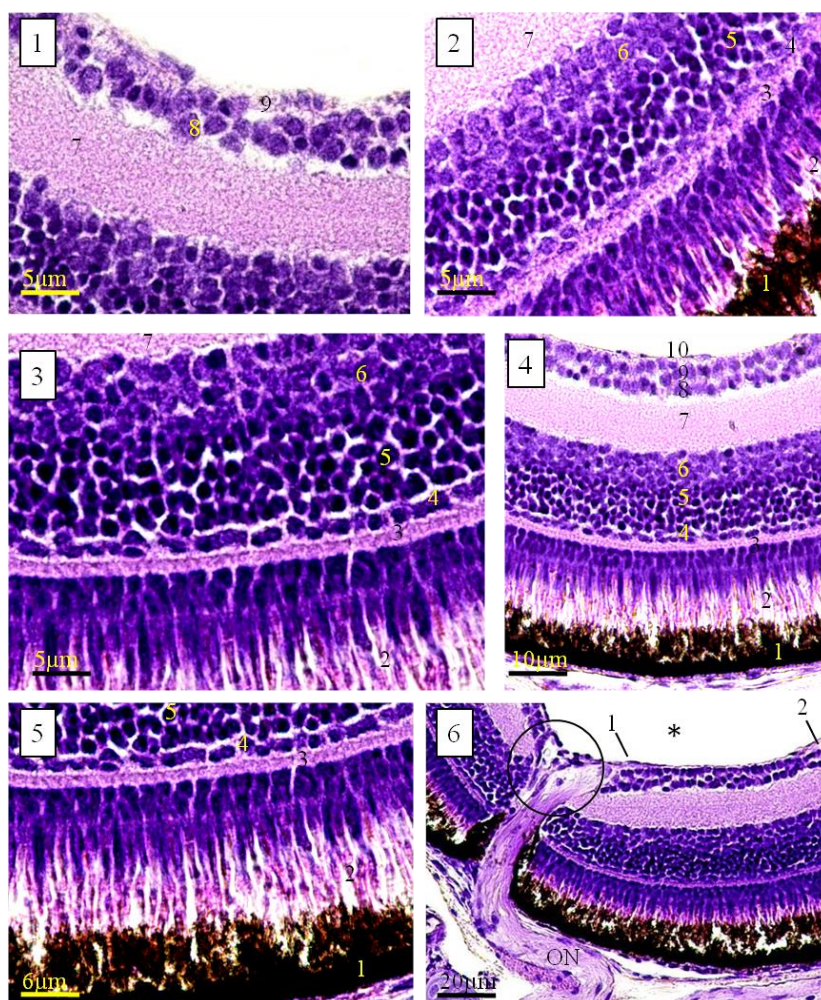
عصب بینایی مشابه شبکیه، در حقیقت قسمتی از دستگاه اعصاب مرکزی است، در وسط عصب بینایی شریان مرکزی (central artery) و در کنار آن ورید مرکزی (central vein) قرار دارد. دیگر بخش های قابل مشاهده در عصب بینایی شامل تیغه های از نرم شامه (pial septa)، رشته های عصبی میلین دار و هسته های سلول های نوروگلیا می باشد (تصویر ۴-۳۲-۶).



**تصویر ۴-۳۱. بافت شناسی چشم در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید.** چشم کروی شکل بوده و متشکل از اتاق جلویی حاوی مایع زلالیه، اتاق پشتی حاوی مایع زجاجیه، عدسی کروی شکل، عنبیه، بخش سلول های گیرنده ی بینایی در شبکیه و نیز شبکه ی رته در پشت کره ی چشم تشکیل شده است (۱). از هر چشم یک عصب بینایی خارج شده و به لوب های بینایی مغز وارد می شود (۲). عدسی گرد و شفاف بوده و توسط کیسول عدسی در بر گرفته شده است، عدسی از سلول های زنده تشکیل شده است که در دو گروه تقسیم بندی می شوند: سلول های کوتاهی که به سمت مایع زلالیه قرار گرفته اند (\*) و سلول های بلند و کشیده ای که به سمت مایع زجاجیه قرار می گیرند (•)، عدسی فاقد هرگونه مویرگ خونی می باشد (۳). شبکیه که وظیفه ی اصلی دریافت نور را برعهده دارد از لایه های مختلف سلولی تشکیل شده است (۵)، این لایه ها شامل: (۱) اپی تلیوم پیگمان دار یا رنگدانه ای، (۲) لایه ی فتورسپتور (زوائد سلول های مخروطی و استوانه ای)، (۳) غشای محدودکننده ی خارجی، (۴) لایه ی هسته دار خارجی (حاوی هسته های فتورسپتورها)، (۵) لایه ی شبکه ای خارجی، (۶) لایه ی هسته دار داخلی، (۷) لایه ی شبکه ای داخلی، (۸) لایه ی سلول های گانگلیونی، (۹) لایه ی اکسون های سلول های گانگلیونی که تشکیل دهنده ی عصب بینایی هستند (لایه ی رشته های عصبی)، و (۱۰) غشای محدود کننده ی داخلی می

باشند. نمای نزدیک تری از لایه های ۵-۹ در تصویر (۴) نشان داده شده است. درست در پشت عدسی و در مرکز شبکیه محل ورود و خروج عصب بینایی و مویرگ های خونی می باشد، این ناحیه که نقطه ی کور نامیده می شود نقشی در تشکیل تصویر ندارد (۶). در کنار محل خروج عصب بینایی از چشم، شبکه ی رته وجود دارد که وظیفه ی آن اکسیژن رسانی بیشتر به چشم می باشد (۷). عصب بینایی از رشته های عصبی پوشیده از میلینی تشکیل شده است که به فاصله اندکی بعد از خروج از چشم به مغز وارد می شود.

C: قرنیه (Cornea); AC: اتاق جلویی (Anterior Chamber); PC: اتاق پشتی (Posterior Chamber); I: عنبیه (Iris); Cr: شبکه ی رته (Choroid rete); B: مغز (Brain); ON: عصب بینایی (Optic Nerve); OM: عضله ی بینایی (Optic Muscle); LC: کپسول عدسی (Lens Capsule); L: عدسی (Lens); Ca: مویرگ (Capillary); RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell).



**تصویر ۴-۳۲. بافت شناسی شبکیه چشم در لارو ماهی سفید.** نمای نزدیک لایه های مختلف شبکیه چشم (۱-۵) شامل لایه های (۱) اپی تلیوم پیگمان دار یا رنگدانه ای، (۲) لایه ی فتورسپتور (زوائد سلول های مخروطی و استوانه ای)، (۳) غشای محدودکننده ی خارجی، (۴) لایه ی هسته دار خارجی (حاوی هسته های فتورسپتورها)، (۵) لایه ی شبکه ای خارجی، (۶) لایه ی هسته دار داخلی، (۷) لایه ی شبکه ای داخلی، (۸) لایه ی سلول های گانگلیونی، (۹) لایه ی اکسون های سلول های گانگلیونی که تشکیل دهنده ی عصب بینایی هستند (لایه ی رشته های عصبی)، و (۱۰) غشای محدود کننده ی داخلی. ناحیه ی پشتی چشم (۶) شامل فیبرهای آوران (شماره ۱) از سلول های گانگلیونی (شماره ۲) از چشم خارج شده و عصب بینایی را تشکیل می دهند. علامت \* نشان دهنده ی اتاق پشتی حاوی مایع زجاجیه است. حلقه ی مشکی در تصویر نشان دهنده ی

دیسک بینایی (یا پاپیلای بینایی) است که محل خروج عصب بینایی است و نقطه‌ی کور نامیده می‌شود و در آن ناحیه هیچگونه فتورسپتوری وجود ندارد.  
ON. عصب بینایی (Optic Nerve).

#### ۴-۱-۱-۲-۶- بافت شناسی سیستم عصبی در لارو ماهی سفید

سیستم عصبی از دو بخش اصلی تشکیل شده است: سیستم عصبی مرکزی (central nervous system or CNS) و سیستم عصبی محیطی (Peripheral nervous system or PNS). سیستم عصبی مرکزی از مغز و نخاع، و سیستم عصبی محیطی متشکل از تمامی اعصاب جمجمه‌ای و نخاعی و ریشه‌ها و گانگلیون‌های آنها می‌باشد.

##### - سیستم عصبی مرکزی

مغز که در حقیقت بخش برجسته‌ی ابتدای نخاع می‌باشد از سه بخش اساسی تشکیل شده است: مغز قدامی یا پروزن سفالون (Prosencephalon)، مغز میانی یا مزن سفالون (Mesencephalon) و مغز خلفی یا رومبن سفالون (Rombencephalon). مغز قدامی، خود به دو بخش تالن سفالون و دین سفالون تقسیم می‌شود. بنابراین پنج زیربخش ساختمان مغز به ترتیب شامل: تالن سفالون، دین سفالون، مزن سفالون، متن سفالون و میلن سفالون می‌باشند.

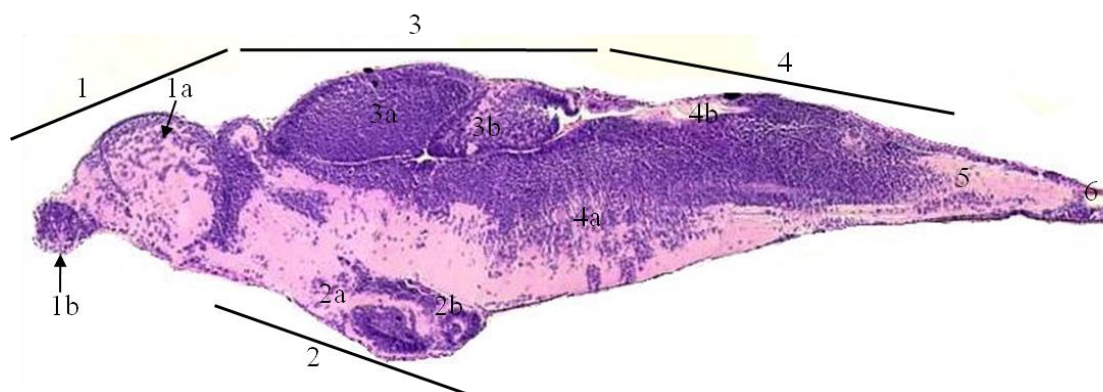
تالن سفالون (telencephalon) شامل لوب‌های بویایی (olfactory lobes) و نیمکره‌های مغزی (cerebral hemispheres)، دین سفالون (diencephalon) شامل اپی تالاموس، تالاموس و هیپوتالاموس، مزن سفالون (mesencephalon) شامل لوب‌های بینایی (optic lobes) و تگمنتوم (tegmentum)، متن سفالون (metencephalon) شامل مخچه (cerebellum)، و میلن سفالون (myelencephalon) شامل بصل النخاع (medulla oblongata). بصل النخاع در انتها پهن شده و نخاع (spinal cord) را بوجود می‌آورد (تصویر ۴-۳۳). در بخش مرکزی نخاع کانال باریکی قابل مشاهده است که ادامه‌ی بخش عقبی سیستم بطنی مغز می‌باشد (تصویر ۴-۳۴-۳ و تصویر ۴-۳۴-۴). تالن سفالون نسبت به همین بخش در مغز پستانداران کاهش یافته است و از لوب‌های بویایی و نیمکره‌های مغزی (مخ یا Cerebrum) تشکیل شده است (تصویر ۴-۳۳). بخش دین سفالون یا مغز میانی به دو بخش اپی تالاموس پستی که ایجاد کننده‌ی غده‌ی پینه‌آل، گانگلیون هابنولار (habenular ganglion) و خود تالاموس است، و بخش دوم هیپوتالاموس که در موقعیت شکمی قرار گرفته است. مزن سفالون بزرگ بوده و توسط لایه‌های تکتوم بینایی (optic tectum) پوشیده می‌شود، و در بخش زیرین آن تگمنتوم (tegmentum) وجود دارد (تصویر ۴-۳۳). تکتوم بینایی بخش اساسی انتهای اکسون‌های سلول‌های گانگلیونی است. تکتوم بینایی از نظر ظاهر کلی به دو لوب بینایی تقسیم شده و ظاهر لایه‌لایه‌ای دارد (تصویر ۴-۳۳).

مخچه مهم‌ترین بخش پستی متن سفالون است. نقش این بخش، تنظیم هماهنگی بین پاسخ‌های حرکتی است، همانطور که در سایر مهره‌داران دیده می‌شود. مخچه بخوبی توسعه یافته است. بصل النخاع (medulla oblongata) بخش اساسی تشکیل دهنده‌ی مغز عقبی بوده و در بخش دمی (caudal) آن نخاع

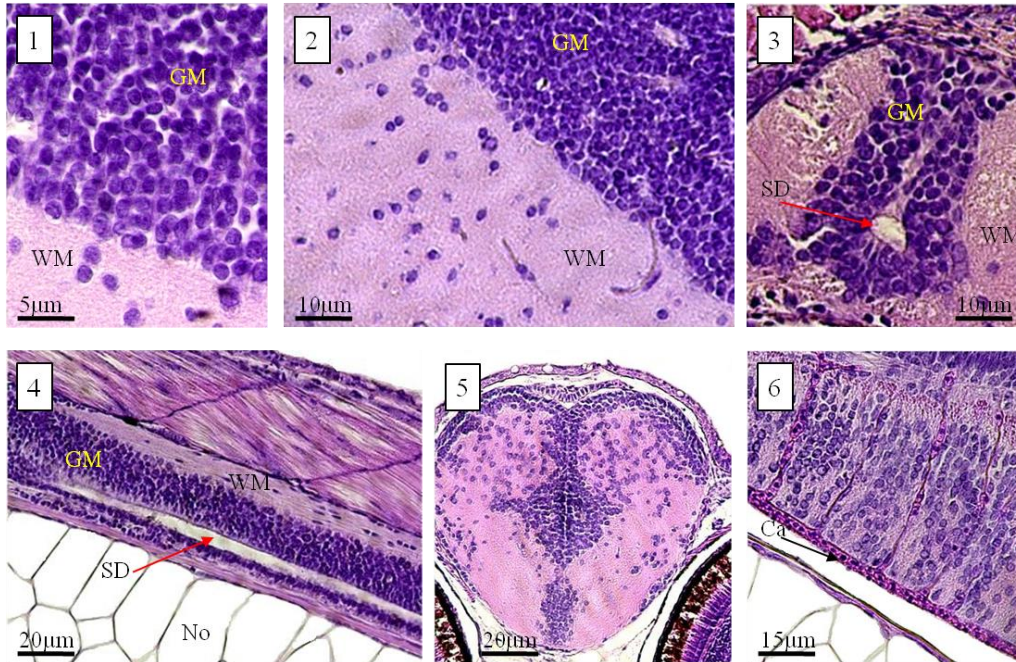
شکل می گیرد. این بخش حاوی هسته ی برخی از اعصاب مغزی (۵ تا ۱۰) و محل اصلی شکل گیری سیستم ماتنر (Mauthnerian system) می باشد، این سیستم یک سیستم توسعه یافته ی عصبی ماهیچه ای در ماهیان تلئوست می باشد. تحریک سلول های ماتنر موجب ایجاد حرکت سریع و پر قدرت دم در هنگام ترس و فرار ماهی می شود.

در نخاع (spinal cord)، ماده ی خاکستری تفاوت زیادی با آنچه در مهره داران عالی تر دیده می شود دارد، در این بخش شاخ های ماده ی خاکستری بسیار به هم نزدیک می باشند به شکلی که ماده ی سفید در بین آنها به سختی دیده می شود و ماده ی خاکستری به شکل حرف Y با لبه های برگشته دیده می شود (تصویر ۴-۳۴-۵).

نورون ها و سلول های نوروگلیا بخش سلولی مغز و نخاع را تشکیل می دهند. اکسون های میلین دار این نورون ها بوجود آورنده ی ماده ی سفید در مغز و نخاع و جسم سلولی و هسته های این نورون ها تشکیل دهنده ی ماده ی خاکستری در سیستم عصبی می باشند (تصویر ۴-۳۴-۱ تا ۳). مویرگ های بسیار ظریفی در مغز دیده می شود که خونرسانی به بافت عصبی را برعهده دارند (تصویر ۴-۳۴-۶).



**تصویر ۴-۳۳. ساختمان کلی مغز در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید.** ساختمان کلی مغز در لارو سفید از بخش پوزه ای (سمت چپ) تا بخش دمی مغز (راست) نشان داده شده است. مغز بطور کلی از ۵ بخش تشکیل شده است: ۱) تالن سفالن یا مخ؛ بخش جلویی مغز بوده و خود شامل دو نیمکره ی مخ (1a) و یک جفت لوب های بویایی (1b) است؛ ۲) دین سفالن، خود به دو بخش پشتی اپی تالاموس و یک تالاموس (2a) و یک هیپوتالاموس در سطح شکمی (2b) می باشد، این بخش همچنین دارای زوائد دیگری مانند غده پینه آل، غده هیپوفیز و ... می باشد؛ ۳) مزن سفالن شامل لوب های بینایی در سطح پشتی (3a: نکتوم بینایی) و تگمنتوم (3b) در سطح شکمی می باشد؛ ۴) متن سفالن شامل مخچه ی دارای والولاسربلی (4a) و کورپوس سربلی (4b) می باشد؛ ۵) بصل النخاع بخش پایانی مغز بوده و پس از آن (۶) نخاع به سمت انتهای بدن امتداد می یابد.



**تصویر ۴-۳۴. بافت شناسی سیستم عصبی در لارو ماهی سفید.** ماده ی سفید در مغز متشکل از رشته های عصبی میلین دار می باشد و تعداد اندکی جسم سلولی در آن دیده می شود و ماده ی خاکستری متشکل از جسم سلولی نوروها می باشد (۱ و ۲). در مرکز مقطع عرضی نخاع منغذی وجود دارد که مقطع مجرای سیلویوس می باشد (۳). مقطع طولی نخاع، ماده ی سفید و خاکستری و مجرای سیلویوس را نشان می دهد که در سطح پشتی نوتوکورد قرار گرفته است (۴). مقطع عرضی نخاع ماده ی خاکستری نخاع را نشان می دهد که به شکل حرف Y با لبه های برگشته است (۵). مویرگ های مغزی مویرگ های بسیار ظریفی بوده که وظیفه ی خونرسانی به مغز را برعهده دارند (۶).

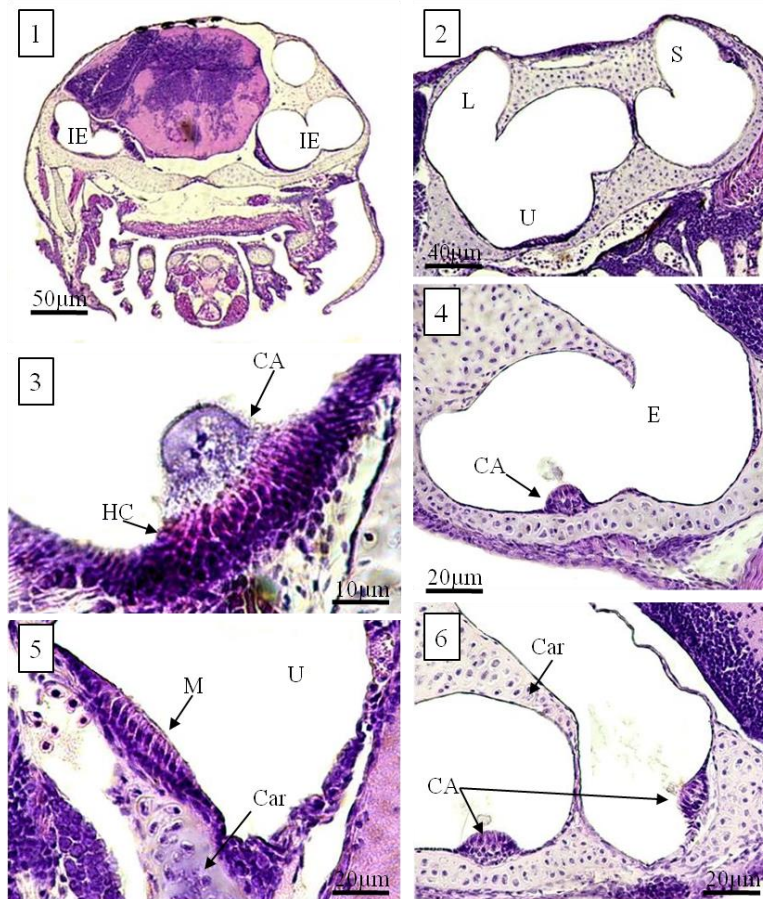
WM: ماده ی سفید (White Matter); GM: ماده خاکستری (Grey Matter); SD: مجرای سیلویوس (Silvius Duct); No: نوتوکورد (Notochord); Ca: مویرگ (Capillary).

#### ۴-۱-۱-۲-۷- اندام های حسی

##### ۴-۱-۱-۲-۷-۱- گوش داخلی

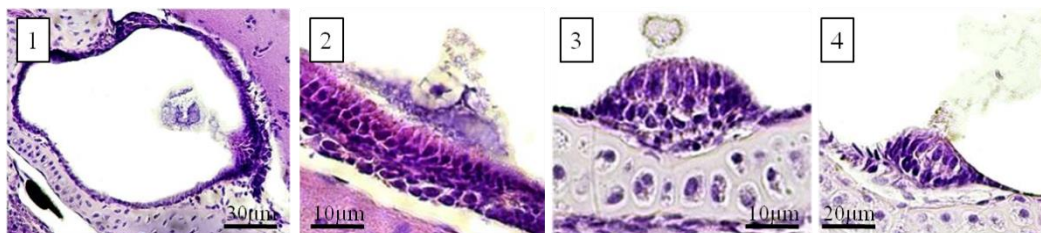
گوش داخلی از سه کانال نیم دایره ای (یکی افقی و دوتای دیگر عمودی) و سه محفظه ای اتولیتی به نام های اوتریکول (utricle)، ساکول (sacculus) و لاگنا (lagena) تشکیل شده است. در کانال های نیم دایره ای که توسط اپی تلیوم ساده ی سنگفرشی پوشیده شده اند، برجستگی های موضعی به نام آمپول وجود دارد که دربرگیرنده ی ساختارهایی حسی به نام کریستائامپولاریس (cristae ampullaris) می باشد (تصویر ۳۵-۴ و تصویر ۳۶-۴).





تصویر ۴-۳۵. بافت شناسی گوش داخلی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید. گوش داخلی از فضاها و مجاری نیمدایره ای تشکیل شده است که در سه جهت عمود بر هم قرار گرفته اند که اوتریکول، ساکول و لاگنا نامیده می شوند. تمام این مجاری توسط مایع اندولنف پر شده اند و اطراف آنها توسط غضروف محافظت می شود (۱ و ۲). ماکولا بخشی از اپی تلیوم درون مجرا بوده که دارای سلول های حسی تخصص یافته است و به صدا، جاذبه و سرعت خطی ماهی حساسیت نشان می دهند (۵). کریستآمپولاریس بخش برجسته ای از اپی تلیوم گوش داخلی است، این بخش توسط اپی تلیوم عصبی پوشیده شده است که دارای سلولهای مویی و سلول های محافظ است (۳، ۴ و ۶).

IE: گوش داخلی (Inner Ear); U: اوتریکول (Utriculus); L: لاگنا (Lagena); S: ساکول (Sacculus); CA: کریستآمپولاریس (Crista Ampularis); HC: سلول مویی (Hair Cell); E: اندولنف (Endolymph); M: ماکولا (Macula); Car: غضروف (Cartilage).



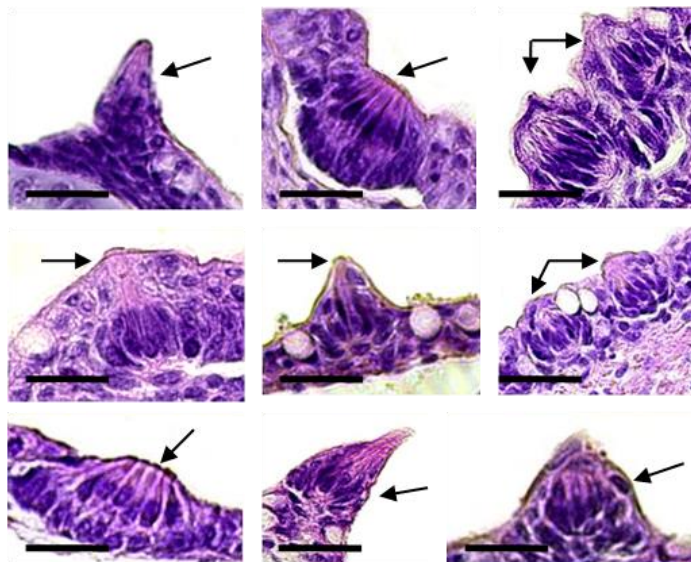
تصویر ۴-۳۶. نمای نزدیک تر از اپی تلیوم حسی در گوش داخلی. اپی تلیوم حسی در گوش داخلی از سلول های عصبی تخصص یافته و مزک داری تشکیل شده است که سلول های مویی نامیده می شوند و در تماس با مایع اندولنف می باشند. این سلول ها دریافت کننده ی حرکات و ارتعاشات می باشند.

#### ۴-۱-۱-۲-۷-۲- سیستم چشایی و بویایی

درک تفاوت میان بویایی (olfaction) و چشایی (gustation) در محیط آبی آسان نیست. این امر پذیرفته شده است که بویایی دریافت محرک از فاصله ی دورتر و چشایی درک پیام بصورت تماس نزدیک است، اما در ماهیان این امکان وجود دارد که اندام های چشایی به محرکی از راه دور پاسخ دهند. اما در هر حال از آنجایی که بویدن و چشیدن، هر دو، نیازمند برخورد ماده ی شیمیایی حل شده و سلول های گیرنده است، این دو بخش درحقیقت دو بخش نسبتا مشابه از یک سیستم گیرنده ی حس شیمیایی می باشند.

#### - جوانه های چشایی

جوانه های چشایی محدود به بخش خاصی نبوده و علاوه بر محفظه ی دهانی، در محفظه ی آبششی، بر روی کمان های آبششی، و ... دیده می شوند. جوانه های چشایی عموما بیضی شکل یا پیازی شکل بوده و ارتفاعی بین ۱۰-۳۰ میکرومتر و پهنايي معادل ۱۰-۴۰ میکرومتر دارند، محور اصلی آنها بصورت عمودی به سمت بالای اپی تلیوم کشیده شده است. جوانه های چشایی حاوی سلول های گیرنده چشایی (gustatory cell) دارای میکروویلی های راسی می باشند که توسط اعصاب مغزی ۷، ۹ و ۱۰ عصب دهی می شوند. این سلول های حسی در طول کل جوانه ی چشایی کشیده شده اند (تصویر ۴-۳۷).

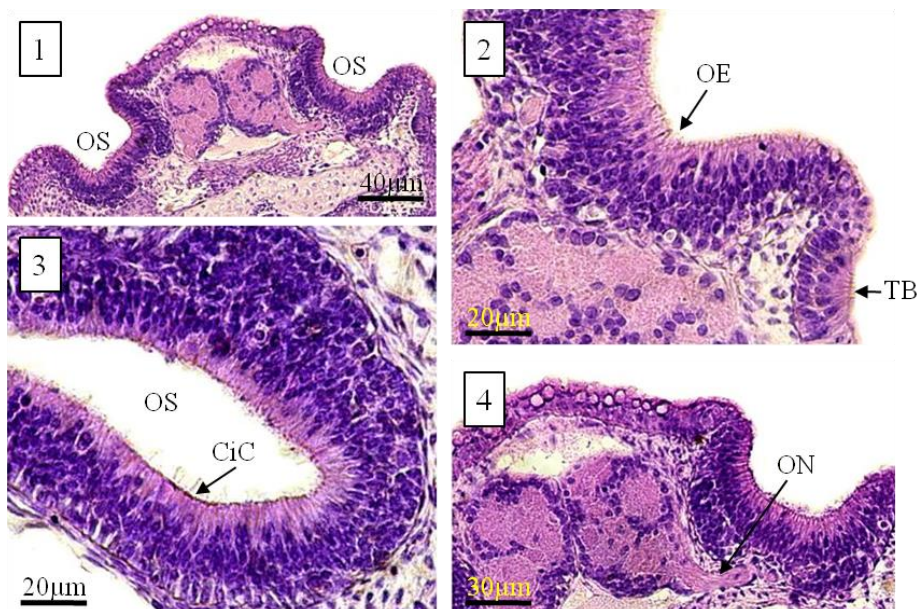


تصویر ۴-۳۷. انواع جوانه های چشایی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید. جوانه های چشایی بر روی پوست بخش قدامی بدن بویژه سر و اطراف دهان، محفظه ی آبششی، بر روی کمان های آبششی، درون محوطه ی دهانی، حلقی و مری دیده می شوند. این جوانه ها بصورت تکی و یا دو به دو در کنار هم دیده می شوند، پیازی شکل، گنبدی شکل و یا نوک تیز و کشیده می باشند. (خط مقیاس معادل ۱۰ میکرومتر)

#### - سیستم بویایی

اندام بویایی به شکل دو حفره در بخش فوقانی پوزه در جلوی سر دیده می شود که دارای یک فرورفتگی می باشند، از هر حفره ی بویایی یک عصب بویایی مستقیما به مغز می رود (تصویر ۴-۳۸ و تصویر ۴-۳۸۴).

اپیتلیوم بویایی حاوی تعداد زیادی سلول گیرنده ی بویایی می باشد. علاوه بر سلول های گیرنده، سلول های غیرگیرنده ای نیز در این اپیتلیوم وجود دارد که مژک دار و یا غیرمژک دار بوده و چسبیده به غشای پایه دیده می شوند. سلول های غیرحسی این اپیتلیوم استوانه ای شکل بوده و مژک های متحرک آنها جهت تهویه ی فضای بویایی مورد استفاده قرار می گیرند. سلول های حسی بویایی نیز استوانه ای شکل بوده که یا دارای مژک های راسی و یا دارای تعداد زیادی میکروویلی می باشند. این سلول های حسی توسط سلول های کمکی (supporting cell) از یکدیگر جدا شده اند. در نزدیکی کیسه های بویایی، تعدادی جوانه های چشایی نیز دیده می شوند (تصویر ۴-۳۸).



تصویر ۴-۳۸. بافت شناسی سیستم بویایی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید. کیسه های بویایی در سطح فوقانی پوزه و به شکل دو فرورفتگی ساده هستند (۱). این کیسه ها توسط اپی تلیوم حسی بویایی پوشیده شده اند و در مجاورت آنها جوانه های چشایی نیز دیده می شود (۲). سلول های حسی اپی تلیوم بویایی سلول های مژک دار هستند (۳). از هر کیسه ی بویایی یک عصب بویایی خارج شده و به مغز می رود (۴).  
 OS: کیسه بویایی (Olfactory Sac); OE: اپی تلیوم بویایی (Olfactory Epithelium); TB: جوانه چشایی (Taste Bud); CiC: سلول مژک دار (Ciliary Cell); ON: عصب بویایی (Olfactory Nerve).

#### ۴-۱-۱-۳- مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در لارو ماهی سفید

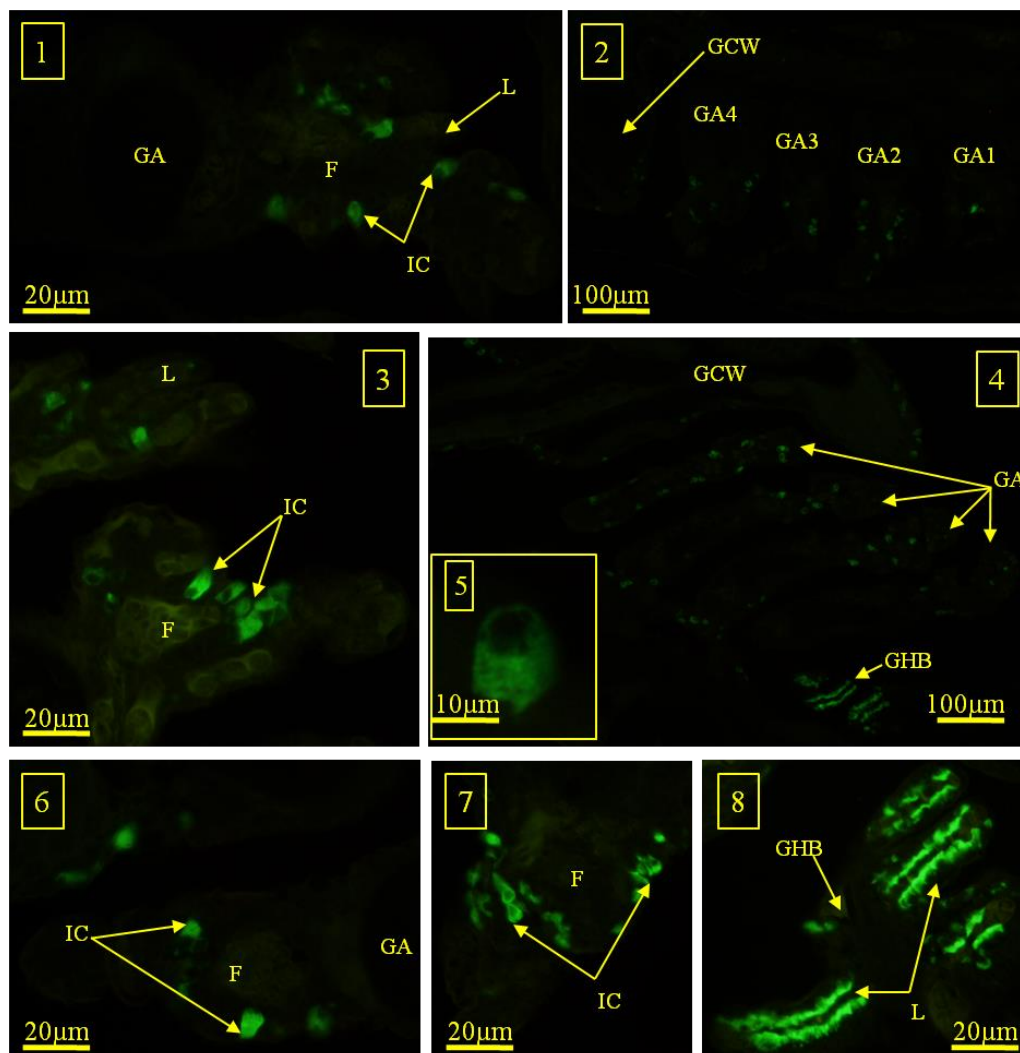
بطور کلی سلول هایی که دارای فعالیت ایمنیایی باشند در آبشش (برروی کمان آبششی، بر روی فیلامنت ها و درون محفظه ی آبششی)، همی برانش، پوست ( بویژه در بخش عقبی بدن)، دستگاه گوارش (بویژه در بخش انتهایی)، کلیه ها (توبول های پروکسیمال، دیستال، جمع کننده و میزنای)، اپیتلیوم گوش داخلی، چشم و سیستم عصبی یافت شدند، که در اینجا به توضیح جزئیات آنها می پردازیم.

#### ۴-۱-۱-۳-۱- مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در آبشش لارو تازه تفریخ یافته

##### ی ماهی سفید

یونوسیت ها دارای دانسیته بالایی از آنزیم  $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$  در غشای سلولی و شبکه اندوپلاسمی خود می باشند. مکان یابی این آنزیم توسط آنتی کور IgG $\alpha_5$  به این صورت است که ابتدا این آنتی بادی به زیر واحد  $\alpha$  پمپ متصل می شود و پس از آن آنتی بادی دوم (FITC)، که دارای ویژگی فلورسانس می باشد به آن متصل شده در زیر نور فلورسنت هر کجا تراکم این آنزیم بالا باشد بصورت رنگ سبز فلورسنت دیده می شود.

مطالعات ایمونوهیستوشیمی نشان داد که یونوسیت های آبششی بر روی دیواره ی محفظه ی آبششی (تصویر ۴-۳۹-۴)، بر روی کمان آبششی (تصویر ۴-۳۹-۴، ۴-۳۹-۴ و ۶-۳۹-۴ و ۸-۳۹-۴)، بر روی فیلامنت ها (تصویر ۴-۳۰-۴-۱، تصویر ۴-۳۹-۲، تصویر ۴-۳۹-۳، تصویر ۴-۳۹-۴، تصویر ۴-۳۹-۴ و تصویر ۶-۳۹-۴ و تصویر ۴-۳۹-۷) و در پایه ی لاملاها (تصویر ۴-۳۹-۱)، و همی برانش آبششی (تصویر ۴-۳۹-۴ و تصویر ۸-۳۹-۴) وجود دارند. از نظر ظاهری اغلب این سلول های گرد تا تخم مرغی شکل بوده و بیشترین میزان فلورسنت را در غشاهای قاعده ای- جانبی آنها می توان مشاهده کرد (شکل ۴-۳۹-۵).



تصویر ۴-۳۹. مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در بافت آبششی لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید. یونوسیت های آبششی که در تصویر به رنگ سبز درخشان دیده می شوند بر روی کمان های آبششی، رشته های آبششی و دیواره ی محفظه ی آبششی و همی برانش آبششی دیده می شوند (۲ و ۴). سلول های یونوسیت آبششی بصورت پراکنده بر روی رشته های آبششی و در پایه ی تیغه های آبششی دیده می شوند (۱، ۳، ۶ و ۷). بر روی تیغه های آبششی همی برانش آبششی نیز فلورسنت بسیار شدیدی دیده می شود که در طول تیغه بوده و بیشتر در غشای قاعده ای سلول ها دیده می شود (۸). بطور کلی در یونوسیت های آبششی که عموماً مخروطی شکل یا تخم مرغی شکل هستند بیشترین میزان فلورسنت در غشای قاعده ای - جانبی سلول ها دیده می شود (۵).

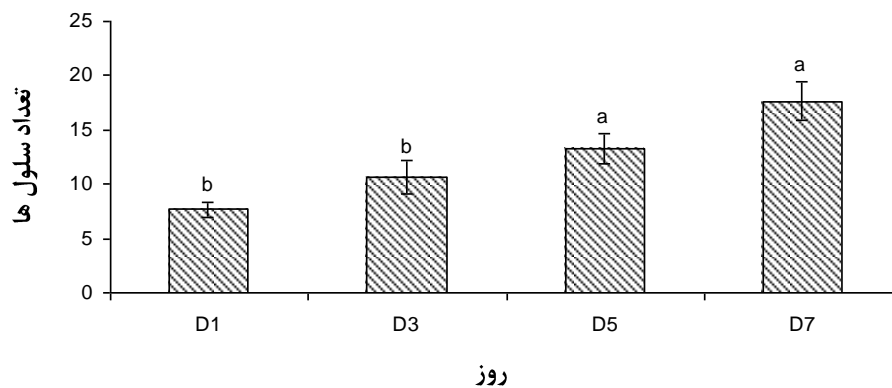
GA: کمان آبششی (Gill Arch); GCW: دیواره ی محفظه ی آبششی (Gill Cavity Wall); F: رشته ی آبششی (Filament); L: تیغه ی آبششی (Lamellae); IC: یونوسیت (Ionocyte); GHB: همی برانش آبششی (Gill Hemibranch); AP: بخش راسی (Apical).

#### ۴-۱-۱-۳-۲- شمارش و اندازه گیری یونوسیت های آبششی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی

##### سفید

شمارش یونوسیت های آبششی توسط نرم افزار Image Tool نشان داد که در هر میلی مترمربع از بافت آبششی حدوداً ۳۵۱ یونوسیت وجود دارد. مقایسه میانگین تعداد یونوسیت ها نشان می دهد که از روز ابتدای تفریخ تا روز هفتم، این تعداد روندی افزایشی دارد (نمودار ۴-۳).

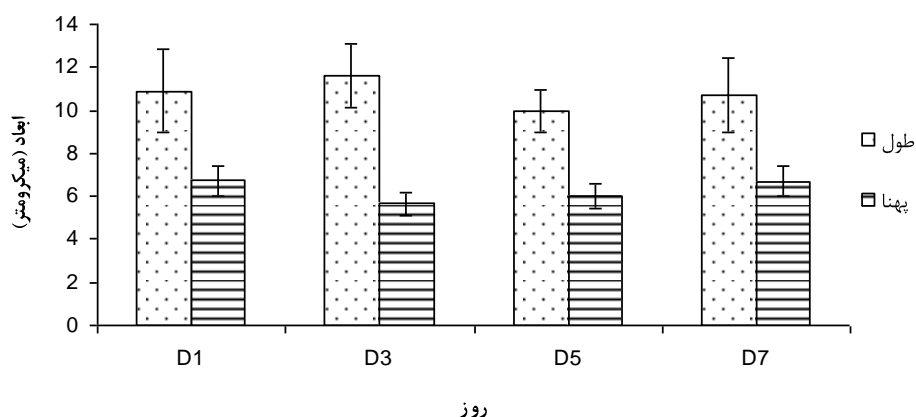
تعداد سلول های یونوسیت آبششی در لارو ماهی سفید



نمودار ۴-۳. میانگین تعداد یونوسیت های آبششی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در طول دوره ی مطالعه. تعداد یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید با افزایش رشد بدن افزایش می یابد. میانگین تعداد این سلول ها در روزهای پایانی دوره مطالعه بطور معنی داری بیشتر از میانگین تعداد این سلول ها در روزهای آغازین می باشد.

همچنین اندازه گیری یونوسیت های آبششی نشان داد که میانگین طول این سلول ها در (بیشترین ارتفاع) ۱۰/۷۹ و میانگین پهنای این سلول ها ۶/۲۷ میکرون می باشد. مقایسه ی میانگین طول و عرض یونوسیت ها در طول هفت روز آزمایش نشان داد که ابعاد سلول های یونوسیت آبششی در طی روزهای آغازین پس از تفریخ تفاوت های اندکی را نشان می دهد (نمودار ۴-۴).

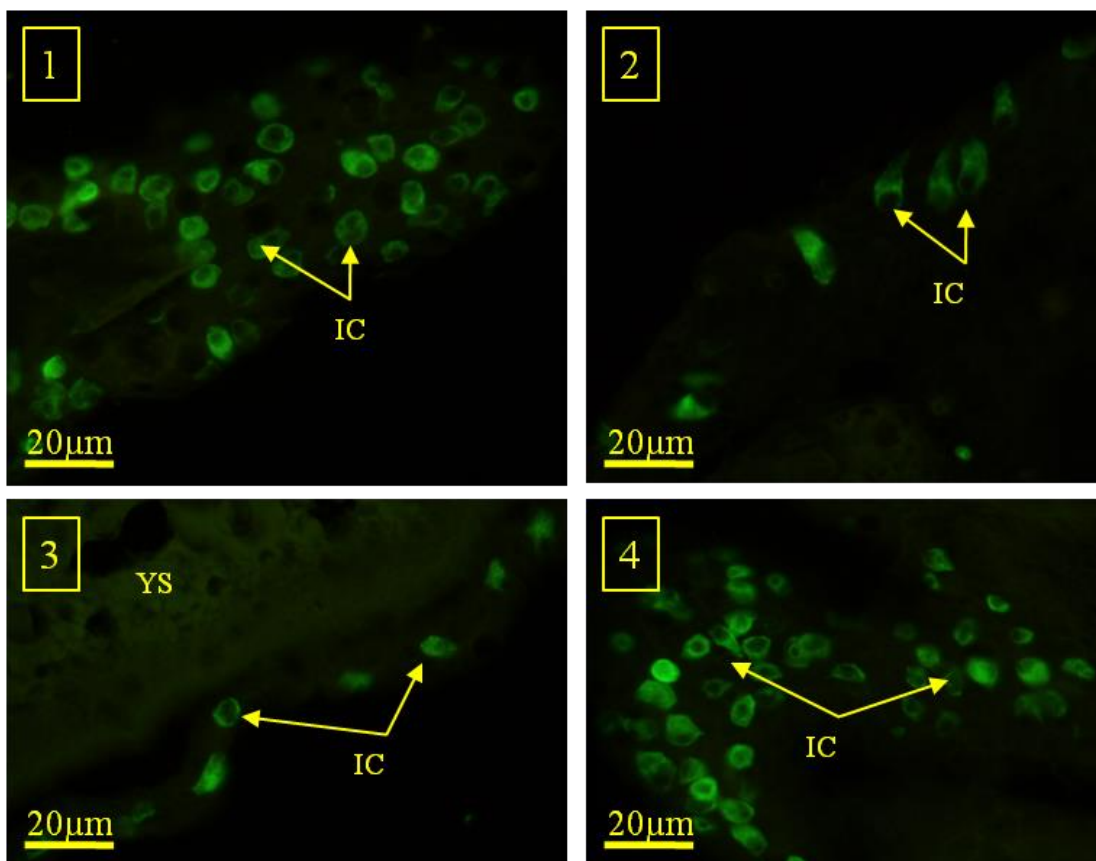
ابعاد سلول های یونوسیت آبششی در لارو ماهی سفید



نمودار ۴-۴. ابعاد یونوسیت های آبششی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در طول دوره ی مطالعه. ابعاد سلول های یونوسیت آبششی در طی روزهای آغازین پس از تفریخ تفاوت های اندکی را نشان می دهد.

#### ۴-۱-۱-۳- مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در پوست لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید

یونوسیت های پوستی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در تمامی بخش های بدن، بویژه در بخش انتهایی بدن بوفور مشاهده گردیدند. این سلول ها از نظر ظاهری گرد، بیضی و یا جامی شکل (گلابی شکل) بوده و بیشترین میزان فلورسنت در غشاهای قاعده ای جانبی آنها دیده می شود. یونوسیت های پوستی بر روی پوست سر (بجز نزدیک دهان)، پشت بدن، انتهای بدن و روی کیسه ی زرده در سطح شکمی مشاهده گردیدند (تصویر ۴-۴۰).



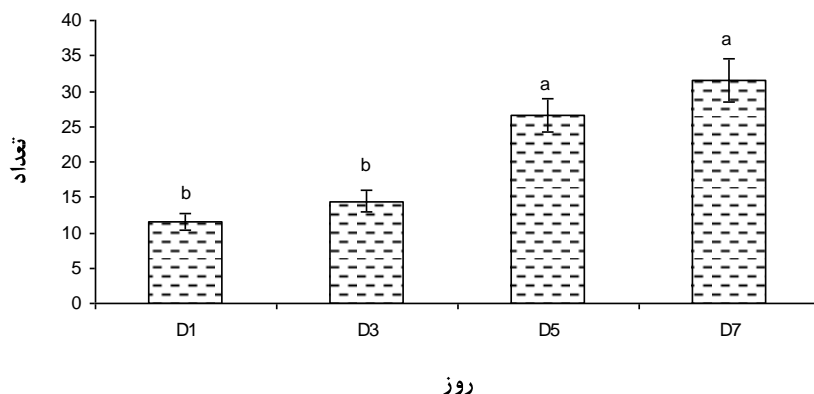
تصویر ۴-۴. مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در بافت پوست لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید. یونوسیت های پوستی به رنگ سبز درخشان و به اشکال گرد، بیضی و تخم مرغی در پوست بخش های مختلف بدن بویژه در بخش انتهای بدن (۱ و ۴) مشاهده گردیدند. این سلول ها بر روی سطح پشتی بدن بزرگتر بوده و کشیده تر می باشند (۲). تعداد کمتری یونوسیت پوستی بر روی کیسه ی زرده و در بخش شکمی مشاهده گردید (۳).  
 IC: یونوسیت (Ionocyte); YS: کیسه زرده (Yolk Sac).

#### ۴-۱-۱-۳-۴- شمارش و اندازه گیری یونوسیت های پوستی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید

شمارش یونوسیت های پوستی لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید نشان داد که در هر میلی متر مربع از سطح بافت پوست ۶۱۱ سلول یونوسیت وجود دارد. مقایسه ی تعداد سلول های یونوسیت پوستی در طی هفت روز مطالعه نشان می دهد که تعداد این سلول ها روندی افزایشی دارد، این روند افزایشی در روزهای پایانی مطالعه (روز ۵ و روز ۷) نسبت به روزهای ابتدایی (روز ۱ و روز ۳) از نظر آماری معنی دار می باشد.



#### تعداد یونوسیت های پوستی در لارو ماهی سفید



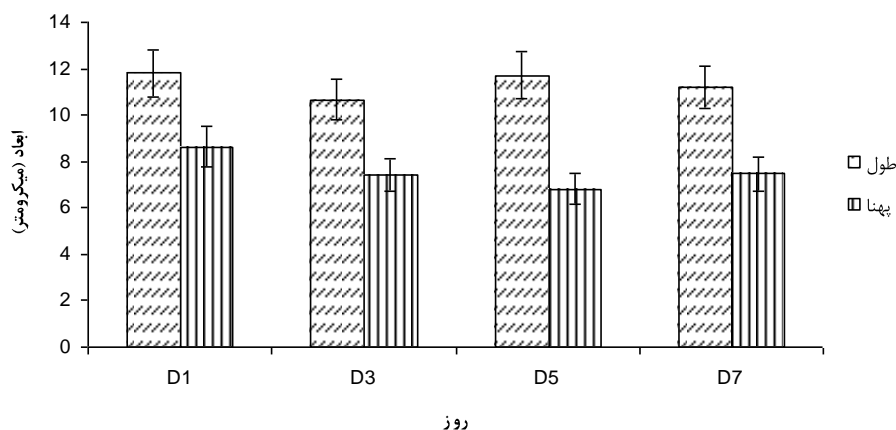
نمودار ۴-۵. میانگین تعداد یونوسیت های پوستی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در طول دوره ی مطالعه. تعداد یونوسیت های پوستی لارو ماهی سفید با افزایش رشد بدن تا روز هفتم مطالعه افزایش می یابد. تعداد این سلول ها در روزهای پایانی (۵ و ۷) نسبت به روزهای ابتدا (۱ و ۳) بطور معنی داری افزایش یافته است.

بررسی ابعاد یونوسیت های پوستی در طول دوره ی مطالعه نشان داد که ابعاد این سلول ها در این دوره تغییرات بسیار اندکی دارد (نمودار ۴-۶).

اندازه گیری یونوسیت های پوستی نشان داد که میانگین طول این سلول ها (بیشترین ارتفاع) ۱۱/۳۵ و میانگین پهنای این سلول ها ۷/۵۷ میکرون می باشد. مقایسه ی میانگین طول و عرض یونوسیت ها در طول هفت روز آزمایش با یونوسیت های آبششی نشان داد که یونوسیت های پوستی از یونوسیت های آبششی درشت تر هستند اما از نظر آماری مقادیر اندازه های آنها معنی دار نیست (نمودار ۴-۸).

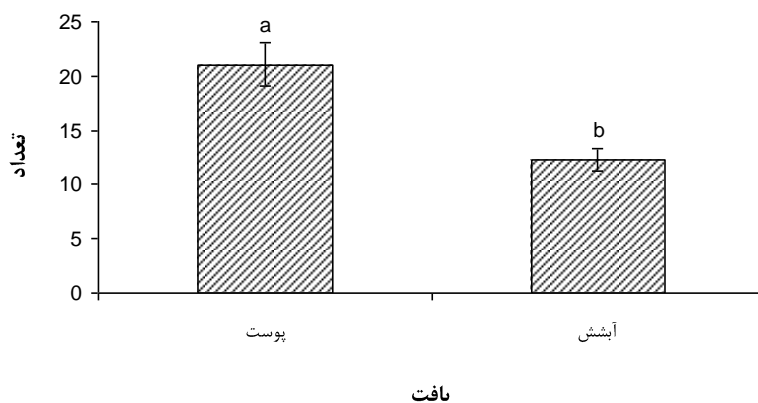
از سوی دیگر مقایسه ی تعداد این سلول ها در بافت پوست و آبشش لارو ماهی سفید نشان داد که یونوسیت های پوستی دارای تعداد بیشتری نسبت به بافت آبششی می باشند (نمودار ۴-۷)، این امر نشان می دهد که در لارو ماهی سفید در ابتدای دوره ی زندگی پس از تفریخ نقش اصلی تنظیم اسمزی و یونی بر عهده ی یونوسیت های پوستی می باشد.

ابعاد سلول های یونوسیت پوستی در لارو ماهی سفید



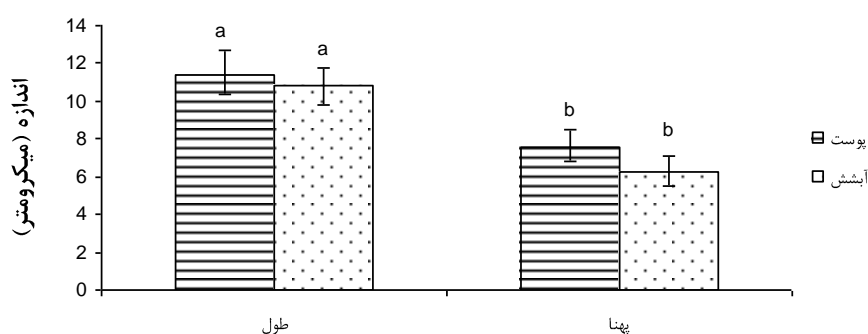
نمودار ۴-۶. ابعاد یونوسیت های پوستی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در طول دوره ی مطالعه. یونوسیت های پوستی لارو ماهی سفید از نظر اندازه در طی روزهای آغازین پس از تفریخ تفاوت های اندکی را نشان می دهند.

تعداد یونوسیت های آبششی و پوستی در لارو ماهی سفید



نمودار ۴-۷. مقایسه ی میانگین کل تعداد یونوسیت های آبششی و پوستی در لارو ماهی سفید. یونوسیت های پوستی در لارو ماهی سفید تازه تفریخ یافته بطور معنی داری بیشتر از یونوسیت های آبششی می باشند.

ابعاد یونوسیت های آبششی و پوستی در لارو ماهی سفید

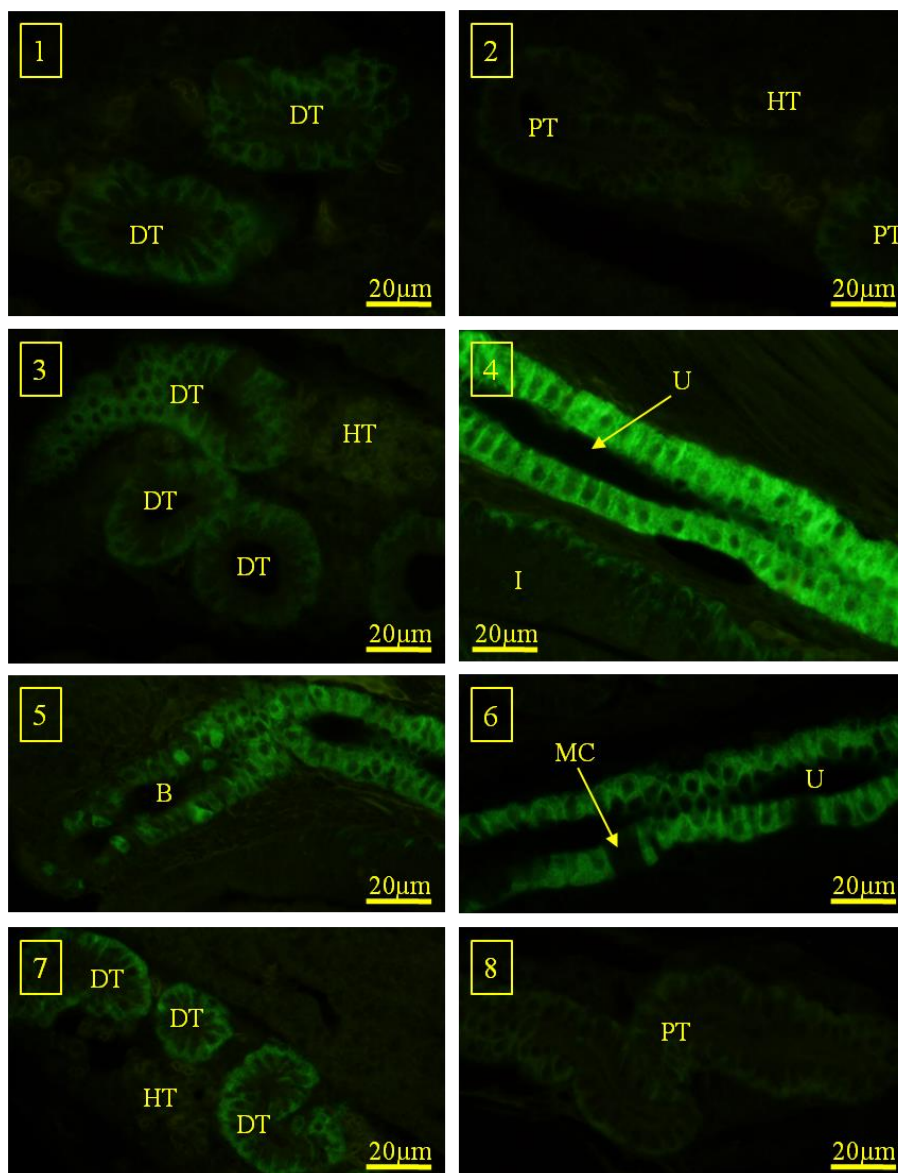


ابعاد

نمودار ۴-۸. مقایسه ی ابعاد یونوسیت های آبششی و پوستی در لارو ماهی سفید. نتایج اندازه گیری ابعاد یونوسیت ها در لارو ماهی سفید نشان می دهد که این یونوسیت های پوستی بزرگتر از یونوسیت های آبششی هستند، این تفاوت از نظر آماری معنی دار نمی باشد.

#### ۴-۱-۱-۳-۵- مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در کلیه لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید

مکان یابی آنزیم NKA در بافت کلیه ی لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید نشان داد که توپول های پروکسیمال در بخشهای قاعده ای خود دارای ایمونوفلورسانس ضعیفی می باشند (تصویر ۴-۴۱-۲ و تصویر ۴-۴۱-۸). ایمونوفلورسانس قوی تری نسبت به توپول های پروکسیمال، در توپول های دیستال دیده می شود به نحوی که علاوه بر بخش های قاعده ای سلول ها، بخش های جانبی آنها نیز دارای درخشش فلورسانس می باشند (تصویر ۴-۴۱-۱، تصویر ۴-۴۱-۳ و تصویر ۴-۴۱-۷). بیشترین فلورسانسی که در ساختمان کلیه دیده می شود در بخش انتهایی کلیه و در میزنا می باشد که تقریباً در تمامی طول آن همه ی سلول ها دارای درخشش بسیار زیاد در بخش های جانبی و قاعده ای خود می باشند. البته در بخش های ابتدایی میزنا سلول های فاقد فلورسانس بصورت پراکنده دیده می شود که همان سلول های موکوسی می باشند، اما این سلول های تاریک در بخش انتهایی میزنا دیده نمی شوند و تمامی سلول های بخش انتهایی میزنا دارای درخشش فلورسانس بسیار زیاد می باشند (تصویر ۴-۴۱-۶). در مثانه نیز تقریباً تمامی سلول های اپی تلیالی دارای ایمونوفلورسانس بسیار قوی هستند و در نزدیکی منفذ ادراری این سلول ها کاهش می یابند (تصویر ۴-۴۱-۵). هیچگونه ایمونوفلورسانسی در گلومرول و کپسول بومن دیده نمی شود، بافت هماتوپوئیتیک کلیه نیز فاقد ایمونوفلورسانس بوده و تنها اتوفلورسانس گلبول های قرمز مشاهده می شود که به رنگ زرد می باشد (تصویر ۴-۴۱-۳).

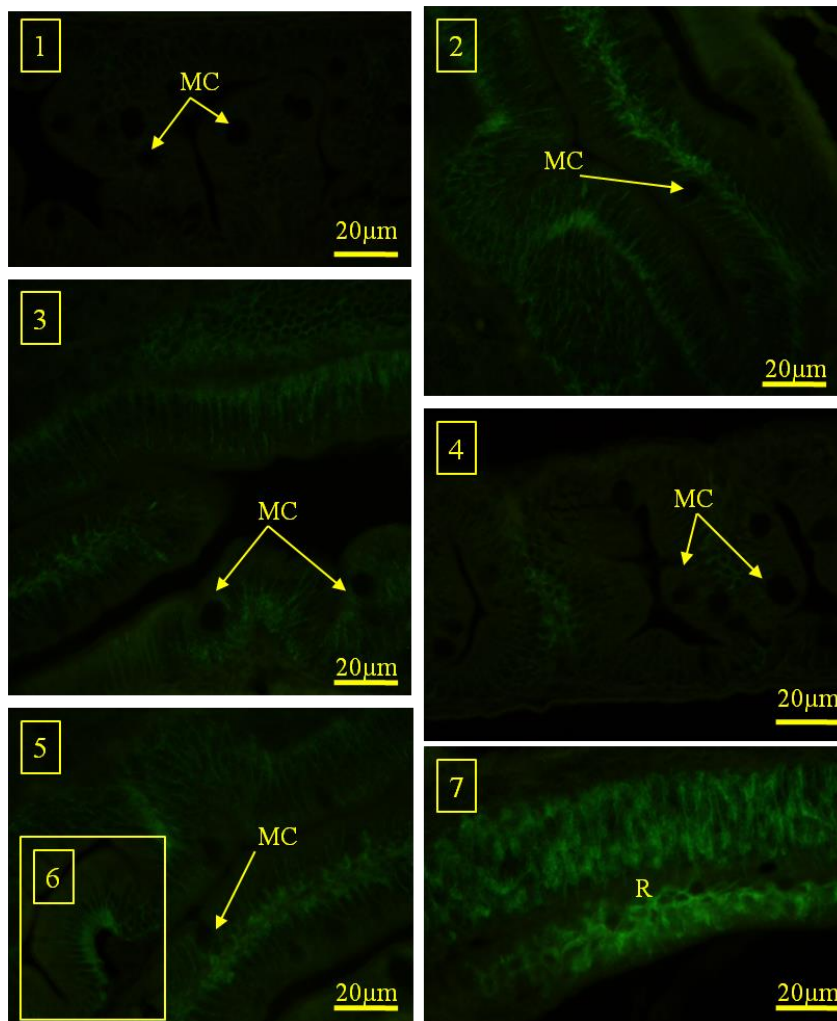


تصویر ۴-۴۱. مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در کلیه ی لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید. در توبول های پروکسیمال ایمونوفلورسانس ضعیفی در غشای قاعده ای سلول های اپی تلیال دیده می شود (۲ و ۸). اما در توبول های دیستال ایمونوفلورسانس بیشتر بوده و علاوه بر غشای قاعده ای در غشاهای جانبی دیده می شود (۱، ۳ و ۷). میزنا ی دارای ایمونوفلورسانس بسیار قوی در طول بخش ابتدایی می باشد که علاوه بر سلول های اپی تلیالی آن سلول های موکوسی نیز دیده می شوند که به دلیل اینکه فاقد فعالیت فلورسانس می باشند بصورت تاریک مشاهده می شوند (۶). سلول های اپی تلیال میزنا ی در بخش انتهایی بصورت یکپارچه دارای فعالیت ایمنیایی می باشند (۴). سلول های اپی تلیال مثانه نیز دارای ایمونوفلورسانس می باشند اما در انتها و نزدیک به منفذ ادراری بصورت پراکنده سلول های دارای ایمونوفلورسانس مشاهده می شود (۵). در بافت هماتوپوئیتیک راس کلیه که دارای گلبول های قرمز می باشد اتوفلورسانس به رنگ زرد روشن مشاهده می شود (۳).

PT: توبول پروکسیمال (Proximal Tubule); DT: توبول دیستال (Distal Tubule); HT: بافت هماتوپوئیتیک (Hematopoietic Tissue); U: میزنا ی (Ureter); MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); B: مثانه (Bladder); I: روده (Ionocyte).

۴-۱-۱-۳-۶- مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در دستگاه گوارش لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید

در دستگاه گوارش لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید بجز در بخش محفظه ی دهانی- حلقی، در طول روده، بجز در بخش ابتدایی، ایمونوفلورسانس نسبتا ضعیف، اما مداومی دیده می شود (تصویر ۴-۴۲-۱ تا -۶). میزان حضور سلول هایی که دارای خاصیت ایمونوفلورسانس می باشند در دستگاه گوارش، در بخش های پایانی روده افزایش می یابد. این فلورسانس عمدتا در بخش قاعده ای سلول ها و بصورت لایه ی بسیار ظریفی دیده می شود. و در نهایت در بخش پایانی دستگاه گوارش و نزدیک به مخرج به اوج خود رسیده و بیشترین میزان فلورسانس در این بخش دیده می شود (تصویر ۴-۴۲-۷). در طول روده سلول های موکوسی که فاقد فعالیت ایمونوفلورسانس می باشند بصورت سلول های تاریک مشاهده می شوند (تصویر ۴-۴۲-۱ تا -۶).



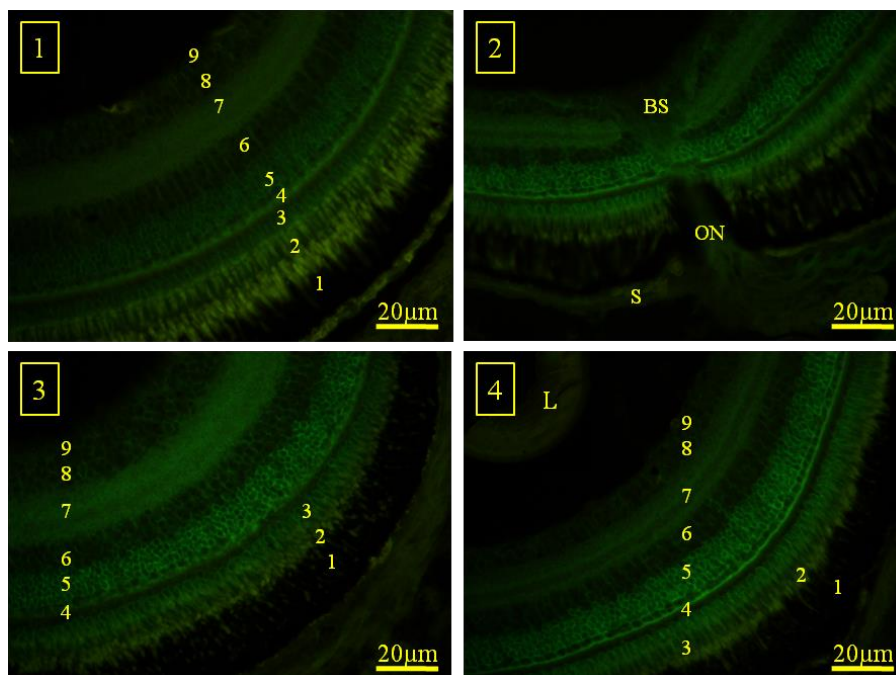
تصویر ۴-۴۲. مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در دستگاه گوارش لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید. در بخش ابتدایی روده هیچگونه فلورسانسی مشاهده نمی شود (۱). در بخش های میانی و انتهایی روده فلورسانس در غشاهای قاعده ای- جانبی انتروسیت های روده مشاهده می شود (۲-۶) اما سلول های موکوسی فاقد

ایمونوفلورسانس می باشند (۲-۵). در بخش انتهایی روده که رکتوم نامیده می شود ایمونوفلورسانس بسیار قوی تر و بیشتر می باشد (۶).

MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); R: رکتوم (Rectum).

#### ۴-۱-۱-۳-۷- مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در چشم لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید

چشم لارو تازه تفریخ یافته ی بطور کلی دارای ایمونوفلورسانس ضعیفی در تمام بخش ها می باشد. اما میزان این فلورسانس در لایه ی شبکه ای خارجی نسبت به سایر لایه ها بیشتر است که نشان دهنده ی فعالیت بیشتر یونی در این لایه می باشد. هیچگونه فعالیت ایمینایی در سلول های تشکیل دهنده ی عدسی، عصب بینایی، لایه ی رنگدانه ای یا پیگمان دار و صلبیه مشاهده نگردید (تصویر ۴-۴۳).



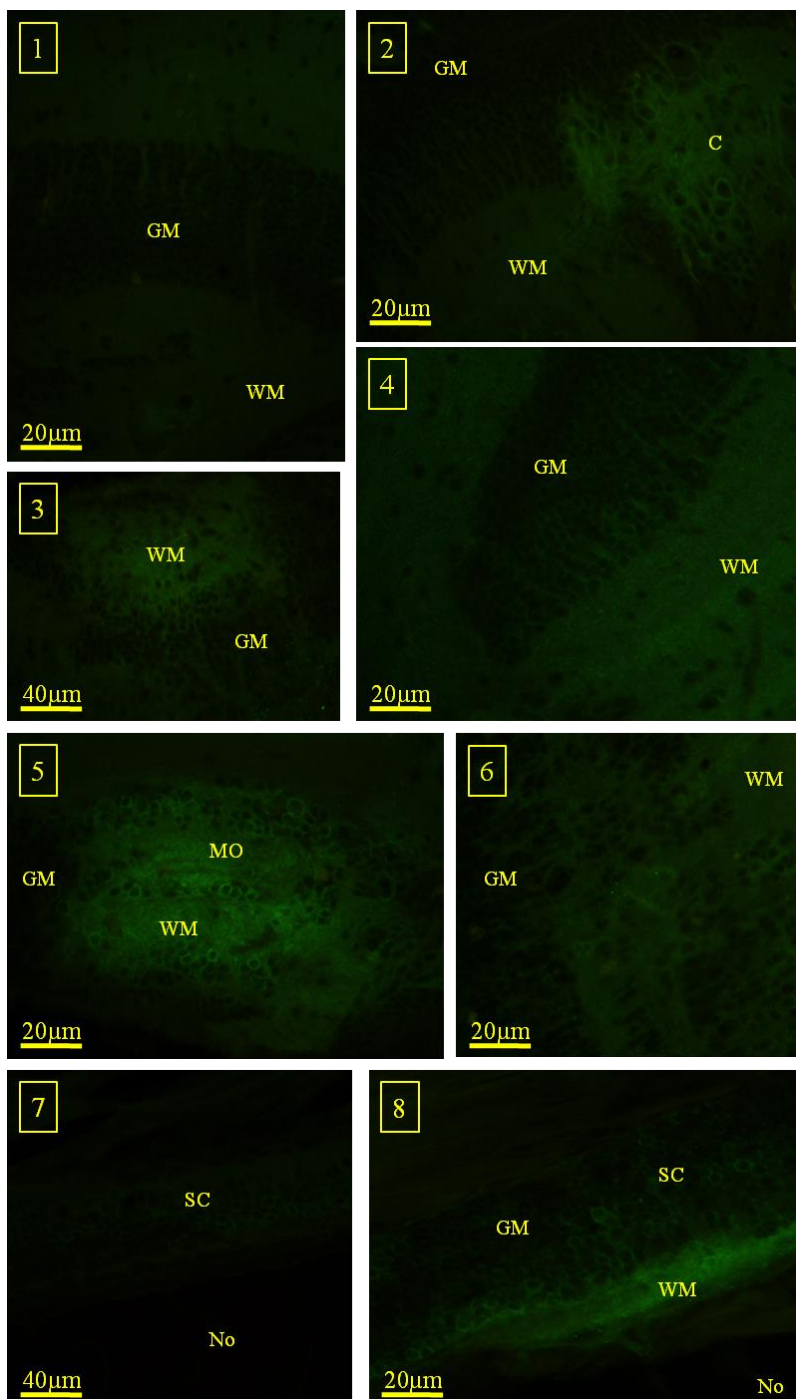
تصویر ۴-۴۳. مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در چشم لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید. لایه های مختلف چشم در لارو ماهی سفید همانطور که در بخش هیستولوژی شرح داده شد به ترتیب شامل: (۱) اپی تلیوم پیگمان دار یا رنگدانه ای، (۲) لایه ی فتورسپتور (زوائد سلول های مخروطی و استوانه ای)، (۳) غشای محدودکننده ی خارجی، (۴) لایه ی هسته دار خارجی (حاوی هسته های فتورسپتورها)، (۵) لایه ی شبکه ای خارجی، (۶) لایه ی هسته دار داخلی، (۷) لایه ی شبکه ای داخلی، (۸) لایه ی سلول های گانگلیونی و (۹) لایه ی اکسون های سلول های گانگلیونی که تشکیل دهنده ی عصب بینایی هستند (لایه ی رشته های عصبی) می باشند. همانطور که در تصاویر ۱-۴ مشاهده می شود بجز در لایه ی پیگمان دار (لایه شماره ۱) ایمونوفلورسانس خفیفی در تمامی لایه ها دیده می شود، اما بیشترین میزان فلورسانس در لایه شماره ۵ یعنی لایه ی شبکه ای خارجی دیده می شود. هیچگونه فلورسانسی در سلول های عدسی مشاهده نمی شود (۴). عصب بینایی و لایه ی صلبیه نیز فاقد فلورسانس هستند.

L: عدسی (Lens); BS: نقطه کور (Blind Spot); ON: عصب بینایی (Optic Nerve); S: صلبیه (Scelera).

۴-۱-۱-۳-۸- مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در سیستم عصبی لارو تازه

#### تفریح یافته ی ماهی سفید

از آنجاییکه مهمترین وظیفه ی نورون ها یعنی انتقال پیام های عصبی بواسطه ی جابجایی یون ها صورت می گیرد، بطور کلی در تمای بخش های سیستم عصبی ایمونوفلورسانس خفیف اما قابل مشاهده ای دیده می شود، میزان این ایمونوفلورسانس در بخش هایی از سیستم عصبی مرکزی که فاقد جسم سلولی نورون ها می باشد و در حقیقت محل عبور و تجمع اکسون های این سلول ها می باشد، بیشتر می باشد. همچنین ایمونوفلورسانس قابل توجهی در امتداد نخاع دیده می شود که میزان ظاهری آن از ایمونوفلورسانس مغز بیشتر می باشد (تصویر ۴-۴۴).

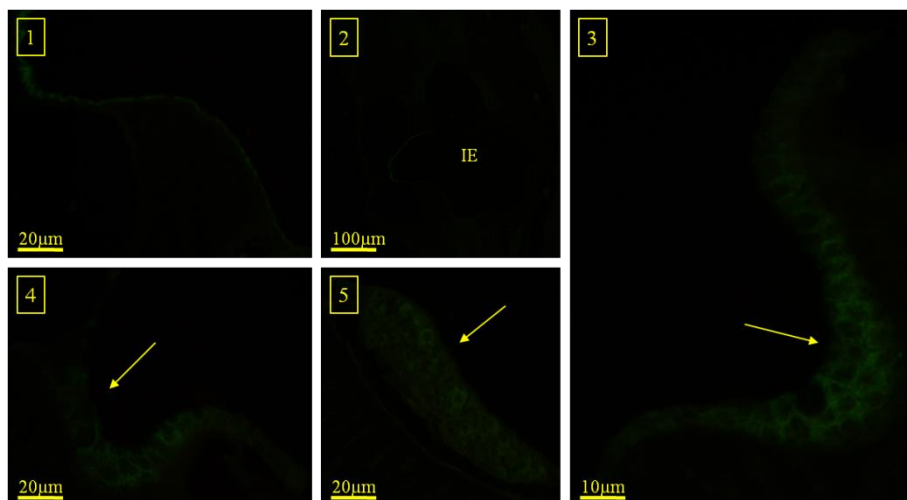


تصویر ۴-۴۴. مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در سیستم عصبی لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید. همانطور که در تصاویر ۱-۸ مشاهده می شود تقریباً در تمامی بخش های سیستم عصبی ایمونوفلورسانس ملایمی مشاهده می شود، میزان این ایمونوفلورسانس مشخصاً در بخش ماده ی سفید مغز و نخاع (اکسون های نورون ها) بیشتر بوده و در بخش ماده ی خاکستری یا بسیار اندک است و یا اصلاً وجود ندارد. در مقایسه ی بخش های مختلف مغز به این نتیجه می توان رسید که بیشترین میزان فلورسانس در مخچه و در بصل النخاع دیده می شود (۲ و ۵). همچنین در طول نخاع نیز ایمونوفلورسانس مشخصی مشاهده می شود (۷ و ۸).

WM: ماده سفید (White Matter)؛ GM: ماده خاکستری (Grey Matter)؛ C: مخچه (Cerebellum)؛ MO: بصل النخاع (Medula Oblongata)؛ SC: نخاع (Spinal Cord)؛ No: نوتوکورد (Notochord).



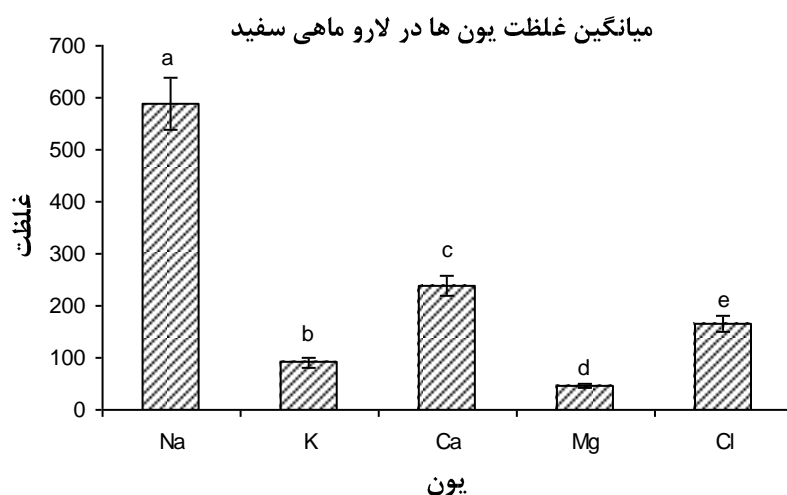
از سایر بخش های نزدیک به سیستم عصبی که ایمونوفلورسانس قابل توجهی در آن دیده می شود، اپیتلیوم گوش داخلی می باشد. که در بخش اپی تلیوم حسی ماکولا بیشترین میزان ایمونوفلورسانس مشاهده می شود (تصویر ۴-۵۴).



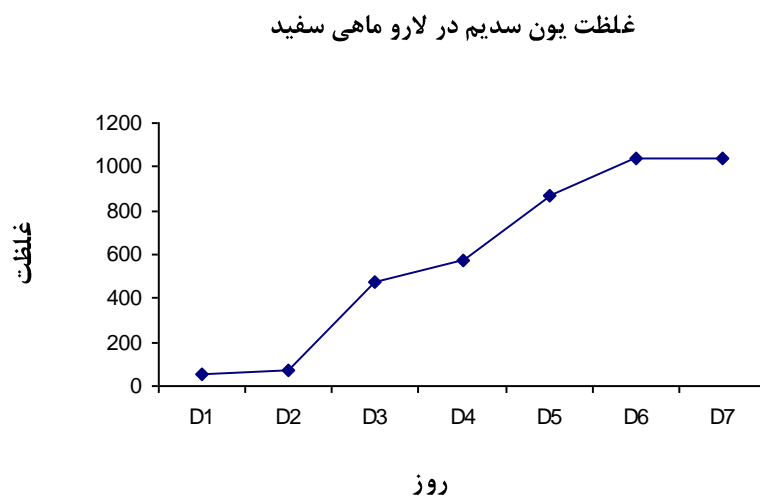
تصویر ۴-۵۴. مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در گوش داخلی لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید. اپی تلیوم حسی گوش داخلی (ماکولا) دارای ایمونوفلورسانس بوده و به نظر می رسد که سلول های این بخش دارای فعالیت بالایی می باشند (۱-۵).  
IE: گوش داخلی (Inner Ear).

#### ۴-۱-۱-۴-اندازه گیری یونهای بدن در لارو ماهی سفید

اندازه گیری یون های  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  و  $\text{Cl}^-$  در بافت های بدن لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید نشان داد که بیشترین میزان در میان یون های بدن به یون سدیم اختصاص داشته و پس از آن به ترتیب  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  و  $\text{Mg}^{2+}$  قرار می گیرند (نمودار ۴-۹). تغییرات غلظت یون های اندازه گیری شده در لارو ماهی سفید در طی هفت روز مطالعه در نمودارهای ۴-۱۰، ۴-۱۱، ۴-۱۲، ۴-۱۳ و ۴-۱۴ ارائه شده است. این نمودارها نشان می دهند که میزان تمامی این یون ها در طی هفت روز آزمایش سیر صعودی داشته و بر مقادیر آنها افزوده شده است. همچنین به نظر می رسد که عمده ی این افزایش در روز ۴، یا نزدیک به آن رخ داده است، که این امر مقارن با گشودگی دهان و شروع تغذیه خارجی در این روز نیز می باشد.

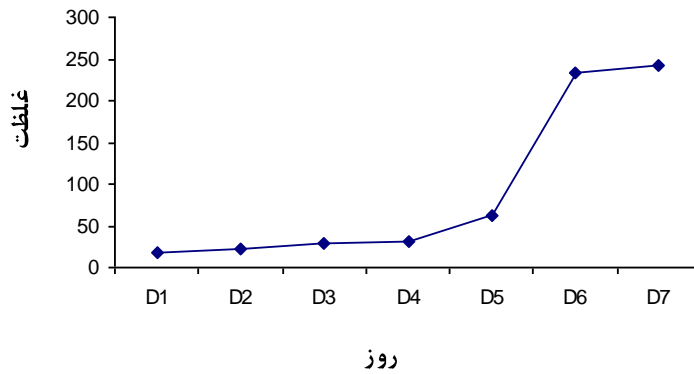


نمودار ۴-۹. مقایسه میانگین غلظت یون های مختلف در لارو ماهی سفید در طی هفت روز مطالعه. بیشترین غلظت متعلق به یون سدیم و کمترین متعلق به یون پتاسیم می باشد. مقادیر غلظت یون های مختلف با یکدیگر دارای تفاوت آماری معنی دار می باشد.



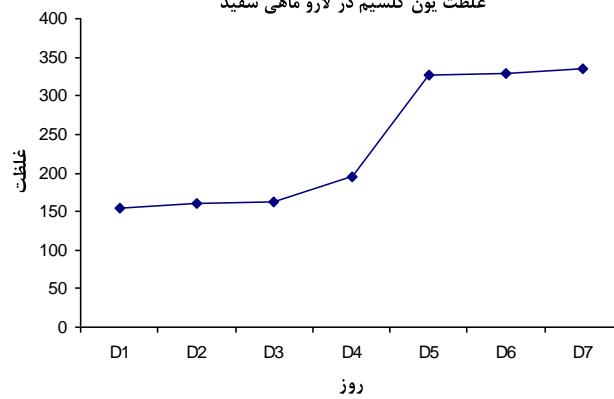
نمودار ۴-۱۰. تغییرات غلظت یون سدیم در لارو ماهی سفید در طی ۷ روز مطالعه. میزان غلظت یون سدیم در طی روزهای نخستین پس از تفریح روندی افزایشی دارد.

غلظت یون پتاسیم در لارو ماهی سفید



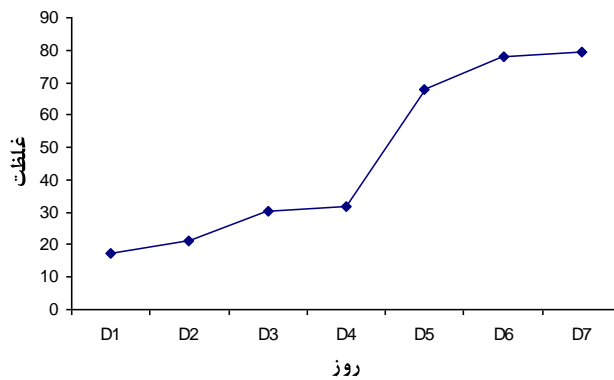
نمودار ۴-۱۱. تغییرات غلظت یون پتاسیم در لارو ماهی سفید در طی ۷ روز مطالعه. میزان غلظت یون پتاسیم در طی روزهای نخستین پس از تفریح روندی افزایشی دارد.

غلظت یون کلسیم در لارو ماهی سفید



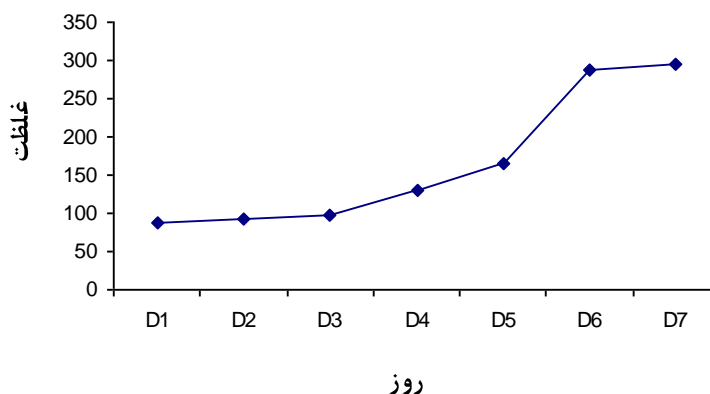
نمودار ۴-۱۲. تغییرات غلظت یون کلسیم در لارو ماهی سفید در طی ۷ روز مطالعه. میزان غلظت یون کلسیم در لارو ماهی سفید در طی روزهای نخستین پس از تفریح روندی افزایشی دارد.

غلظت یون منیزیم در لارو ماهی سفید



نمودار ۴-۱۳. تغییرات غلظت یون منیزیم در لارو ماهی سفید در طی ۷ روز مطالعه. میزان غلظت یون منیزیم در لارو ماهی سفید در طی روزهای آغازین پس از تفریح روندی افزایشی دارد.

غلظت یون کلر در لارو ماهی سفید



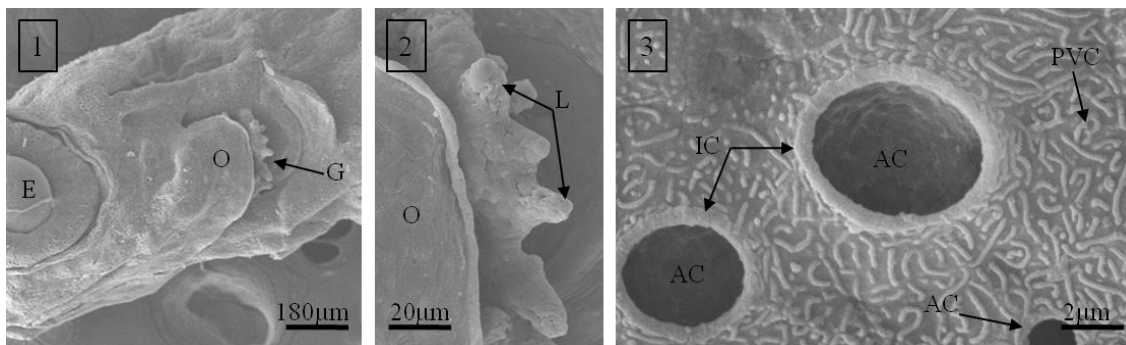
نمودار ۴-۱۴. تغییرات غلظت یون کلر در لارو ماهی سفید در طی ۷ روز مطالعه. میزان غلظت یون کلر در لارو ماهی سفید در طی روزهای نخستین پس از تفریح روندی افزایشی دارد.

#### ۴-۱-۱-۵- فراساختار آبشش در لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید

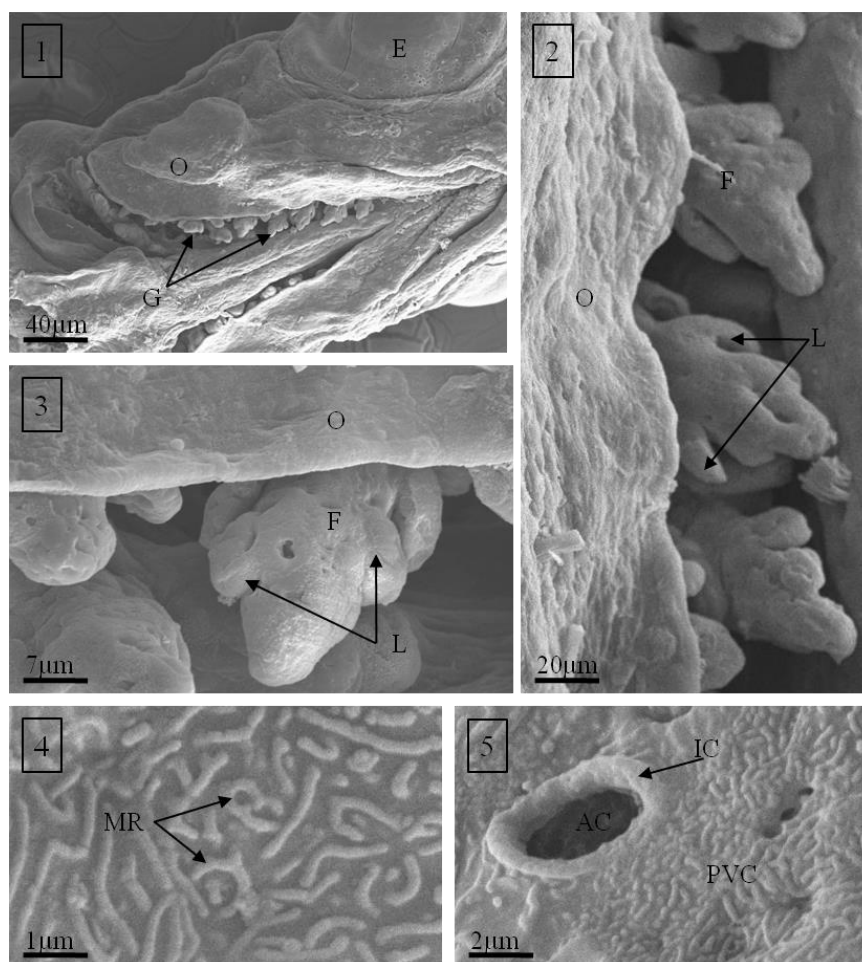
۴-۱-۱-۵-۱- میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

مطالعات میکروسکوپ الکترونی نگاره در روز اول پس از تفریح نشان داد که محفظه ی آبششی تا نیمه توسط سرپوش آبششی پوشیده شده است (تصویر ۴-۴۶-۱)، به این معنی که رشد سرپوش آبششی آنقدر کامل نشده است که بتواند تمامی محفظه ی آبششی را پوشش دهد. یکی از کمان های آبششی از شکاف باقی مانده از محفظه ی آبششی قابل مشاهده است (تصویر ۴-۴۶-۱ و تصویر ۴-۴۶-۲). این کمان آبششی که حاوی رشته های آبششی است، دارای تیغه های آبششی کوتاه و رشد نیافته است (تصویر ۴-۴۶-۱ و تصویر ۴-۴۶-۲). بر روی این تیغه های آبششی سلول های سنگفرشی که دارای چین خوردگی های سطحی می باشند قابل تشخیص اند (تصویر ۴-۴۶-۳). این سلول ها همچنین سطح بیرونی سرپوش آبششی و نیز سطح بیرونی بدن را نیز می پوشانند. در میان آنها حفره های راسی سلول های یونوسیت بخوبی قابل مشاهده می باشند (تصویر ۴-۴۶-۳).

در روز هفتم پس از تفریح (آخرین روز مطالعه ی حاضر)، رشد سرپوش آبششی بطور چشمگیری افزایش یافته است (تصویر ۴-۴۷-۱ و تصویر ۴-۴۷-۲) و تعداد رشته ها و تیغه های آبششی و نیز رشد این رشته ها و تیغه ها مشخصا بیشتر شده است (تصویر ۴-۴۷-۱ تا ۳-۴۷-۳)، بر روی این تیغه های آبششی سلول های سنگفرشی که دارای چین خوردگی های سطحی می باشند قابل تشخیص اند (تصویر ۴-۴۷-۴ و تصویر ۴-۴۷-۵). این سلول ها همچنین سطح بیرونی سرپوش آبششی و نیز سطح بیرونی بدن را نیز می پوشانند. در میان آنها حفره های راسی سلول های یونوسیت بخوبی قابل مشاهده می باشند (تصویر ۴-۴۷-۵).



تصویر ۴-۴۶. فراساختار آبشش لارو ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره در روز نخست پس از تفریخ. سرپوش آبششی کوچک بوده و نمی تواند تمامی محفظه ی آبششی را پوشش دهد (۱ و ۲). بخشی از بافت آبششی از شکاف محفظه ی آبششی قابل مشاهده است، و در آن می توان تیغه های آبششی کوچکی مشاهده کرد (۳). سطح بافت آبششی پوشیده از سلول های سنگفرشی می باشد که سطح آن ها دارای چین خوردگی هایی می باشند که به منظور افزایش سطح تماس صورت گرفته است، در لابلای این سلول ها چاله های راسی یونوسیت ها قابل مشاهده است (۳).  
 E: چشم (Eye)؛ O: اپرکول (Operculum)؛ G: آبشش (Gill)؛ L: تیغه آبششی (Lamellae)؛ IC: یونوسیت (Ionocyte)؛ PVC: سلول سنگفرشی (Pavement Cell)؛ AC: چاله راسی (Apical Crypt).



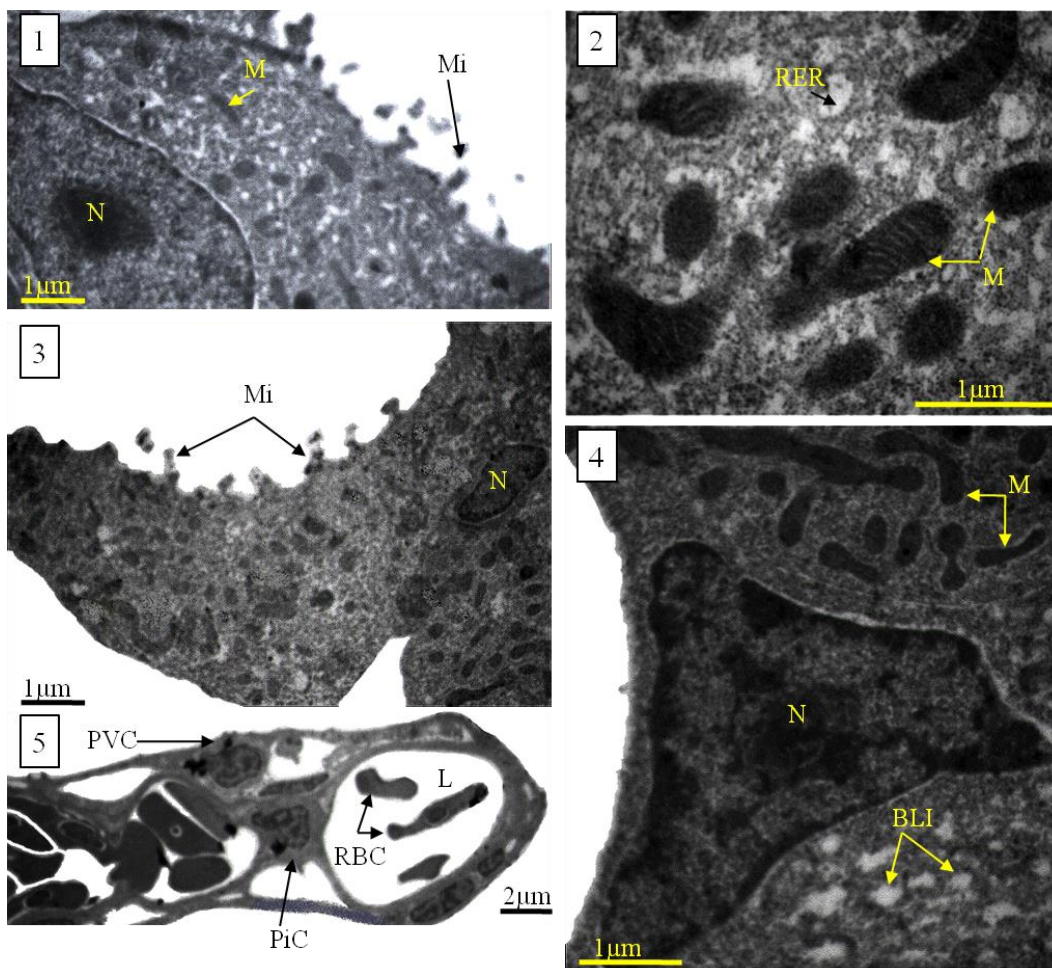
تصویر ۴-۴۷. فراساختار آبشش لارو ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره در روز هفتم پس از تفریخ. رشد سرپوش آبششی نسبت به روز نخست بسیار قابل توجه است و تنها شکاف معمول محفظه ی آبششی باقی مانده است (۱).

از لبه ی این شکاف می توان رشته ها و تیغه های آبششی را مشاهده کرد که نسبت به روز نخست رشد بیشتری یافته اند (۲) و (۳). بر روی سطح سلول های سنگفرشی پوشاننده ی سطح بافت آبششی چین خوردگی های ریزی وجود دارد که شبیه انگشت می باشند (۴). در بین سلول های سنگفرشی، یونوسیت ها که دارای چاله ی راسی می باشند قابل مشاهده هستند (۵).  
 E: چشم (Eye)؛ O: سرپوش آبششی (Operculum)؛ G: آبشش (Gill)؛ F: رشته آبششی (Filament)؛ L: تیغه آبششی (Lamellae)؛ MR: چین های ریز (Micro Ridges)؛ IC: یونوسیت (Ionocyte)؛ AC: چاله راسی (Apical Crypt)؛ PVC: سلول سنگفرشی (Pavement Cell).

#### ۴-۱-۱-۵-۲- میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)

مطالعات فراساختار سلول های تیغه آبششی لارو ماهی سفید نشان داد که تیغه های آبششی از سلول های پوششی تنفسی، سلول های پیلار و سلول های پشتیبان ساخته شده اند (تصویر ۴-۴۸-۵). هسته سلول های پوششی تنفسی کشیده بوده و در امتداد محور طولی سلول قرار دارد (تصویر ۴-۴۸-۵). این سلول ها عرض کم و طول زیادی داشته و بیشترین عرض سلول در محل قرار گرفتن هسته سلول می باشد (تصویر ۴-۴۸-۵). سلول های پیلار ستونی شکل بوده و بازوهای بلند یا زواید این سلول ها از دو سمت به هم رسیده و فضاهای خونی تیغه ها یا لاکوناها را تشکیل می دهند (تصویر ۴-۴۸-۵). هسته این سلول ها درشت و مثلثی شکل می باشد (تصویر ۴-۴۸-۵). گلبول های قرمز خونی که بیضی شکل و هسته دار می باشند در فضای خونی یا لاکونا قابل مشاهده هستند (تصویر ۴-۴۸-۵). فضاهای بین سلولی نسبتاً بزرگی در بین سلول های سنگفرشی و سلول های پیلار مشاهده می شود ((تصویر ۴-۴۸-۵)).

سلول های یونوسیت آبششی، همانطور که در بخش های قبلی ذکر شد، عموماً بر روی فیلامنت و در پایه ی لاملا قرار داشته و تعدادی از آنها بر روی کمان آبششی نیز دیده می شوند. این سلول ها غنی از میتوکندری بوده و داشتن تعداد بسیار زیادی میتوکندری آنها را بطور مشخص از سلول های دیگر متمایز می کند (تصویر ۴-۴۸-۱ و تصویر ۴-۴۸-۳). عمده ی آنها دارای چین خوردگی هایی به نام میکروویلی در غشای راسی بوده و هسته های درشت قاعده ای دارند (تصویر ۴-۴۸-۱ و تصویر ۴-۴۸-۴). همچنین شبکه ی اندوپلاسمی بسیار گسترده ای در سرتاسر سیتوپلاسم آنها دیده می شود (تصویر ۴-۴۸-۲). چین خوردگی های غشای قاعده ای- جانبی وسیع و عمیق بوده و بصورت حفرات خالی در برش سلول مشاهده می شوند (تصویر ۴-۴۸-۱، تصویر ۴-۴۸-۲ و تصویر ۴-۴۸-۴). میتوکندری های نسبتاً درشت و کشیده تا کروی شکل به تعداد زیاد در مجاورت این چین ها در تمام سطح سیتوپلاسم قابل مشاهده می باشند (تصویر ۴-۴۸-۲ و تصویر ۴-۴۸-۴).



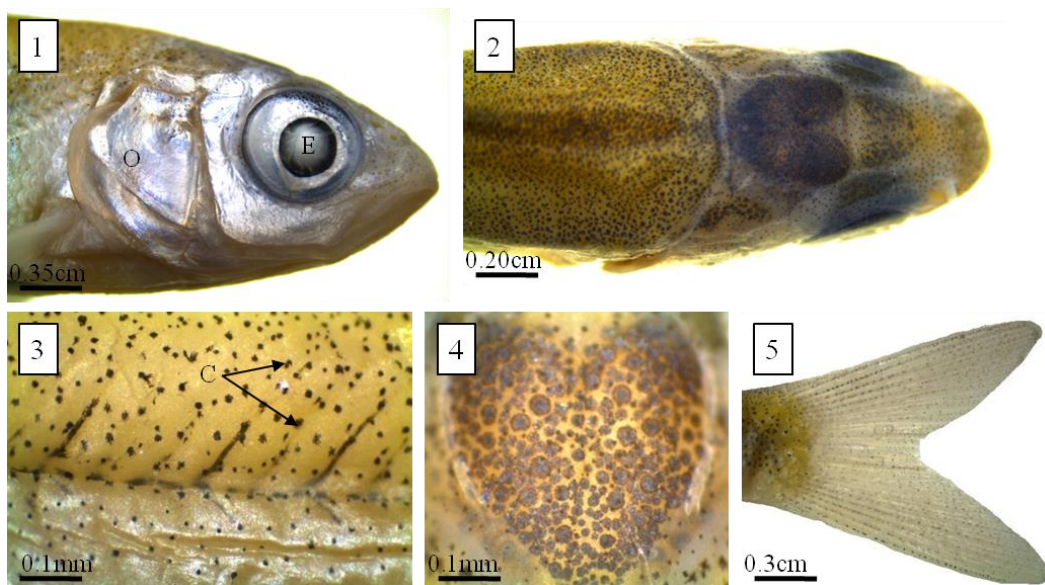
تصویر ۴-۴۸. فراساختار آبشش لارو ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره. سلول های یونوسیت در بافت آبششی به دلیل داشتن تعداد بسیار زیادی میتوکندری نسبت به سایر سلول ها به راحتی تشخیص داده می شوند، این سلول ها علاوه بر داشتن تعداد زیادی میتوکندری، دارای هسته های بزرگ قاعده ای و میکروویلی های کوچک راسی می باشند و در سیتوپلاسم آنها فرورفتگی های قاعده ای جانبی غشایی بصورت حفره های توخالی دیده می شوند (۱، ۳ و ۴). در سیتوپلاسم این سلول ها مقادیر زیادی شبکه ی اندوپلاسمی خشن مشاهده می شود، و میتوکندری ها به اشکال مختلف گرد، بیضی، میله ای و خمیده مشاهده می شوند (۲). مقطع طولی تیغه ی آبششی سلول های ستونی شکل پیلار را نشان می دهد که دارای استتاله های بلندی هستند که لاکوناها یا فضاهای خونی را در تیغه های آبششی بوجود می آورند، سطح تیغه های آبششی توسط سلول های سنگفرشی پوشیده شده است (۵).

M: میتوکندری (Mitochondria); N: هسته (Nucleus); Mi: میکروویلی (Microvilli); PVC: سلول سنگفرشی (Pavement Cell); L: لاکونا یا فضای خونی (Lacuna); PiC: سلول پیلار (Pillar Cell); RBC: گلبول قرمز خون (Red Blood Cell); BLI: فرورفتگی های قاعده ای-جانبی (Baso-Lateral Invaginations); RER: شبکه اندوپلاسمی خشن (Rough Endoplasmic Reticulum).

#### ۴-۱-۲- بچه ماهی

#### ۴-۱-۲-۱- ویژگی های مورفولوژیک بچه ماهی سفید دریای خزر در سن رهاسازی

بچه ماهی سفید دریای خزر در سن رهاسازی دارای بدن دوکی شکل با دهان انتهایی که به سمت جلو و بالا باز می شود می باشد. رنگ بدن نقره بوده که به سمت پهلوها و شکم متمایل به سفید می باشد. سطح پشتی بدن تا بالای خط جانبی در پهلوها مملو از سلول های رنگدانه ای یا ملانوفورها می باشد که به اشکال گرد، نقطه ای و عموماً ستاره ای شکل قابل مشاهده هستند. این ملانوفورها بر روی باله ها بویژه باله ی دمی بخوبی دیده می شوند. ملانوفورها در بخش فوقانی سر طرحی قلبی شکل بوجود می آورند و دانسیته ی آنها در سطح فوقانی- پشتی بدن بسیار زیاد است (تصویر ۴-۴۹-۱ تا ۵). باله های پشتی، سینه ای، لگنی و دمی بخوبی رشد یافته و دارای شعاع های سخت می باشند. باله ی پشتی منفرد بوده و در میانه ی پشتی بدن قرار گرفته است. باله ی دمی کاملاً چنگالی بوده و از نوع هموسرکال می باشد (تصویر ۴-۴۹-۵).



**تصویر ۴-۴۹. مورفولوژی بچه ماهی سفید.** بدن پوشیده از فلس بوده، سرپوش آبششی رشد کامل داشته و محفظه ی آبششی را کاملاً پوشانده است (۱). در سطح پشتی بدن تعداد زیادی کروماتوفورهای نقطه ای مشاهده می شود که در سطح پشت سر طرح قلبی را ایجاد می کنند (۲ و ۴)، کروماتوفورهای نقطه ای در پهلوهای بدن نیز بوفور مشاهده می شوند (۳). باله ی دمی از نوع هموسرکال می باشد و بر روی آن نیز کروماتوفورهای نقطه ای مشاهده می شوند (۵). O: سرپوش آبششی (Operculum)؛ E: چشم (Eye)؛ C: کروماتوفور (Chromatophore).

#### ۴-۱-۲-۱- فاکتور وضعیت (CF: Condition Factor) بچه ماهی سفید دریای خزر در سن

#### رهاسازی

میانگین طول و وزن در بچه ماهیان سفید دریای خزر در سن رهاسازی که در مطالعه ی حاضر مورد مطالعه قرار گرفتند به ترتیب برابر با ۳/۵ سانتی متر و ۰/۲۶ گرم اندازه گیری گردید. با در نظر گرفتن فرمول

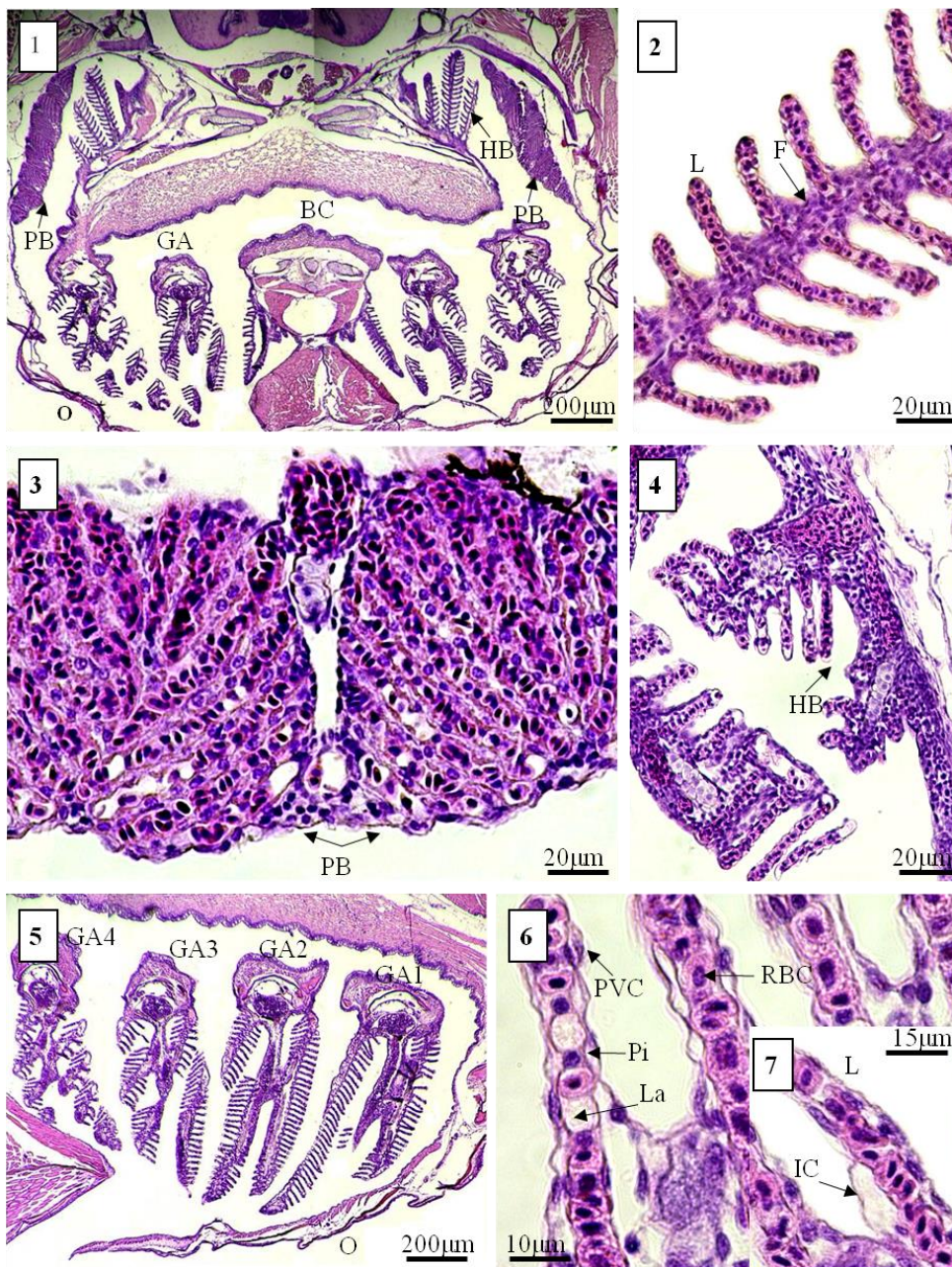


محاسبه ی ضریب چاقی یا فاکتور وضعیت بدنی که در بخش مواد و روش ها به آن اشاره گردید، فاکتور وضعیت بدنی برای بچه ماهیان سفید دریای خزر در سن رهاسازی برابر با محاسبه ۰/۶۵ شد.

#### ۴-۱-۲-۲- بافت شناسی بچه ماهی سفید دریای خزر در سن رهاسازی

۴-۱-۲-۲-۱- بافت شناسی آبشش در بچه ماهی سفید دریای خزر

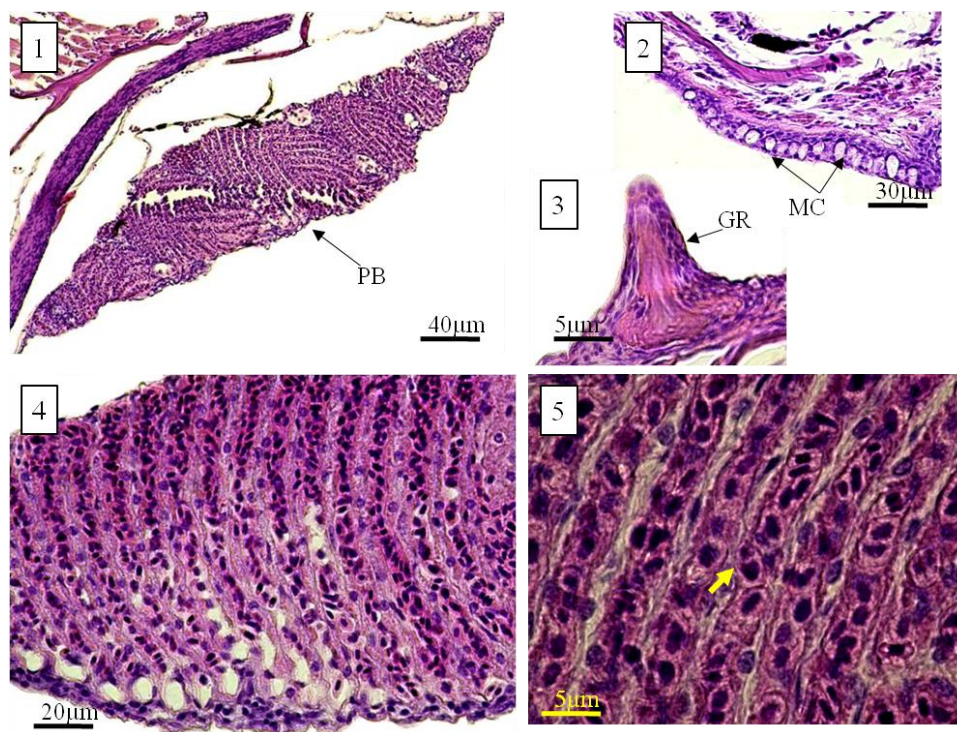
مطالعه ی حاضر نشان داد که در بچه ماهی سفید در سن رهاسازی در هر طرف سر ۴ کمان آبششی وجود دارد (تصویر ۴-۵۰-۱ و تصویر ۴-۵۰-۵)، بر روی هر کمان آبششی ۲ ردیف رشته های آبششی که حاوی تیغه های آبششی می باشند قرار گرفته است (تصویر ۴-۵۰-۲)، همچنین در بخش خلفی- فوقانی محفظه ی آبششی یک همی برانش متصل به دیواره وجود دارد که از تعدادی رشته ی آبششی حاوی تعدادی تیغه ی آبششی تشکیل یافته است (تصویر ۴-۵۰-۱ و تصویر ۴-۵۰-۴) و نیز در بالای محفظه ی آبششی در هر طرف سر یک سودوبرانش دیده می شود که ظاهری شبیه به تیغه های آبششی چسبیده به یکدیگر دارد، این اندام از تیغه های آبششی، بافت پیوندی و رگ های خونی تشکیل شده است. تیغه های آبششی در سودوبرانش از سلول های سودوبرانشیال تشکیل شده اند که بر روی یک غشای پایه قرار گرفته اند. این سلول ها در مجاورت مویرگ های خونی موازی هم قرار گرفته اند که توسط تیغه های نازکی از غضروف حمایت می شوند (تصویر ۴-۵۰-۱ و تصویر ۴-۵۰-۳)، مطالعات نشان داد که سلول های سطحی بافت آبشش را سلول های سنگفرشی (Pavement Cell) تشکیل داده و در پایه ی تیغه های آبششی نیز یونوسیت ها دیده می شوند (تصویر ۴-۵۰-۶ و تصویر ۴-۵۰-۷)، همچنین فاصله ی میان دو اپیتلیوم تیغه های آبششی توسط سلول های ستونی شکل پیلار شکل گرفته است (تصویر ۴-۵۰-۶) که در فاصله ی بین آنها فضاهای خونی یا لاکوناها قابل تشخیص می باشند (تصویر ۴-۵۰-۶). سرپوش آبششی کل محفظه ی آبششی را می پوشاند و هیچگونه آبشش اپرکولی قابل مشاهده نیست (تصویر ۴-۵۰-۵).



**تصویر ۴-۵. بافت شناسی آبشش در بچه ماهی سفید.** بافت آبششی از چهار کمان آبششی در هر طرف سر تشکیل شده است (۵) و محفظه ی آبششی توسط سرپوش آبششی پوشیده می شود (۱ و ۵). بر روی کمان های آبششی، رشته ها و تیغه های آبششی قرار گرفته اند (۱ و ۵). علاوه بر کمان های آبششی اصلی، همی برانش آبششی نیز در بخش فوقانی محفظه ی آبششی نیز دیده می شود که از تعداد معدودی رشته ی آبششی حاوی تیغه های آبششی تشکیل شده است، همچنین در دیواره های جانبی محفظه ی آبششی در هر طرف سر یک سودوبرانش دیده می شود (۱). بر روی رشته های آبششی تیغه های آبششی بصورت منظم در دو طرف رشته های آبششی چیده شده اند (۲). بافت سودوبرانش نیز از تعداد زیادی تیغه های آبششی که بصورت فشرده در کنار یکدیگر قرار گرفته اند، تشکیل شده است (۳). ساختمان همی برانش آبششی کاملاً مشابه با ساختار آبشش اصلی بوده و در دو سمت رشته های آبششی، تیغه های آبششی بصورت منظم چیده شده اند (۴). تیغه های آبششی ساختار ظریفی داشته و اپی تلیوم آنها از یک لایه سلول سنگفرشی تشکیل شده است که توسط سلول های ستونی شکل پیلار به یکدیگر متصل می شوند، سلول های پیلار به این ترتیب حفره های خونی یا لاکوناها را بوجود می آورند که

گلبول های قرمز در لابلای آنها حرکت می کنند (۶). در بین تیغه های آبششی و در پایه ی آنها سلول های یونوسیت دیده می شوند (۷).

GA: کمان آبششی (Gill Arch); BC: حفره دهانی (Buccal Cavity); PB: سودوبرانش (Pseudobranch); HB: همی برانش (Hemibranch); F: رشته آبششی (Filament); L: تیغه آبششی (Lamellae); O: سرپوش آبششی (Operculum); PVC: سلول سنگفرشی (Pavement Cell); RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell); Pi: سلول پیلار (Pillar Cell); La: لاکونا یا فضای خونی یونوسیت (Ionocyte).



**تصویر ۴-۵۱. بافت شناسی آبشش در بچه ماهی سفید.** سودوبرانش ساختاری متشکل از تیغه های آبششی موازی و به هم چسبیده است که چسبیده به دیواره داخلی محفظه ی آبششی قرار گرفته است (۱). دیواره ی داخلی محفظه ی آبششی دارای تعداد زیادی سلول های موکوسی است (۲). در سطح کمان های آبششی در جهت مخالف رشته های آبششی خارهای آبششی قرار گرفته اند (۳). سودوبرانش از تیغه های آبششی موازی هم قرار گرفته اند که از درون فضاهای خونی آنها گلبول های قرمز که هسته دار می باشند (نوک پیکان) در جریان اند (۴ و ۵).

PB: سودوبرانش (Pseudobranch); MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); GR: خار آبششی (Gill Raker).

#### ۴-۱-۲-۲-۲- بافت شناسی دستگاه گوارش در بچه ماهی سفید دریای خزر

همانطور که در بخش نتایج مربوط به بافت شناسی دستگاه گوارش در لارو ماهی سفید دریای خزر ذکر گردید، بافت دستگاه گوارش در طول لوله ی گوارش تقریباً آرایش منظمی داشته و از چهار لایه ی اصلی تشکیل شده است:

(۱) لایه ی مخاطی (mucosa)، که به سمت لومن لوله قرار گرفته است و خود از سه لایه تشکیل شده است: اپیتلیوم داخلی، آستر مخاط (lamina propria) یا لایه ی بافت پیوندی سلول دار، که حاوی رگ های خونی

و اعصاب است، و در سمت بیرونی از لایه ی عضله ی مخاطی (muscularis mucosae) تشکیل شده است؛  
۲) لایه ی زیرمخاط (submucosa)، لایه ای است که مخاط را پشتیبانی می کند، و از بافت پیوندی کمتر سلولی شده، رگ های خونی، بافت لنفاتیکی و شبکه ی عصبی تشکیل شده است و فاقد غدد زیرموکوسی می باشد؛  
۳) لایه ی عضلانی، که عموماً از یک لایه داخلی عضلات حلقوی و یک لایه ی عضلانی عمودی تشکیل شده است؛  
۴) سروز (serosa)، که از بافت پیوندی تشکیل شده است که توسط یک لایه ی سلول های سنگفرشی ساده از اپیتلیوم مزانتری پوشیده شده است.

ابتدایی ترین بخش دستگاه گوارش، حفره ی دهانی (oral cavity) و حلق (pharynx) می باشد. حفره ی دهانی و حلق توسط اپیتلیوم مطبق سنگفرشی پوشیده شده اند که دارای تعداد زیادی سلول های ترشح کننده ی موکوس (goblet cell) و نیز سلول های حسی تشکیل دهنده ی جوانه های چشایی (taste buds) می باشد (تصویر ۴-۵۲-۲). در بخش حلق، چهار دندان حلقی کاملاً مشخص دیده می شود، که در زیر آنها جوانه ی چهار دندان دیگر نیز وجود دارد (تصویر ۴-۵۲-۲). دیواره ی فوقانی حلق دارای یک لایه ی شاخی می باشد (تصویر ۴-۵۲-۱) و تصویر ۴-۵۲-۲، و لایه ی پایینی همانطور که ذکر گردید، دارای چهار دندان می باشد (تصویر ۴-۵۲-۲)، از آنجاییکه ماهی سفید فاقد بخش معده در دستگاه گوارش می باشد، غذا در بخش حلقی، توسط این لایه ی شاخی و دندان های حلقی خرد می شود. این دندان ها متشکل از پوشش مینا (enamel)، لایه ی عاج (dentine) و مرکز متشکل از پولپ (pulp) می باشند (تصویر ۴-۵۲-۳ و تصویر ۴-۵۳).

مری کوتاه است و دیواره ی عضلانی ضخیمی دارد، لایه ی عضلانی آن از رشته های درهم پیچیده ی عضلانی شکل گرفته است. اپی تلیوم پوششی آن سنگفرشی مطبق می باشد و در طول آن تعداد زیادی سلول های موکوسی دیده می شود. جوانه های چشایی نیز در این اپیتلیوم دیده می شوند. لایه ی مخاطی مری دارای چین خوردگی های طولی می باشد. غدد بزاقی وجود ندارند و به نظر می رسد که به جای آنها سلول های موکوسی منفرد نقش ایفا می کنند. هیچ نوع غده ی دیگری نیز در بافت پیوندی زیر اپی تلیوم مری دیده نمی شود (تصویر ۴-۵۲-۴).

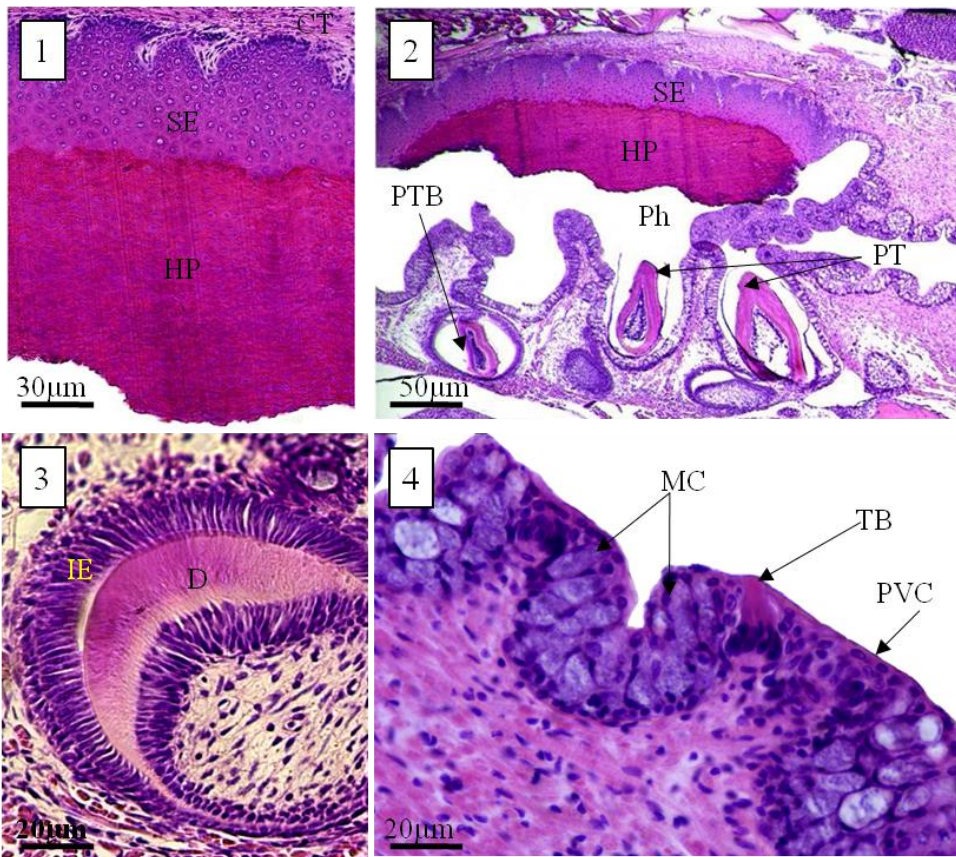
معده به عنوان یک بخش مشخص در سیستم گوارشی ماهی سفید دیده نمی شود و مری با تغییرات اندکی مستقیماً به روده متصل می شود.

روده ادامه ی بخش مری بوده و دارای چین خوردگی های انگشتی شکل مشخص می باشد که چین (villi) نامیده می شوند (تصویر ۴-۵۴-۱). هر چین برجستگی انگشتی شکلی از لایه ی مخاطی بوده که از پوشش اپیتلیومی و بخش مرکزی از جنس بافت پیوندی حاوی مویرگ های خونی و لنفاوی تشکیل شده است (تصویر ۴-۵۴-۱). اپی تلیوم روده در این بخش، از سلول های استوانه ای ساده با مطبق کاذب تشکیل شده است که دارای میکروویلی های راسی مشخص و نیز تعداد قابل توجهی سلول موکوسی می باشند (تصویر ۴-۵۴ تا ۴).

چین خوردگی ها در بخش انتهایی روده کمتر شده و بصورت لوله‌ی نسبتاً عریضی شکل می‌گیرد که رکتوم (rectum) نامیده می‌شود. رکتوم در انتها توسط منفذ مخرج به بیرون باز می‌شود. سلول‌های این بخش از دستگاه گوارش استوانه‌ای مژه دار ساده بوده و هسته‌های بیضی درشت مرکزی دارند (تصویر ۴-۵۴-۵).

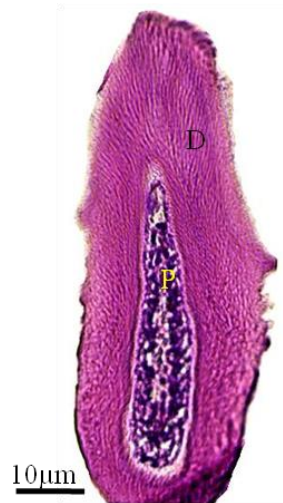
کبد غده‌ی بزرگی بوده و تقریباً در تمامی طول روده بجز در بخش رکتوم دیده می‌شود (تصویر ۴-۵۴-۵) و توسط کپسولی از جنس بافت پیوندی فیبری احاطه شده است. بافت پارانشیم کبد اصولاً از سلول‌های هپاتوسیت (hepatocytes) چند وجهی که دارای هسته‌های مرکزی می‌باشند تشکیل شده است. سینوزوئیدها توسط لایه‌ی نازکی از یک ردیف سلول اندوتلیال پوشیده شده‌اند. هسته‌های این سلول‌های اندوتلیال کشیده بوده و به طرف فضای داخلی سینوزوئید برجسته شده‌اند. این اندوتلیوم توسط منافذ بسیار ریزی به شکل سوراخدار درآمده است. مجاری صفراوی (Bile ducts) نیز در پارانشیم کبد دیده می‌شوند، مجاری بزرگتر از به هم پیوستن جاری کوچکتر شکل می‌گیرند. این مجاری صفراوی تشکیل شده را به کیسه‌ی صفرا (gall bladder) می‌ریزند که توسط اپی‌تلیوم سنگفرشی مطبق کاذب پوشیده شده است. در نهایت صفراوی ذخیره شده در کیسه‌ی صفرا از راه مجرای صفراوی به ابتدای روده می‌ریزد. مجاری کوچک صفراوی در کبد توسط یک لایه‌ی اپی‌تلیوم مکعبی پوشیده شده‌اند. اما مجاری بزرگتر ممکن است توسط بافت پیوندی و یا حتی لایه‌ی ای از بافت عضلانی احاطه شده‌باند. میزان قابل توجهی بافت چربی در بخش پشتی کبد دیده می‌شود، بخش انتهایی بافت کبد به غده‌ی پانکراس تبدیل می‌شود که این بخش هپاتوپانکراس نامیده می‌شود (تصویر ۴-۵۵).

غده‌ی دیگری که در بخش جلویی دستگاه گوارش دیده می‌شود غده‌ی تیروئید است، غده‌ی تیروئید به شکل فولیکول‌هایی پراکنده در نزدیکی قلب و در سطح شکمی مشاهده می‌شوند (تصویر ۴-۵۶-۱). این فولیکول‌ها توسط سلول‌های اپی‌تلیال مکعبی ساده پوشیده شده‌اند که دارای هسته‌های درشت می‌باشند، درون فولیکول‌ها توده‌ی هموژنی از مایع وجود دارد که کلئوئید نامیده می‌شود که از ماده‌ی تیروگلوبین تشکیل شده است (تصویر ۴-۵۶-۲).

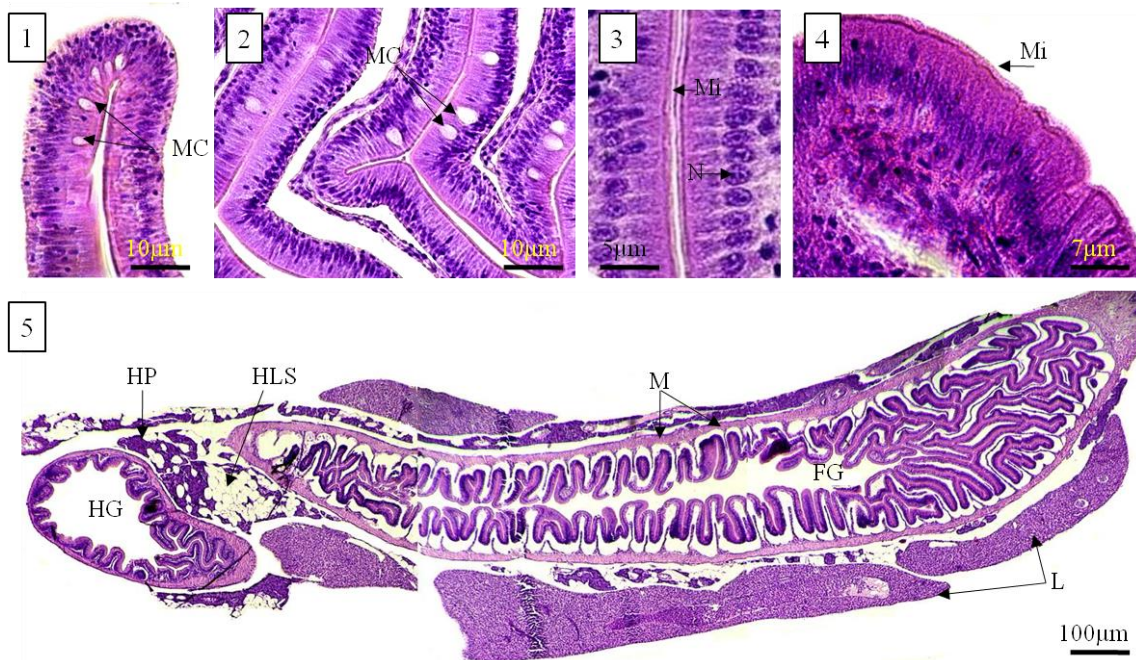


تصویر ۴-۵۲. بافت شناسی بخش ابتدایی دستگاه گوارش در بچه ماهی سفید. دهان، حلق و مری پوشیده از سلول های سنگفرشی و تعداد زیادی سلول های موکوسی می باشند (۲ و ۴). سطح فوقانی حلق دارای یک لایه ی شاخی شده می باشد (۱ و ۲) و در سطح تحتانی آن دندانهای حلقی دیده می شوند (۲). در زیر اپی تلیوم تحتانی حلق جوانه های دندان های حلقی نیز مشاهده می شوند (۳).

HP: لایه ی شاخی (Horny Pad); SE: اپی تلیوم مطبق (Stratified Epithelium); CT: بافت پیوندی (Connective Tissue); Ph: حلق (Pharynx); PTB: جوانه دندان حلقی (Pharyngeal Tooth Bud); PT: دندان حلقی (Pharyngeal Tooth); D: دنتین یا عاج (Dentin); IE: اپی تلیوم درونی (Inner Epithelium); MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); PVC: سلول سنگفرشی (Pavement Cell); TB: جوانه چشایی (Taste Bud).

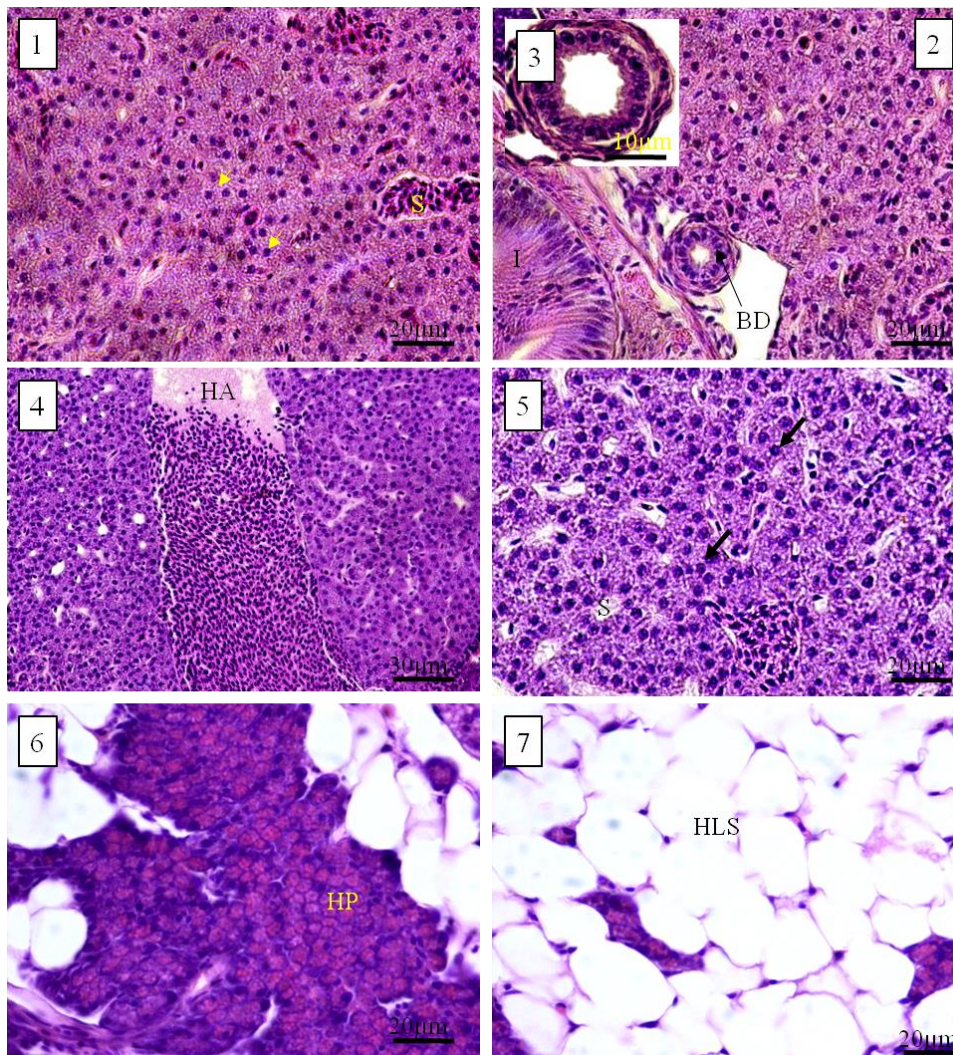


تصویر ۴-۵۳. دندان حلقی در بچه ماهی سفید. ساختمان دندان در بچه ماهی سفید مشابه با دندان در سایر مهره داران بوده اما تفاوت اصلی در نداشتن لایه ی مینا می باشد، دندان از پولپ مرکزی (P) و لایه ی سخت عاج یا دنتین (D) شکل گرفته است.



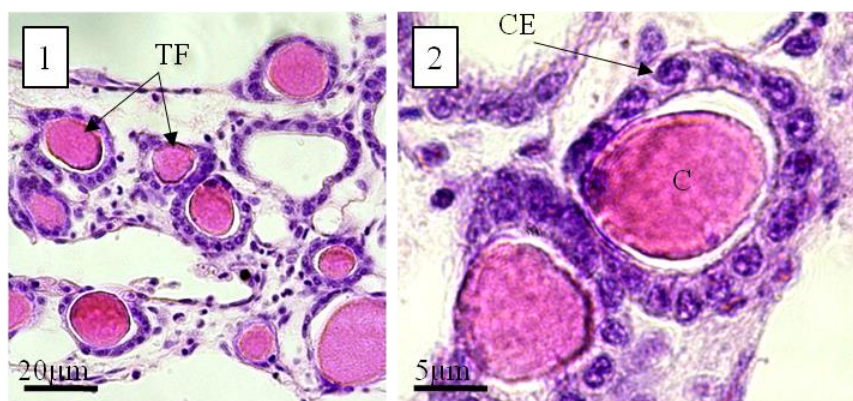
تصویر ۴-۵۴. بافت شناسی دستگاه گوارش در بچه ماهی سفید. روده از دو بخش جلویی و عقبی تشکیل شده است، روده ی جلویی دارای چین خوردگی های عمیق تر و لومن تنگ تری بوده اما روده ی عقبی دارای چین خوردگی های سطحی تر و لومن فراخ تری می باشد، در اطراف روده ی جلویی بافت کبدی دیده می شود که در انتها به هیپاتوپانکراس تبدیل شده و دارای ذخیره ی لیپیدی می باشد (۵). اپی تلیوم روده از سلول های استوانه ای تشکیل شده است که در سطح راسی خود دارای میکروویلی های فراوانی می باشند و هسته های قاعده ای دارند (۳ و ۴). در بین این سلول های استوانه ای سلول های جامی شکل موکوسی نیز دیده می شوند (۱ و ۲).

MC: سلول موکوسی (Mucus Cell); Mi: میکروویلی (Microvilli); N: هسته (Nucleus); FG: روده جلویی (Fore Gut); HG: روده عقبی (Hind Gut); L: کبد (Liver); M: مزانتر (Mesenter); HLS: ذخیره لیپیدی کبد (hepatic Lipid Storage); HP: هیپاتوپانکراس (Hepatopancreas).



**تصویر ۴-۵۵. بافت شناسی کبد در بچه ماهی سفید.** بافت کبد متشکل از پاتوسیت ها می باشد که دارای هسته های درشت مرکزی هستند (نوک پیکان در ۱ و ۵) در لابلاهی این سلول ها مویرگ های ویژه ی کبدی یا سیونوزوئیدها قرار گرفته اند که گلبول های قرمز هسته دار درون آنها قابل تشخیص می باشند (۱ و ۵). کیسه ی صفرا توسط مجرای صفراوی به روده متصل می شود (۲ و ۳). سرخرگ اصلی کبدی شریانی بسیار بزرگ است که در میانه ی بافت کبد قابل مشاهده است (۴). بافت کبدی در انتها به هیپاتوپانکراس تبدیل می شود (۶) که در کنار آن ذخیره ی لیپیدی کبدی نیز قرار گرفته است (۷). S: سینوزوئید (Sinusoid); BD: مجرای صفراوی (Bile Duct); HA: شریان کبدی (Hepatic Artery); HP: هیپاتوپانکراس (Hepatopancreas); HLS: ذخیره ی لیپیدی کبدی (Helatic Lipid Storage).





**تصویر ۴-۵۶. بافت شناسی غده ی تیروئید در بچه ماهی سفید.** غده ی تیروئید به شکل فولیکول هایی پراکنده در نزدیکی قلب و در سطح شکمی مشاهده می شوند (۱). این فولیکول ها توسط سلول های اپی تلیال مکعبی ساده پوشیده شده اند که دارای هسته های درشت می باشند، درون فولیکول ها توده ی هموزنی از مایع وجود دارد که کلونید نامیده می شود که از ماده ی تیروگلوبین تشکیل شده است (۲).

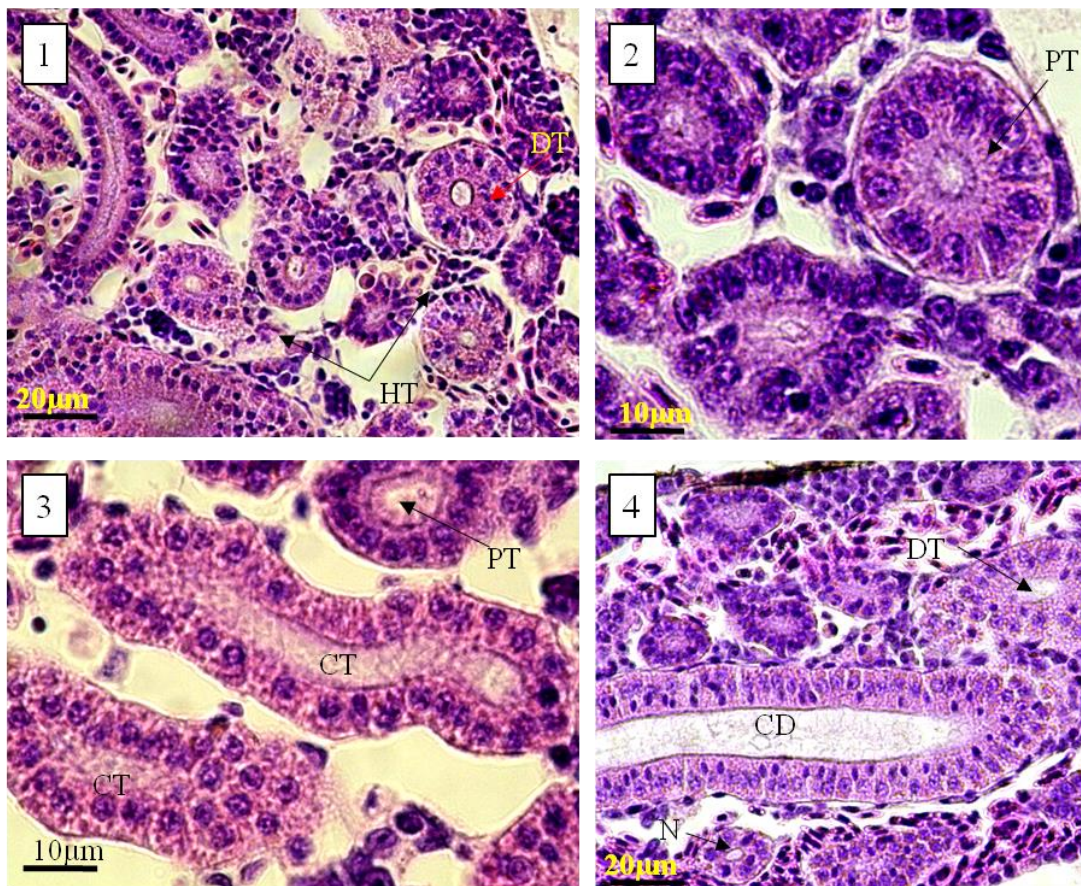
TF: فولیکول های تیروئیدی (Tyroid Follicle); CE: اپی تلیوم مکعبی (Cuboidal Epithelium); C: کلونید (Coloide).

#### ۴-۱-۲-۲-۳- بافت شناسی کلیه در بچه ماهی سفید دریای خزر

بافت کلیه بلافاصله پس از محفظه ی آبششی و از ابتدای بخش تنه آغاز می شود. ساختار کلی بافت کلیه در این ماهی شامل بخش ابتدایی یا سر کلیه (Head Kidney) می باشد که از توپول های پرونفروس و نیز بافت هماتوپوئیتیک تشکیل شده است (تصویر ۴-۵۷-۱ و تصویر ۴-۵۸-۶). این توپول ها شبیه به توپول پروکسیمال بوده و سلول های اپیتلیومی آنها از یک ردیف سلول مکعبی ساده با هسته های قاعده ای تشکیل شده است که در لبه ی راسی خود دارای حاشیه ی مسواکی مشخصی می باشند. بعد از این توپول های اولیه، بخش مزونفروس کلیه دیده می شود که در آن کپسول های بومن، گلومرول، توپول های پروکسیمال، دیستال و توپول جمع کننده دیده می شوند.

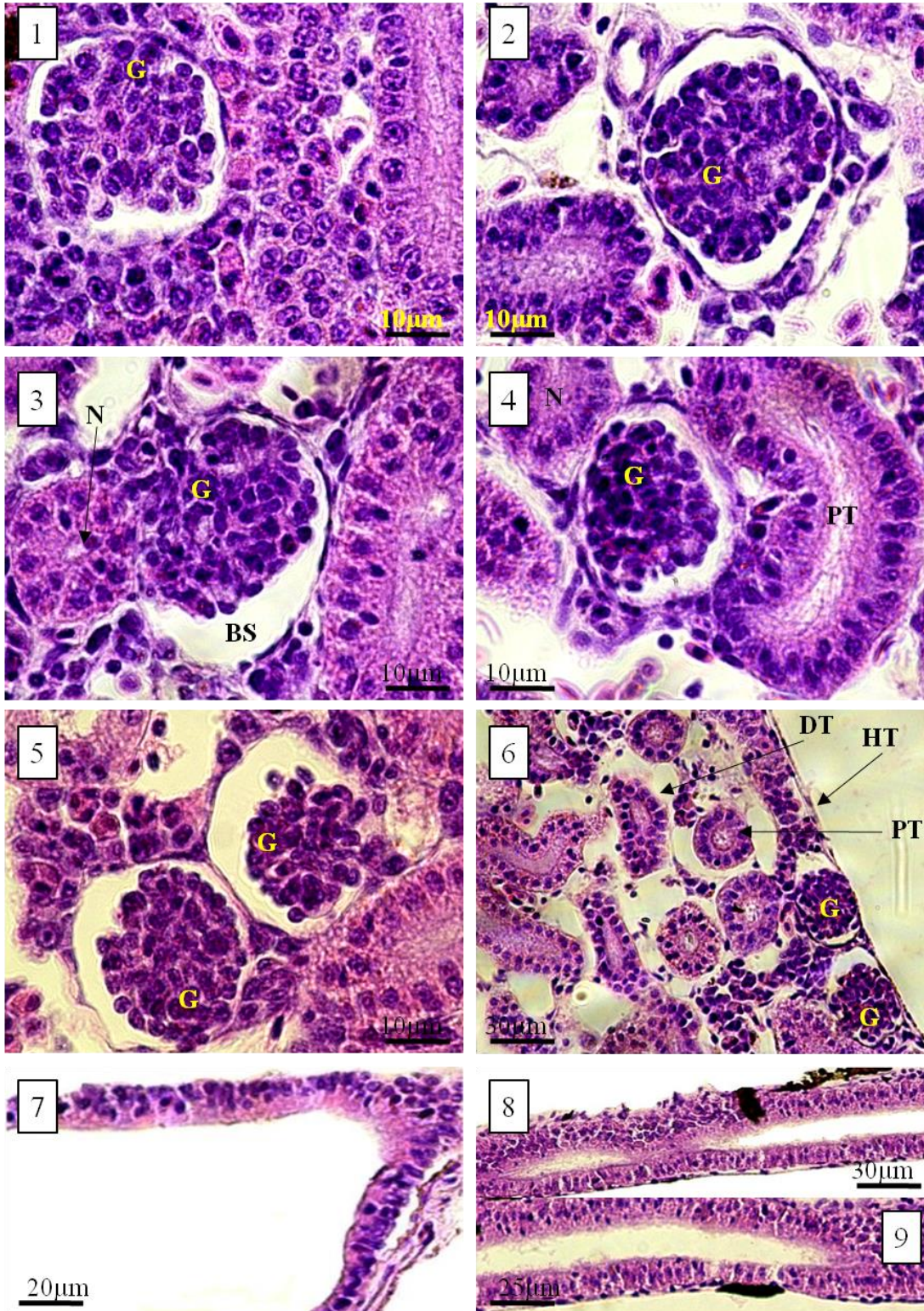
کپسول بومن بخش قیف مانندی است که دیواره ی آن از یک لایه سلول سنگفرشی ساده تشکیل شده است (تصویر ۴-۵۸-۱ تا ۶-۶)، در فضای داخلی این کپسول کلاف مویرگی نام دارد که گلومرول نامیده می شود، یک مویرگ آوران خون را به این کلاف وارد، و مویرگ و ابران خون را از این کلاف خارج می کند (تصویر ۴-۵۸-۱ تا ۶-۶). در فاصله ی بین گلومرول و کپسول بومن فضایی وجود دارد که فضای بومن نامیده می شود (تصویر ۴-۵۸-۱ تا ۶-۶). در شبکه های گلومرولی گلبول های قرمز خون و هسته های سلول های پودوسیت قابل تشخیص هستند (تصویر ۴-۵۸-۱ تا ۶-۶). کپسول بومن به توپول کوتاهی منتهی می شود که قطعه ی گردنی نامیده می شود (تصویر ۴-۵۸-۳ و تصویر ۴-۵۷-۴). سلول های اپی تلیومی این قطعه مکعبی شکل و ساده بوده و دارای هسته های مشخص گرد و مرکزی می باشند و مجرای لومن آن تنگ است (تصویر ۴-۵۸-۳). بعد از قطعه ی گردنی، توپول پروکسیمال قرار گرفته است، این توپول خود از دو بخش I و II تشکیل شده است، اپی تلیوم این قطعه از یک لایه سلول مکعبی ساده تشکیل شده است که در سطح راسی خود دارای میکروویلی هایی می باشند که در لومن توپول ظاهر یک حاشیه ی مسواکی را ایجاد می کنند.

هسته های این سلول ها گرد و قاعده ای می باشد و در سیتوپلاسم آنها می توان وزیکول های متعدد ترشحی را مشاهده کرد (تصویر ۴-۵۷-۲، تصویر ۴-۵۷-۳، تصویر ۴-۵۷-۴ و تصویر ۴-۵۷-۶). قطعه ی بعدی توبول دیستال می باشد، سلول های این توبول مشابه سلول های توبول پروکسیمال، مکعبی شکل و ساده بوده و دارای هسته های درشت قاعده ای می باشند، بزرگترین تفاوت این سلول ها با سلول های اپی تلیومی توبول پروکسیمال، نداشتن حاشیه ی مسواکی یا میکروویلی های راسی می باشد، از سوی دیگر لومن این توبول نسبت به لومن توبول پروکسیمال تنگ تر می باشد (تصویر ۴-۵۷-۱، تصویر ۴-۵۷-۴ و تصویر ۴-۵۸-۶). بعد از توبول دیستال، توبول دیگری به نام توبول جمع کننده ی ادرار قرار گرفته است، توبول جمع کننده، مجرای وسیع تری نسبت به سایر توبول ها داشته و اپی تلیوم آن از بافت سنگفرشی مطابق کاذبی تشکیل شده است که در لابلای سلول های آن، سلول های موکوسی قابل مشاهده هستند (تصویر ۴-۵۷-۳ و تصویر ۴-۵۷-۴)، بعد از این قطعه مجرای جمع کننده ی ادرار قرار گرفته است که دارای لومن بزرگتری نسبت به توبول جمع کننده می باشد (تصویر ۴-۵۷-۴). آخرین بخش توبول های کلیوی، میزنای می باشد که دارای لومن تنگ بوده و از سلول های مکعبی با هسته های میانی تشکیل شده است (تصویر ۴-۵۸-۸ و تصویر ۴-۵۸-۹)، و پس از باز شدن به مثانه ی کوتاهی (تصویر ۴-۵۸-۷) از راه یک منفذ نزدیک به منفذ مخرج به بیرون باز می شود.



تصویر ۴-۵۷. بافت شناسی کلیه در بچه ماهی سفید. توپول های کلیوی بعد از قطعه ی گلومرول و کپسول بومن به ترتیب شامل قطعه ی کوتاه گردنی (۴)، توپول پروکسیمال (۲ و ۳) که سلول های اپی تلیالی آن دارای میکروویلی می باشند و لبه ی برسی ایجاد می کنند، توپول دیستال (۱ و ۴) که مشخص ترین راه تشخیص آن از توپول پروکسیمال در نداشتن حاشیه ی مسواکی می باشد، توپول جمع کننده (۳ و ۴) و در نهایت مجرای جمع کننده ی ادرار (۴) می باشند. در بخش راسی کلیه (ابتدای بافت کلیوی) فضای بین توپول های کلیوی را بافت هماتوپوئیتیک یا خونساز پر کرده است (۱).

DT: توپول دیستال (Distal Tubule); PT: توپول پروکسیمال (Proximal Tubule); N: قطعه گردنی (Neck); CT: توپول جمع کننده (Collecting Tubule); CD: مجرای جمع کننده (Collecting Duct); HT: بافت هماتوپوئیتیک (Hematopoietic Tissue).



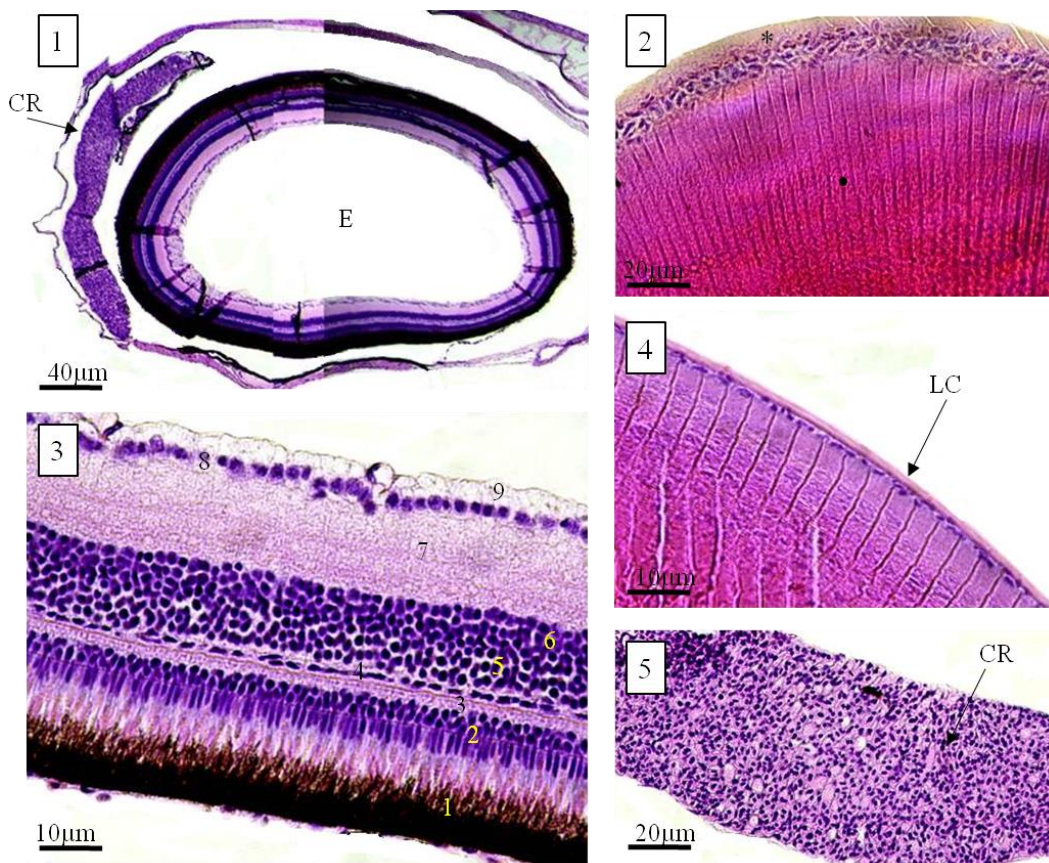
تصویر ۴-۵۸. بافت شناسی کپسول بومن در کلیه ی بچه ماهی سفید. کپسول بومن بخش ابتدایی نفرون در کلیه محسوب شده و سلول های اپی تلیالی آن از یک لایه سلول سنگفرشی ساده تشکیل شده است، درون کپسول بومن شبکه ی درهم تنیده ای از مویرگ های خونی وجود دارد که گلومرول نامیده می شود (۱-۶)، در فاصله ی بین گلومرول تا دیواره ی کپسول بومن فضای خالی وجود دارد که فضای بومن نامیده می شود (۳)، پس از کپسول بومن قطعه ی کوتاه گردنی قرار می گیرد که توپول کوتاهی با مجرای تنگ، متشکل از سلول های مکعبی دارای هسته های قاعده ای می باشد (۳)، توپول

پروکسیمال با مجرای فراخ و سلول های دارای لبه ی برسی (۴ و ۶) و توبول دیستال با مجرای تنگ تر نسبت به توبول پروکسیمال و نداشتن لبه ی برسی قابل مشاهده است (۶)، بافت هماتوپوئیتیک نیز در بخش ابتدایی کلیه در اطراف توبول های کلیوی دیده می شود (۶)، مثانه ی کوتاهی در بخش پایانی بافت کلیوی وجود دارد که پوشش اپی تلیال آن از بافت مطبق سنگفرشی تا مکعبی پوشیده شده است (۷)، قبل از مثانه میزنا ی وجود دارد که لوله ای مستقیم با لومن تنگ بوده که از سلول های اپی تلیوم مکعبی تا استوانه ای با هسته های میانی تشکیل شده است (۸ و ۹).

BS: فضای بومن (Bowman's Space)؛ G: گلومرول (Glomerulus)؛ N: قطعه گردنی (Neck)؛ PT: توبول پروکسیمال  
 DT: توبول دیستال (Distal Tubule)؛ HT: بافت هماتوپوئیتیک (Hematopoietic Tissue).

#### ۴-۱-۲-۲-۴- بافت شناسی چشم در بچه ماهی سفید دریای خزر

بافت چشم در لارو ماهی سفید بطور کامل شرح داده شد، از آنجائیکه چشم یکی از نخستین اندام هایی است که مراحل نمو آن در دوران جنینی تقریباً کامل می شود، ساختمان چشم در بچه ماهی سفید دریای خزر همانند ساختمان این اندام در لارو می باشد و شاید مهمترین تفاوت قابل تشخیص در این میان، اندازه ی کره ی چشم می باشد که به طور قابل توجهی در بچه ماهی افزایش پیدا کرده است. چشم در بچه ماهی سفید گرد بوده و ساختار کاملی دارد، در بخش عقبی چشم شبکه ی رته (کوروئید رته) وجود دارد (تصویر ۴-۵۹-۱). عدسی گرد و بزرگ بوده و توسط یک لایه ی محافظ به نام کپسول عدسی احاطه شده است (تصویر ۴-۵۹-۴). سلول های عدسی به دو گروه کلی تقسیم می شوند، گروه اول کوتاه و به هم فشرده بوده و در تماس با اتاق جلویی چشم و مایع زلالیه می باشند و گروه دوم بلند و کشیده بوده و در تماس با اتاق پشتی و مایع زجاجیه هستند (تصویر ۴-۵۹-۲). شبکه مشخضا از ۹ لایه ی قابل مشاهده تشکیل شده است: شامل: (۱) اپی تلیوم پیگمان دار یا رنگدانه ای، (۲) لایه ی فتورسپتور (زوائد سلول های مخروطی و استوانه ای)، (۳) غشای محدودکننده ی خارجی، (۴) لایه ی هسته دار خارجی (حاوی هسته های فتورسپتورها)، (۵) لایه ی شبکه ای خارجی، (۶) لایه ی هسته دار داخلی، (۷) لایه ی شبکه ای داخلی، (۸) لایه ی سلول های گانگلیونی، (۹) لایه ی اکسون های سلول های گانگلیونی که تشکیل دهنده ی عصب بینایی هستند (لایه ی رشته های عصبی) و غشای محدود کننده ی داخلی (لایه ۱۰) می باشد (تصویر ۴-۵۹-۳). شبکه ی رته در پشت چشم ساختاری متشکل از مویرگ های خونی فراوان بوده که وظیفه ی خونرسانی و اکسیژن رسانی به چشم را بر عهده دارد (تصویر ۴-۵۹-۵).



**تصویر ۴-۵۹. بافت شناسی چشم در بچه ماهی سفید.** چشم در بچه ماهی سفید گرد بوده و ساختار کاملی دارد، در بخش عقبی چشم شبکه ی رته (کوروئید رته) وجود دارد (۱). عدسی گرد و بزرگ بوده و توسط یک لایه ی محافظ به نام کپسول عدسی احاطه شده است (۴). سلول های عدسی به دو گروه کلی تقسیم می شوند، گروه اول (\*) کوتاه و به هم فشرده بوده و در تماس با اتاق جلویی چشم و مایع زلالیه می باشند و گروه دوم (•) بلند و کشیده بوده و در تماس با اتاق پشتی و مایع زجاجیه هستند (۲). شبکه مشخضا از ۹ لایه ی قابل مشاهده تشکیل شده است: شامل: ۱) اپی تلیوم پیگمان دار یا رنگدانه ای، ۲) لایه ی فتورسپتور (زوائد سلول های مخروطی و استوانه ای)، ۳) غشای محدودکننده ی خارجی، ۴) لایه ی هسته دار خارجی (حاوی هسته های فتورسپتورها)، ۵) لایه ی شبکه ای خارجی، ۶) لایه ی هسته دار داخلی، ۷) لایه ی شبکه ای داخلی، ۸) لایه ی سلول های گانگلیونی، ۹) لایه ی اکسون های سلول های گانگلیونی که تشکیل دهنده ی عصب بینایی هستند (لایه ی رشته های عصبی)، غشای محدود کننده ی داخلی (لایه ۱۰) در تصویر مشاهده نمی شود (۳). شبکه ی رته در پشت چشم ساختاری متشکل از مویرگ های خونی فراوان بوده که وظیفه ی خونرسانی و اکسیژن رسانی به چشم را بر عهده دارد (۵).

E: چشم (Eye); CR: شبکه رته (Choroid rete); LC: کپسول عدسی (Lens Capsule).

#### ۴-۱-۲-۲-۵- بافت شناسی مغز و سیستم عصبی در بچه ماهی سفید دریای خزر

مغز که بخش برجسته ی ابتدای نخاع می باشد و از سه بخش اساسی تشکیل شده است: مغز قدامی یا پروسن سفالون (Prosencephalon)، مغز میانی یا مزن سفالون (Mesencephalon) و مغز خلفی یا رومبن سفالون (Rombencephalon). مغز قدامی، خود به دو بخش تین سفالون و دین سفالون تقسیم می شود.

بنابراین پنج زیربخش ساختمان مغز به ترتیب شامل: تَلن سفالون، دین سفالون، مزن سفالون، متن سفالون و میلن سفالون می باشند (تصویر ۴-۶۰).

تَلن سفالن (telencephalon) شامل لوب های بویایی (olfactory lobes) و نیمکره های مغزی (cerebral hemispheres)، دین سفالن (diencephalon) شامل اپی تالاموس، تالاموس و هیپوتالاموس، مزن سفالن (mesencephalon) شامل لوب های بینایی (optic lobes) و تگمنتوم (tegmentum)، متن سفالن (metencephalon) شامل مخچه (cerebellum)، و میلن سفالن (myelencephalon) شامل بصل النخاع (medulla oblongata) (تصویر ۴-۶۰). بصل النخاع در انتها پهن شده و نخاع (spinal cord) را بوجود می آورد که در بخش مرکزی آن کانال باریکی قابل مشاهده است که ادامه ی بخش عقبی سیستم بطنی مغز می باشد این کانال مجرای سیلویوس نامیده می شود. تَلن سفالن از لوب های بویایی و نیمکره های مغزی (مخ یا Cerebrum) تشکیل شده است. بطن های مغزی تاحدی در این بخش قابل مشاهده هستند (تصویر ۴-۶۰). بخش مخ از نورون های به هم پیوسته تشکیل شده است. بخش دین سفالن یا مغز میانی به دو بخش اپی تالاموس پشتی که ایجاد کننده ی غده ی پینه آل، گانگلیون هابنولار (habenular ganglion) و خود تالاموس است، و بخش دوم هیپوتالاموس که در موقعیت شکمی قرار گرفته است. هیپوتالاموس، متشکل از اینفاندیبولوم (infundibulum) و دو لوب زیرین می باشد که مشخص ترین ساختار آناتومیک دین سفالن بوده و وظیفه ی آن تنظیم غده ی هیپوفیز (pituitary gland) می باشد. مزن سفالن بزرگ بوده و توسط لایه های تکتوم بینایی (optic tectum) پوشیده می شود، و در بخش زیرین آن تگمنتوم (tegmentum) دیده می شود. تکتوم بینایی از نظر ظاهر کلی به دو لوب بینایی تقسیم می شود (تصویر ۴-۶۰).

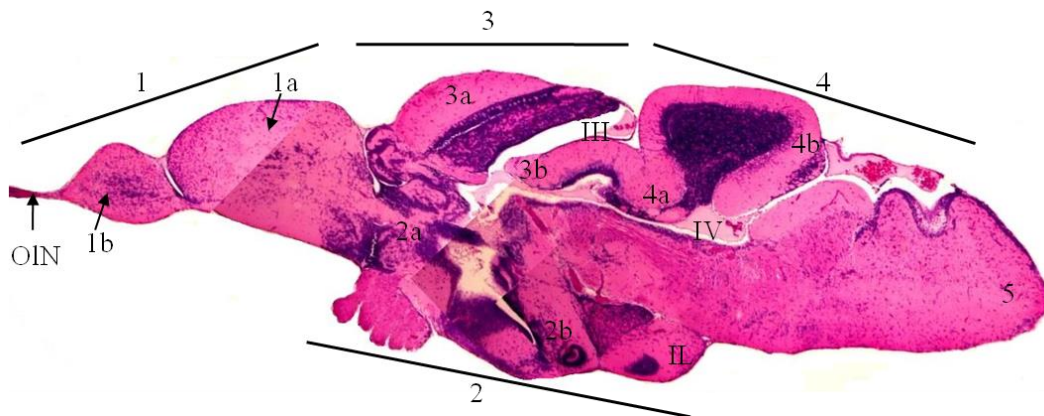
مخچه مهمترین بخش پشتی متن سفالن است. نقش این بخش، تنظیم هماهنگی بین پاسخ های حرکتی است، همانطور که در سایر مهره داران دیده می شود. مخچه بخوبی توسعه یافته است (تصویر ۴-۶۰). بصل النخاع (medulla oblongata) بخش اساسی تشکیل دهنده ی مغز عقبی بوده و در بخش دمی (caudal) آن نخاع شکل می گیرد. این بخش حاوی هسته ی برخی از اعصاب مغزی (۵ تا ۱۰) و محل اصلی شکل گیری سیستم ماتنر (Mauthnerian system) می باشد، این سیستم یک سیستم توسعه ی یافته ی عصبی ماهیچه ای در ماهیان تلئوست می باشد. تحریک سلول های ماتنر موجب ایجاد حرکت سریع و پر قدرت دم در هنگام ترس و فرار ماهی می شود (تصویر ۴-۶۰).

نورون ها و سلول های نوروگلیا بخش سلولی مغز و نخاع را تشکیل می دهند. اکسون های میلین دار نورون ها تشکیل دهنده ی ماده ی سفید مغز و نخاع بوده و بخش خاکستری مغز و نخاع از جسم سلولی و هسته های نورون ها تشکیل شده است (تصویر ۴-۶۱-۱ و تصویر ۴-۶۱-۲).

در طول نخاع توده های مجتمعی از سلول های عصبی دیده می شود که گانگلیون نخاعی نامیده می شوند (تصویر ۴-۶۱-۳ و تصویر ۴-۶۱-۴). نورون های تشکیل دهنده ی این گانگلیون ها بسیار درشت بوده و گانگلیون توسط کپسولی از جنس بافت پیوندی احاطه می شود.

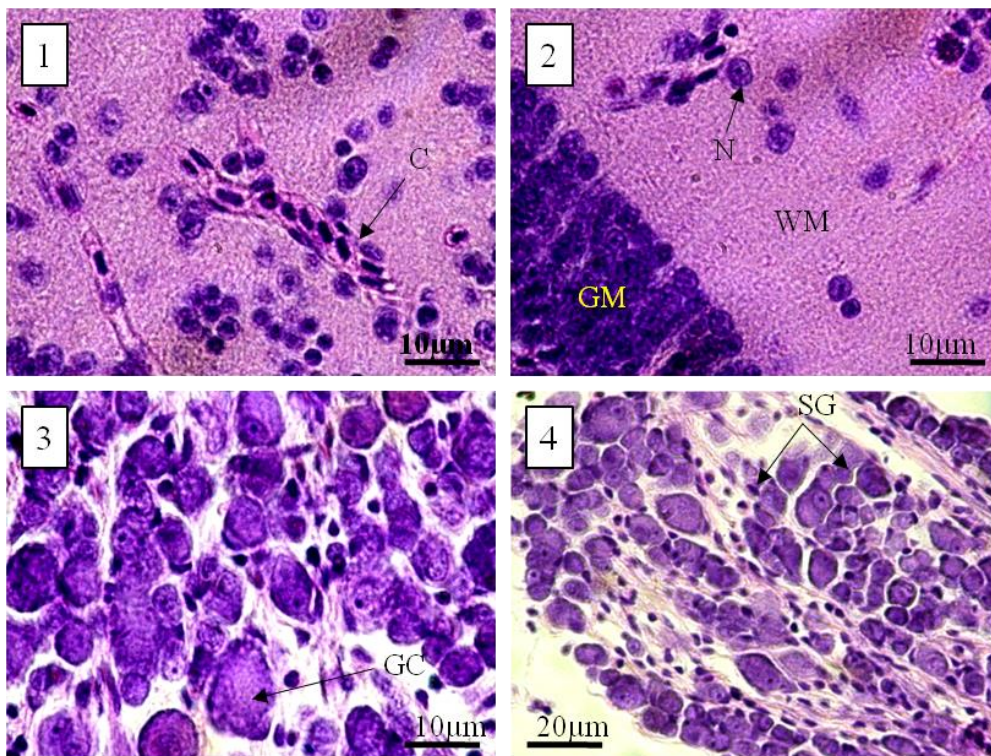
از سیستم های حسی مرتبط با سیستم عصبی که شامل گوش داخلی و اپی تلیوم بویایی می باشند، سیستم بویایی در بچه ماهی سفید بصورت دو کیسه ی چین خورده در بالای پوزه دیده می شود (تصویر ۴-۶۲-۱ و

تصویر ۴-۶۲-۴). اپی تلیوم این کیسه پوشیده از سلول های حسی مژک دار می باشد (تصویر ۴-۶۲-۲) و عصب بویایی از دیواره ی قاعده ای این کیسه مستقیما به لوب های بویایی مغز می رود (تصویر ۴-۶۲-۱). گوش داخلی که از سه مجرای نیم دایره تشکیل شده است از سه فضای پر شده توسط اندولنف به نام های اوتریکول، ساکول و لاگنا تشکیل شده است، اپی تلیوم داخلی این فضاها نیز اپی تلیومی حسی و مژک دار می باشد که ماکولا نامیده می شود (تصویر ۴-۶۲-۳).

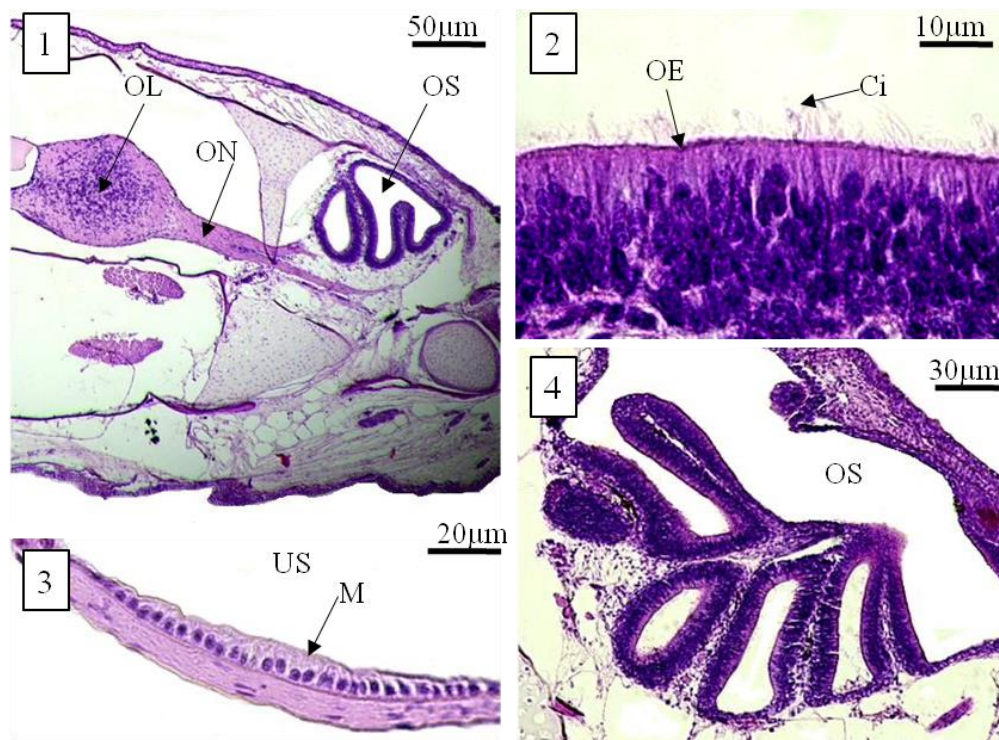


**تصویر ۴-۶۰-۴. بافت شناسی سیستم عصبی در بچه ماهی سفید.** ساختمان کلی مغز در لارو سفید از بخش پوزه ای (سمت چپ) تا بخش دمی مغز (راست) نشان داده شده است. مغز بطور کلی از ۵ بخش تشکیل شده است: ۱) تلن سفالن یا مخ: بخش جلویی مغز بوده و خود شامل دو نیمکره ی مخ (1a) و یک جفت لوب های بویایی (1b) است؛ ۲) دین سفالن، خود به دو بخش پشتی اپی تالاموس و یک تالاموس (2a) و یک هیپوتالاموس در سطح شکمی (2b) می باشد، این بخش همچنین دارای زوائد دیگری مانند غده پینه آل، غده هیپوفیز و ... می باشد؛ ۳) مزن سفالن شامل لوب های بینایی در سطح پشتی (3a)؛ تکتوم بینایی) و تگمنتوم (3b) در سطح شکمی می باشد؛ ۴) متن سفالن شامل مخچه ی دارای والولاسربلی (4a) و کورپوس سربلی (4b) می باشد؛ ۵) بصل نخاع بخش پایانی مغز بوده و پس از آن نخاع به سمت انتهای بدن امتداد می یابد.  
 III: بطن سوم؛ IV: بطن چهارم؛ OIN: عصب بویایی (Olfactory Nerve)؛ IL: لوب تحتانی (Inferior Lobe).





تصویر ۴-۶۱. بافت شناسی سیستم عصبی در بچه ماهی سفید. بافت مغز از دو بخش ماده ی سفید (متشکل از رشته های عصبی میلین دار) و ماده خاکستری (متشکل از جسم سلولی نورون ها) می باشد (۲). در بافت عصبی مویرگ های ظریفی دیده می شود که درون آنها گلبول های قرمز هسته دار وجود دارند (۱). در کناره ی نخاع گانگلیون نخاعی دیده می شود (۴) که متشکل از نورون های با جسم سلولی درشت می باشد که هسته های درشت قاعده ای دارند (۳).  
 C: مویرگ (Capillary)؛ N: هسته (Nucleus)؛ WM: ماده سفید (White Matter)؛ GM: ماده خاکستری (Grey Matter)؛ GC: سلول های گانگلیونی (Ganglionic Cell)؛ SG: گانگلیون نخاعی (Spinal Ganglion).



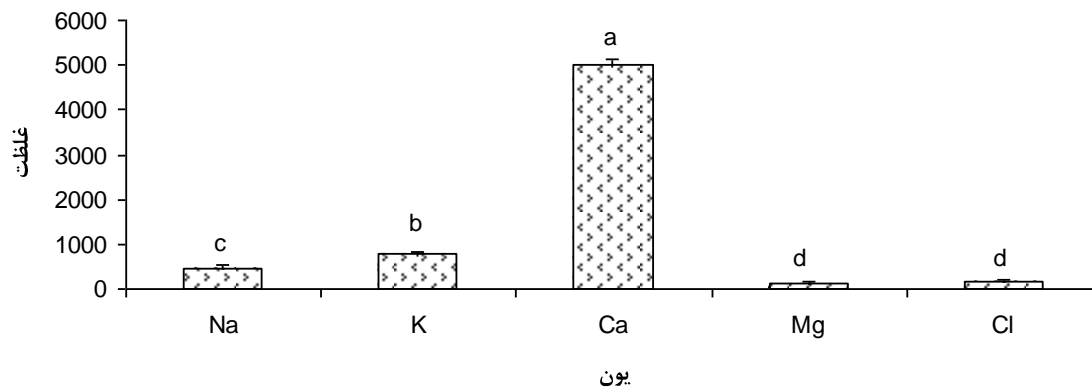
تصویر ۴-۶۲. بافت شناسی سیستم بویایی و گوش داخلی در بچه ماهی سفید. سیستم بویایی در بچه ماهی سفید بصورت دو کیسه ی چین خورده در بالای پوزه دیده می شود و عصب بویایی مستقیماً از دیواره ی تحتانی به لوب بویایی مغز می رود (۱ و ۴). اپی تلیوم این کیسه پوشیده از سلول های حسی مزک دار می باشد (۲). گوش داخلی که از سه مجرای نیم دایره تشکیل شده است از سه فضای پر شده توسط اندولنف به نام های اوتریکول، ساکول و لاگنا تشکیل شده است، اپی تلیوم داخلی این فضاها نیز اپی تلیومی حسی و مزک دار می باشد که ماکولا نامیده می شود (۳).

OS: کیسه بویایی (Olfactory Sac); ON: عصب بویایی (Olfactory Nerve); OL: لوب بویایی (Olfactory Lobe); OE: اپی تلیوم بویایی (Olfactory Epithelium); Ci: مزک (Cilia); US: فضای اوتریکول (Utriculus Space); M: ماکولا (Macula).

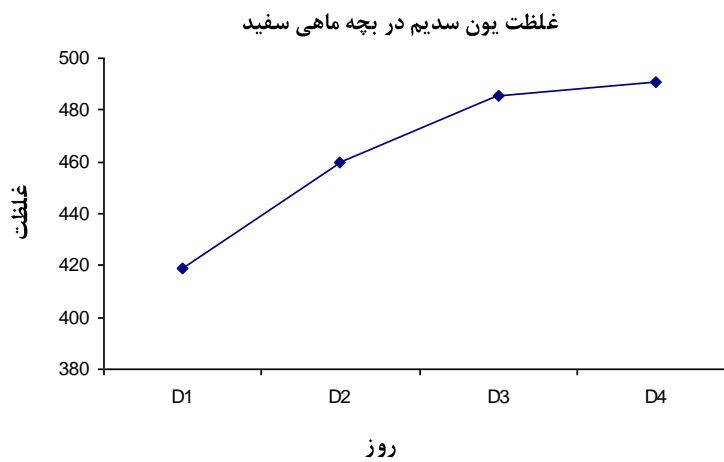
#### ۴-۱-۲-۳- اندازه گیری یونهای بدن در بچه ماهی سفید

اندازه گیری یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در بافت های بدن بچه ماهی سفید نشان داد که بیشترین میزان در میان یون های بدن به یون کلسیم اختصاص داشته و پس از آن به ترتیب  $K^+$ ،  $Na^+$ ،  $Cl^-$  و  $Mg^{2+}$  قرار می گیرند، مقایسه آماری این مقادیر نشان می دهد که تمامی این غلظت ها با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار داشته و تنها بین غلظت دو یون منیزیم و کلر تفاوت آماری معنی دار وجود ندارد (نمودار ۴-۱۵). تغییرات غلظت یون های اندازه گیری شده در بچه ماهی سفید در طی چهار روز مطالعه در نمودارهای ۴-۱۶، ۴-۱۷، ۴-۱۸، ۴-۱۹ و ۴-۲۰ ارائه شده است. این نمودارها نشان می دهند که میزان تمامی این یون ها در طی این چهار روز آزمایش سیر صعودی داشته و بر مقادیر آنها افزوده شده است.

میانگین غلظت یون های مختلف در بدن بچه ماهی سفید

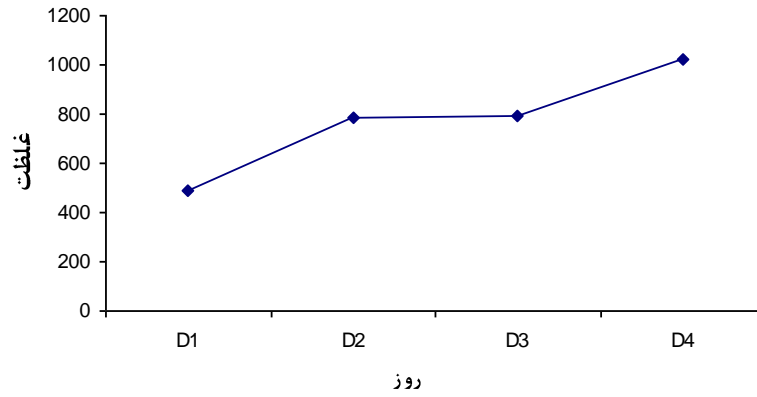


نمودار ۴-۱۵. میانگین غلظت یون های مختلف در بدن بچه ماهی سفید. بیشترین میزان متعلق به یون کلسیم بوده و مقادیر یون های مختلف (بجز یون های منیزیم و کلر) با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار دارند.



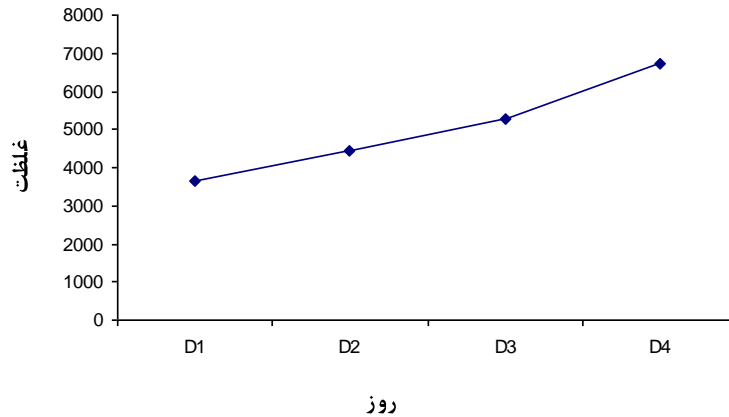
نمودار ۴-۱۶. تغییرات میزان غلظت یون سدیم در بچه ماهی سفید در طی دوره ی آزمایش. میزان غلظت یون سدیم در طی چهار روز مطالعه روندی افزایشی دارد.

غلظت یون پتاسیم در بچه ماهی سفید

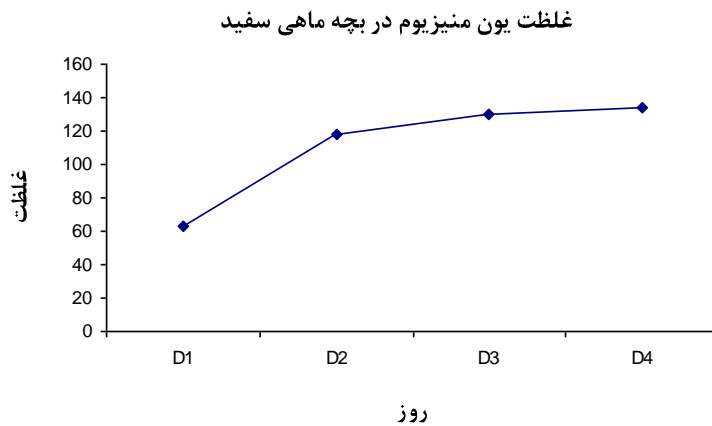


نمودار ۴-۱۷. تغییرات میزان غلظت یون پتاسیم در بچه ماهی سفید در طی دوره ی آزمایش. تغییرات غلظت یون پتاسیم در بچه ماهی سفید در طی چهار روز مطالعه روندی افزایشی دارد.

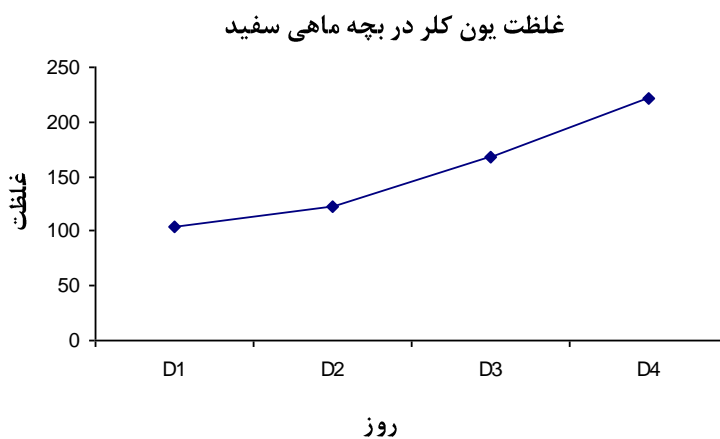
غلظت یون کلسیم در بچه ماهی سفید



نمودار ۴-۱۸. تغییرات میزان غلظت یون کلسیم در بچه ماهی سفید در طی دوره ی آزمایش. تغییرات غلظت یون کلسیم در بچه ماهی سفید در طی چهار روز مطالعه روندی افزایشی دارد.



نمودار ۴-۱۹. تغییرات میزان غلظت یون منیزیوم در بچه ماهی سفید در طی دوره ی آزمایش. تغییرات غلظت یون منیزیوم در بچه ماهی سفید در طی چهار روز مطالعه روندی افزایشی دارد.

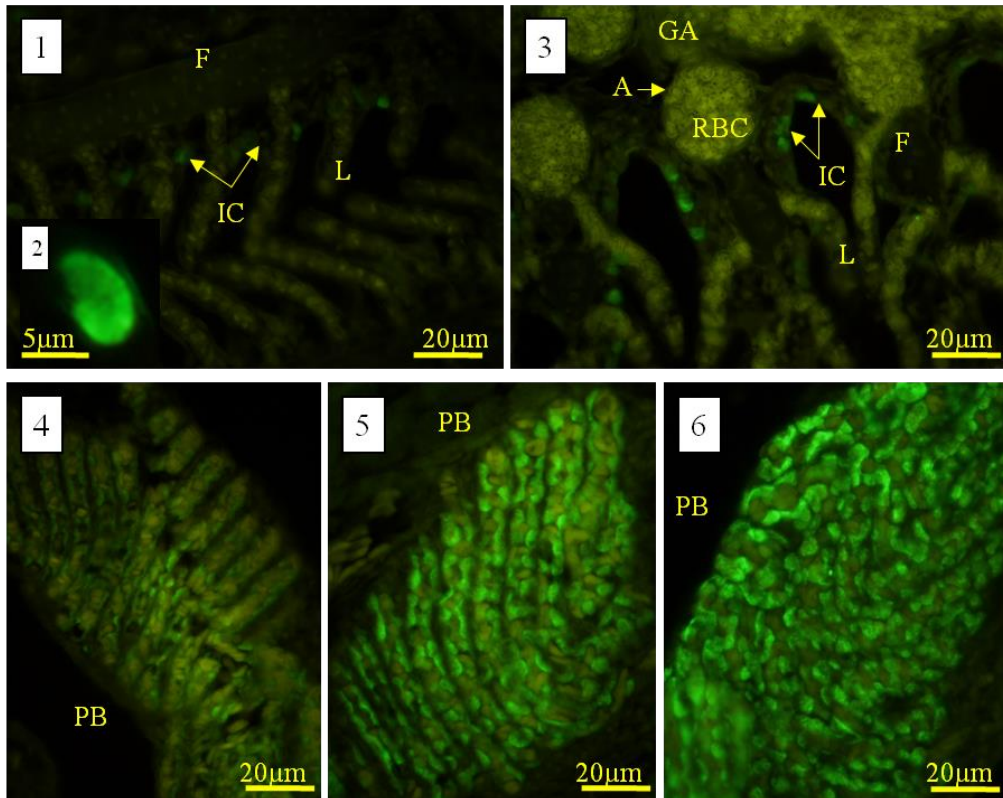


نمودار ۴-۲۰. تغییرات میزان غلظت یون کلر در بچه ماهی سفید در طی دوره ی آزمایش. تغییرات غلظت یون کلر در بچه ماهی سفید در طی چهار روز مطالعه روندی افزایشی دارد.

#### ۴-۱-۲-۴- مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در بچه ماهی سفید

#### ۴-۱-۲-۴- مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در آبشش بچه ماهی سفید

مطالعات ایمونوهیستوشیمی نشان داد که یونوسیت های آبششی در بچه ماهیان سفید دریای خزر بر روی کمان آبششی (تصویر ۴-۶۳-۱ و تصویر ۴-۶۳-۳)، بر روی رشته های آبششی (تصویر ۴-۶۳-۱ و تصویر ۴-۶۳-۳) و در پایه ی تیغه های آبششی (تصویر ۴-۶۳-۱ و تصویر ۴-۶۳-۳)، و سودوبرانش آبششی وجود دارند (تصویر ۴-۶۳-۴ تا ۶-۶). از نظر ظاهری اغلب این سلول های گرد تا تخم مرغی شکل بوده و بیشترین میزان فلورسنت را در غشاهای قاعده ای- جانبی آنها می توان مشاهده کرد (تصویر ۴-۶۳-۲). بیشترین تعداد سلول هایی که دارای ایمونوفلورسانس می باشند در کل ساختار سیستم آبششی، در بخش سودوبرانش دیده می شود (تصویر ۴-۶۳-۴ تا ۶-۶).



تصویر ۴-۶. مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در بافت آبششی بچه ماهی سفید. در بافت آبششی بچه ماهی سفید یونوسیت های آبششی بر روی کمان های آبششی و بر روی رشته ی آبششی در پایه ی تیغه های آبششی دیده می شوند (۱ و ۳). یونوسیت های آبششی عموماً گرد تا تخم مرغی شکل بوده و بیشترین میزان فلورسنت در غشاهای قاعده ای- جانبی آنها به رنگ سبز درخشان دیده می شود (۲). ایمونوفلورسانس بسیار مشخصی در بافت سودوبرانش نیز دیده می شود (۴-۶) و به نظر می رسد که تعداد زیادی یونوسیت در طول ساختارهای تیغه مانند سودوبرانش وجود دارد. گلبول قرمز خون دارای اتوفلورسانس می باشند که به رنگ زرد روشن دیده می شود (۳).

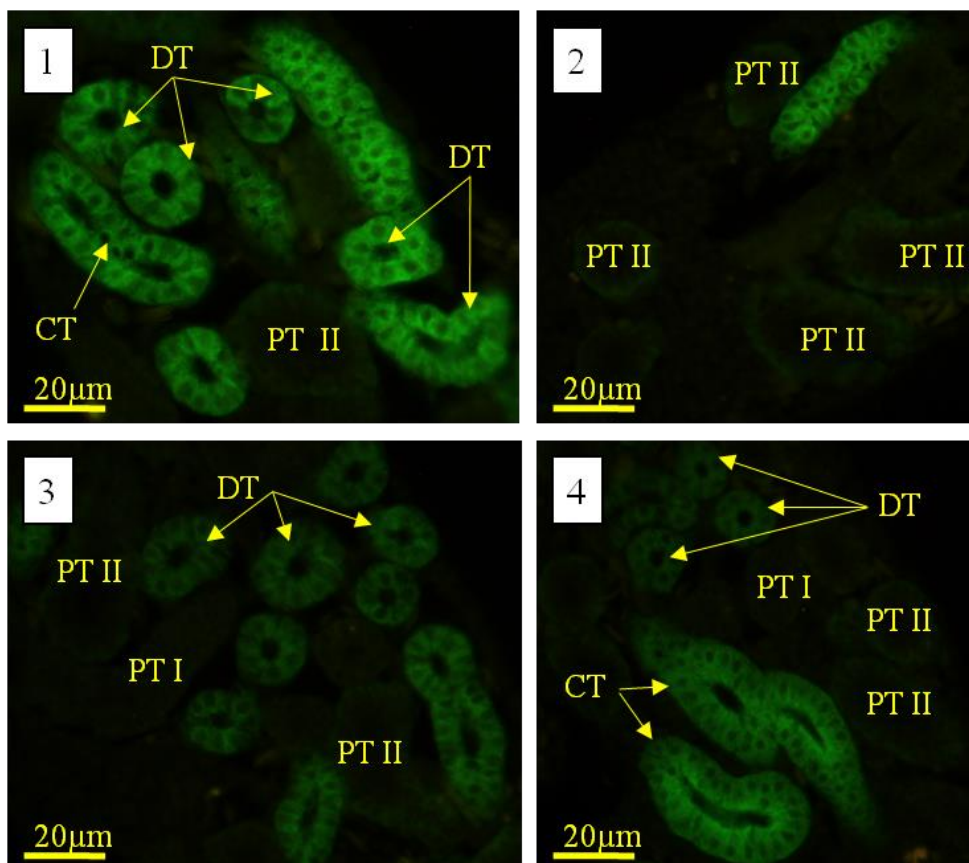
GA: کمان آبششی (Gill Arch)؛ F: رشته آبششی (Filament)؛ L: تیغه آبششی (Lamellae)؛ A: شریان آوران (Afferent)؛ IC: یونوسیت (Ionocyte)؛ RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell)؛ PB: سودوبرانش (Pseudobranch).

#### ۴-۱-۲-۴-۲- شمارش و اندازه گیری یونوسیت های آبششی در بچه ماهی سفید

شمارش یونوسیت های آبششی در بچه ماهی سفید دریای خزر نشان داد که در هر میلی متر مربع از سطح بافت آبششی حدوداً ۵۰۱ سلول وجود دارد. نتایج اندازه گیری این سلول ها نشان داد که میانگین بیشترین کشیدگی سلول ها (طول) برابر با  $9/70 \pm 0/28$  میکرومتر و میانگین بیشترین پهنای آنها (عرض)  $6/83 \pm 0/24$  میکرومتر می باشد.

#### ۴-۱-۲-۳- مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در کلیه بچه ماهی سفید

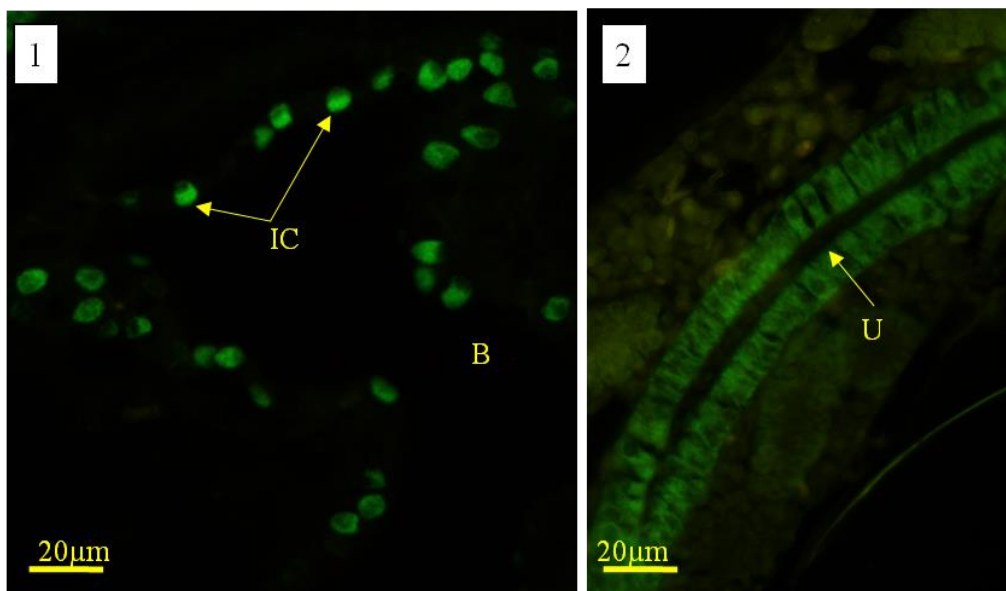
همانند آنچه در بافت کلیوی لارو تازه تفریح یافته ی ماهی سفید مشاهده گردید، نتایج مطالعات ایمونوهیستوشیمی نشان داد که در گلومرول و کپسول بومن هیچگونه ایمونوفلورسانسی مشاهده نمی شود. در قطعه ی کوتاه گردنی ایمونوفلورسانس بسیار مشخصی دیده می شود (تصویر ۴-۶۶-۷). دو نوع توبول پروکسیمال دیده می شود، توبول هایی که سلول های آنها دارای ایمونوفلورسانس نسبتا ضعیف اما قابل مشاهده ای در بخش های قاعده ای جانبی خود می باشند (پروکسیمال II)، و توبول های پروکسیمالی که فاقد هرگونه ایمونوفلورسانس می باشند (پروکسیمال I) (تصویر ۴-۶۴-۱ تا ۴-۶۶-۱)، توبول های دیستال دارای ایمونوفلورسانس بسیار قوی می باشند که بیشتر در غشاهای قاعده ای جانبی سلول ها تا امتداد نزدیک به راس دیده می شود (تصویر ۴-۶۴-۱ تا ۴-۶۶-۲، تصویر ۴-۶۶-۴ و تصویر ۴-۶۶-۵). مجرای جمع کننده و توبول جمع کننده ی ادرار نیز دارای ایمونوفلورسانس بسیار قوی در سلول های اپی تلیال خود می باشند (تصویر ۴-۶۴-۱ تا ۴-۶۶-۴، تصویر ۴-۶۴-۳ و تصویر ۴-۶۶-۶). میزنا ی دارای ایمونوفلورسانس بسیار زیاد می باشد، در این بخش نیز بیشترین میزان ایمونوفلورسانس در سلول ها در غشاهای قاعده ای- جانبی دیده می شود، این در حالی است که در اپی تلیوم میزنا ی، سلول های موکوسی نیز دیده می شود که بطور کلی فاقد ایمونوفلورسانس بوده و بصورت تاریک دیده می شوند (تصویر ۴-۶۵-۲). و در نهایت در دیواره ی مثانه که آخرین بخش سیستم ادراری را تشکیل می دهد، سلول هایی دارای ایمونوفلورسانس دیده می شود که بصورت پراکنده در دیواره ی مثانه قرار گرفته اند، ایمونوفلورسانس این سلول ها قوی بوده و در دیواره های قاعده ای- جانبی آنها دیده می شود (تصویر ۴-۶۵-۱).



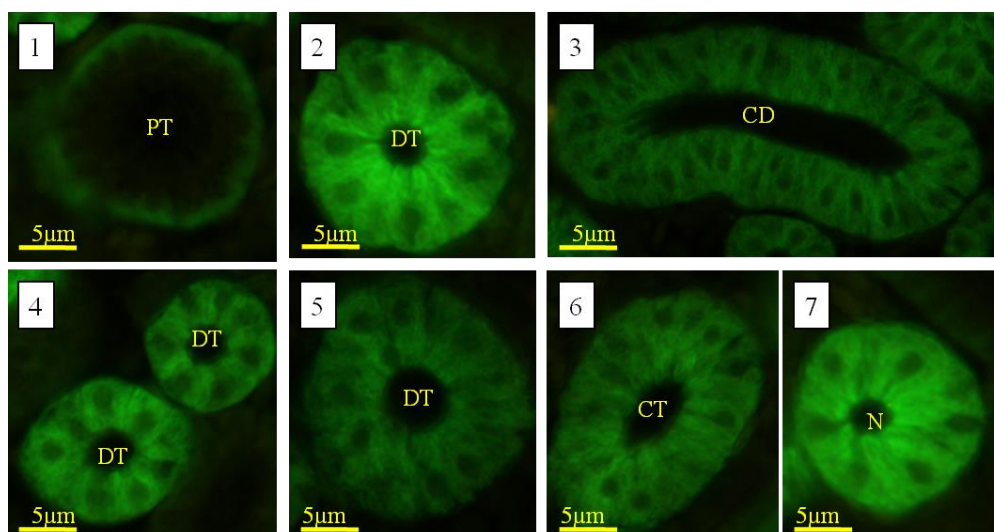
تصویر ۴-۶۴. مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در بافت کلیه بچه ماهی سفید. در بافت کلیوی بچه ماهی سفید ایمونوفلورسانس ضعیفی در توبول های پروکسیمال II در غشاهای قاعده ای سلول های اپی تلیالی دیده می شود و سلول های اپی تلیالی توبول های پروکسیمال I فاقد ایمونوفلورسانس هستند (۱-۴). سلول های اپی تلیالی توبول های دیستال دارای ایمونوفلورسانس بسیار قوی در تمام غشاهای خود می باشند (۱-۴). هیچگونه ایمونوفلورسانسی در گلوبول و کپسول بومن مشاهده نگردید (در شکل نشان داده نشده است). مجرای جمع کننده ی ادرار و توبول جمع کننده ی ادرار نیز دارای ایمونوفلورسانس بسیار قوی در سلول های اپی تلیالی خود می باشند (۱ و ۴).

PT: توبول پروکسیمال (Proximal Tubule); DT: توبول دیستال (Distal Tubule); CT: توبول جمع کننده (Collective Tubule); CD: مجرای جمع کننده (Collective Duct).





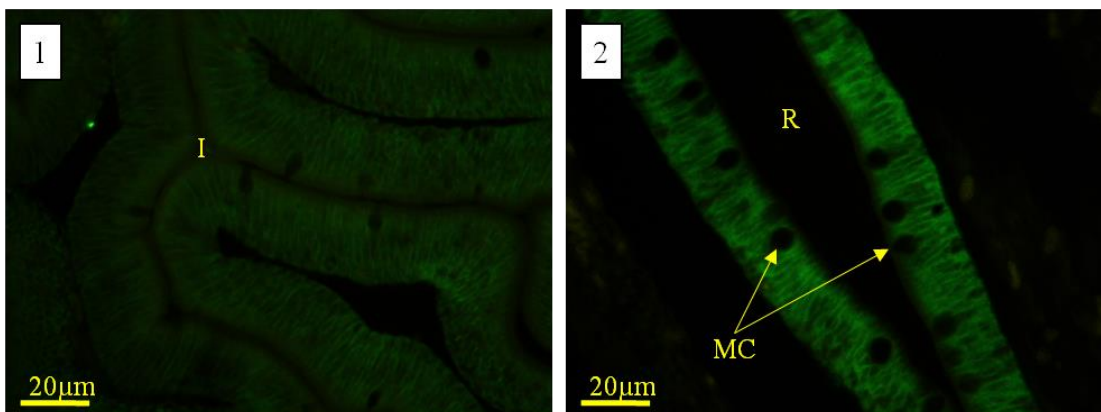
تصویر ۴-۶۵. مکان یابی آنزیم  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در بخش انتهایی بافت کلیوی بچه ماهی سفید. در بخش انتهایی بافت کلیوی سلول های اپی تلیال میزناى دارای ایمونوفلورسانس نسبتاً قوی می باشند (۲). در مثانه نیز در بین سلول های اپی تلیال یونوسیت ها بصورت پراکنده دیده می شوند (۱).  
 IC: یونوسیت (Ionocyte); B: مثانه (Bladder); U: میزناى (Ureter).



تصویر ۴-۶۶. مکان یابی آنزیم  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در توپول های مختلف کلیوی بچه ماهی سفید. توپول پروکسیمال دارای ایمونوفلورسانس خفیفی در غشاهای قاعده ای سلول های اپی تلیالی می باشد (۱). توپول دیستال دارای ایمونوفلورسانس بسیار قوی می باشد (۲، ۴ و ۵). مجرای جمع کننده ادرار (۳) و توپول جمع کننده ی ادرار (۶) نیز دارای ایمونوفلورسانس قوی می باشند. قطعه ی کوتاه گردنی نیز دارای ایمونوفلورسانس قوی و مشخصی می باشد (۷).  
 PT: توپول پروکسیمال (Proximal Tubule); DT: توپول دیستال (Distal Tubule); CD: مجرای جمع کننده ی ادرار (Collecting Duct); CT: توپول جمع کننده (Collecting Tubule); N: قطعه گردنی (Neck).

#### ۴-۱-۲-۴-۴- مکان یابی آنزیم NKA به روش ایمونوهیستوشیمی در دستگاه گوارش بچه ماهی سفید

مطالعات ایمونوهیستوشیمی نشان داد که در بخش ابتدایی دستگاه گوارش بچه ماهی سفید، شامل لب ها، حفره ی دهانی- حلقی و مری هیچگونه سلولی که خاصیت ایمونوفلورسانس داشته باشد، مشاهده نمی شود. اما تقریباً در تمام طول روده، سلول های اپیتلیومی دارای ایمونوفلورسانس نسبتاً ضعیفی در بخش های قاعده ای خود می باشند (تصویر ۴-۶۷-۱). این در حالی است که در بخش رکتوم (انتهای روده که به منفذ مخرج منتهی می گردد) ایمونوفلورسانس بسیار شدیدی دیده می شود که در غشاهای قاعده ای- جانبی سلول ها متمرکز گردیده است (تصویر ۴-۶۸-۲). در میان این سلول های اپیتلیومی با ایمونوفلورسانس شدید، سلول هایی تاریک و بدون ایمونوفلورسانس دیده می شود که در حقیقت همان سلول های موکوسی می باشند، تعداد این سلول های موکوسی در مقایسه با سلول های اپی تلیومی دارای ایمونوفلورسانس بسیار اندک است (تصویر ۴-۶۸-۲).



تصویر ۴-۶۷. مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در دستگاه گوارش بچه ماهی سفید. در طول دستگاه گوارش ایمونوفلورسانس ملایمی در غشاهای قاعده ای- جانبی انتروسیت های روده دیده می شود (۱). در بخش انتهایی روده (رکتوم) میزان ایمونوفلورسانس سلول های اپی تلیال روده بیشتر می شود، سلول های موکوسی فعالیت ایمنیایی نداشته و بصورت تاریک دیده می شوند (۲).

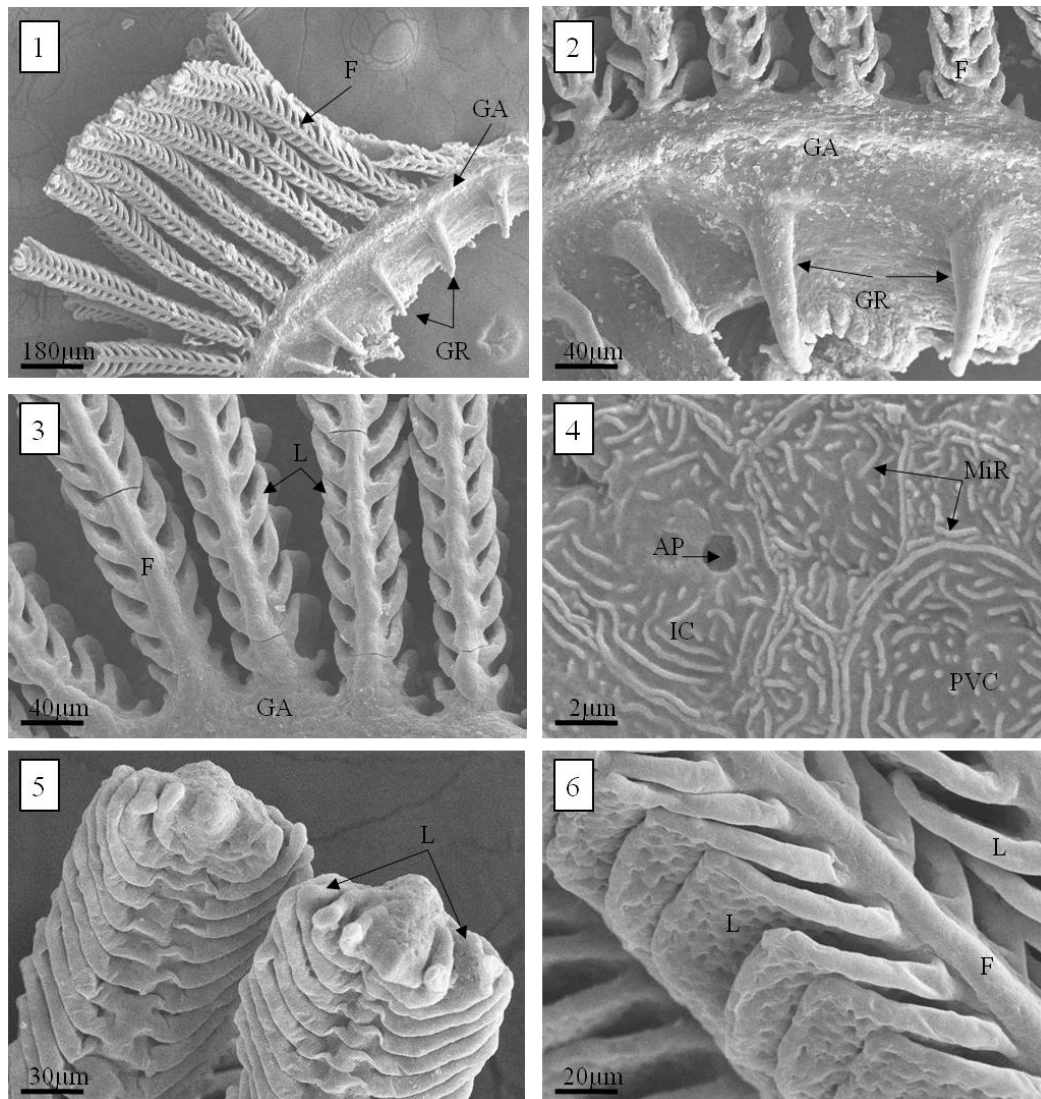
I: روده (Ionocyte); R: رکتوم (Rectum); MC: سلول موکوسی (Mucus Cell).

#### ۴-۱-۲-۵- فراساختار بچه ماهی سفید

#### ۴-۱-۲-۵-۱- میکروسکوپ الکترونی نگاره

مطالعات میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان داد که همانطور که در مطالعات هیستولوژی مشاهده گردید هر کمان آبششی حاوی دو ردیف رشته های آبششی می باشد (تصویر ۴-۶۸-۱) که در هر دو سمت رشته های آبششی نیز تیغه های آبششی قرار گرفته اند و این تیغه ها تا انتهای رشته ی آبششی دیده می شوند (تصویر ۴-۶۸-۳)، همچنین خارهای آبششی بسیار بلند نیز بر روی بخش خلفی کمان های آبششی قابل تشخیص هستند (تصویر ۴-۶۸-۲). بیشترین تعداد سلول های سطح بافت آبششی را سلول های سنگفرشی تشکیل

می دهند که سطح بیرونی و فوقانی آنها دارای چین خوردگی های بسیار ظریفی می باشد (تصویر ۴-۶۸-۴ و تصویر ۶-۶۸-۴) و در کنار آنها یونوسیت ها قرار دارند که بوسیله ی چاله ی راسی قابل تشخیص هستند (تصویر ۴-۶۸-۴).



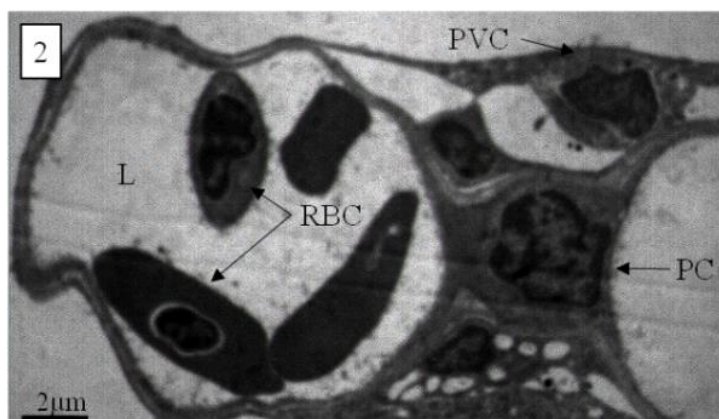
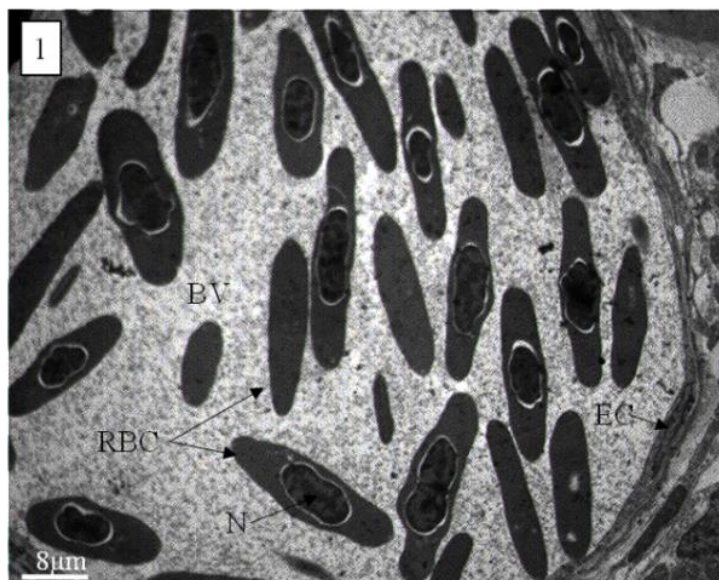
**تصویر ۴-۶۸-۶. فراساختار بافت آبششی در بچه ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره. کمان های آبششی دارای دو ردیف رشته های آبششی بلند در سمت دمی و تعدادی خارهای آبششی نسبتا بلند در سمت سری خود می باشند (۱). نمای نزدیک تری به کمان آبششی خارهای آبششی تیز و بلند بر روی کمان را نشان می دهد (۲). در دو سمت رشته های آبششی تیغه های آبششی برگ مانند دیده می شوند (۳). سطح بافت آبششی را سلول های سنگفرشی که دارای چین خوردگی های ریز در سطح خود می باشند و در لابلاهی آنها سلول های یونوسیت که علاوه بر چین خوردگی های راسی دارای چاله ی راسی نیز می باشند دیده می شوند (۴). تیغه های آبششی تا انتهای رشته های آبششی ادامه داشته و در انتها تیغه های کوچکتر دیده می شوند (۵). تیغه های آبششی بلند، نازک و مربع شکل بوده و سطح آنها توسط سلول های سنگفرشی پوشیده شده است (۶).**

GA: کمان آبششی (Gill Arch); GR: خار آبششی (Gill Racker); F: رشته آبششی (Filament); L: تیغه آبششی (Lamellae); PVC: سلول سنگفرشی (Pavement Cell); IC: یونوسیت (Ionocyte); MiR: چین ریز (Microridge); AP: چاله راسی (Apical Pit).

۴-۱-۲-۵-۲- میکروسکوپ الکترونی گذاره

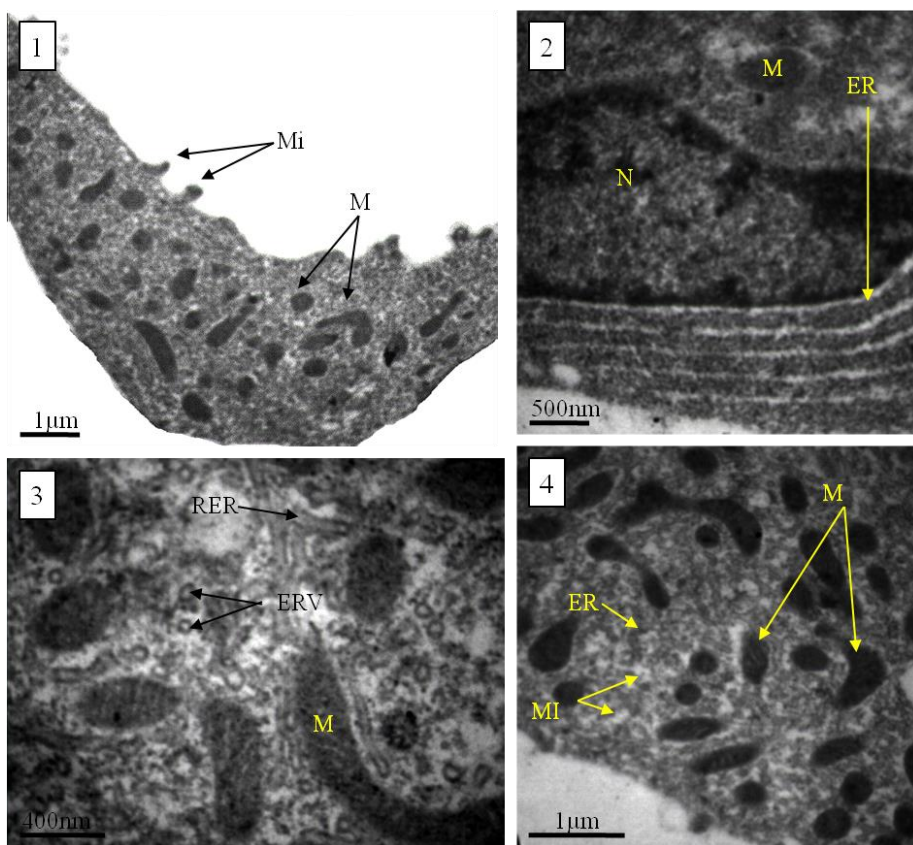
همانطور که در بخش مطالعات لارو ماهی سفید بیان گردید، در مطالعات فراساختاری با میکروسکوپ الکترونی گذاره، سلول های یونوسیت آبششی از راه داشتن تعداد بسیار زیادی میتوکندری در مقایسه با سایر سلول های آبششی، به راحتی قابل تشخیص می باشند. این سلول ها در پایه ی تیغه های آبششی و نیز بر روی کمان آبششی مشاهده گردیدند. همانطور که ذکر گردید، سیتوپلاسم آنها مملو از میتوکندری هایی با اشکال مختلف اعم از گرد، بیضی و یا لوبیایی شکل می باشد (تصویر ۴-۷۰-۳ و تصویر ۴-۷۰-۴). غشای قاعده ای آنها دارای چین خوردگی های بسیار زیاد و بسیار عمیقی می باشد که در برش عرضی این سلول ها به شکل حفرات خالی دیده می شود (تصویر ۴-۷۰-۳ و تصویر ۴-۷۰-۴). عمده ی تجمع میتوکندری ها در اطراف این چین خوردگی های غشایی می باشد (تصویر ۴-۷۰-۳ و تصویر ۴-۷۰-۴). هسته بسیار درشت بوده و در بخش قاعده ای سلول قرار گرفته است (تصویر ۴-۷۰-۲). شبکه ی اندوپلاسمی بسیار گسترده ای در سرتاسر سیتوپلاسم دیده می شود (تصویر ۴-۷۰-۲). در سطح راسی سلول های یونوسیت میکروویلی های کوچکی به چشم می خورد (تصویر ۴-۷۰-۱).

مطالعه ی فراساختاری تیغه ی آبششی نشان می دهد که در دو سمت تیغه ی آبششی سلول های بسیار نازک و پهن سنگفرشی (تصویر ۴-۶۹-۲) قرار گرفته اند، این دو اپی تلیوم را سلول های ستونی شکل پیلار به یکدیگر متصل می کنند. سلول های پیلار دارای استتاله های بلندی می باشند که در امتداد لبه ی داخلی سلول های سنگفرشی کشیده شده است (تصویر ۴-۶۹-۲)، این نحوه ی اتصال سلول های پیلار و سنگفرشی به یکدیگر موجب تشکیل حفره هایی در تیغه های آبششی می شود که لاکونا نامیده شده و از درون آنها خون جریان می یابد، در این حفره ها، گلبول های قرمز خون، که بیضی شکل و هسته دار می باشند قابل مشاهده هستند (تصویر ۴-۶۹-۲).



تصویر ۴-۶۹. فراساختار بافت آبششی در بچه ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره. سرخرگ اوران خون را به رشته های آبششی وارد می کند، گلبول های قرمز هسته دار هستند (۱). در مقطع طولی تیغه ی آبششی فضاهای خونی که توسط سلول های ستونی شکل پیلاز بوجود می آیند دیده می شوند که گلبول های قرمز هسته دار درون آنها دیده می شوند، سلول های پیلاز دارای استتاله های بلندی می باشند که به دو سمت تیغه آبششی کشیده می شوند، سطح تیغه های آبششی را سلول های نازک سنگفرشی پوشانده اند (۲).

RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell); BV: رگ خونی (Blood Vessel); N: هسته (Nucleus); EC: سلول اندوتلیوم (Endothelial Cell); L: لاکونا یا حفره ی خونی (Lacuna); PVC: سلول سنگفرشی (Pavement Cell); PC: سلول پیلاز (Pillar Cell).



تصویر ۴-۷۰. فراساختار بافت آبششی در بچه ماهی سفید توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره. سلول های یونوسیت دارای تعداد زیادی میتوکندری بوده و به همین دلیل به راحتی در بافت آبششی قابل تشخیص می باشند (۱). این سلول ها دارای تعداد اندکی میکروویلی های راسی هستند (۱). یونوسیت های آبششی هسته های درشت قاعده ای داشته و شبکه ی اندوپلاسمی به فراوانی در سیتوپلاسم آنها دیده می شود (۲). میتوکندری ها به دلیل داشتن کریستاها دارای ظاهر خطی بوده و در اطراف آنها شبکه ی اندوپلاسمی خشن در اطراف آنها دیده می شود که وزیکول های فراوانی نیز بین بخش های مختلف این شبکه قابل تشخیص می باشد (۳ و ۴). در سیتوپلاسم یونوسیت ها، فرورفتگی های عمیق غشایی بصورت حفرات خالی زیادی دیده می شوند (۳ و ۴).

Mi: میکروویلی (Microvilli); M: میتوکندری (Mitochondria); N: هسته (Nucleus); ER: شبکه اندوپلاسمی (Endoplasmic Reticulum); RER: شبکه اندوپلاسمی خشن (Rough Endoplasmic Reticulum); ERV: وزیکول های شبکه اندوپلاسمی (Endoplasmic Reticulum Vesicles); MI: فرورفتگی های غشا (Membrane Invaginations).

#### ۴-۲- بررسی اثرات علف کش آترازین بر لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر

##### ۴-۲-۱- اثرات آترازین بر لارو ماهی سفید

##### ۴-۲-۱-۱- تعیین میزان LC50 علف کش آترازین برای لارو ماهی سفید

میزان LC50 ۹۶ ساعته ی علف کش آترازین برای لارو ماهی سفید با توجه به محاسبه ی انجام گرفته توسط نرم افزار Probit 1.5، ۱۸/۵۳ ppm محاسبه گردید (شکل ۱-۱).

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Rutilus Larvae

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
14.0000	90	0	0.0000	0.0000
15.0000	90	23	0.2556	0.2556
16.0000	90	30	0.3333	0.3333
17.0000	90	38	0.4222	0.4222
18.0000	90	45	0.5000	0.5150
19.0000	90	51	0.5667	0.5667
20.0000	90	61	0.6778	0.6778
21.0000	90	71	0.7889	0.7889
22.0000	90	90	1.0000	1.0000
23.0000	90	90	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 40.924  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 15.507

Rutilus Larvae

Estimated LC/EC values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	11.232	8.034	12.981
LC/EC 50.00	18.530	17.090	18.645

تصویر ۴-۷۱. نتایج محاسبه ی LC50 توسط نرم افزار Probit 1.5. با توجه به نتایج حاصل از نرم افزار غلظت کشنده ی ۵۰٪ جمعیت (LC50) برابر با ۸/۵۳ ppm محاسبه گردید.

با توجه به غلظت LC50 (۸/۵۳ ppm) سه غلظت آزمایشی بصورت LC50 ۱/۲، LC50 ۱/۴، و LC50 ۱/۸ محاسبه گردید، که غلظت های حاصله به ترتیب ۹/۲۵ ppm، ۴/۶۲ ppm و ۲/۳۱ ppm بدست آمد.

#### ۴-۲-۱-۲- فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب

در طول انجام آزمایش فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مورد اندازه گیری مداوم قرار گرفتند و مقادیر میانگین آنها به شرح زیر بود: دمای آب ۱۴/۵° سانتی گراد، اکسیژن محلول ۸/۳۲ میلی گرم بر لیتر و pH برابر با ۷/۶.

#### ۴-۲-۱-۳- تغییرات رفتاری در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در مواجهه با آتازین

از مواردی که در حین مطالعه ی میزان LC50، بر روی لاروهای ماهی سفید مشاهده گردید حرکت "دارت" گونه ی لاروها به سمت سطح آب و سپس رهاکردن خود و بازگشت به کف ظرف بود. این لاروها بخصوص در غلظت های بالاتر با حرکت ناگهانی خود را به سمت سطح آب پرتاب کرده و سپس مانند یک ماهی بی جان به کف ظرف بر می گشتند. همچنین در طی دوره ی آزمایش بیشتر لاروها در کف ظرف بر روی پهلو و بصورت نسبتاً بی حرکت باقی می ماندند و در صورت ضربه زدن به دیواره ی ظرف بصورت ناگهانی به سمت سطح آب شنا می کردند و مجدد بر روی پهلو خود به کف ظرف می افتادند.

#### ۴-۲-۱-۴- بازماندگی و بیومتری

لارو ماهی سفید به مدت ۷ روز در مواجهه با ۳ غلظت زیرحد کشنده از آتازین و نیز در آب فاقد آتازین (به عنوان شاهد) قرار گرفتند. در طول این دوره هیچگونه مرگ و میری در لاروهای مورد آزمایش مشاهده

نگردید. میانگین طول (mm) لارو ماهی سفید در جدول ۴-۱، و میانگین وزن (mg) لارو ماهی سفید در جدول ۴-۲ ارائه شده است.

جدول ۴-۱. میانگین طول (mm) لارو ماهی سفید در تیمارهای مورد آزمایش

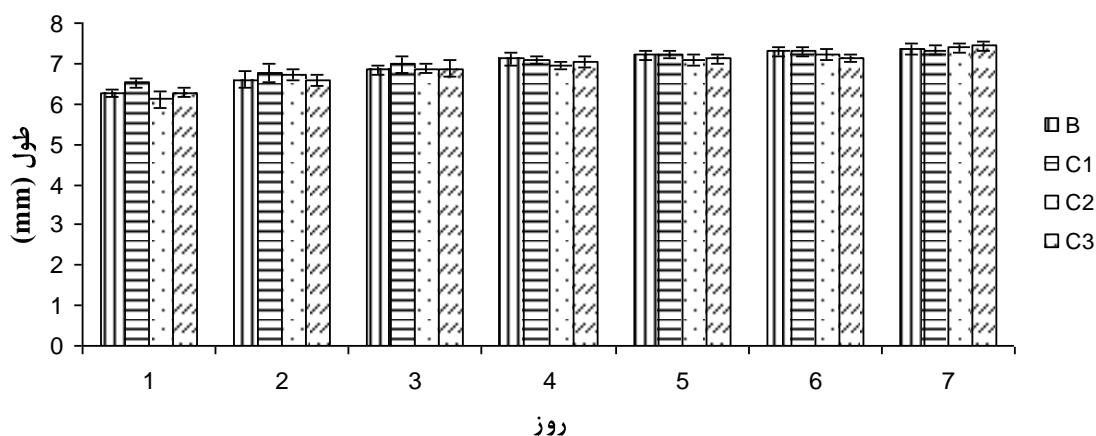
تیمار	روز ۱	روز ۲	روز ۳	روز ۴	روز ۵	روز ۶	روز ۷
شاهد	۶/۲۷±۰/۰۹	۶/۵۹±۰/۰۵	۶/۸۵±۰/۰۴	۷/۱۱±۰/۰۳	۷/۲۱±۰/۰۴	۷/۳±۰/۰۳	۷/۳۵±۰/۰۴
غلظت ۱ (۹/۲۵ ppm)	۶/۵۲±۰/۰۶	۶/۷۸±۰/۰۵	۶/۹۸±۰/۰۱	۷/۰۹±۰/۰۲	۷/۲۲±۰/۰۳	۷/۳±۰/۰۴	۷/۳۲±۰/۰۴
غلظت ۲ (۴/۶۲ ppm)	۶/۱۲±۰/۰۲	۶/۷۲±۰/۰۴	۶/۸۸±۰/۰۲	۶/۹۵±۰/۰۰	۶/۰۹±۰/۰۱	۷/۲۳±۰/۰۲	۷/۳۹±۰/۰۴
غلظت ۳ (۲/۳۱ ppm)	۶/۲۷±۰/۰۲	۶/۵۸±۰/۰۲	۶/۸۸±۰/۰۲	۷/۰۳±۰/۰۱	۷/۱۲±۰/۰۲	۷/۱۴±۰/۰۳	۷/۴۳±۰/۰۴

جدول ۴-۲. میانگین وزن (mg) لارو ماهی سفید در تیمارهای مورد آزمایش

تیمار	روز ۱	روز ۲	روز ۳	روز ۴	روز ۵	روز ۶	روز ۷
شاهد	۲±۰/۰۰	۲/۵±۰/۲۸	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۴±۰/۰۰
غلظت ۱ (۹/۲۵ ppm)	۲/۵±۰/۲۸	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۴±۰/۰۰
غلظت ۲ (۴/۶۲ ppm)	۲±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۴±۰/۰۰
غلظت ۳ (۲/۳۱ ppm)	۲±۰/۰۰	۲/۷±۰/۲۵	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۳±۰/۰۰	۴±۰/۰۰

مطالعات آماری نتایج فوق نشان می دهد که اختلاف معنی داری میان طول و وزن لاروهای مورد آزمایش در این چهار گروه آزمایشی وجود نداشته ( $P>0.05$ ) و از نظر وزنی و طولی همه ی لاروهای مورد استفاده در محدوده ی رشدی یکسانی بوده اند (نمودار ۴-۲۱، ۴-۲۲، ۴-۲۳ و ۴-۲۴).

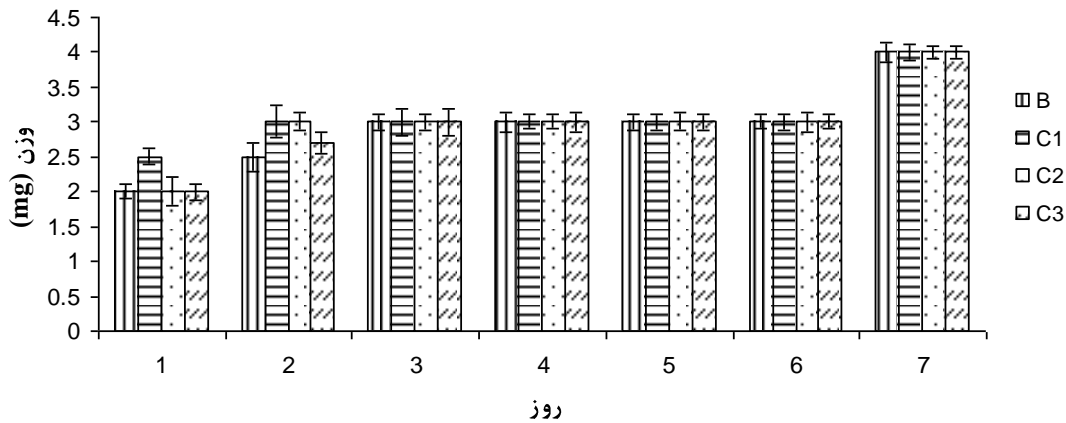
مقایسه میانگین طول در لارو ماهی سفید در گروههای آزمایشی



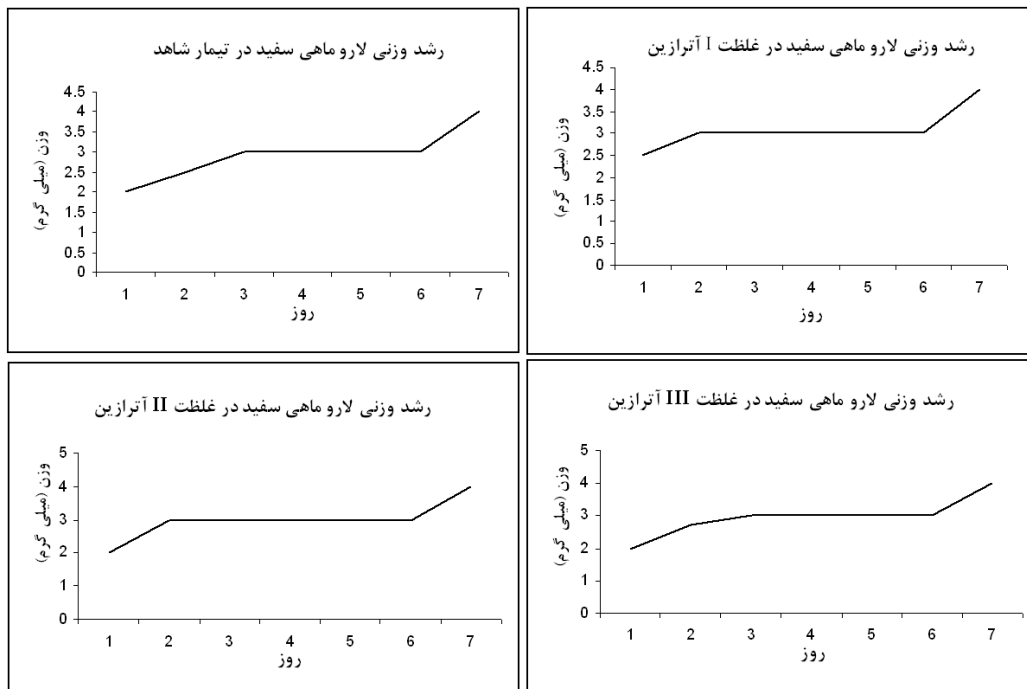
نمودار ۴-۲۱. مقایسه میانگین طول در لارو ماهی سفید در چهار گروه آزمایشی در طی هفت روز آزمایش. طول لاروها در گروههای آزمایشی مختلف در طی هفت روز مطالعه روندی افزایشی داشته و بین گروههای آزمایشی مختلف تفاوت های آماری معنی داری وجود ندارد.



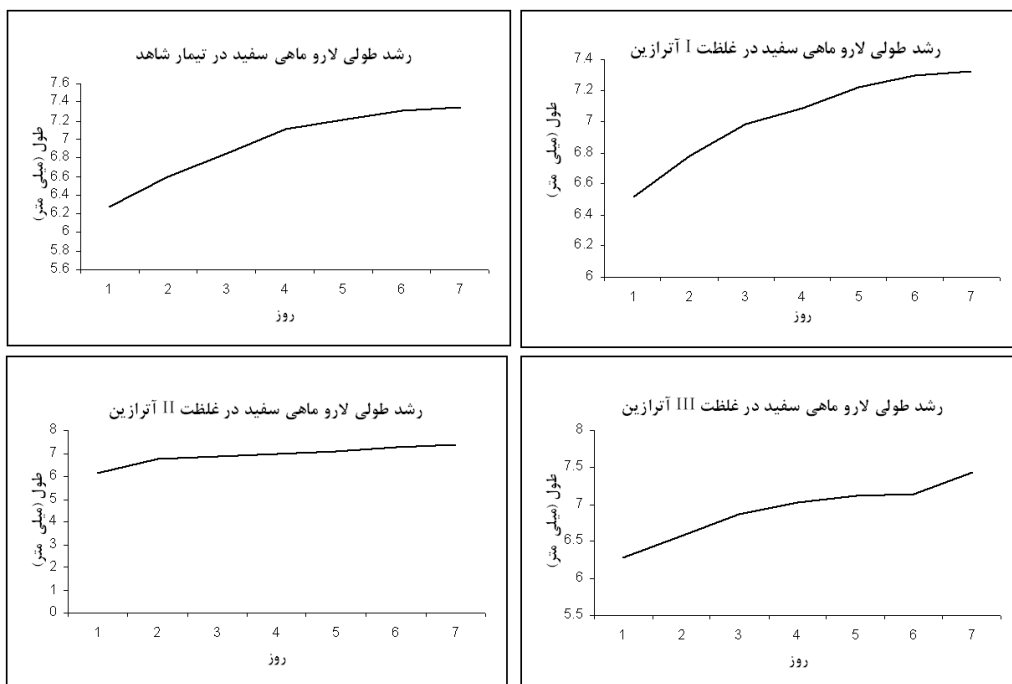
مقایسه میانگین وزن لارو ماهی سفید در گروه های آزمایشی



نمودار ۴-۲۲. مقایسه میانگین وزن در لارو ماهی سفید در چهار گروه آزمایشی در طی هفت روز آزمایش. وزن لاروها در گروههای آزمایشی مختلف در طی هفت روز مطالعه روندی افزایشی داشته و بین گروههای آزمایشی مختلف تفاوت های آماری معنی داری وجود ندارد.



نمودار ۴-۲۳. تغییرات رشد وزنی لارو ماهی سفید در چهار گروه آزمایشی. رشد وزنی لاروها در گروه های آزمایشی از روند مشابهی پیروی می کند.

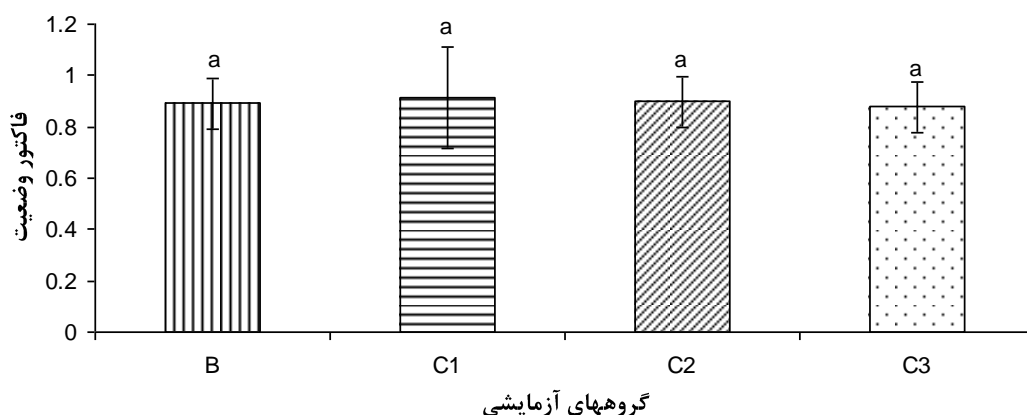


نمودار ۴-۲۴. تغییرات رشد طولی لارو ماهی سفید در چهار گروه آزمایشی. رشد طولی لاروها در گروه های آزمایشی از روند نسبتاً مشابهی پیروی می کند.

#### ۴-۲-۱-۵- فاکتور وضعیت (CF: Condition Factor) لارو ماهی سفید

جهت برآورد وضعیت رشد لاروها در تیمار شاهد و تیمار غلظت های مختلف آتزازین، فاکتور وضعیت بدنی محاسبه گردید که میانگین این مقادیر در جدول ۴ ارائه شده است. همچنین مقایسه ی آماری این مقادیر در گروه های مواجه شده با آتزازین با تیمار شاهد نشان می دهد که اختلاف آماری معنی داری وجود ندارد (نمودار ۴-۲۵).

مقایسه میانگین فاکتور وضعیت در لارو ماهی سفید در گروههای آزمایشی



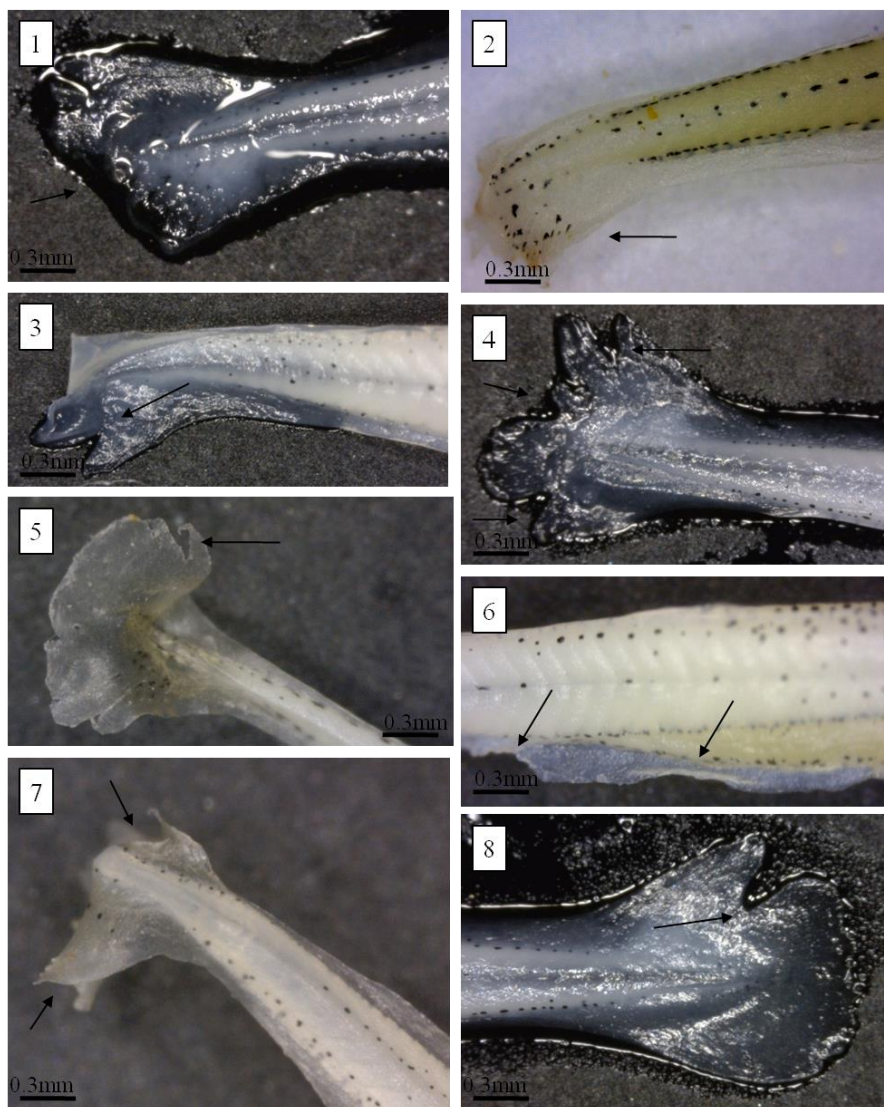
نمودار ۴-۲۵. میانگین فاکتور وضعیت در چهار گروه آزمایشی در لارو ماهی سفید. B: گروه شاهد؛ C1: غلظت ۱ آترازین (۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر)؛ C2: غلظت ۲ آترازین (۴/۶۳ میلی گرم بر لیتر)؛ C3: غلظت ۳ آترازین (۲/۳۱ میلی گرم بر لیتر). تفاوت آماری معنی داری میان گروههای آزمایشی مختلف وجود ندارد.

جدول ۴-۳. فاکتور وضعیت لارو ماهی سفید در گروه های مختلف آزمایشی در طی هفت روز.

روز ۷	روز ۶	روز ۵	روز ۴	روز ۳	روز ۲	روز ۱	گروه آزمایشی
۱±۰/۰۱	۰/۹۳±۰/۱۱	۰/۸۷±۰/۰۴	۰/۸۳±۰/۰۲	۰/۸۱±۰/۰۲	۰/۸۰±۰/۰۱	۰/۷۷±۰/۰۵	شاهد
۱/۰۲±۰/۰۱	۱/۰۱±۰/۰۱	۰/۹۶±۰/۰۱	۰/۹±۰/۰۸	۰/۸۸±۰/۰۴	۰/۸۴±۰/۰۳	۰/۷۹±۰/۰۶	غلظت ۱ (۹/۲۵ ppm)
۰/۹۹±۰/۰۲	۰/۹۸±۰/۰۲	۰/۹۲±۰/۰۱	۰/۸۹±۰/۰۵	۰/۸۷±۰/۰۴	۰/۸۴±۰/۰۳	۰/۷۹±۰/۰۴	غلظت ۲ (۴/۶۲ ppm)
۰/۹۷±۰/۰۱	۰/۹۴±۰/۰۶	۰/۹۲±۰/۰۱	۰/۸۶±۰/۰۴	۰/۸۳±۰/۰۲	۰/۸۲±۰/۰۲	۰/۸۱±۰/۰۲	غلظت ۳ (۲/۳۱ ppm)

#### ۴-۲-۱-۶- اثرات آترازین بر ویژگی های مورفولوژیک لارو ماهی سفید

مهمترین تغییر مورفولوژیکی که در لاروهای مواجه شد با آترازین مشاهده گردید تخریب باله های دمی (تصویر ۴-۷۲-۱ تا ۵، تصویر ۴-۷۲-۷ و تصویر ۴-۷۲-۸) و شکمی (تصویر ۴-۷۲-۶)، بصورت ایجاد شیارهای کوچک و یا بزرگ در باله ها بود.

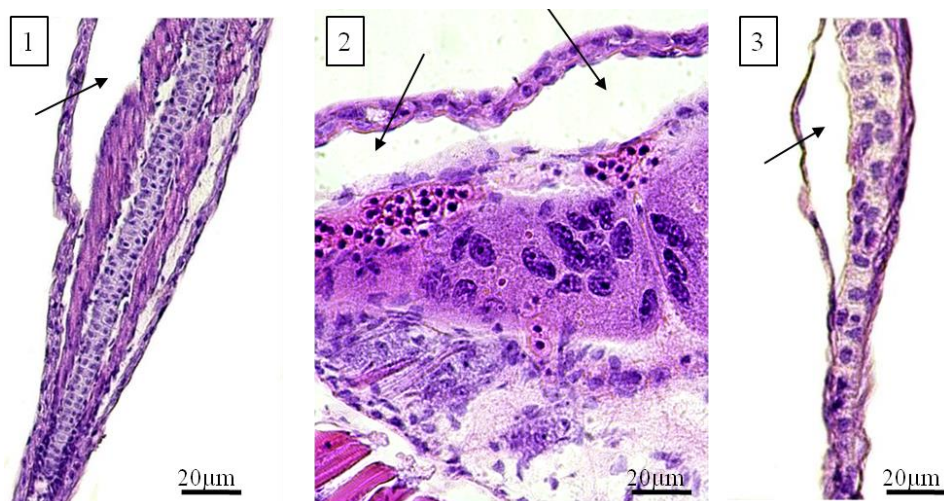


تصویر ۴-۷۲. تغییرات مورفولوژیک لارو ماهی سفید در مواجهه با آترازین. تخریب باله ی دمی مهمترین تغییری است که در لاروهای مواجهه شده با آترازین مشاهده می شود (۱-۵، ۷ و ۸). در مواردی نیز تخریب اندکی در باله ی شکمی دیده می شود (۶).

#### ۴-۲-۱-۷- بررسی اثرات علف کش آترازین بر بافت های مختلف در لارو ماهی سفید

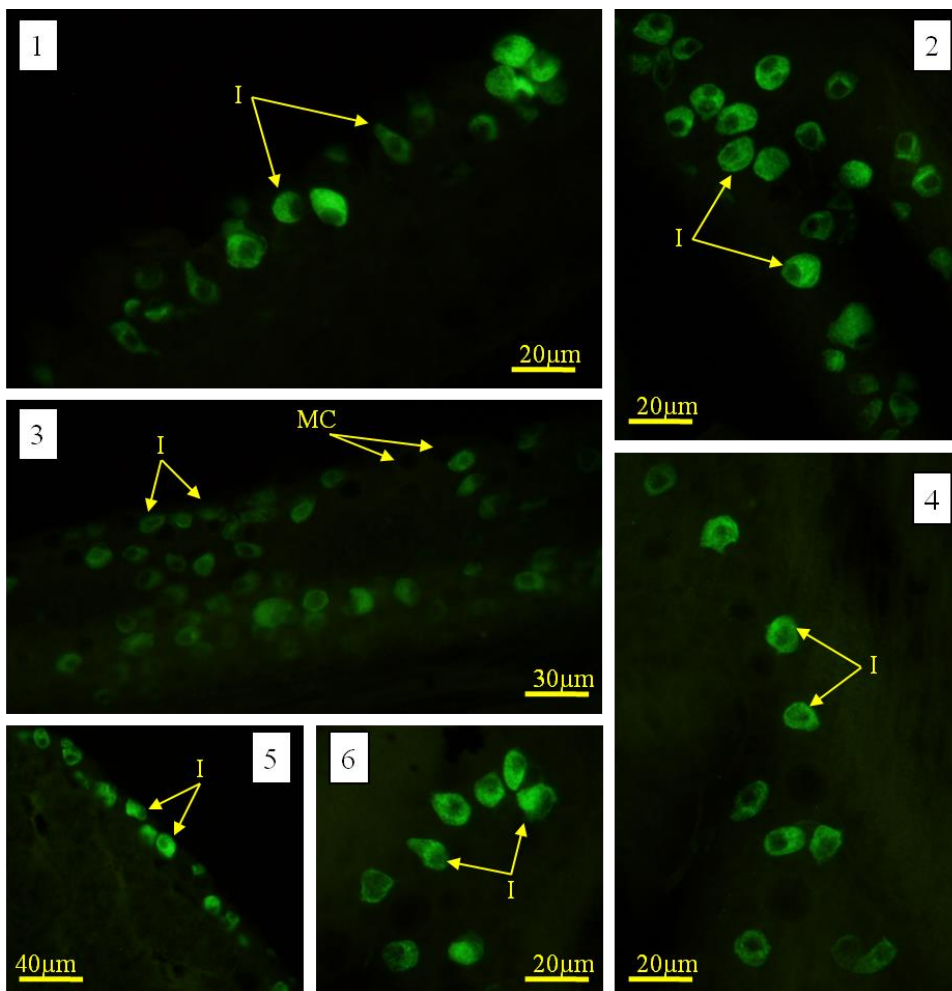
##### ۴-۲-۱-۷-۱- اثرات آترازین بر پوست لارو ماهی سفید

در بافت پوست لاروهای مواجهه شده با آترازین، تغییراتی از قبیل جداسدن اپی درم از بخش هایی از بدن و نکروز سلول های اپی درمی پوشاننده ی باله ها، مشاهده گردید (تصویر ۴-۷۳).



تصویر ۴-۷۳. اثرات آترازین بر پوست لارو ماهی سفید. جدا شدگی اپی تلیوم از روی بخش هایی از بدن (پیکان ها در تصویر) که بر روی پوست پوشاننده ی باله ها (۱ و ۳)، کیسه ی زرده (۲) دیده می شود از مهمترین اثرات آترازین بر پوست لارو ماهی سفید می باشد.

از سوی دیگر مطالعات ایمونوهیستوشیمی نشان داد که در پوست لارو ماهی سفید سلول های یونوسیت به فراوانی در بخش های مختلف سطح بدن بویژه در بخش های انتهایی بدن وجود دارند. این سلول ها بطور کلی به اشکال گرد، تخم مرغی شکل، سلول های کوچک پهن، سلول های بسیار بزرگ و نزدیک به استوانه ای و اشکالی کوزه مانند (قاعده ی سلول پهن و معمولی اما سلول دارای گردنی کشیده و باریک) مشاهده گردیدند. بیشترین میزان ایمونوفلورسنت (که نشان دهنده ی حضور آنزیم  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase می باشد) در بخش های قاعده ای جانبی این سلول ها مشاهده گردید (تصویر ۴-۷۴). مقایسه این نتایج با نتایج مکان یابی آنزیم  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در لارو ماهی سفید در گروه شاهد هیچگونه تفاوتی را نشان نمی دهد بدین معنی که آترازین تاثیر قابل ملاحظه ای بر نحوه ی پراکنش یونوسیت های پوستی و یا شکل ظاهری آنها نداشته است.



تصویر ۴-۷۴. مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در یونوسیت های پوستی لارو ماهی سفید مواجه شده با آترازین (۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر). یونوسیت های پوستی بر روی پوست تمامی بدن بویژه در بخش های انتهایی دیده می شوند، این سلول ها گرد تا تخم مرغی شکل بوده و بیشترین میزان فلورسنت در غشاهای قاعده ای- جانبی آنها دیده می شود.

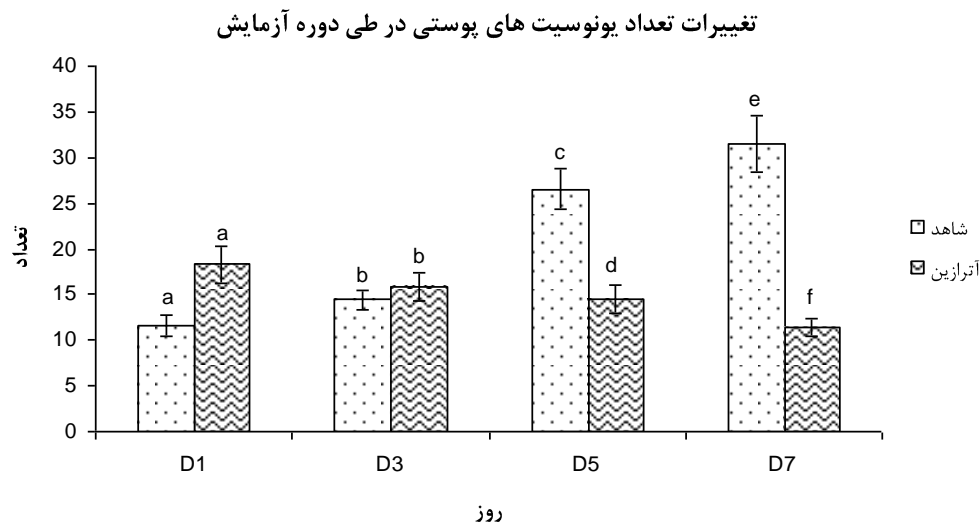
I: یونوسیت (Ionocyte); MC: سلول موکوسی (Mucus Cell).

شمارش این سلول ها در بافت پوست لارو ماهی سفید نشان داد که بطور متوسط در هر میلی متر مربع از بافت پوست این ماهیان حدوداً ۴۲۸ سلول یونوسیت وجود دارد. مقایسه ی تعداد کل سلول های یونوسیت پوستی در لارو ماهی سفید مواجه شده با بیشترین غلظت آترازین با گروه شاهد نشان می دهد که تعداد این سلول ها در گروه مواجه شده با آترازین به طور معنی داری کاهش پیدا کرده است ( $P < 0.05$ ) (نمودار ۴-۲۶). بررسی روند تغییرات تعداد این سلول ها در طی هفت روز آزمایش نشان می دهد که تعداد این سلول ها روندی کاهشی دارد، این در حالی است که این روند در گروه شاهد روندی افزایشی می باشد (نمودار ۴-۲۷). همچنین اندازه گیری ابعاد این سلول ها نشان داد که میانگین طول این سلول ها  $11/89 \pm 0/77$  میکرومتر و میانگین پهنای این سلول ها  $8/06 \pm 0/48$  میکرومتر می باشد. مقایسه ی این مقادیر با گروه

شاهد نشان می دهد که ابعاد سلول های یونوسیت در ماهیان مواجه شده با آترازین بزرگتر از ابعاد این سلول ها در گروه شاهد بوده، اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نمی باشد ( $P > 0.05$ ) (نمودار ۴-۲۸).

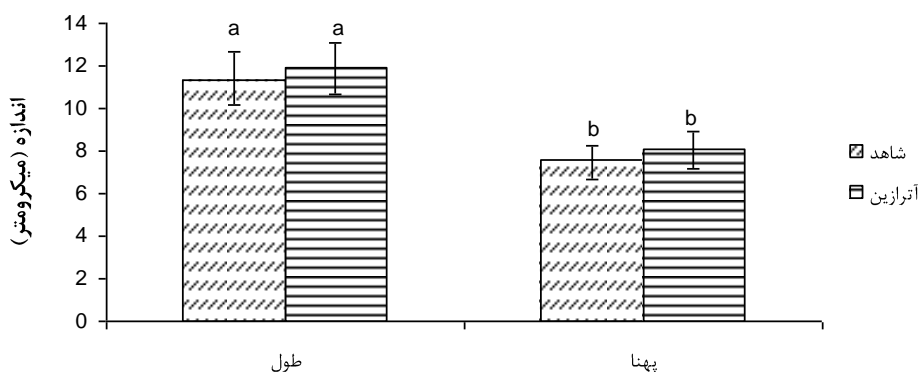


نمودار ۴-۲۶. مقایسه تعداد یونوسیت های پوستی در لارو ماهی سفید مواجه شده با آترازین (غلظت ۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر) و گروه شاهد. تعداد کل سلول های یونوسیت پوستی در گروه شاهد بیشتر از تعداد این سلول ها در گروه مواجه شده با آترازین بوده اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نمی باشد.



نمودار ۴-۲۷. تغییرات تعداد یونوسیت های پوستی در لارو ماهی سفید مواجه شده با آترازین (غلظت ۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر) و گروه شاهد. تغییرات تعداد یونوسیت های پوستی در گروه شاهد روندی افزایشی و در گروه مواجه شده با آترازین روندی کاهش دارد، مقایسه ی تعداد این سلول ها بر اساس روز نشان می دهد که تنها در روز های پایانی (روز ۵ و روز ۷) تفاوت بین دو گروه معنی دار می باشد.

### مقایسه ابعاد یونوسیت های پوستی در لارو ماهی سفید در دو گروه آزمایشی



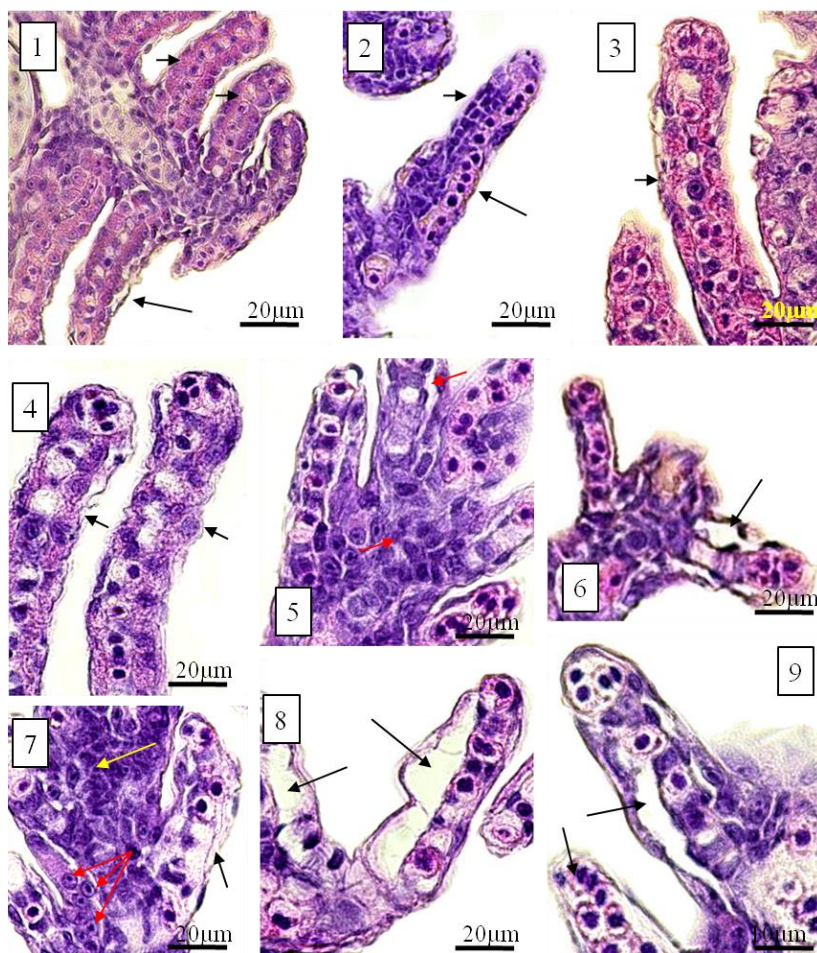
#### ابعاد

نمودار ۴-۲۸. مقایسه ابعاد یونوسیت های پوستی در لارو ماهی سفید مواجه شده با آترازین (غلظت ۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر) و گروه شاهد. طول و پهناي سلول های یونوسیت با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار داشته اما مقایسه ی ابعاد یونوسیت ها بین دو گروه آزمایشی تفاوت آماری معنی داری نشان نمی دهد، هرچند که ابعاد سلول ها در گروه مواجه شده با آترازین اندکی بزرگتر می باشد.

### ۴-۲-۱-۷-۲- اثرات علف کش آترازین بر آبشش لارو ماهی سفید

آبشش در روزهای ابتدایی مراحل نموی لارو سفید نمو اندکی داشته و برای مثال تیغه های آبششی بسیار کم تعداد و یا کوتاه هستند، اما در همین تعداد اندک نیز می توان جدادگی اپیتلیوم تیغه های آبششی (تصویر ۴-۷۵-۵، تصویر ۴-۷۵-۶، تصویر ۴-۷۵-۸ و تصویر ۴-۷۵-۹)، هایپرپلازی سلول های اپی تلیوم تیغه های آبششی در بافت اصلی آبشش (تصویر ۴-۷۵-۲ و تصویر ۴-۷۵-۳)، هایپرپلازی سلول های تیغه های آبششی همی برانش آبششی (تصویر ۴-۷۵-۱)، ضخیم شدگی رشته های آبششی و هایپرپلازی سلول های اپی تلیال این رشته ها (تصویر ۴-۷۵-۵ و تصویر ۴-۷۵-۷)، تجمع سلول های خونی در حفره های خونی تیغه های آبششی (تصویر ۴-۷۵-۲، تصویر ۴-۷۵-۳ و تصویر ۴-۷۵-۹)، پیکنوتیک شدن هسته های سلول های سنگفرشی و یونوسیت (تصویر ۴-۷۵-۷) و نکروز سلول های سنگفرشی و چین خوردگی در تیغه های آبششی (تصویر ۴-۷۵-۴) را مشاهده نمود.



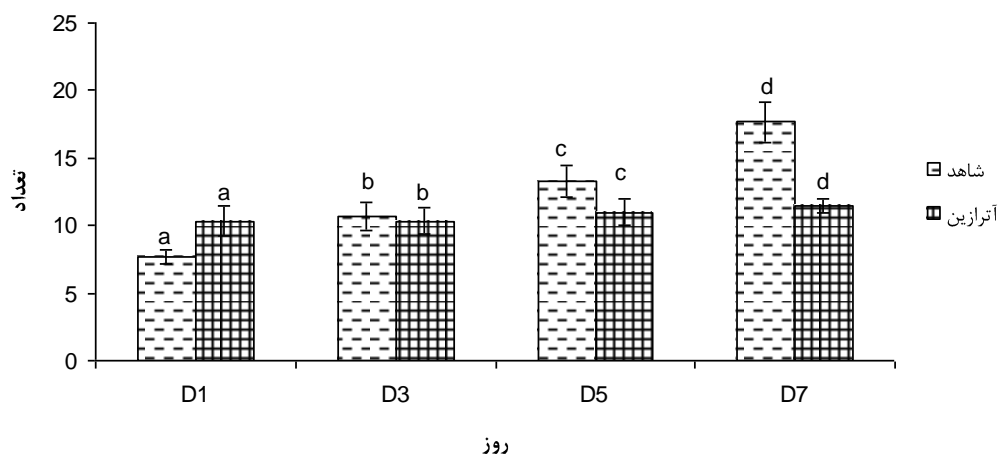


تصویر ۴-۷۵. بافت شناسی آبشش در لارو ماهی سفید مواجه شده با آتزازین. تغییراتی مانند جداسدن اپی تلیوم تیغه های آبششی (۵، ۶، ۸ و ۹)، هایپرپلازی سلول های تیغه های آبششی در بافت اصلی آبشش (۲ و ۳) و تیغه های آبششی همی برانش آبششی (۱) و هایپرپلازی رشته های آبششی (۵ و ۷)، تجمع سلول های خونی در حفره های خونی تیغه های آبششی (۲، ۳ و ۹)، پیکنوتیک شدن هسته های سلول های سنگفرشی و یونوسیت (۷) و نکروز سلول های سنگفرشی و چین خوردگی در تیغه های آبششی (۴) از مهمترین تغییرات مشاهده شده در بافت آبششی لاروهای مواجه شده با آتزازین می باشد.

شمارش تعداد یونوسیت های آبششی در لاروهای مواجه شده با آتزازین (غلظت) نشان داد که در این گروه در هر میلی متر مربع از بافت آبششی به طور متوسط ۳۰۸ سلول یونوسیت وجود دارد که این میزان کمتر از تعداد سلول های یونوسیت در گروه شاهد می باشد. همچنین مقایسه ی روند تغییرات تعداد این سلول ها در این گروه با گروه شاهد نشان می دهد که روند افزایش تعداد سلول های یونوسیت آبششی در طول دوره ی آزمایش در لاروهای مواجه شده با آتزازین با شیب کندتری نسبت به گروه شاهد ادامه می یابد (نمودار ۴-۲۹). مقایسه ی آماری میانگین تعداد سلول های کلراید آبششی در این چهار روز بین دو گروه شاهد و آتزازینی هیچگونه تفاوت آماری معنی داری را نشان نمی دهد، اما بطور کلی تعداد سلول ها در گروه شاهد بیشتر از گروه مواجه شده با آتزازین هستند (نمودار ۴-۳۰). اندازه گیری سلول های کلراید آبششی به کمک نرم افزار Image Tools، نشان داد که میانگین طول این سلول ها در گروه شاهد ۱۰/۷۹ و میانگین پهنای

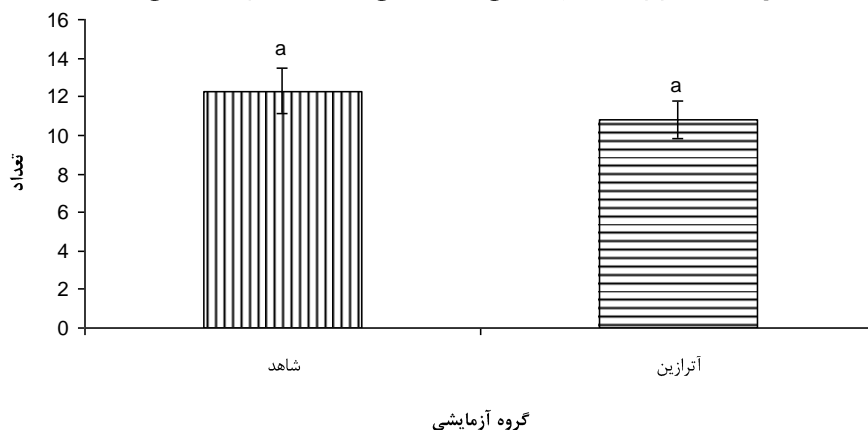
این سلول ها در همین گروه ۶/۲۷ میکرون می باشد. این مقادیر (طول و پهنا) در سلول های کلراید آبششی گروه آترازینی به ترتیب ۱۱/۲۱ و ۶/۸۷ میکرون اندازه گیری گردید. مقایسه ی آماری این مقادیر نشان داد که هر چند ابعاد این سلول ها در گروه آترازینی اندکی بزرگتر می باشد، اما اختلاف آماری معنی داری وجود ندارد (نمودار ۴-۳۱).

تغییرات تعداد یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید در طی دوره ی آزمایش



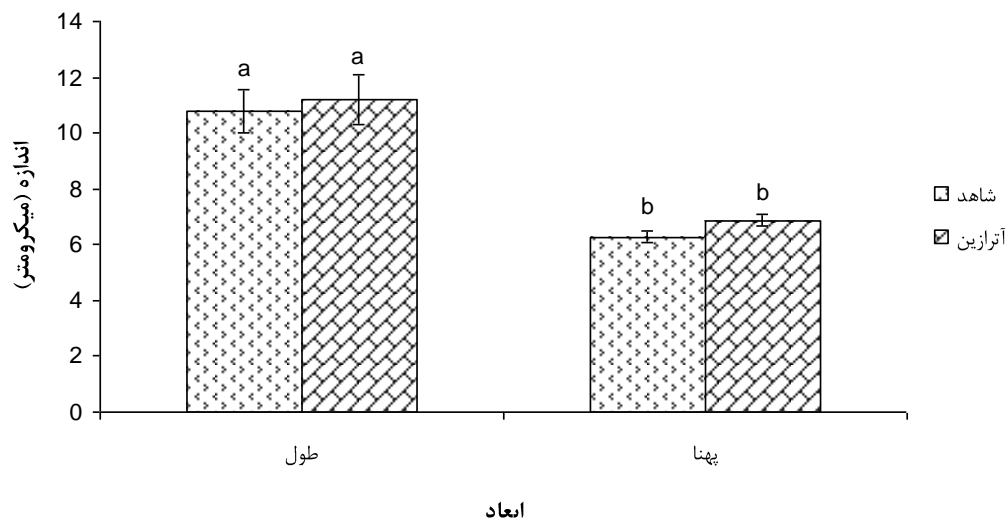
نمودار ۴-۲۹. مقایسه روند تغییر تعداد یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید در دو گروه آزمایشی در طی دوره ی آزمایش. در هر دو گروه آزمایشی تعداد سلول های یونوسیت در طول دوره ی مطالعه روندی افزایشی دارد اما این روند در گروه مواجه شده با آترازین با شیب کمتری ادامه می یابد.

میانگین تعداد کل یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید در دو گروه آزمایشی



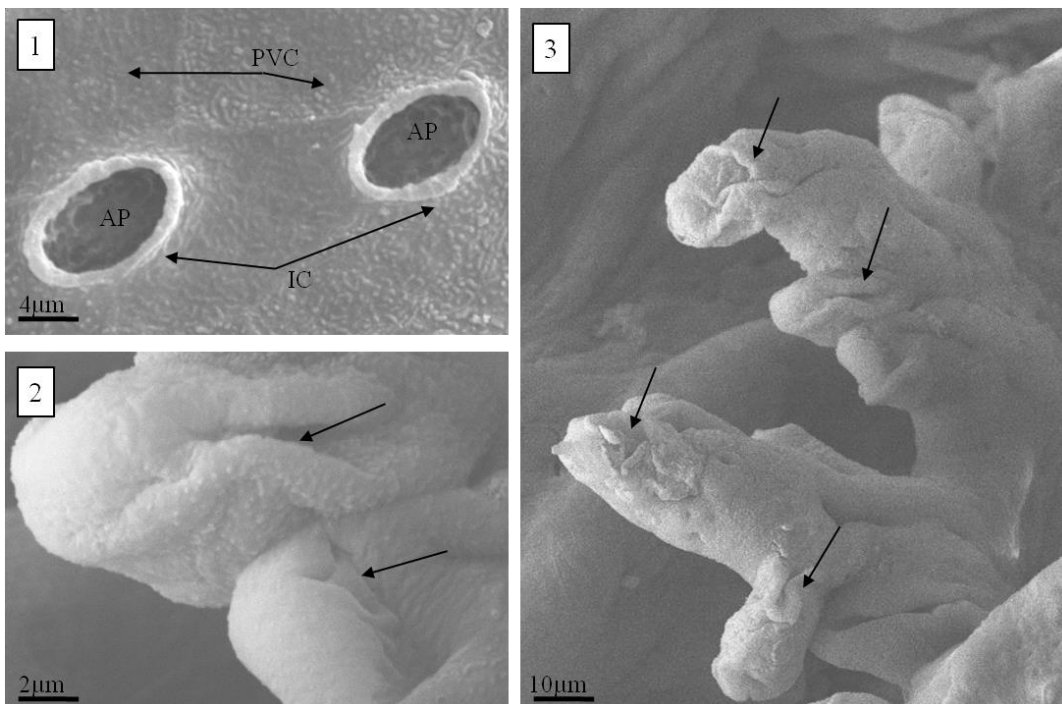
نمودار ۴-۳۰. مقایسه تعداد کل یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید در دو گروه آزمایشی. تعداد کل سلول های یونوسیت آبششی در لاروهای گروه شاهد بیشتر از تعداد این سلول ها در گروه مواجه شده با آترازین می باشد اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نیست.

مقایسه ابعاد یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید در دو گروه آزمایشی



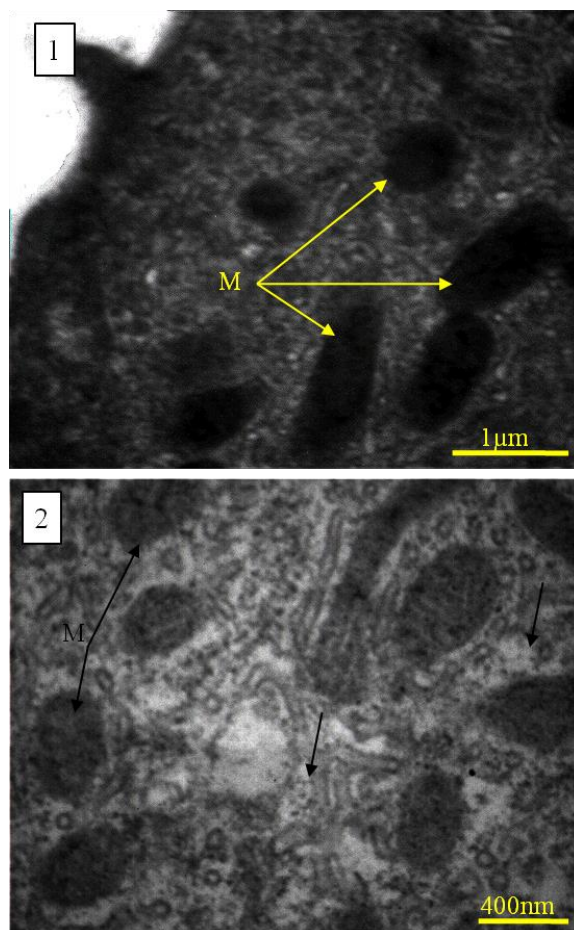
نمودار ۴-۳۱. مقایسه ابعاد یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید در دو گروه آزمایشی. مقایسه مقادیر نشان می دهد که طول و پهنای سلول ها با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار دارد اما بین اندازه ی سلول های یونوسیت در گروه مواجه شده با آترزین و گروه شاهد تفاوت آماری معنی دار وجود ندارد، هر چند که ابعاد سلول ها در گروه مواجه شده با آترزین اندکی بزرگتر از سلول های یونوسیت گروه شاهد می باشد.

همچنین مطالعات فراساختاری به کمک میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان می دهد که تغییراتی مانند نکروز در اپی تلیوم تیغه های آبششی و چین خوردگی آنها (تصویر ۴-۷۶-۲ و تصویر ۴-۷۶-۳)، کاهش برجستگی های راسی سلول های سنگفرشی اپی تلیوم آبششی (تصویر ۴-۷۶-۱) و تورم در غشای راسی سلول های یونوسیت (غشای اطراف چاله های راسی) (تصویر ۴-۷۶-۱) در بافت آبششی اتفاق افتاده است.



تصویر ۴-۷۶. تغییرات فراساختاری آبشش در لارو ماهی سفید در مواجهه با آتازین توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره. نکرور و چین خوردگی در تیغه های آبششی (۲ و ۳) و کاهش چین خوردگی های راسی سلول های سنگفرشی و تورم در غشای راسی سلول های یونوسیت (غشای اطراف چاله های راسی) (۱) از جمله مهمترین تغییرات فراساختاری مشاهده شده در بافت آبششی لاروهای مواجهه شده با آتازین می باشد.  
PVC: سلول سنگفرشی (Pavement Cell); AP: چاله راسی (Apical pit); IC: یونوسیت (Ionocyte).

از سوی دیگر مطالعه ی فراساختاری بوسیله ی میکروسکوپ الکترونی گذاره نشاندهنده ی تغییراتی مانند تغییر در ساختار درونی میتوکندری ها به شکل تغییرات در کریستالها (تصویر ۴-۷۷-۱ و تصویر ۴-۷۷-۲) و نکرور در بخش هایی از شبکه ی اندوپلاسمی خشن (تصویر ۴-۷۷-۲) می باشد.



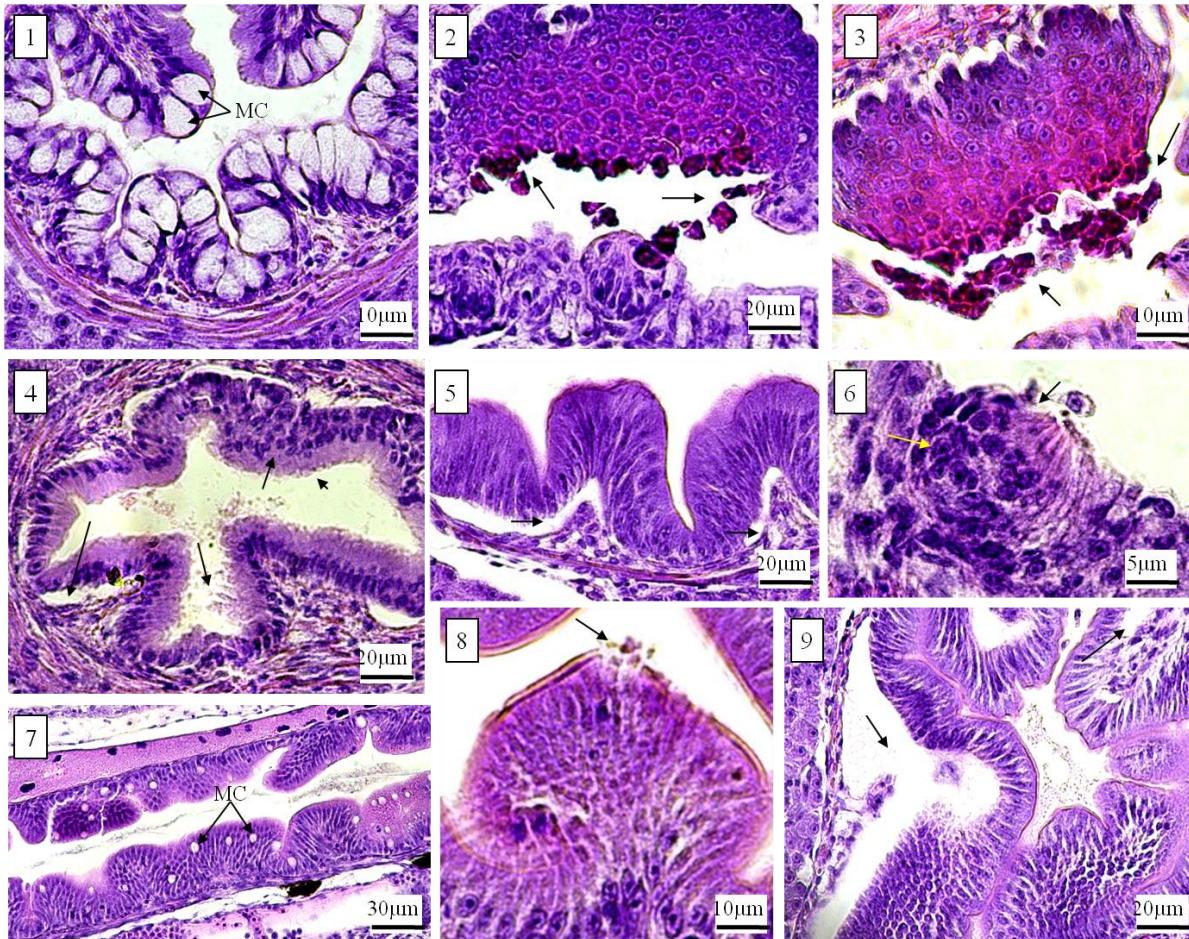
تصویر ۴-۷۷. تغییرات فراساختاری آبشش در لارو ماهی سفید در مواجهه با آترازین توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره. تغییر شکل کریستاها در میتوکندری های یونوسیت های آبششی (۱ و ۲) و نکروز در بخش هایی از شبکه ی اندوپلاسمی (۲) مهمترین تغییرات مشاهده شده در فراساختار سلول های یونوسیت آبششی لاروهای مواجه شده با آترازین می باشد.

M: میتوکندری (Mitochondria).

#### ۴-۲-۱-۷-۳- اثرات علف کش آترازین بر دستگاه گوارش لارو ماهی سفید

همانطور که در بخش بررسی مراحل تکوینی بافت های مختلف لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در بخش اول نتایج ذکر گردید، لوله ی گوارش در روزهای ابتدایی پس از تفریخ فعال نبوده و منفذ دهان و مخرج بسته می باشند و تغذیه ی لارو با تکیه بر ذخیره ی کیسه ی زرده صورت می گیرد. به همین دلیل در روزهای ابتدایی دوره ی آزمایش، هیچگونه تغییر خاصی در بافت دستگاه گوارش که بتوان آن را به مواجهه با آترازین مربوط دانست مشاهده نمی شود. در بررسی این بافت پس از گشودگی دهان، اثرات آترازین به تدریج قابل مشاهده می باشند، برای مثال در بخش های ابتدایی دستگاه گوارش، در بخش حلق، سلول های شاخی دیواره ی فوقانی حلق دچار نکروز شده اند (تصویر ۴-۷۸-۲ و تصویر ۴-۷۸-۳)، تعداد سلول های موکوسی در روده بویژه در بخش پایانی بسیار افزایش یافته است (تصویر ۴-۷۸-۷)، در بخش ابتدایی دستگاه گوارش نیز سلول های موکوسی دچار هایپرپلازی و هایپرتروفی و ادم شده اند (تصویر ۴-۴).

جداشدگی بخش هایی از اپی تلیوم روده از غشای پایه (تصویر ۴-۷۸-۵ و تصویر ۴-۷۸-۹)، ادم در بخش فوقانی سلول های استوانه ای مژک دار اپی تلیوم روده (تصویر ۴-۷۸-۸)، ادم و هایپرپلازی سلول های جوانه های چشایی (تصویر ۴-۷۸-۲ و تصویر ۴-۷۸-۶)، از مواردی می باشند که در لاروهای مواجه شده با آترازین مشاهده می شود.

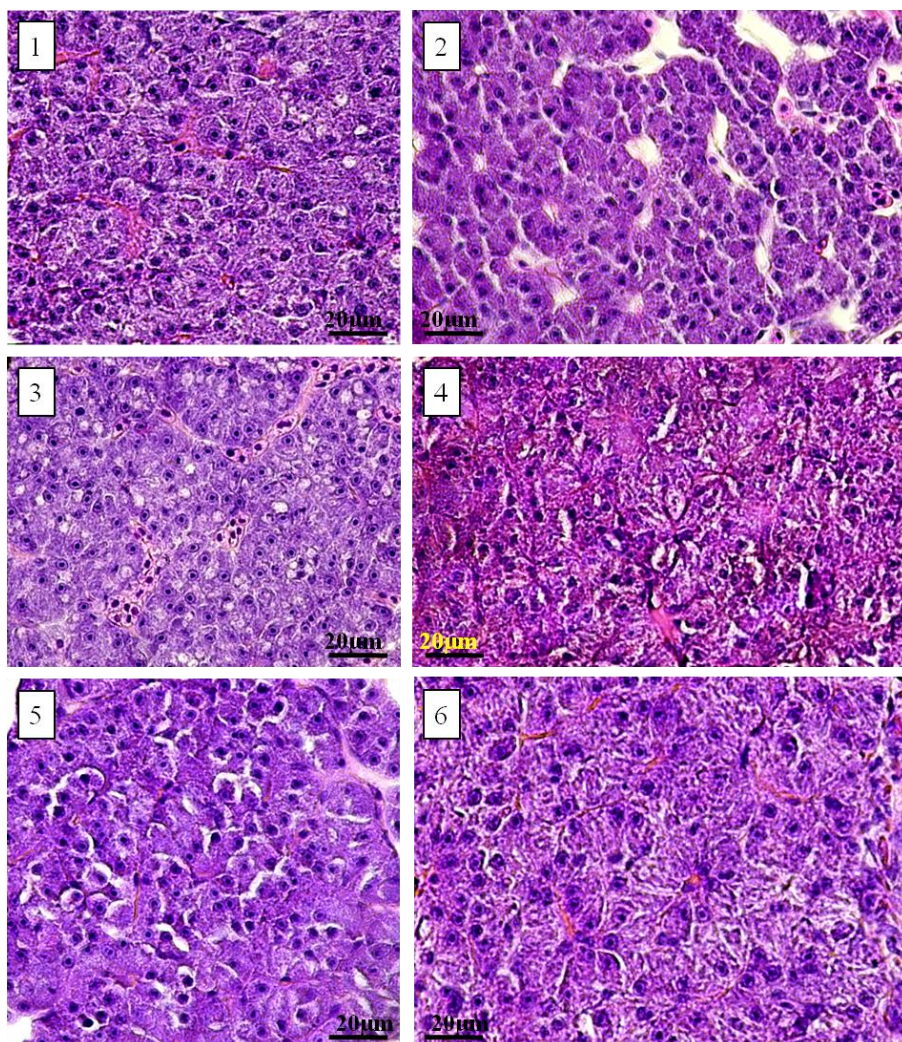


**تصویر ۴-۷۸. تغییرات هیستوپاتولوژیک در دستگاه گوارش لارو ماهی سفید در مواجهه با آترازین. هایپرپلازی و هایپرتروفی و ادم در سلول های موکوسی (۱)، نکروز و جدا شدن سلول های شاخی دیواره ی فوقانی حلق (۲ و ۳)، ادم در بخش راسی سلول های اپی تلیال روده (۴)، جدا شدن سلول های اپی تلیال روده از غشای پایه (۵ و ۹)، ادم و هایپرپلازی سلول های جوانه های چشایی (۲ و ۶)، افزایش تعداد سلول های موکوسی در بخش های انتهایی دستگاه گوارش (۷)، نکروز بخش راسی سلول های ای تلیالی مژک دار روده (۸) از جمله مهمترین تغییرات بافتی مشاهده شده در دستگاه گوارش لاروهای مواجه شده با آترازین بود.**

- اثرات علف کش آترازین بر بافت کبد لارو ماهی سفید

کبد به دلیل نقشی که در سمیت زدایی بدن در مواجهه با آلاینده های محیطی دارد، یک اندام هدف برای بسیاری از آلاینده ها از جمله آترازین می باشد. مهمترین تغییرات بافتی و سلولی مشاهده شده در بافت کبد شامل موارد زیر بودند:





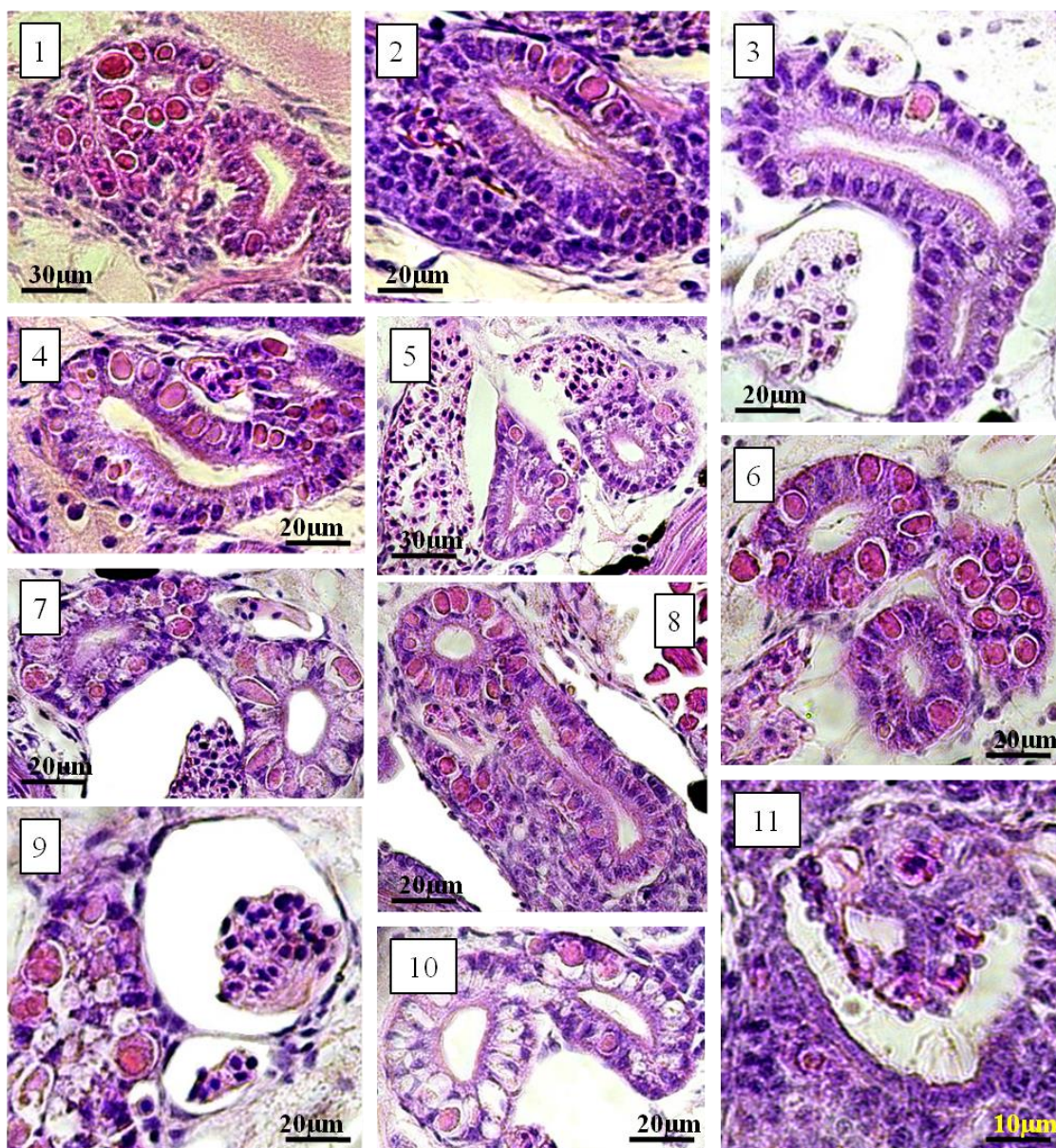
تصویر ۴-۸۰. تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کبد لارو ماهی سفید در مواجهه با آترازین. پرخونی (۱، ۳ و ۴)، نکروز در بافت کبدی و افزایش فضای بین سلولی هپاتوسیت ها (۲ و ۵)، واکوتوله شدن هپاتوسیت ها (۳، ۴ و ۶)، و نکروز هپاتوسیت ها (۴ و ۶) از جمله تغییرات سلولی و بافتی مشاهده شده در بافت کبدی لاروهای مواجه شده با آترازین می باشد.

#### ۴-۲-۱-۷-۴- اثرات علف کش آترازین بر کلیه لارو ماهی سفید

تغییرات نسبتاً شدید و زیادی در بافت کلیه در تمامی گروه های مواجه شده با آترازین مشاهده می شود. این تغییرات شامل هایپرپلازی سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی (تصویر ۴-۸۴-۲)، ادم، هایپرتروفی و تجمع ترکیبات هیالین در سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی (تصویر ۴-۸۱-۱ تا ۴-۸۱-۸، تصویر ۴-۸۱-۱۰، تصویر ۴-۸۲-۱ تا ۴-۸۲-۵، تصویر ۴-۸۲-۷، تصویر ۴-۸۲-۸، تصویر ۴-۸۲-۱۰، تصویر ۴-۸۲-۱۲، تصویر ۴-۸۲-۱۳ تا ۴-۸۳-۱، تصویر ۴-۸۴-۱، تصویر ۴-۸۴-۲، تصویر ۴-۸۴-۴، تصویر ۴-۸۴-۵، تصویر ۴-۸۴-۷، تصویر ۴-۸۴-۸ و تصویر ۴-۸۴-۹)، کاهش فضای لومن و یا مسدود شدن کامل آن در توبول های کلیوی به دلیل هایپرتروفی شدید سلول های اپی تلیالی (تصویر ۴-۸۳-۱، تصویر ۴-۸۳-۴، تصویر ۴-۸۳-۵، تصویر ۴-۸۳-۶، تصویر ۴-۸۳-۷ و تصویر ۴-۸۴-۴)، کاهش حجم شبکه ی

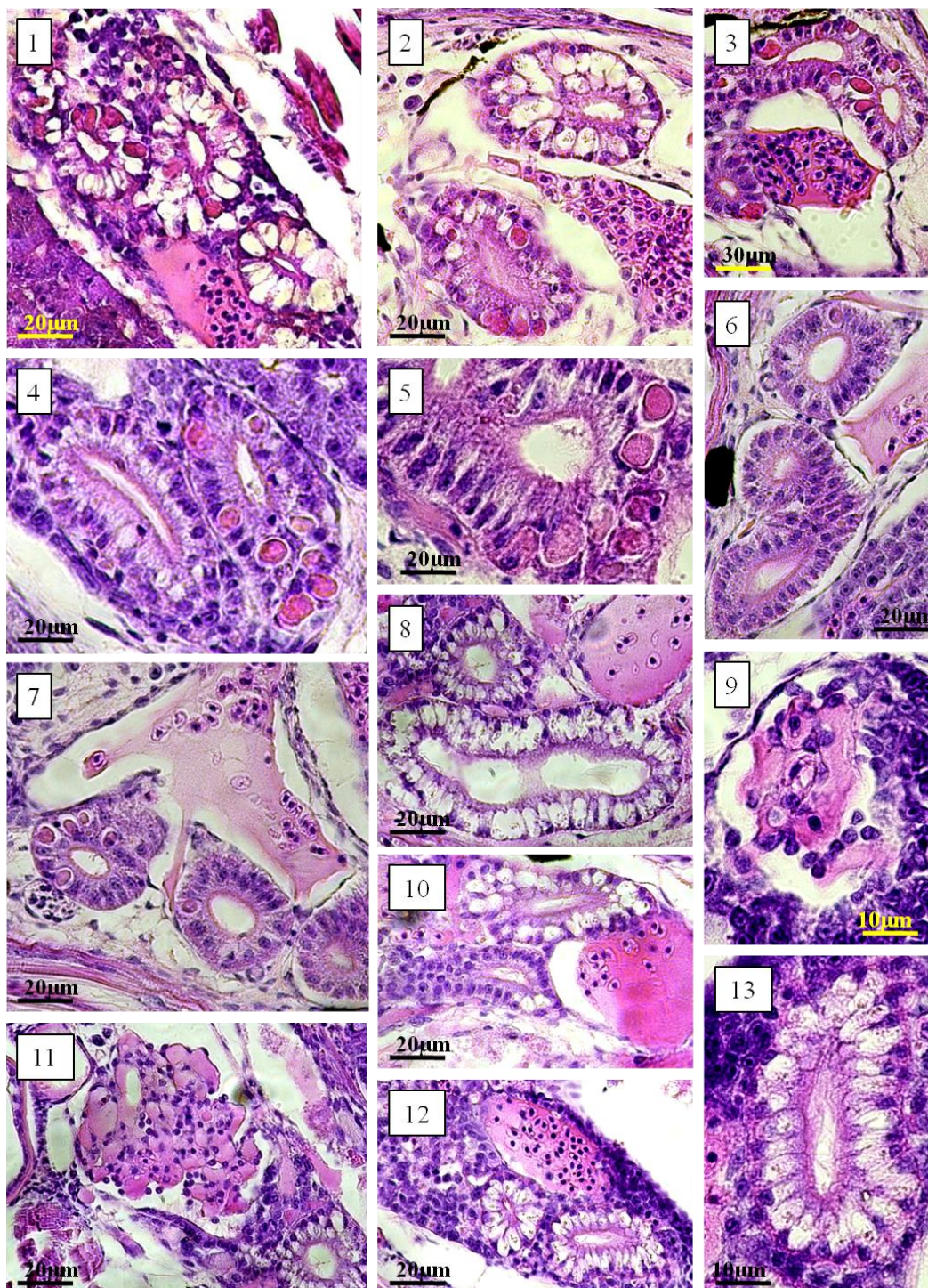


گلوومرولی و افزایش فضای کپسول بومن (تصویر ۴-۸۱-۹ و تصویر ۴-۸۴-۶)، نکروز شبکه گلوومرولی (تصویر ۴-۸۱-۱۱، تصویر ۴-۸۲-۹، تصویر ۴-۸۲-۱۱، تصویر ۴-۸۴-۶ و تصویر ۴-۸۴-۸)، نکروز سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی (تصویر ۴-۸۱-۹)، پرخونی بافت کلیوی (تصویر ۴-۸۲-۱ تا ۴-۸۲-۳، تصویر ۴-۸۳-۱، تصویر ۴-۸۳-۲، تصویر ۴-۸۳-۱۰ و تصویر ۴-۸۴-۲) و در نهایت نکروز و از هم گسیختگی در بافت هماتوپوئیتیک بخش راسی کلیه (تصویر ۴-۸۲-۷، تصویر ۴-۸۲-۸، تصویر ۴-۸۲-۱۰، تصویر ۴-۸۳-۳، تصویر ۴-۸۳-۶، تصویر ۴-۸۳-۷ و تصویر ۴-۸۳-۸) می باشد. واکنش سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی و هایپرتروفی آنها در روزهای پایانی دوره ی آزمایش و در اثر مواجهه ی بیشتر با آتازین بسیار شدیدتر می شود.

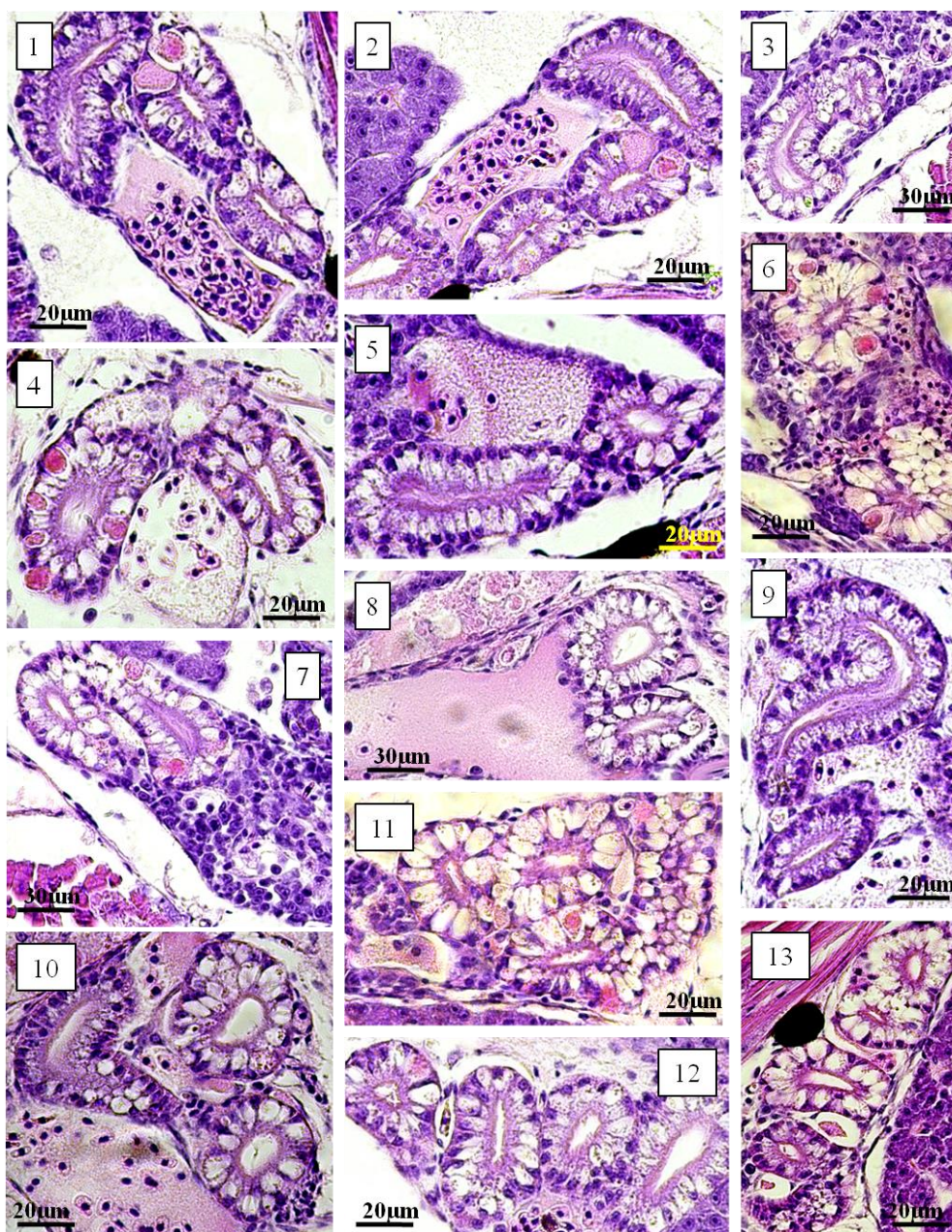


تصویر ۴-۸۱. تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه ی لارو ماهی سفید در مواجهه با آتازین. هایپرتروفی و ادم و تجمع ترکیبات هیالین در سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی (۱-۸ و ۱۰)، نکروز سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی

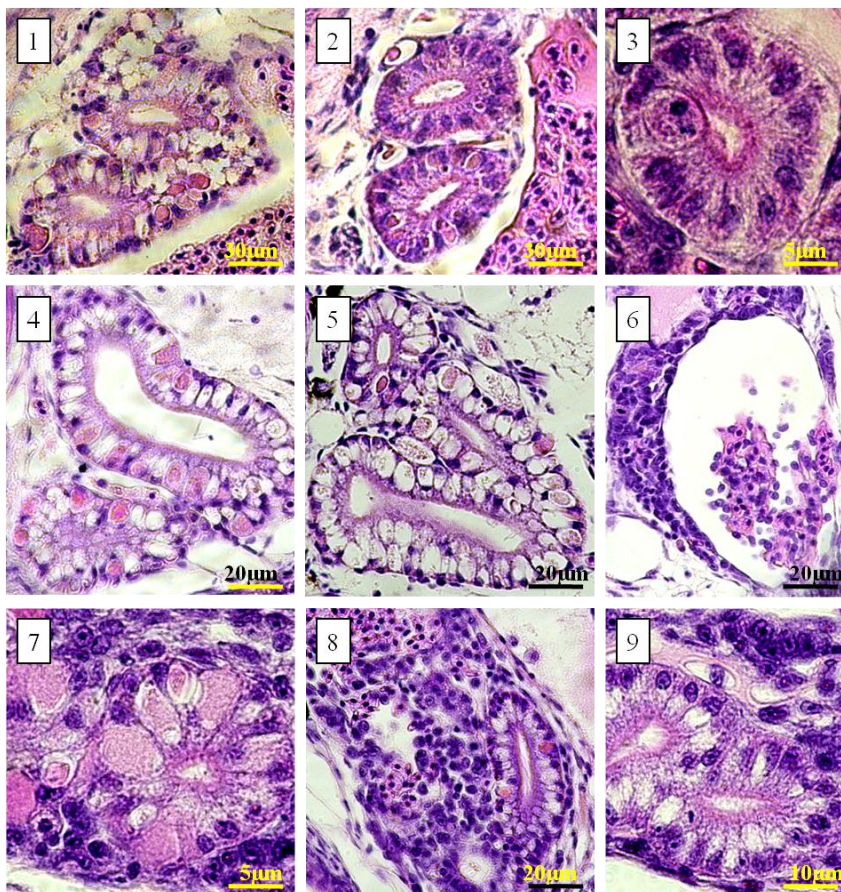
(۹)، نکروز شبکه ی گلومرولی (۱۱)، کاهش حجم شبکه ی گلومرولی و افزایش فضای کپسول بومن (۹) از جمله تغییرات مشاهده شده در بافت کلیوی لاروهای مواجه شده با آترازین می باشد.



تصویر ۴-۸۲. تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه ی لارو ماهی سفید در مواجهه با آترازین. ادم، هایپرتروفی و تجمع ترکیبات هیالین و نکروز در برخی سلول های اپی تلیال توپول های کلیوی (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۷، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۳)، پرخونی بافت کلیوی (۱-۳)، نکروز در بافت هماتوپوئیتیک بخش راسی کلیه (۷، ۸ و ۱۰)، نکروز شبکه ی گلومرولی (۹ و ۱۱)، از جمله تغییرات مشاهده شده در بافت کلیوی لاروهای مواجه شده با آترازین می باشند.



تصویر ۴-۸۳. تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه ی لارو ماهی سفید در مواجهه با آترازین. ادم و هایپرتروفی سلول های ایپی تلیال توبول های کلیوی و تجمع ترکیبات هیالینی در برخی از این سلول ها (۱-۱۳)، تنگ شدن و مسدود شدن لومن توبول های کلیوی (۱، ۴، ۵، ۶ و ۷)، نکروز در بافت هماتوپوئیتیک بخش راسی کلیه (۳، ۶، ۷ و ۸)، پرخونی بافت کلیوی (۱، ۲ و ۱۰)، از جمله تغییرات بافتی مشاهده شده در بافت کلیوی لاروهای مواجهه شده با آترازین می باشد.



تصویر ۴-۸۴. تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه ی لارو ماهی سفید در مواجهه با آترازین. هایپرتروفی، ادم و تجمع ذرات هیالین در سلول های اپی تلیال توپول های کلیوی (۱، ۲، ۴، ۵، ۷، ۸ و ۹)، پرخونی بافت کلیوی (۲)، هایپرپلازی سلول های اپی تلیال توپول های کلیوی (۳)، مسدود شدن لومن توپول های کلیوی بدلیل هایپرتروفی شدید سلول های اپی تلیال توپول های کلیوی (۴)، نکروز شبکه ی گلمرولی و افزایش فضای کپسول بومن (۶)، نکروز در بافت هماتوپوئیتیک بخش راسی کلیه (۸) از مهمترین تغییرات بافتی مشاهده شده در بافت کلیوی لاروهای مواجهه شده با آترازین می باشد.

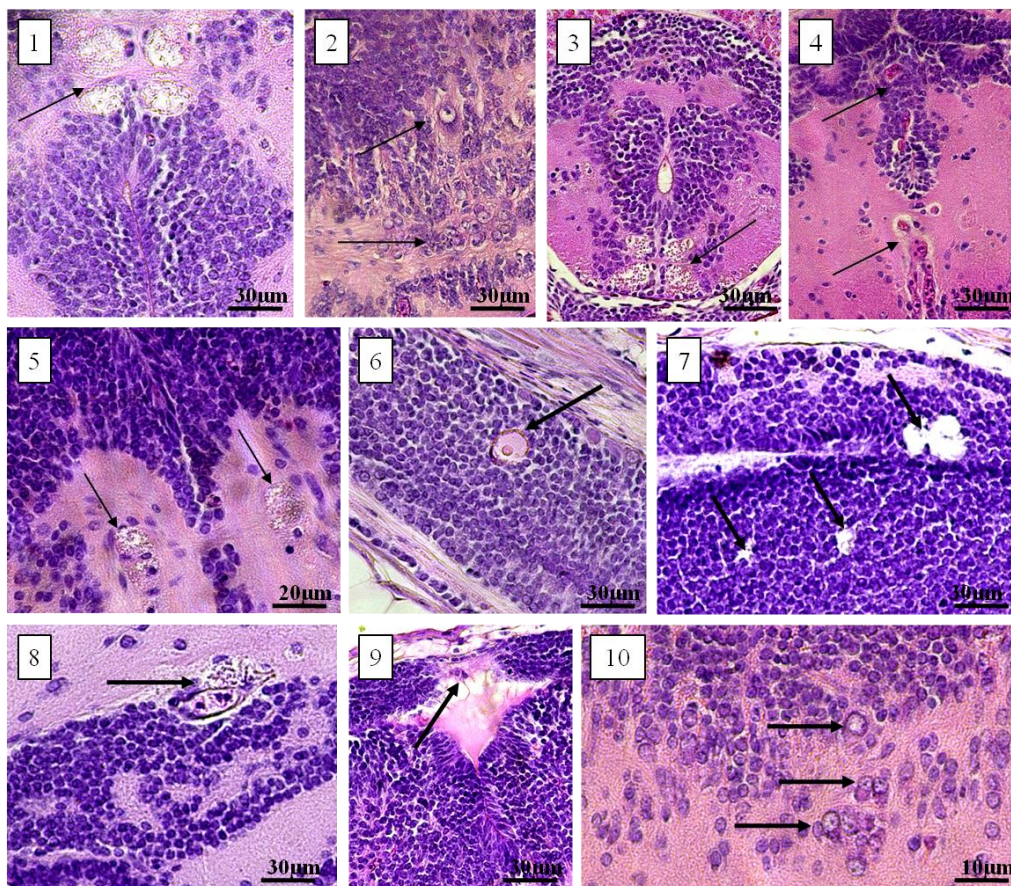
#### ۴-۲-۱-۷-۵- اثرات علف کش آترازین بر چشم لارو ماهی سفید

هیچگونه تغییرات هیستوپاتولوژیکی در بافت چشم لاروهای مواجهه شده با غلظت های مختلف آترازین مشاهده نگردید. به نظر می رسد که از آنجاییکه چشم دارای لایه های محافظ بیرونی بوده و تبادل موادی با محیط پیرامونی ندارد، آترازین در مواجهه ی حاد و تحت کشنده نتوانسته است موجب ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک در این بافت گردد.

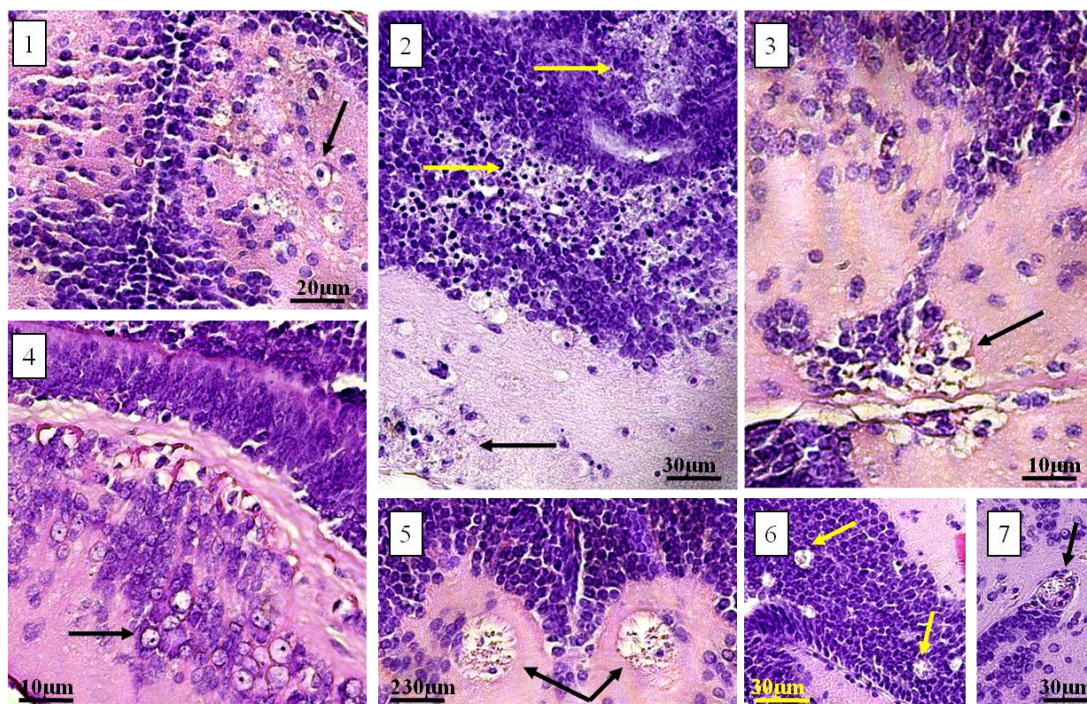
#### ۴-۲-۱-۷-۶- اثرات علف کش آترازین بر سیستم عصبی لارو ماهی سفید

نکروز بخش هایی از ماده ی سفید در مغز و نخاع (تصویر ۴-۸۵-۱، تصویر ۴-۸۵-۳، تصویر ۴-۸۵-۵، تصویر ۴-۸۵-۸ و تصویر ۴-۸۶-۱ تا ۵)، ادم و هایپرتروفی و تجمع مایع در جسم سلولی نورون ها (تصویر ۴-۸۵-۲، تصویر ۴-۸۵-۶، تصویر ۴-۸۵-۱۰ و تصویر ۴-۸۶-۴)، پرخونی و تجمع سلول های خونی در بافت عصبی

(تصویر ۴-۸۵-۴ و تصویر ۴-۸۵-۹)، تخریب کامل جسم سلولی برخی نورون ها در ماده خاکستری (تصویر ۴-۸۵-۷ و تصویر ۴-۸۶-۶) و تجمع بخش های نکروتیک در بافت عصبی (تصویر ۴-۸۵-۸ و تصویر ۴-۸۶-۷)، نکروز در بخش های فوقانی بطن های مغزی (تصویر ۴-۸۵-۹) و نکروز در هسته های نورون ها در بخش ماده ی خاکستری مغز (تصویر ۴-۸۶-۲)، از مهمترین تغییرات سلولی و بافتی در بافت عصبی لاروهای مواجه شده با آترازین می باشند.



تصویر ۴-۸۵. تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت عصبی لارو ماهی سفید مواجه شده با آترازین. نکروز بخش هایی از ماده ی سفید در مغز و نخاع (۱، ۳، ۵ و ۸)، ادم و هایپرتروفی در جسم سلولی نورون ها (۲، ۶ و ۱۰)، پرخونی و تجمع سلول های خونی در بافت عصبی (۴ و ۹)، تخریب کامل جسم سلولی برخی نورون ها در ماده خاکستری (۷) و تجمع بخش های نکروتیک در بافت عصبی (۸)، نکروز در بخش های فوقانی بطن های مغزی (۹) از مهمترین تغییرات مشاهده شده در بافت عصبی لاروهای مواجه شده با آترازین می باشد.

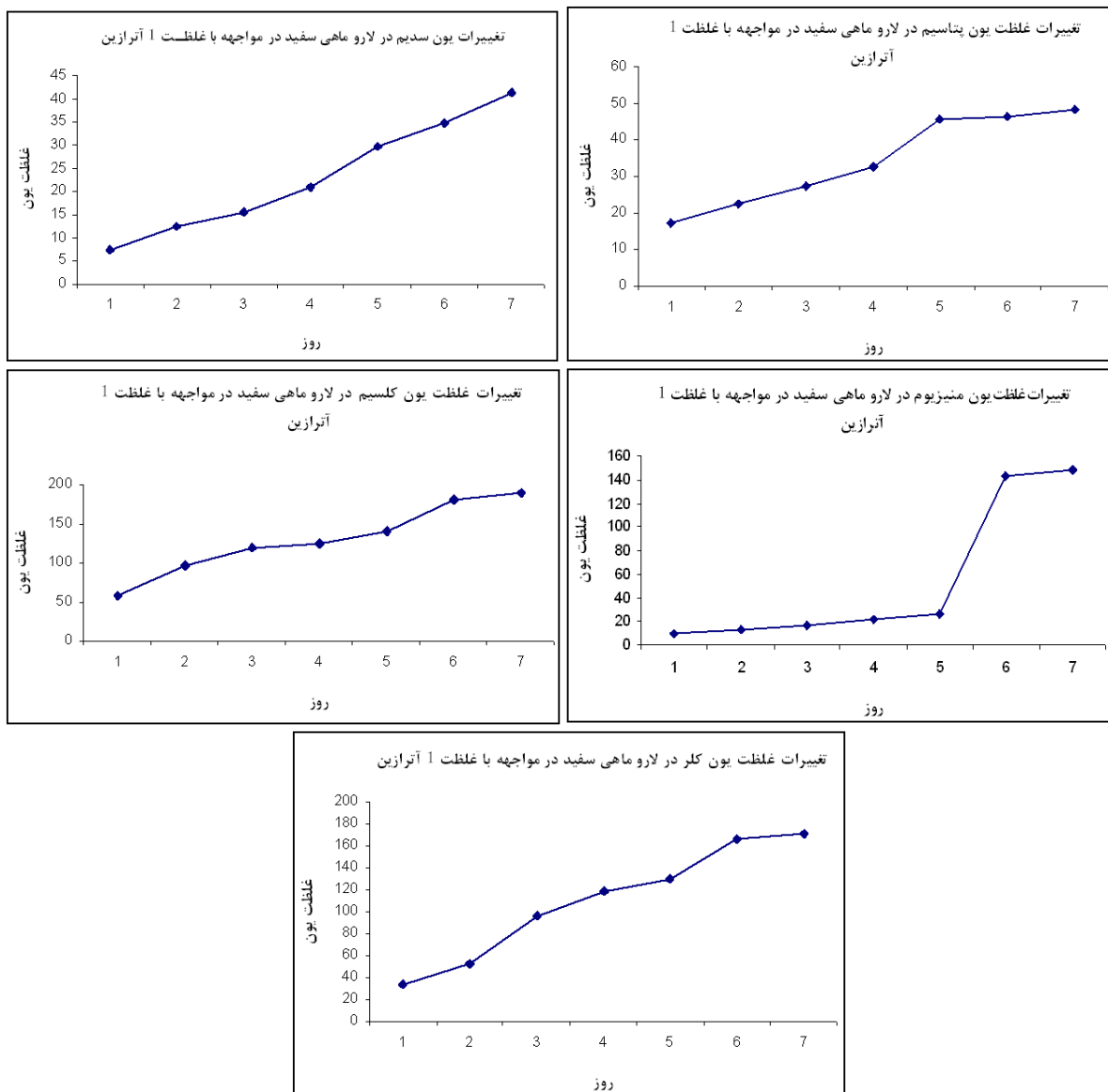


تصویر ۴-۸۶. تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت عصبی لارو ماهی سفید مواجه شده با آترازین. نکروز در ماده ی سفید (اکسون های میلین دار نورون ها) مغز (۱-۵)، نکروز در هسته های نورون ها در بخش ماده ی خاکستری مغز (۲)، ادم و هایپرتروفی و تجمع مایع در جسم سلولی برخی نورون ها (۴)، از بین رفتن کامل جسم سلولی برخی نورونها در بخش ماده ی خاکستری مغز (۶) و تجمع ذرات نکروتیک (۷) از مهمترین تغییرات بافتی مشاهده شده در بافت مغز لاروهای مواجه شده با آترازین می باشد.

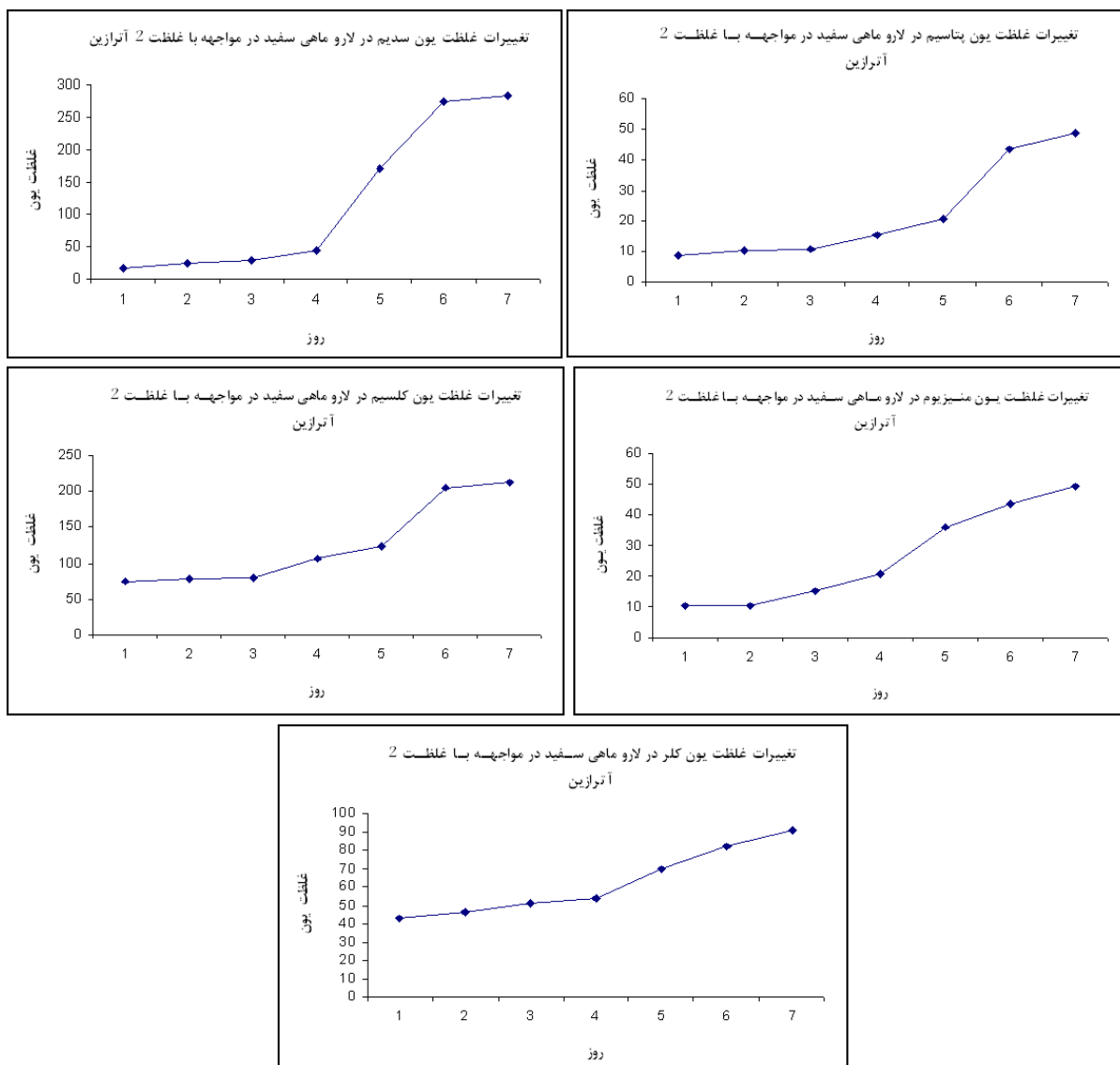
#### ۴-۲-۱-۷-۷- اثرات مواجهه با آترازین بر ترکیب یونی بدن لارو ماهی سفید

اندازه گیری غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $Cl^-$ ، در بدن لارو ماهی سفید مواجه شده با آترازین نشان می دهد که در گروه مواجه شده با غلظت ۱ آترازین (۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر) بیشترین غلظت یونی متعلق به یون  $Ca^{2+}$  بوده و پس از آن به ترتیب یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $Cl^-$  قرار می گیرند. در لاروهای مواجه شده با غلظت ۲ آترازین (۴/۶۳ میلی گرم بر لیتر) نیز بیشترین غلظت یونی متعلق به یون  $Ca^{2+}$  بوده و پس از آن به ترتیب یون های  $Na^+$ ،  $Cl^-$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $K^+$  قرار می گیرند. در لاروهای مواجه شده با غلظت ۳ آترازین (۲/۳۱ میلی گرم بر لیتر) نیز مشابه با دو گروه دیگر بیشترین غلظت یونی متعلق به یون  $Ca^{2+}$  بوده و پس از آن به ترتیب یون های  $Cl^-$ ،  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Mg^{2+}$  قرار می گیرند. غلظت تمامی این یون ها در این سه گروه آزمایشی و نیز در گروه شاهد در طی دوره ی مطالعه روندی افزایشی دارد (نمودار ۴-۳۲، نمودار ۴-۳۳ و نمودار ۴-۳۴). مقایسه ی میزان غلظت این یون ها در لاروهای مواجه شده با این سه غلظت آزمایشی آترازین با یکدیگر و با گروه شاهد نشان می دهد که در مورد یون سدیم، بین همه ی گروههای آزمایشی تفاوت آماری معنی دار وجود دارد، در مورد یون پتاسیم بین گروههای مواجه شده با آترازین با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار وجود ندارد اما بین این گروهها با گروه شاهد تفاوت آماری معنی دار وجود دارد، در مورد یون کلسیم نیز مشابه با یون پتاسیم بین گروههای مواجه شده با آترازین با یکدیگر تفاوت آماری معنی

دار وجود ندارد اما بین این گروهها با گروه شاهد تفاوت آماری معنی دار وجود دارد، در مورد یون منیزیموم بین گروههای آزمایشی مختلف تفاوت آماری معنی داری وجود ندارد و در مورد یون کلر در مورد گروه های مواجهه شده با آتزازین میزان این یون در غلظت (C1) بطور معنی داری از دو غلظت دیگر بیشتر است، میزان غلظت یون کلر در همه ی گروه های مواجهه شده با آتزازین نسبت به گروه شاهد بطور معنی داری کمتر می باشد (نمودار ۴-۳۵).

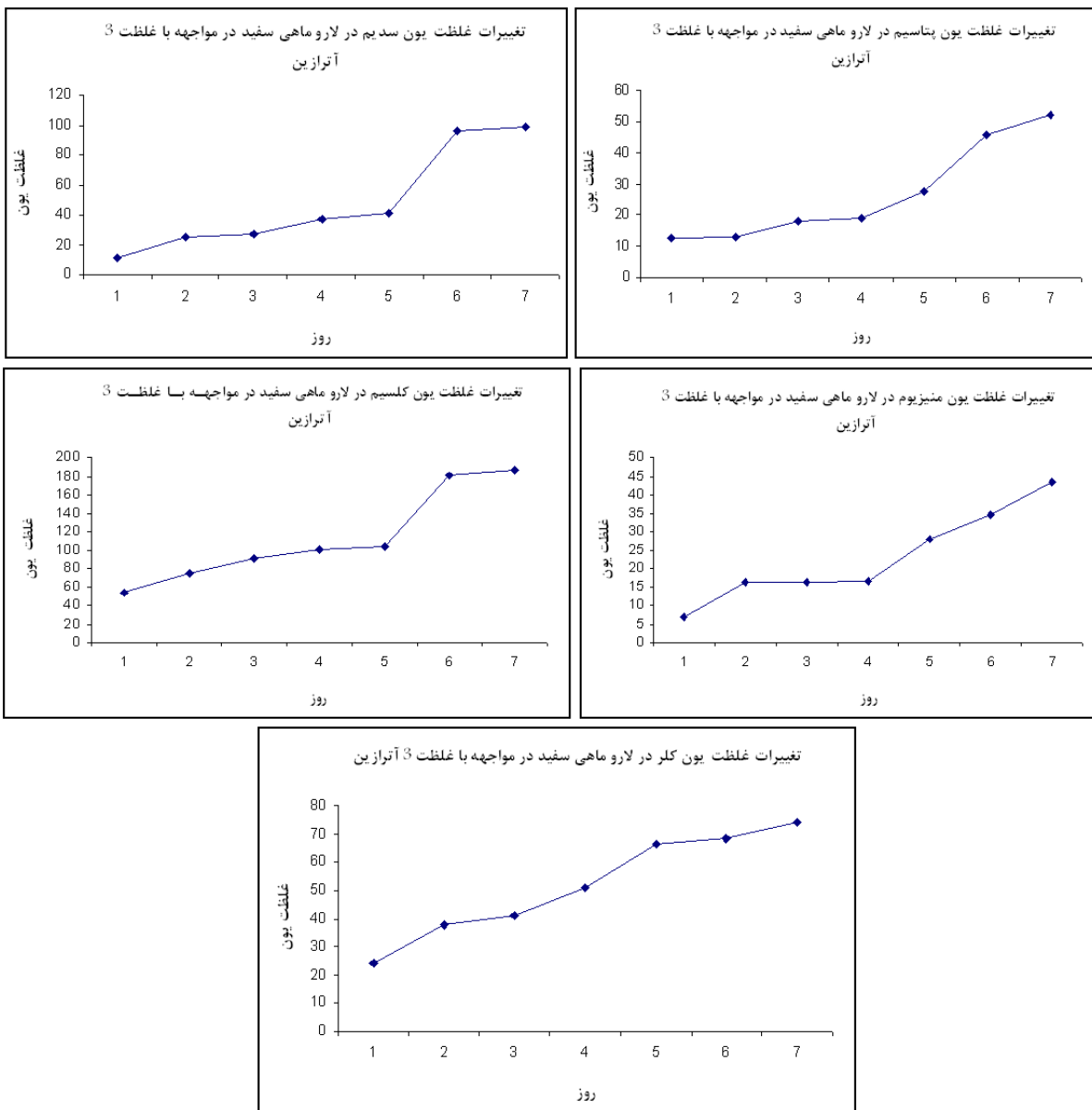


نمودار ۴-۳۲. تغییرات غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$  و  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در لارو ماهی سفید در مواجهه با غلظت ۱ آتزازین (۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر) در طول دوره ی آزمایش. تمامی غلظت ها در طول دوره ی مطالعه روندی افزایشی دارند.



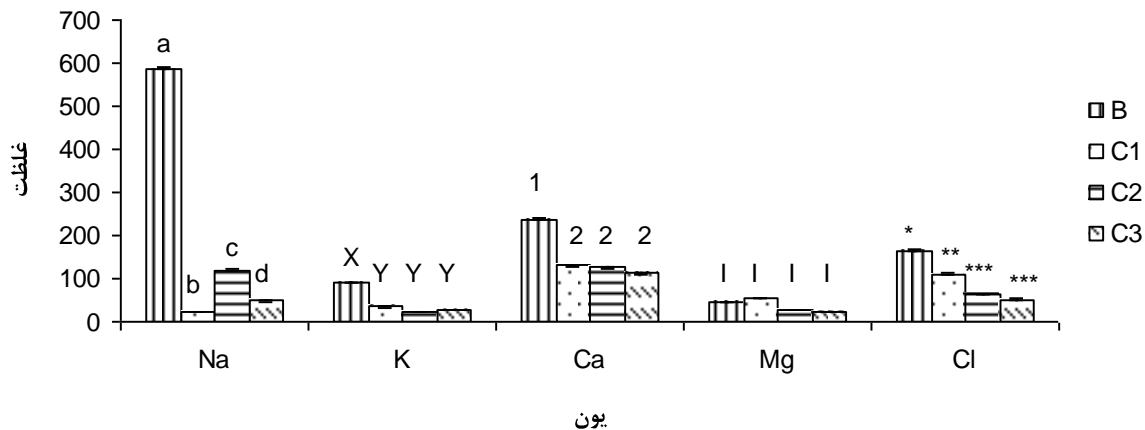
نمودار ۴-۳۳. تغییرات غلظت یون های  $\text{Na}^+$ ،  $\text{K}^+$ ،  $\text{Ca}^{2+}$ ،  $\text{Mg}^{2+}$  و  $\text{Cl}^-$  در لارو ماهی سفید در مواجهه با غلظت ۲ آتزازین (۴/۶۳ میلی گرم بر لیتر) در طول دوره ی آزمایش. تمامی غلظت ها در طول دوره ی مطالعه روندی افزایشی دارند.





نمودار ۴-۳۴. تغییرات غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در لارو ماهی سفید در مواجهه با غلظت ۳ آتزازین (۲/۳۱ میلی گرم بر لیتر) در طول دوره ی آزمایش. تمامی غلظت ها در طول دوره ی مطالعه روندی افزایشی دارند.

مقایسه میانگین غلظت یون های مختلف در لارو ماهی سفید در گروه های آزمایشی



نمودار ۴-۳۵. مقایسه میانگین غلظت یون های  $\text{Na}^+$ ،  $\text{K}^+$ ،  $\text{Ca}^{2+}$ ،  $\text{Mg}^{2+}$  و  $\text{Cl}^-$  در لارو ماهی سفید در گروه های مختلف آزمایشی. مقایسه میانگین غلظت یون های مختلف در گروه شاهد (B)، گروه مواجه شده با غلظت ۱ آترازین برابر با ۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر (C1)، گروه مواجه شده با غلظت ۲ آترازین برابر با ۴/۶۳ میلی گرم بر لیتر (C2)، گروه مواجه شده با غلظت ۳ آترازین برابر با ۲/۳۱ میلی گرم بر لیتر (C3) نشان می دهد که در مورد یون سدیم، بین همه ی گروههای آزمایشی تفاوت آماری معنی دار وجود دارد، در مورد یون پتاسیم بین گروههای مواجه شده با آترازین با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار وجود ندارد اما بین این گروهها با گروه شاهد تفاوت آماری معنی دار وجود دارد، در مورد یون کلسیم نیز مشابه با یون پتاسیم بین گروههای مواجه شده با آترازین با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار وجود ندارد اما بین این گروهها با گروه شاهد تفاوت آماری معنی دار وجود دارد، در مورد یون منیزیم بین گروههای آزمایشی مختلف تفاوت آماری معنی داری وجود ندارد و در مورد یون کلر در مورد گروه های مواجه شده با آترازین میزان این یون در غلظت (C1) بطور معنی داری از دو غلظت دیگر بیشتر است، میزان غلظت یون کلر در همه ی گروه های مواجه شده با آترازین نسبت به گروه شاهد بطور معنی داری کمتر می باشد. علامت ها و اعداد مشابه نشان دهنده ی نبود تفاوت معنی دار، و علامت ها و اعداد غیرمشابه نشان دهنده ی تفاوت آماری معنی دار می باشد.

#### ۴-۲-۲- بررسی اثرات آتزازین بر بچه ماهی سفید دریای خزر

#### ۴-۲-۲-۱- اندازه گیری LC50 علف کش آتزازین برای بچه ماهی سفید

میزان LC50 ۹۶ ساعته ی علف کش آتزازین برای بچه ماهی سفید با توجه به محاسبه ی انجام گرفته توسط نرم افزار Probit 1.5، ۲۴/۹۵ ppm محاسبه گردید (تصویر ۴-۸۷).

Version 1.5

fryrutilus

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls	Predicted Proportion Responding
20.0000	30	0	0.0000	0.0000	0.0288
22.0000	30	8	0.2667	0.2667	0.1400
24.0000	30	11	0.3667	0.3667	0.3695
26.0000	30	13	0.4333	0.4333	0.6384
28.0000	30	26	0.8667	0.8667	0.8390
30.0000	30	30	1.0000	1.0000	0.9433

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 12.321  
 Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 9.488

Mu = 1.397066  
 Sigma = 0.050573

Parameter	Estimate	Std. Err.	95% Confidence Limits	
Intercept	-22.624971	5.952219	(-39.148335,	-6.101609)
Slope	19.773569	4.252072	( 7.969818,	31.577320)

Theoretical Spontaneous Response Rate = 0.0000

fryrutilus

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	19.029	12.494	21.366
LC/EC 5.00	20.601	15.139	22.563
LC/EC 10.00	21.491	16.743	23.268
LC/EC 15.00	22.113	17.897	23.786
LC/EC 50.00	24.950	23.923	25.021
LC/EC 85.00	28.150	26.216	34.376
LC/EC 90.00	28.965	26.812	36.731
LC/EC 95.00	30.217	27.661	40.605
LC/EC 99.00	32.712	29.221	49.185

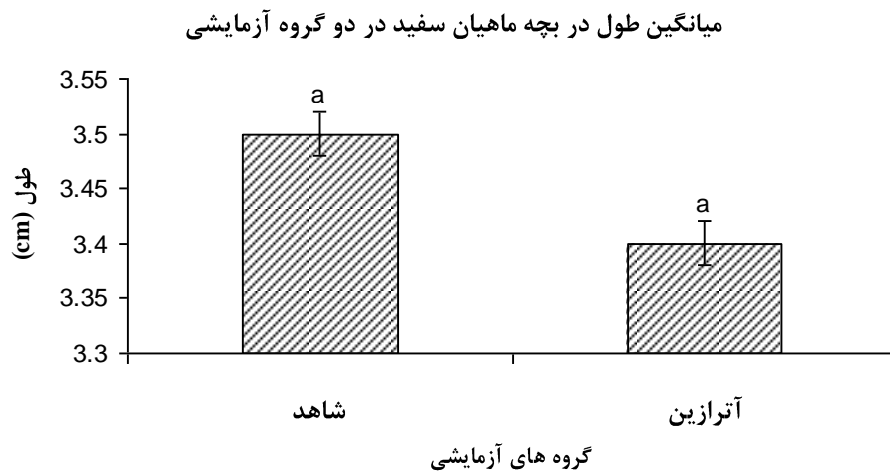
تصویر ۴-۸۷. نتایج محاسبه ی LC50 آتزازین در بچه ماهی سفید توسط نرم افزار Probit 1.5. بر اساس محاسبات نرم افزار غلظت کشنده ی ۵۰٪ جمعیت (LC50) برابر با ۲۴/۹۵ ppm بدست آمد.

با توجه به غلظت LC50 (۲۴/۹۵ ppm) یک غلظت آزمایشی بصورت  $LC_{50}/2$ ، برابر با ۱۲/۴۷ میلی گرم بر لیتر محاسبه گردید و بچه ماهیان به مدت ۴ روز در مواجهه با این غلظت تحت کشنده جهت بررسی اثرات مواجهه ی حاد با آتزازین قرار گرفتند.

#### ۴-۲-۲-۲- بازماندگی و بیومتری

همانطور که پیشتر بیان گردید، بچه ماهیان سفید به مدت ۴ روز در مواجهه با غلظت ۱۲/۴۷ میلی گرم بر لیتر آتزازین قرار گرفتند، گروه مشابهی از بچه ماهیان به عنوان گروه شاهد در همین مدت در شرایط مشابه در آب فاقد آتزازین قرار گرفتند. میانگین طول بچه ماهیان در این بخش از آزمایش برابر با  $3/5 \pm 0/02$  سانتی متر و  $3/4 \pm 0/02$  سانتی متر به ترتیب در گروه شاهد و مواجهه شده با آتزازین، و میانگین وزن بچه

ماهیان برابر با  $0.26 \pm 0.01$  گرم در هر دو گروه آزمایشی بود و همانطور که در نمودارهای ۳۶-۴ و ۳۷-۴ دیده می شود این مقادیر هیچگونه تفاوت آماری معنی داری نداشتند ( $p > 0.05$ ).



نمودار ۳۶-۴. میانگین طول بچه ماهیان سفید در دو گروه آزمایشی شاهد و مواجه شده با آتزازین. مقادیر فاقد تفاوت آماری معنی دار می باشند ( $p > 0.05$ ).



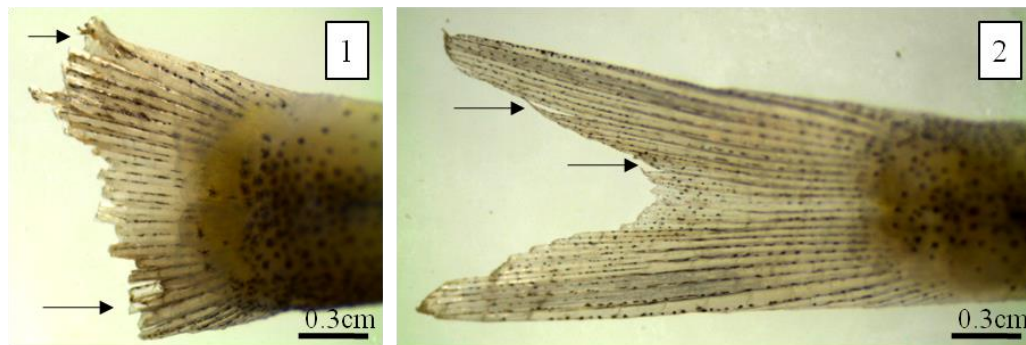
نمودار ۳۷-۴. میانگین وزن بچه ماهیان سفید در دو گروه آزمایشی شاهد و مواجه شده با آتزازین. مقادیر فاقد تفاوت آماری معنی دار می باشند ( $p > 0.05$ ).

#### ۴-۲-۳- فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب

در طول انجام آزمایش فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مورد اندازه گیری مداوم قرار گرفتند و مقادیر میانگین آنها به شرح زیر بود: دمای آب  $18/1^{\circ}$  سانتی گراد، اکسیژن محلول  $7/20$  میلی گرم بر لیتر و pH برابر با  $7/8$ .

#### ۴-۲-۲-۴ ویژگی های مورفولوژیک بچه ماهی سفید در تیمار آترازین

تغییرات اندکی در سطح مورفولوژیک در بچه ماهیان مواجه شده با آترازین مشاهده می شود که در آسیب جزیی و بسیار خفیف باله های دمی خلاصه می شود (تصویر ۴-۸۸-۲)، البته در چند مورد محدود بویژه در چهارمین روز مواجهه با آترازین بچه ماهیانی مشاهده شدند که آسیب به باله ی دمی بسیار شدید شده و تقریبا چنگال دمی بطور کامل آسیب دیده بود (تصویر ۴-۸۸-۱).



**تصویر ۴-۸۸.** تغییرات مورفولوژیک در بچه ماهی سفید در مواجهه با آترازین. مهمترین تغییر مورفولوژیک مشاهده شده در بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین تخریب باله ها، بویژه باله ی دمی بود که این تخریب باله ها در روزهای ابتدایی خفیف تر (۲) و در روزهای پایانی مطالعه بسیار شدیدتر گردید (۱).

#### ۴-۲-۲-۵ تغییرات رفتاری بچه ماهیان مواجه شده با آترازین

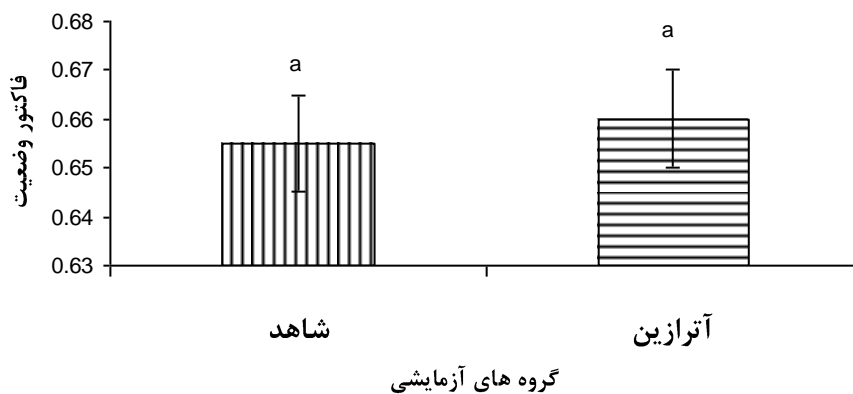
در هنگام انجام بخش LC50 و نیز در چهار روز مواجهه ی بچه ماهیان با آترازین به مدت چهار روز، تغییرات رفتاری در بچه ماهیان مشاهده گردید، همانند آنچه که در مطالعه ی لاروها مشاهده شد، در ابتدای مواجهه ی بچه ماهیان با آترازین، شنای خود را متوقف کرده و به نظر می رسد که نسبت به تغییر ناگهانی در محیط اطراف خود واکنش نشان می دهند. پس از گذشت چند ثانیه، بویژه در غلظت های بالاتر آترازین، با شنای سریع به اطراف سعی در فرار از آب آلوده داشتند. فعالیت سرپوش آبششی افزایش یافته و ماهیان جهت تنفس به سطح آب نزدیک تر می شدند. در آکواریوم های با غلظت بیشتر آترازین، رفتار شنای عمودی به سمت سطح آب نیز در ماهیان مشاهده گردید. در چنین آکواریوم هایی، مقادیر زیادی موکوس از سرتاسر بدن ترشح می شد، این موکوس حتی در محفظه ی دهانی و آبششی نیز بوضوح قابل مشاهده بود. در نهایت ماهیان تعادل خود را از دست داده و به پهلو در کف آکواریوم سقوط کرده و تا مدتی به این حالت باقی می ماندند، در صورت ضربه زدن به دیواره ی آکواریوم این بچه ماهیان به حرکت سریع به سمت سطح آب رفته و مجدداً به کف آکواریوم سقوط می کردند. همچنین به نظر می رسد که در ساعات ابتدایی مواجهه ی ماهیان با آترازین در آب، رفتار تهاجمی این ماهیان به شدت افزایش یافته و به یکدیگر حمله می کردند، این رفتار در روزهای پایانی مشاهده نشد.

#### ۴-۲-۲-۶- فاکتور وضعیت (CF: Condition Factor) بچه ماهی سفید

جهت برآورد وضعیت رشدی بچه ماهیان در تیمار شاهد و تیمار آترازین، فاکتور وضعیت محاسبه گردید که میانگین این مقادیر به ترتیب برابر با ۰/۶۵ و ۰/۶۶ بود. همچنین مقایسه آماری این مقادیر در تیمارهای آترازین با تیمار شاهد نشان می دهد که اختلاف آماری معنی داری وجود ندارد (نمودار ۴-۳۸).

#### مقایسه میانگین فاکتور وضعیت (ضریب چاقی) در بچه ماهیان

##### سفید در تیمارهای آزمایشی

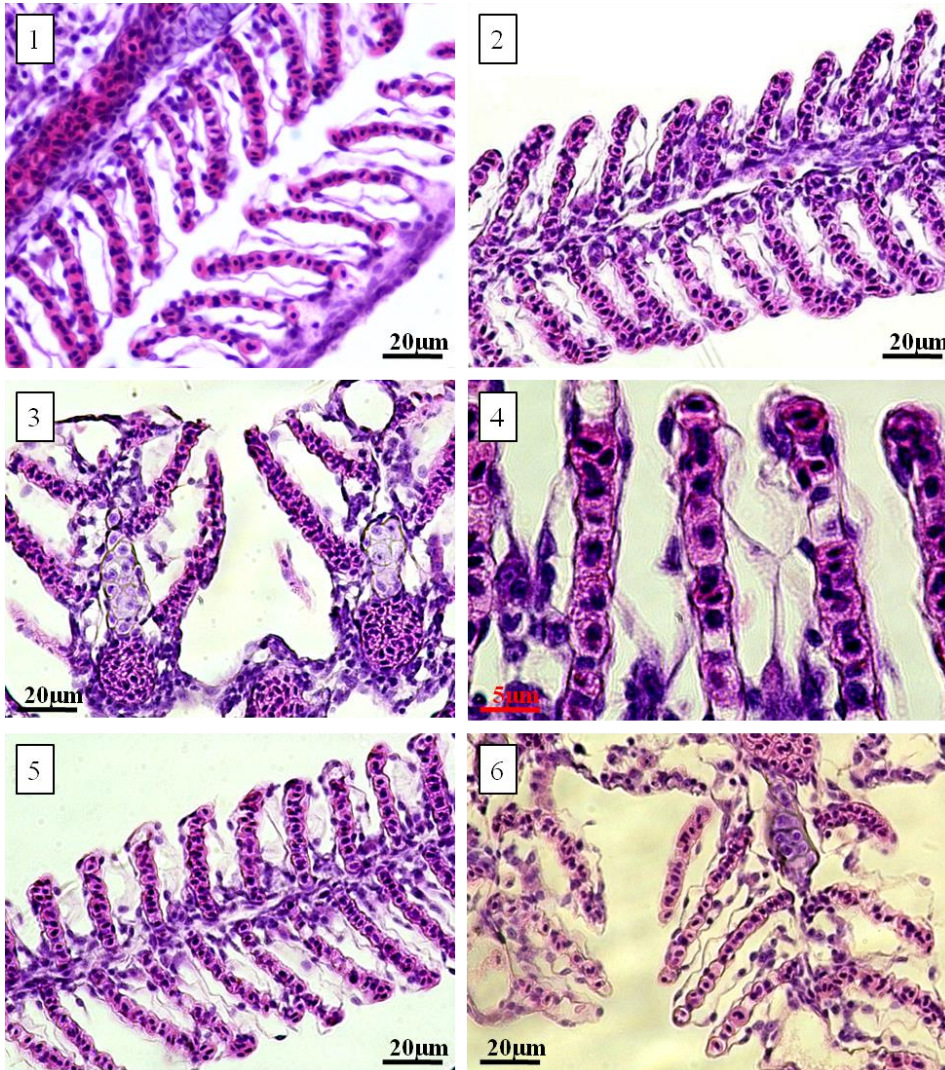


نمودار ۴-۳۸. مقایسه میانگین فاکتور وضعیت در بچه ماهیان سفید در گروه شاهد و مواجه شده با آترازین. از نظر آماری تفاوت معنی داری بین میانگین فاکتور وضعیت در بچه ماهیان مواجه شده با آترازین و گروه شاهد وجود ندارد.

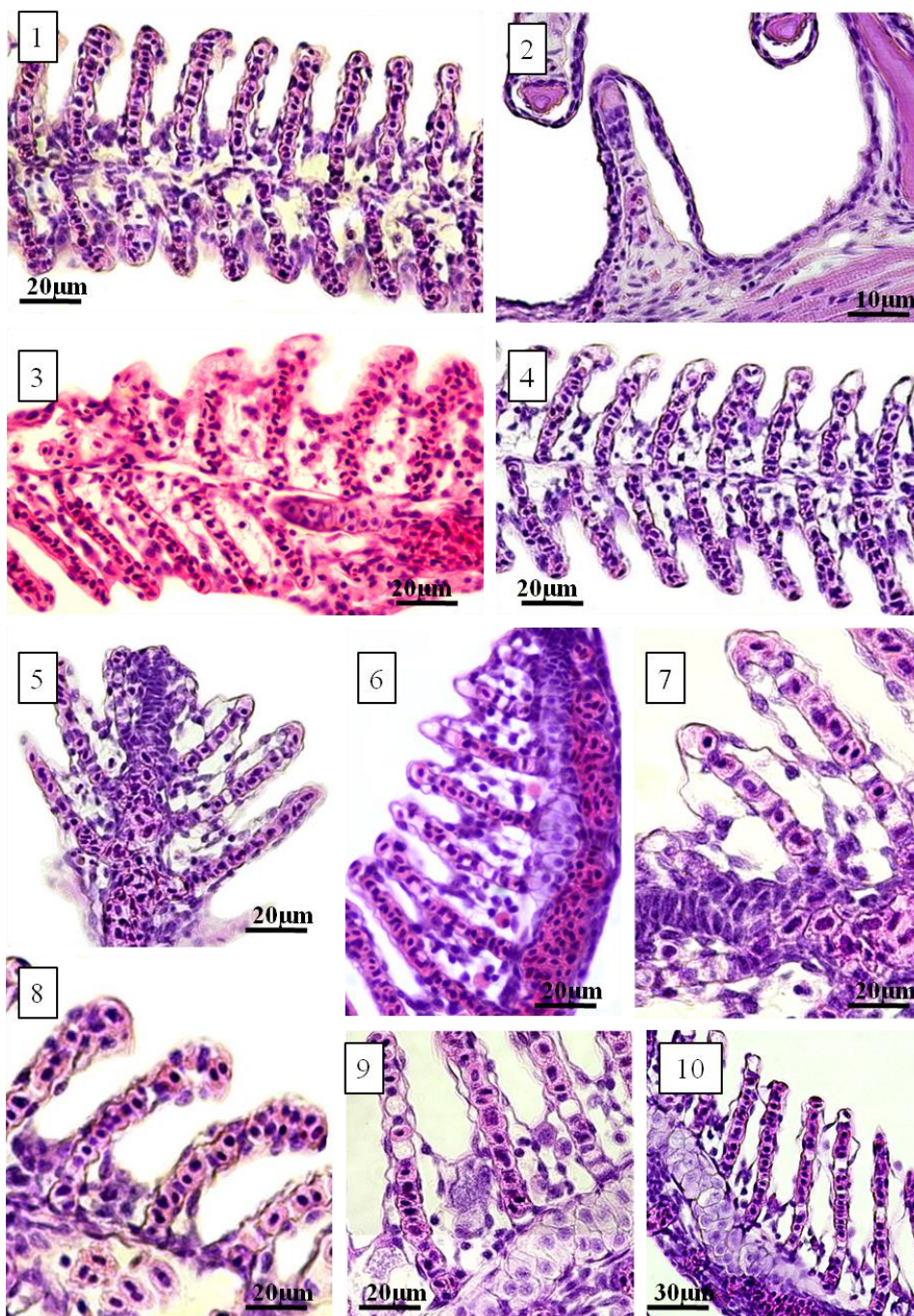
#### ۴-۲-۲-۷- بررسی اثرات علف کش آترازین بر بافت های مختلف در بچه ماهی سفید

##### ۴-۲-۲-۷-۱- اثرات علف کش آترازین بر آبشش بچه ماهی سفید

در بچه ماهیان مواجه شده با آترازین، تغییرات متعددی در بافت آبششی مشاهده گردید، مهمترین این تغییرات شامل: جدا شدن اپی تلیوم پوشاننده ی تیغه های آبششی (تصویر ۴-۸۹-۱، تصویر ۴-۸۹-۶، تصویر ۴-۹۰-۵)، ضخیم شدن تیغه های آبششی (تصویر ۴-۸۹-۲)، پرخونی (تصویر ۴-۸۹-۱ تا ۴-۸۹-۶ و تصویر ۴-۹۰-۶ تا ۴-۹۰-۱۰)، ادم در سلول های تیغه ها و رشته های آبششی (تصویر ۴-۸۹-۲، تصویر ۴-۸۹-۵، تصویر ۴-۹۰-۴ تا ۴-۹۰-۹)، تورم در سلول های سنگفرشی پوشاننده ی تیغه های آبششی (تصویر ۴-۸۹-۴)، نکرور بافت آبششی و اپی تلیوم پوشاننده ی تیغه های آبششی (تصویر ۴-۸۹-۳، تصویر ۴-۸۹-۶ و تصویر ۴-۹۰-۱۰)، به هم چسبیدگی تیغه های آبششی (تصویر ۴-۸۹-۲، تصویر ۴-۸۹-۴، تصویر ۴-۸۹-۵، تصویر ۴-۸۹-۶ و تصویر ۴-۹۰-۳)، هایپرپلازی سلول های رشته های آبششی (تصویر ۴-۹۰-۱)، چماقی شدن راس تیغه های آبششی (تصویر ۴-۹۰-۱ و تصویر ۴-۹۰-۸)، جدا شدن اپی تلیوم پوشاننده ی خارهای آبششی (تصویر ۴-۹۰-۲)، هایپرپلازی سلول های تیغه ها و رشته های آبششی (تصویر ۴-۹۱-۳) و چروکیدگی تیغه های آبششی (تصویر ۴-۹۰-۸) می باشند.



تصویر ۴-۸۹. تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت آبششی بچه ماهی سفید در مواجهه با آتزازین. جدا شدن اپی تلیوم پوشاننده ی تیغه های آبششی (۱ و ۶)، ضخیم شدن تیغه های آبششی (۲)، پرخونی (۱-۶)، ادم در سلول های تیغه ها و رشته های آبششی (۲ و ۵)، تورم در سلول های سنگفرشی پوشاننده ی تیغه های آبششی (۴)، نکروز بافت آبششی (۳ و ۶) و به هم چسبیدگی تیغه های آبششی (۲، ۴، ۵ و ۶) از مهمترین تغییرات مشاهده شده در بافت آبششی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آتزازین می باشند.



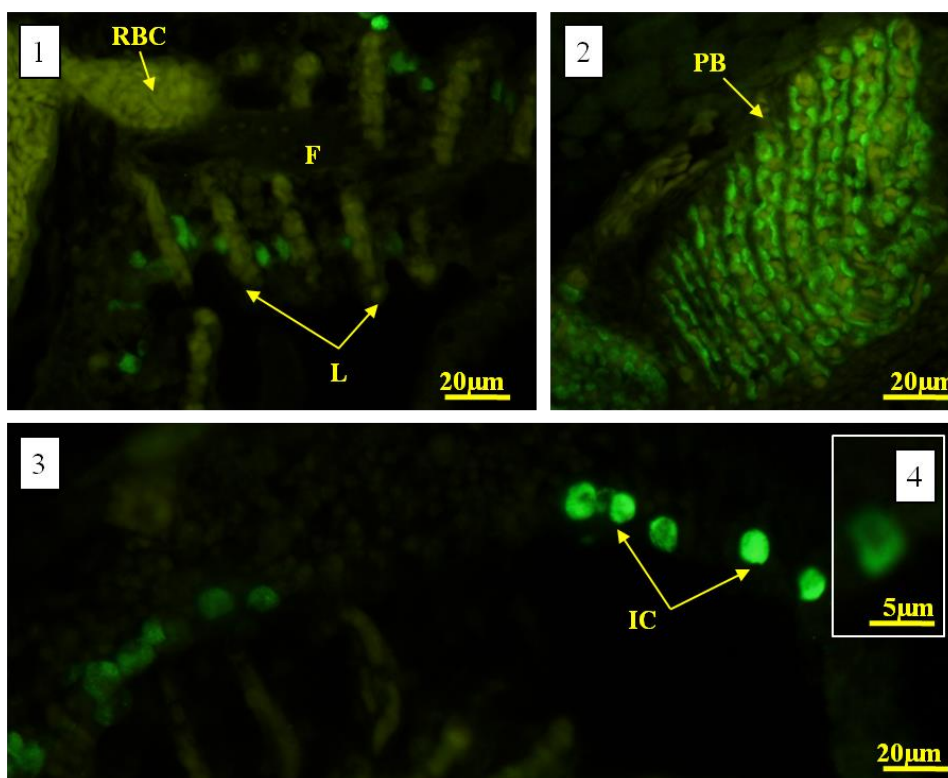
تصویر ۴-۹۰. تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت آبششی بچه ماهی سفید در مواجهه با آترازین. هایپرپلازی سلول های رشته های آبششی (۱)، چماقی شدن راس تیغه های آبششی (۱ و ۸)، جداسدن اپی تلیوم پوشاننده ی خارهای آبششی (۲)، هایپرپلازی سلول های تیغه ها و رشته های آبششی و چسبیدن تیغه های آبششی مجاور به یکدیگر (۳)، ادم در سلول های رشته های آبششی و سلول های پایه ی تیغه های آبششی (۴، ۶ و ۹)، ادم در سلول های سنگفرشی پوشاننده ی تیغه های آبششی و جداسدن این اپی تلیوم از روی تیغه های آبششی (۵)، پرخونی (۶-۱۰)، چروکیدگی تیغه های آبششی (۸) و نکروز اپی تلیوم پوشاننده ی تیغه های آبششی (۱۰) از جمله مهمترین تغییرات بافتی مشاهده شده در بافت آبششی بچه ماهیان مواجه شده با آترازین می باشد.



مطالعات ایمنوهیستوشیمی نشان داد که از نظر پراکنش سلول های یونوسیت در بافت آبششی تفاوتی میان گروه شاهد و گروه مواجه شده با آتزازین وجود ندارد و این سلول ها در بافت آبششی، بر روی کمان های آبششی (تصویر ۴-۹۱-۱ و تصویر ۴-۹۱-۳)، دیواره ی محفظه ی آبششی ( تصویر ۴-۹۱-۳)، بر روی رشته های آبششی و در پایه ی تیغه های آبششی (تصویر ۴-۹۱-۱ و تصویر ۴-۹۱-۳) و نیز به تعداد زیاد در سودوبرانش آبششی (تصویر ۴-۹۱-۲) وجود دارند. این سلول ها عموماً گرد تا تخم مرغی شکل بوده و بیشترین میزان فلورسنت در غشاهای قاعده ای- جانبی آنها وجود دارد ( تصویر ۴-۹۱-۴).

شمارش تعداد سلول های یونوسیت های آبششی در بچه ماهیان نشان داد که در هر میلی متر مربع از بافت آبششی حدود ۳۴۲ سلول یونوسیت وجود دارد، تعداد این سلول ها در گروه شاهد از گروه آتزازینی بیشتر است اما این اختلاف از نظر آماری معنی دار نیست (نمودار ۴-۳۹).

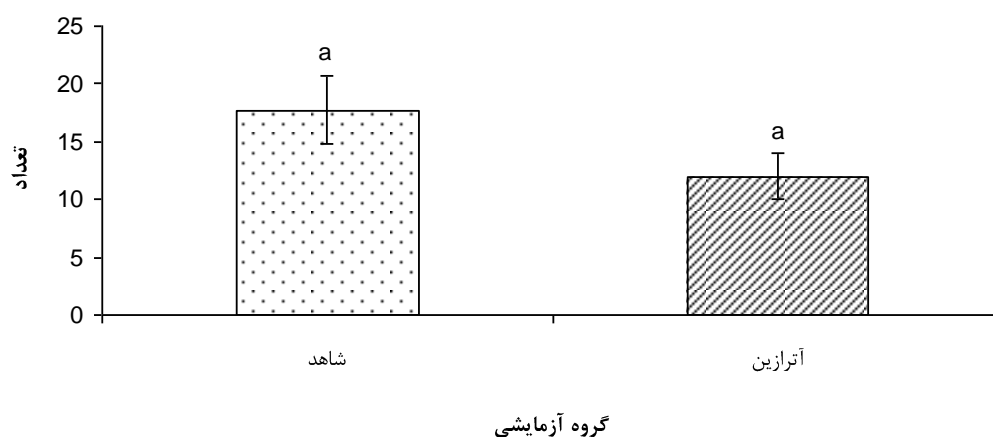
اندازه گیری ابعاد سلول های یونوسیت نشان می دهد که در بچه ماهیان مواجه شده با آتزازین میانگین طول این سلول ها  $10/55 \pm 0/12$  میکرومتر و میانگین پهنای آنها  $6/91 \pm 0/08$  میکرومتر می باشد، میانگین طول سلول ها در گروه شاهد کمتر از گروه آتزازینی بوده و این تفاوت از نظر آماری معنی دار می باشد (نمودار ۴-۴۰). از سوی دیگر میانگین پهنای سلول ها نیز در گروه شاهد کمتر از گروه آتزازینی است اما این مقادیر از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند (نمودار ۴-۴۰)، این امر نشان می دهد که یونوسیت ها در گروه مواجه شده با آتزازین بزرگتر از یونوسیت های گروه شاهد می باشند.



تصویر ۴-۹۱. مکان یابی ایمنوهیستوشیمیایی  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در سلول یونوسیت آبششی بچه ماهی سفید مواجه شده با آتزازین. مطالعات نشان داد که در بچه ماهی سفید مواجه شده با آتزازین مشابه با گروه شاهد، سلول های

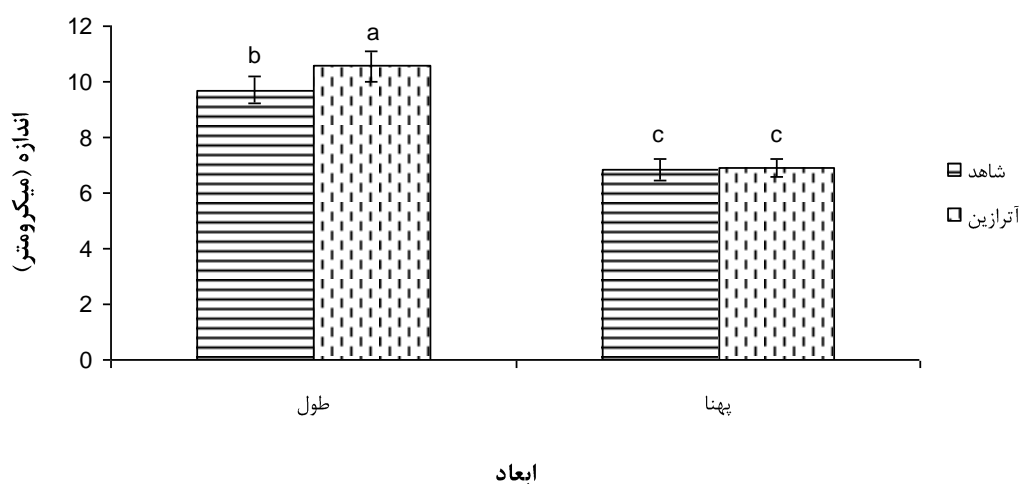
یونوسیت آبششی بر روی کمان های آبششی (۱ و ۳)، دیواره ی محفظه ی آبششی (۳)، بر روی رشته های آبششی و در پایه ی تیغه های آبششی (۱ و ۳) و نیز به تعداد زیاد در سودوبرانش آبششی (۲) وجود دارند. این سلول ها عموماً گرد تا تخم مرغی شکل بوده و بیشترین میزان فلورسنت در غشاهای قاعده ای- جانبی آنها وجود دارد (۴).  
 RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell)؛ F: رشته آبششی (Filament)؛ L: تیغه آبششی (Lamellae)؛ IC: یونوسیت (Ionocyte)؛ PB: سودوبرانش (Pseudobranch).

تعداد سلول های یونوسیت آبششی در بچه ماهی سفید در دو گروه آزمایشی



نمودار ۴-۳۹. مقایسه میانگین تعداد سلول های یونوسیت آبششی در بچه ماهی سفید در دو گروه آزمایشی. مقایسه تعداد سلول های یونوسیت آبششی در بچه ماهی سفید مواجه شده با آترازین و گروه شاهد نشان می دهد که تعداد این سلول ها در گروه شاهد بیشتر بوده اما این میزان از نظر آماری معنی دار نیست.

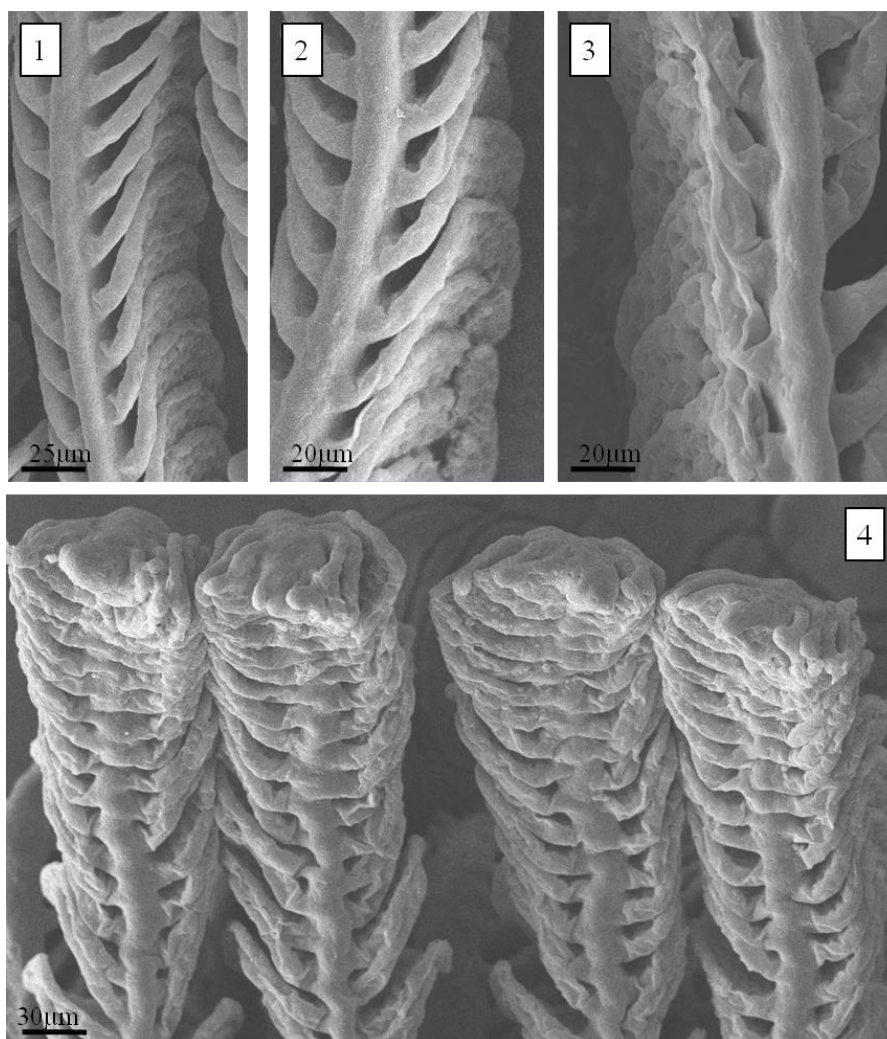
مقایسه ابعاد یونوسیت های آبششی در بچه ماهی سفید در دو گروه آزمایشی



نمودار ۴-۴۰. مقایسه میانگین ابعاد سلول های یونوسیت آبششی در بچه ماهی سفید در دو گروه آزمایشی. مقادیر نشان می دهند که میانگین طول سلول های یونوسیت در بچه ماهیان مواجه شده با آترازین بطور معنی داری بیشتر از

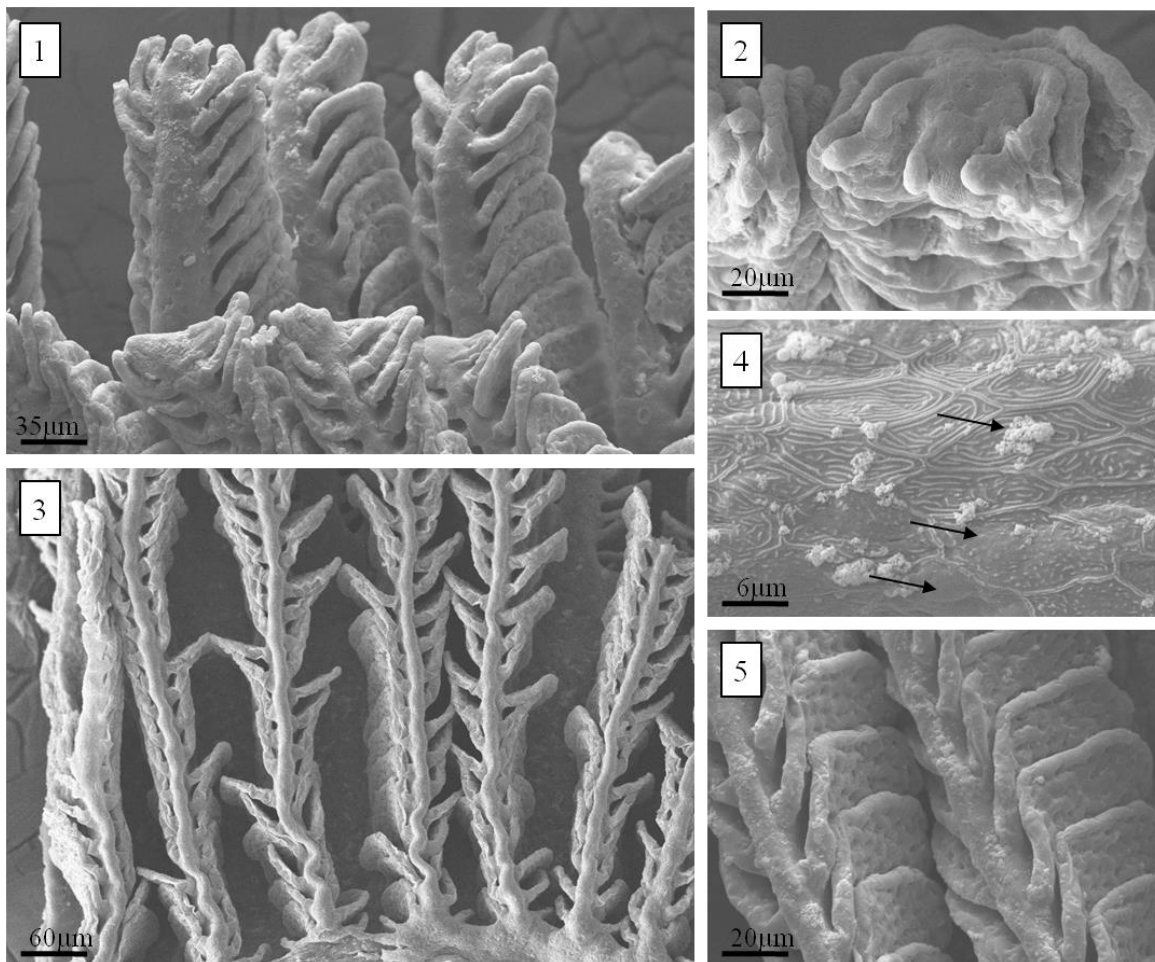
میانگین طول این سلول ها در گروه شاهد می باشد، میانگین پهنای این سلول ها نیز در گروه مواجه شده با آتازین بیشتر از گروه شاهد بوده، اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نیست.

مطالعات فراساختاری بافت آبششی بچه ماهیان سفید شده با آتازین توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان دهنده ی تغییراتی مانند چسبندگی و روی هم افتادن تیغه های آبششی ( تصویر ۴-۹۲-۱، تصویر ۴-۹۲-۲، تصویر ۴-۹۲-۳، تصویر ۴-۹۳-۱، تصویر ۴-۹۳-۳ و تصویر ۴-۹۳-۵)، چروکیدگی تیغه های آبششی و چین خوردن تیغه های آبششی در بخش های راسی رشته های آبششی (تصویر ۴-۹۲-۴ و تصویر ۴-۹۳-۲)، از بین رفتن چین های ریز سطحی در برخی سلول های سنگفرشی پوشاننده ی بافت آبششی (تصویر ۴-۹۳-۴) و تجمع ذرات موکوسی برروی سطح بافت آبششی (تصویر ۴-۹۳-۴) از مهمترین تغییرات فراساختاری در بافت آبششی بچه ماهیان سفید شده با آتازین می باشند.



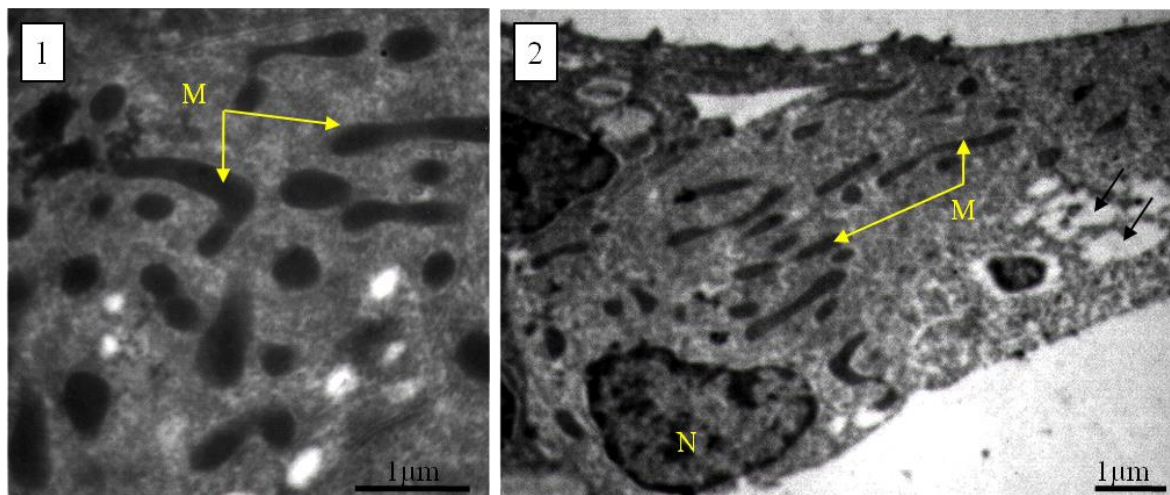
تصویر ۴-۹۲. تغییرات فراساختاری در بافت آبششی بچه ماهی سفید در مواجهه با آتازین توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره. چسبندگی و روی هم افتادن تیغه های آبششی (۱-۳)، چروکیدگی تیغه های آبششی و چین خوردن تیغه

های آبششی در بخش های راسی رشته های آبششی (۴) از مهمترین تغییرات فراساختاری در بافت آبششی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آتازین می باشند.



تصویر ۴-۹۳. تغییرات فراساختاری در بافت آبششی بچه ماهی سفید در مواجهه با آتازین توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره. چسبندگی تیغه های آبششی (۱، ۳ و ۵)، چین خوردن تیغه های آبششی در بخش راسی رشته های آبششی (۲)، از بین رفتن چین های ریز سطحی در برخی سلول های سنگفرشی پوشاننده ی بافت آبششی (۴) و تجمع ذرات موکوسی بر روی سطح بافت آبششی (۴) از جمله تغییرات فراساختاری مشاهده شده در بافت آبششی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آتازین می باشند.

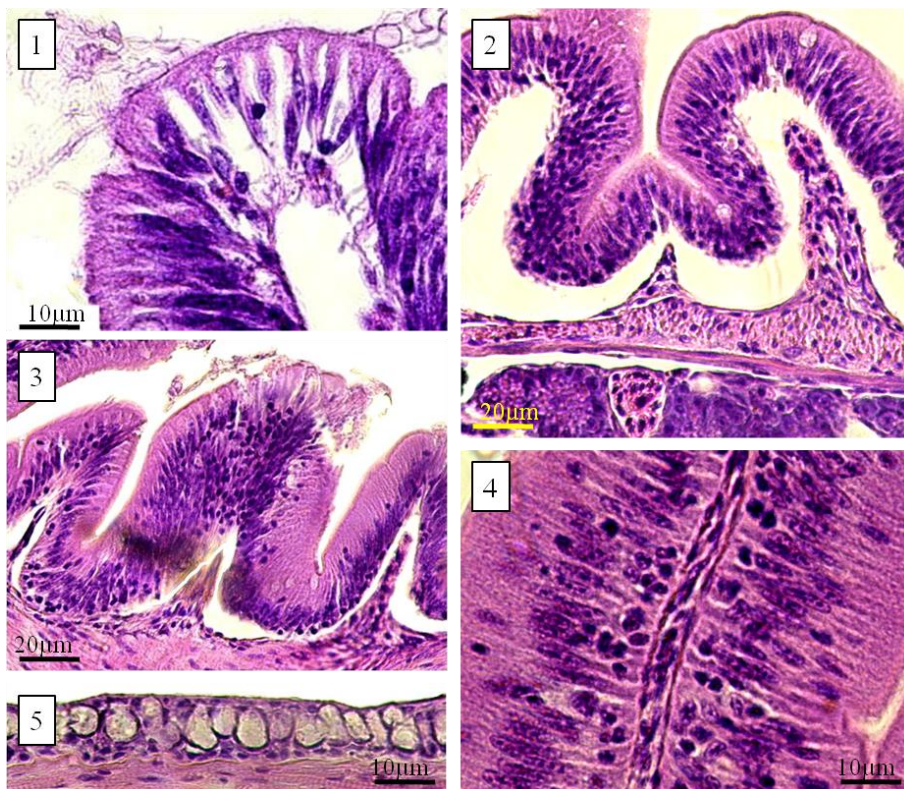
همچنین مطالعات فراساختاری بافت آبششی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آتازین توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره نشان دهنده ی تغییراتی از قبیل کوچک شدن و یا کشیده شدن و تغییر در اندازه ی میتوکندری ها ( تصویر ۴-۹۴-۱ و تصویر ۴-۹۴-۲)، از بین رفتن کریستالها در میتوکندری ها ( تصویر ۴-۹۴-۱) و نکرروز در بخش قاعده ای سلول های یونوسیت (۴-۹۴-۲)، می باشد.



تصویر ۴-۹۴. تغییرات فراساختاری در بافت آبششی بچه ماهی سفید در مواجهه با آترازین توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره. کوچک شدن و یا کشیده شدن و تغییر در اندازه ی میتوکندری ها (۱ و ۲)، از بین رفتن کریستاها در میتوکندری ها (۱) و نکروز در بخش قاعده ای سلول های یونوسیت (۲)، از جمله مهمترین تغییرات فراساختاری مشاهده شده در سلول های یونوسیت بافت آبششی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین می باشد.

#### ۴-۲-۷-۲-۲-۲- اثرات علف کش آترازین بر دستگاه گوارش بچه ماهی سفید

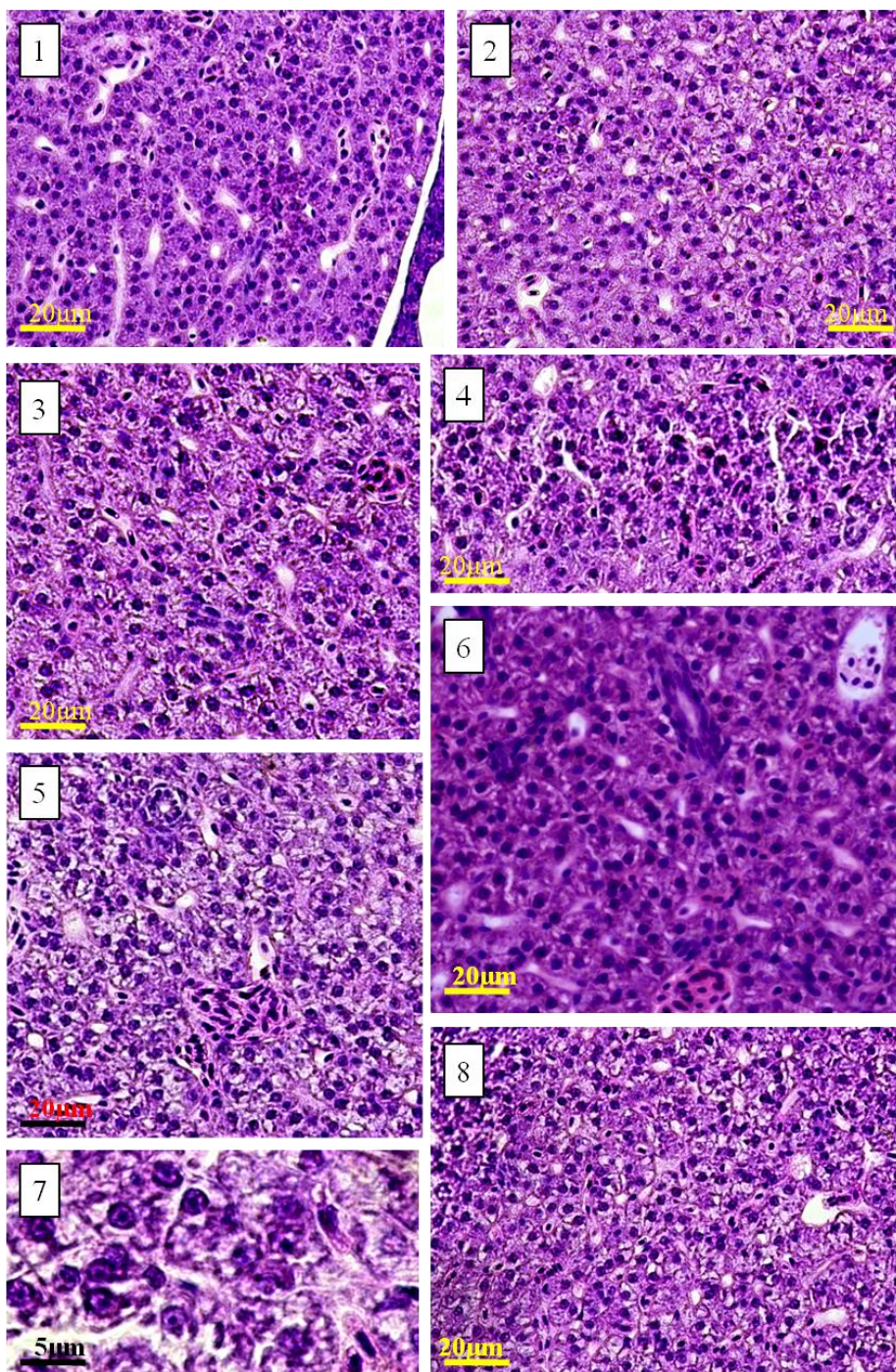
مطالعات بافت شناسی دستگاه گوارش بچه ماهیان مواجه شده با آترازین تغییرات بافتی مانند نکروز سلول های اپی تلیال روده در بخش قاعده ای و راسی ( تصویر ۴-۹۵-۱)، جدا شدن سلول های اپی تلیال از غشای پایه ( تصویر ۴-۹۵-۲)، نکروز در بخش راسی برخی چین های روده ای ( تصویر ۴-۹۵-۳)، هایپرپلازی سلول های اپی تلیال روده ( تصویر ۴-۹۵-۴) و افزایش تعداد و تورم سلول های موکوسی و محتوای موکوسی آنها در بخش هایی از دستگاه گوارش ( تصویر ۴-۹۵-۵) از مهمترین تغییرات مشاهده شده در بافت دستگاه گوارش بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین می باشد.



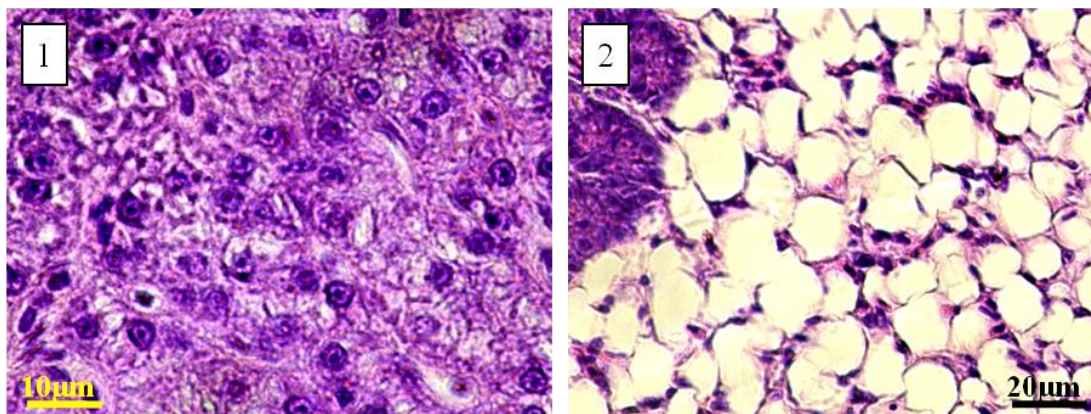
تصویر ۴-۹۵. تغییرات هیستوپاتولوژیک دستگاه گوارش بچه ماهی سفید در مواجهه با آترازین. نکروز سلول های اپی تلیال روده در بخش قاعده ای و راسی (۱)، جدا شدن سلول های اپی تلیال از غشای پایه (۲)، نکروز در بخش راسی برخی چین های روده ای (۳)، هایپرپلازی سلول های اپی تلیال روده (۴) و افزایش تعداد و تورم سلول های موکوسی و محتوای موکوسی آنها در بخش هایی از دستگاه گوارش (۵) از مهمترین تغییرات مشاهده شده در بافت دستگاه گوارش بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین می باشد.

- اثرات علف کش آترازین بر بافت کبد بچه ماهی سفید

گشاد شدن مویرگ های خونی در بافت کبدی ( تصویر ۴-۹۶-۱)، نکروز، واکوئوله شدن و افزایش فضای سلولی بین هیپاتوسیت ها ( تصویر ۴-۹۶-۲ تا ۸- و تصویر ۴-۹۷-۱)، پیکنوتیک شدن هسته های هیپاتوسیت ها (تصویر ۴-۹۶-۷ و تصویر ۴-۹۷-۱) و نکروز در بخش هایی از بافت ذخیره ی چربی کبد (تصویر ۴-۹۷-۲) از جمله مهمترین تغییرات بافتی مشاهده شده در بافت کبد بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین می باشند.



تصویر ۴-۹۶. تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کبد بچه ماهی سفید در مواجهه با آترازین. گشاد شدن مویرگ های خونی در بافت کبدی (۱)، نکروز، واکوتوله شدن و افزایش فضای سلولی بین هپاتوسیت ها (۲، ۸-)، و پیکنوتیک شدن هسته های هپاتوسیت ها (۷) از جمله مهمترین تغییرات بافتی مشاهده شده در بافت کبد بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین می باشند.

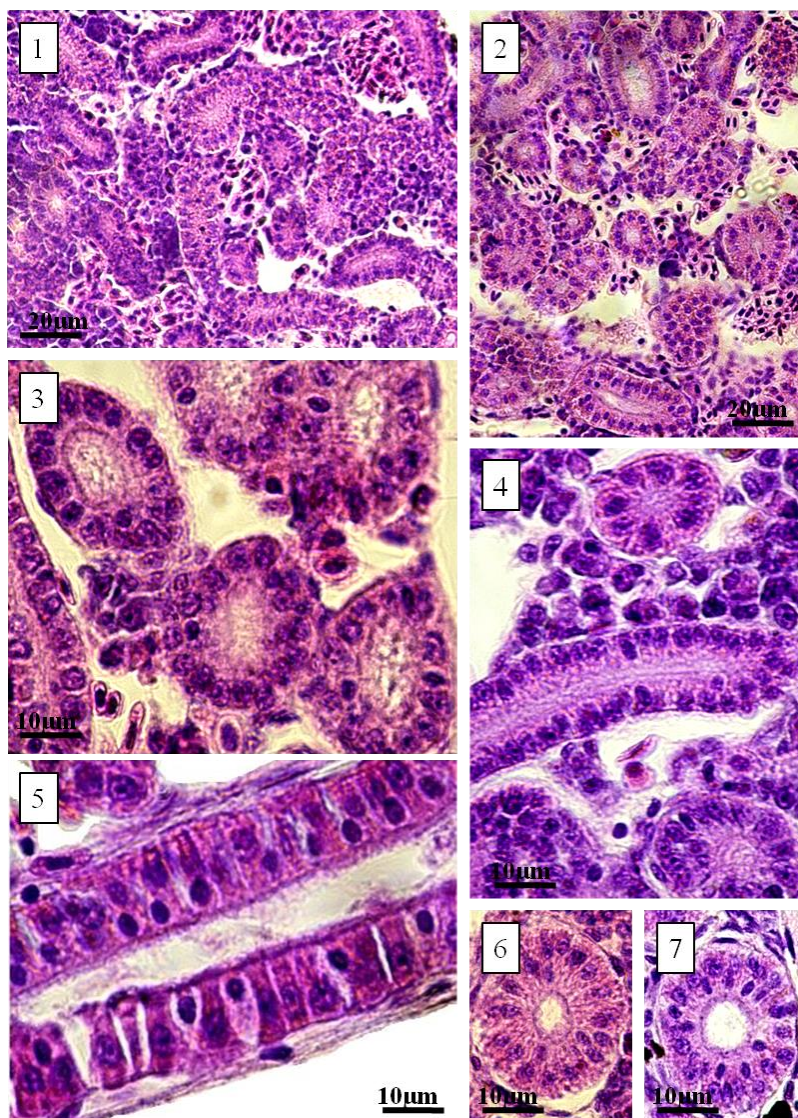


تصویر ۴-۹۷. تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد و بافت ذخیره ای کبد بچه ماهی سفید در مواجهه با آترازین. نکروز، پیکنوتیک شدن هسته ها، افزایش فضای بین سلولی هپاتوسیت ها (۱) و نکروز در بخش هایی از بافت ذخیره ی چربی کبد (۲) از جمله تغییرات مشاهده شده در بافت کبد بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین می باشد.

#### ۴-۲-۲-۳- اثرات علف کش آترازین بر کلیه بچه ماهی سفید

مسدود شدن لومن توبول های مختلف کلیوی ( تصویر ۴-۹۸-۱، تصویر ۴-۹۸-۳ و تصویر ۴-۹۸-۴)، نکروز و از هم گسیختگی در بافت هماتوپوئیتیک بخش راسی کلیه (تصویر ۴-۹۸-۱ و تصویر ۴-۹۸-۲)، نکروز، ادم، و بر هم خوردن نظم سلول های اپی تلیال لوله های میزنا (تصویر ۴-۹۸-۱) و هایپرپلازی سلول های اپی تلیال توبول های پروکسیمال و جدا شدن سلول های اپی تلیال این توبول ها از غشای پایه (تصویر ۴-۹۸-۶ و تصویر ۴-۹۸-۷) از جمله مهمترین تغییرات مشاهده شده در بافت کلیوی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین می باشند.

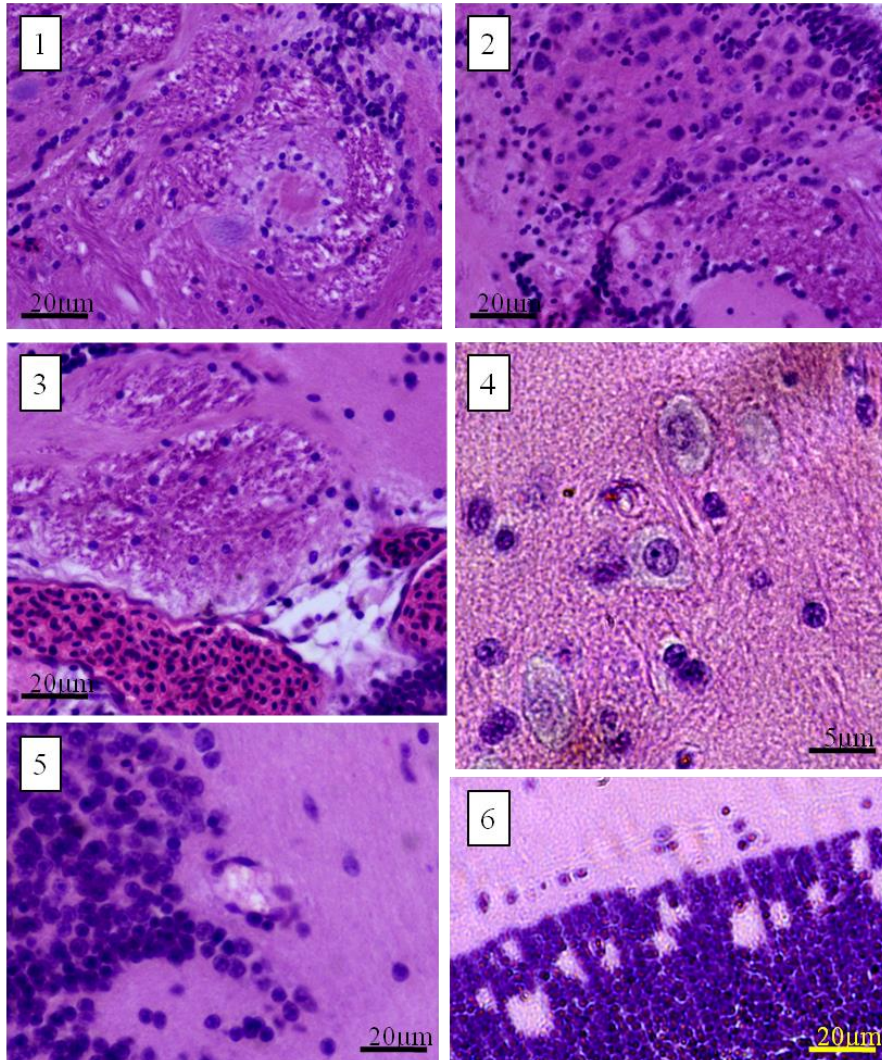




تصویر ۴-۹۸. تغییرات هیستوپاتولوژیک کلیه بچه ماهی سفید در مواجهه با آترازین. مسدود شدن لومن توبول های مختلف کلیوی (۱، ۳ و ۴)، نکروز و از هم گسیختگی در بافت هماتوپوئیتیک بخش راسی کلیه (۱ و ۲)، نکروز، ادم، و بر هم خوردن نظم سلول های اپی تلیال لوله های میزنای (۵) و هایپرپلازی سلول های اپی تلیال توبول های پروکسیمال و جدا شدن سلول های اپی تلیال این توبول ها از غشای پایه (۶ و ۷) از جمله مهمترین تغییرات مشاهده شده در بافت کلیوی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین می باشند.

#### ۴-۲-۲-۷-۴ اثرات علف کش آترازین بر سیستم عصبی بچه ماهی سفید

در بافت عصبی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین بویژه در بافت مغز، تغییرات بافتی مانند نکروز در مسیرهای میلینی در ماده ی سفید بخش های مختلف مغز (تصویر ۴-۹۹-۱، ۴-۹۹-۲، ۴-۹۹-۳ و ۴-۹۹-۴)، ادم در بخش جسم سلولی نورون ها (تصویر ۴-۹۹-۴)، پرخونی و تجمع سلول های خونی در بافت عصبی (تصویر ۴-۹۹-۳) و نکروز در جسم سلولی و هسته های نورون ها در بخش ماده ی خاکستری مغزی (تصویر ۴-۹۹-۶) مهمترین تغییراتی هستند که قابل مشاهده می باشند.



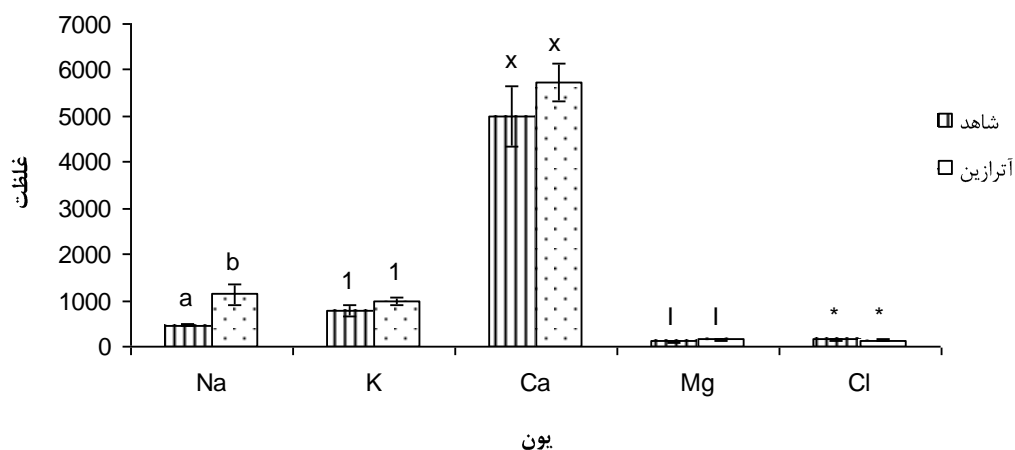
تصویر ۴-۹۹. تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت عصبی بچه ماهی سفید در مواجهه با آترازین. نکروز در مسیرهای میلینی در ماده ی سفید بخش های مختلف مغز (۱، ۲، ۳ و ۵)، ادم در بخش جسم سلولی نورون ها (۴)، پرخونی و تجمع سلول های خونی در بافت عصبی (۳) و نکروز در جسم سلولی و هسته های نورون ها در بخش ماده ی خاکستری مغزی (۶) از مهمترین تغییرات مشاهده شده در بافت عصبی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین می باشد.

#### ۴-۲-۷-۵- اثرات آترازین بر ترکیب یونی بدن بچه ماهی سفید

اندازه گیری غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در بدن بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین، و نیز بچه ماهیان گروه شاهد نشان می دهد بیشترین غلظت یونی در این دو گروه متعلق به یون  $Ca^{2+}$  بوده و پس از آن به ترتیب یون های  $Mg^{2+}$ ،  $Cl^-$ ،  $Na^+$  و  $K^+$ ، در گروه مواجه شده با آترازین، و به ترتیب یون های  $K^+$ ،  $Na^+$ ،  $Cl^-$ ،  $Mg^{2+}$ ، در گروه شاهد قرار می گیرند. مقایسه ی آماری این مقادیر در دو گروه آزمایشی نشان می دهد که هیچگونه تفاوت آماری معنی داری میان غلظت یون های در این دو گروه وجود نداشته و تنها

تفاوت آماری معنی دار متعلق به میزان غلظت یون سدیم بوده که میزان غلظت این یون در گروه مواجه شده با آترازین بطور معنی داری افزایش یافته است (نمودار ۴-۴۱).

مقایسه میانگین غلظت یون های مختلف در بچه ماهی سفید در دو گروه آزمایشی



نمودار ۴-۴۱. مقایسه میانگین غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $Cl^-$  در بچه ماهی سفید در گروه شاهد و مواجه شده با آترازین. تنها تفاوت معنی دار در اختلاف بین غلظت یون های مختلف در بدن بچه ماهیان مواجه شده با آترازین و گروه شاهد در میزان غلظت یون سدیم بوده و در مورد غلظت سایر یونها تفاوت آماری معنی داری مشاهده نمی شود، این مقادیر نشان می دهد که میزان یون سدیم در بچه ماهی مواجه شده با آترازین بطور معنی داری افزایش یافته است. علامت ها و اعداد مشابه نشان دهنده ی نبود تفاوت معنی دار، و علامت ها و اعداد غیرمشابه نشان دهنده ی تفاوت آماری معنی دار می باشد.

## نتایج کلی اثرات آترازین بر لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر

بخش مورد بررسی	لارو	بچه ماهی
ویژگی های مورفولوژیک	تخریب خفیف باله ها	تخریب خفیف تا شدید باله ها
وضعیت رشد، وزن و طول و فاکتور وضعیت بدنی	بی اثر	بی اثر
بافت پوست	تغییرات هیستوپاتولوژیک خفیف	بی اثر
بافت چشم	بی اثر	بی اثر
بافت عصبی	تغییرات هیستوپاتولوژیک بسیار شدید	تغییرات هیستوپاتولوژیک خفیف
بافت آبششی	تغییرات هیستوپاتولوژیک شدید	تغییرات هیستوپاتولوژیک شدید
بافت کلیوی	تغییرات هیستوپاتولوژیک بسیار شدید	تغییرات هیستوپاتولوژیک شدید
بافت دستگاه گوارش	تغییرات هیستوپاتولوژیک شدید	تغییرات هیستوپاتولوژیک شدید
اثر بر ترکیب یونی بدن	خفیف	خفیف
اثر بر نحوه پراکنش یونوسیت ها در اندام های تنظیم اسمزی	بی اثر	بی اثر
اثر بر اندازه ی یونوسیت ها	افزایش خفیف	افزایش خفیف
اثر بر تعداد یونوسیت ها	کاهش خفیف	کاهش خفیف
اثرات فراساختاری در یونوسیت ها	خفیف	خفیف

\* بطور کلی اثرات هیستوپاتولوژیک آترازین در بافت های لاروهای مواجه شده با آن بیشتر و شدیدتر از تغییرات مشاهده شده در بچه ماهیان می باشد.

فصل پنجم

# بحث و نتیجه گیری

به منظور بحث و نتیجه گیری در مورد نتایج به دست آمده، این بخش بصورت زیر ارائه شده است: در ابتدا به بررسی نتایج بدست آمده در زمینه بافت شناسی لارو و بچه ماهی سفید خواهیم پرداخت، و پس از پایان این بخش نتایج حاصل از اثرات آتزازین بر لارو و بچه ماهی سفید مورد بررسی قرار خواهد گرفت:

#### ۵-۱- بافت شناسی و انتوژنی بافت های لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید و بافت شناسی بافت

##### های بچه ماهی سفید دریای خزر *Rutilus frisii kutum*

##### ۵-۱-۱- مورفولوژی

نتایج کلی مطالعه ی مورفولوژیک لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید نشان می دهد که در زمان تفریخ، لارو دارای یک کیسه ی زرده ی بزرگ و اشکی شکل بوده که در سطح زیرین بدن قرار گرفته است، باله های پشتی، شکمی، سینه ای و دمی از روز اول تفریخ دیده شده و به تدریج در طول نمو، از فرم ابتدایی به فرم شبیه به باله های بالغ تبدیل می شوند، در این لارو تقریباً در تمامی بخش های بدن، از جمله، بخش فوقانی سر، بخش پشتی کمر، باله ی دمی، باله های سینه ای و سطح شکمی بدن، ملانوفورهای متعددی دیده می شود که حالت نقطه ای و یا ستاره ای شکل دارند، دهان در روز ابتدایی تفریخ بسته بوده و آغاز تغذیه ی خارجی و گشودگی دهان در روز چهارم پس از تفریخ اتفاق می افتد، مطالعات مورفولوژیک این لارو تا روز هفتم نشان می دهد که کیسه ی زرده بلافاصله پس از گشودگی دهان از بین نمی رود و تا روز هفتم این مطالعه باریکه ی کوچکی از این کیسه همچنان در بخش زیرین دستگاه گوارش باقی می ماند، نمو چشم از مراحل جنینی به سرعت انجام شده و در زمان تفریخ چشم ساختاری نسبتاً نهایی دارد. مطالعات مختلفی تاکنون بر روی ویژگی های مورفولوژیک لارو ماهیان استخوانی صورت گرفته است که از جمله ی آنها می توان به مطالعه ی Ahelstrom و همکاران (۱۹۸۴) بر روی ماهیان *Pleuronectiformes* Sakai (۱۹۹۰) بر روی لارو *Teribolodon hakonensis* Faustino، (۱۹۹۸) بر روی ماهی *Ses bream*، Leis و همکاران (۲۰۰۴) بر روی لارو *Matsubarichthys inusitatus* Al Hazzaa و Hussein (۲۰۰۷) بر روی لارو *Barbus luteus*، Roje (۲۰۰۹) بر روی کفشک ماهیان خانواده *Pleuronectidae*، Jafari و همکاران (۲۰۰۹) بر روی *Rutilus frisii kutum*، اشاره کرد.

نتایج مطالعه ی حاضر مشابه با نتایج مطالعه ی Jafari و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی مورفولوژیک لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید می باشد، Jafari و همکاران (۲۰۰۹)، رشد لاروی ماهی سفید را به ۳ مرحله ی اصلی (پروتولارو، مزولارو و پست لارو) و ۱۸ زیر مرحله بین تفریخ تا جوانی (زمانی که فلس های خط جانبی تکمیل گردید) تقسیم کردند، بر اساس این تقسیم بندی که از روز ابتدایی تفریخ تا حدود روز ۶۰ پس از تفریخ ادامه می یابد، لاروهای مورد بررسی در مطالعه ی حاضر در مرحله ی پروتولارو و روزهای ابتدای مزولارو تقسیم بندی می شوند.

## ۵-۱-۲- پوست

مطالعه ی بافت شناسی پوست در لارو ماهی سفید در طی ۷ روز مطالعه نشان داد که این بافت از دو لایه ی اصلی: اپیدرم (epidermis) در بیرون، و درم (dermis) در زیر آن تشکیل شده است. اپیدرم دارای اپیتلیوم غیرکراتینه و متشکل از سلول های سنگفرشی مطبق می باشد که تعداد آنها در بخش های مختلف بدن متغیر است. سلول هایی که در اپیدرم دیده می شوند شامل: سلول های مالپیگی یا رشته دار که اصلی ترین سلول ها می باشند و سلول های موکوسی مسئول ترشح گلیکوپروتئین ها (موکوس) می باشند. درم از دو لایه ی مشخص شکل گرفته است: لایه ی اسفنجی (spongiosum or laxum) و لایه ی متراکم (compactum). ضخامت لایه ی اسفنجی که در زیر اپیدرم قرار گرفته است در بخش های مختلف بدن متفاوت است و حاوی رشته های کلاژن و رتیکیلین، اعصاب، مویرگ ها، فیبروبلاست ها و سلول های رنگدانه ای است. لایه ی متراکم، نسبت به لایه ی اسفنجی از نمو بیشتری برخوردار بوده و از دستجات متراکم رشته های کلاژن که به موازات سطح پوست قرار گرفته اند تشکیل شده است. ملانوفورها که معمول ترین سلول های رنگدانه ای در ماهی ها به شمار می روند به اشکال مختلف بویژه ستاره ای شکل در پوست دیده می شوند.

سیستم پوششی (Integumentary system) ماهی، نخستین سد دفاعی در برابر تغییرات محیط پیرامونی به شمار می رود. بدون وجود لایه ی محافظی همچون پوست، ماهی نمی تواند در مقابل بیماری ها و آلودگی های محیطی زنده بماند، از سوی دیگر میزان سلامت پوست ماهی نشان دهنده ی وضعیت محیط پیرامون از نظر آلاینده ها و عوامل بیماری زا به شمار می رود (Somejo و همکاران، ۲۰۰۴).

بطور کلی بافت شناسی بافت پوست در لارو ماهی سفید مشابه با نتایج Somejo و همکاران (۲۰۰۴) بر روی تیلاپپای نیل *Oreochromis niloticus*، می باشد که لایه ی اسفنجی تنها در ماهیانی که به مرحله ی فلس دار شدن رسیده بودند دیده شد؛ و نیز همچنین مشابه با نتایج Singh و Banerjee (۲۰۰۸) بر روی *Clarias batrachus* Abdul Awal و همکاران (۲۰۰۱) بر روی کپور معمولی؛ Berra و Humphrey (۲۰۰۲) بر روی ماهی *Kurtus gulliveri*، می باشد. مطالعات نشان می دهد که پوست، در طول مراحل نخستین رشد و نمو ماهی از اهمیت بالایی برخوردار است (Burggren, ۲۰۰۵). پوست لارو تازه تفریخ شده ماهیان استخوانی علاوه بر نقش حفاظتی که مشترک همه سطوح پوستی است، در تنظیم اسمزی، تنفس و دفع نیز فعال است (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۵).

پوست در لارو تازه تفریخ شده ی ماهی سفید در محل قرار گرفتن کیسه زرده از یک تا دو لایه ظریف سلولی ساخته شده است. این لایه سلولی هموسل یا حفره بدنی را پوشانده است. این نوع ساختار در پوست اغلب ماهیان تازه تفریخ شده گزارش شده که سطح انتشاری مناسبی را برای عبور گازهای تنفسی فراهم می کند. بنابراین در روزهای نخست، تنفس از طریق سطح بدن و شبکه ای از مویرگ های پوستی که اپی تلیوم کیسه زرده را پوشانده اند انجام می شود (Hwang, ۱۹۸۹). اهمیت پوست بر این حقیقت استوار است که نسبت سطح

به حجم در مراحل اولیه رشد و نمو بالاست و مساحت نسبی پوست آماده تبادل در لارو های کوچک از لارو های مسن بیشتر است (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۵).

یونوسیت های پوستی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید در تمامی بخش های بدن، بویژه در بخش انتهایی بدن بوفور مشاهده گردیدند. این سلول ها از نظر ظاهری گرد، بیضی و یا جامی شکل (گلابی شکل) بوده و بیشترین میزان فلورسنت در غشاهای قاعده ای جانبی آنها دیده می شود.

شمارش یونوسیت های پوستی لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید نشان داد که در هر میلی متر مربع از سطح بافت پوست ۶۱۱ سلول یونوسیت وجود دارد. همچنین اندازه گیری یونوسیت های پوستی نشان داد که میانگین طول این سلول ها (بیشترین ارتفاع) ۱۱/۳۵ و میانگین پهنا ی این سلول ها ۷/۵۷ میکرون می باشد.

پیشتر مشخص شده است که در مرحله ی لاروی یونوسیت های پوستی نقش بسیار مهمی در فرآیند تنظیم اسمزی در بسیاری از گونه های ماهیان دارند (Alderice، ۱۹۸۸؛ Ayson و همکاران، ۱۹۹۴؛ Kaneko و همکاران، ۱۹۹۵؛ Shiraiishi و همکاران، ۱۹۹۷؛ Varsamos و همکاران، ۲۰۰۵؛ Burggren، ۲۰۰۵). سلول های مهم پوستی از دید تنظیم اسمزی، سلول های مخاطی (جامی) و سلول های یونوسیت (سلول های کلراید یا سلول های غنی از میتوکندری) هستند (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۵). یونوسیت های پوستی ساختارهای گذرایی هستند که در طی اونتوزنی با تشکیل اندام های اصلی تنظیم کننده و ضخیم شدن اپی درم از میان می روند اما حضور آنها در مراحل نخستین رشد و نمو ضروری به نظر می رسد. تحقیقات انجام شده تراکم بالایی از سلول های یونوسیت را بر روی پوست پوشاننده بدن و کیسه زرده ماهیان مختلف نشان داده است (Hwang، ۱۹۸۹). ظاهرا پراکنش سلول های یونوسیت به نواحی خاصی از بدن محدود نیست و الگوی پراکنش و تعداد سلول های یونوسیت پوستی بر حسب سن و گونه لارو ماهی متفاوت است (Hwang، ۱۹۸۹؛ Wales و Tytler، ۱۹۹۶)، این الگوی پراکنش و تعداد، از سوی دیگر تا حد زیادی به نیاز تنظیم اسمزی متفاوت گونه ها نیز بستگی دارد (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۵؛ Wales و Tytler، ۱۹۹۶).

وجود این یونوسیت ها بر روی پوست بدن لارو و پیش لارو ماهیان بسیاری به اثبات رسیده است: از جمله *Sardinops caerulea* (Shelbourne، ۱۹۵۷)؛ *Pleuonectes platessa* با استفاده از رنگ آمیزی نیترات نقره (Threadgold و Lasker، ۱۹۶۸)؛ روی غشاء کیسه زرده جنین های ۳۵ روزه و در اپی تلیوم کل بدن، خصوصا ناحیه شکمی لارو پنج روزه کیسه زرده دار مارماهی ژاپنی (Chang و همکاران، ۲۰۰۳)؛ بر روی سر، محوطه دهانی، سرپوش آبششی و کیسه ی زرده ی *O. mossambicus* (Ayson و همکاران، ۱۹۹۴؛ Van der Heijden و همکاران، ۱۹۹۹)؛ بر روی تمام سطح پوست *Plecoglossus altivelis* با تراکم بیشتر در نواحی جانبی و کمتر در سطوح شکمی و پشتی (Hwang، ۱۹۸۹)؛ تعداد کمی بر روی سطح کیسه زرده لارو تازه تفریخ شده کپور *Cyprinus carpio* (Hwang، ۱۹۸۹)؛ بر روی سر، کیسه زرده و شکم لارو ۲۴ ساعته هرینگ *C. harengus* (Tytler و Wales، ۱۹۹۶)؛ به طور تصادفی بر روی بخش های شکمی و جانبی بدن و خصوصا روی کیسه زرده



Varsamos) *D. labrax* و همکاران، ۲۰۰۲؛ لارو آنچوی (*E. mordax*, O'Connell, ۱۹۸۱)؛ لارو دریازی (*Paralichthys olivaceus* Hiroi و همکاران، ۱۹۹۸)؛ لارو (*O. mykiss*, Rombough, ۱۹۹۹) و لارو *Salmo trutta Caspius* (Ghanizadeh Kazerouni و Khodabandeh, ۲۰۱۱).

مطالعات اندکی به مطالعه ی همزمان یونوسیت های آبششی و پوستی پرداخته و یا تعداد و اندازه ی آنها را همزمان در یک ماهی با یکدیگر مقایسه کرده اند. در مطالعه ی حاضر یونوسیت های پوستی در اندازه ی بزرگتر و به تعداد بیشتری نسبت به یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید مشاهده شدند. این امر نشان می دهد که همانند آنچه در بسیاری از گونه های ماهیان دیده می شود، به دلیل رشد ناکامل آبشش ها در ابتدای زندگی در ماهی سفید، بخش عمده ی وظیفه ی تنظیم اسمزی مشخصا بر عهده ی یونوسیت های پوستی می باشد (Loretz, ۲۰۱۱؛ Shen و همکاران، ۲۰۱۱). در مطالعه ی LeBlanc و همکاران (۲۰۱۰) بر روی ماهی *Kryptolebias marmoratus* تعداد یونوسیت های پوستی و آبششی در گروه شاهد با یکدیگر برابر بود، اما میان ماهیانی که در آب شیرین و ماهیانی که در آب شور نگهداری شده بودند تفاوت های معنی داری مشاهده گردید به اینصورت که ماهیانی که در آب شور نگهداری شده بودند بطور معنی داری دارای یونوسیت های پوستی بیشتر و یونوسیت های آبششی کمتری نسبت به ماهیانی بودند که در آب شیرین نگهداری شده بودند.

هیچگونه یونوسیت پوستی در بچه ماهیان سن رهاسازی ماهی سفید مشاهده نگردید، این امر ثابت شده است که در اغلب ماهیان، در مرحله ی جنینی و لاروی، یونوسیت های پوستی در بیشتر نقاط بدن وجود داشته و در فرآیندهای تنظیم اسمزی و یونی شرکت دارند، اما با رشد ماهی و ورود به مرحله ی نوجوانی و جوانی این سلول ها غیرفعال شده و وظایف آنها را یونوسیت های موجود در بافت آبششی، دستگاه گوارش و کلیه برعهده می گیرند (Fu و همکاران، ۲۰۱۰؛ Varsamos و همکاران، ۲۰۰۵؛ Rombough, ۲۰۰۷).

### ۵-۱-۳- بافت آبششی

آبشش ها مهم ترین محل های تماس آب و ماهی هستند و مساحتی ۱۰ تا ۶۰ برابر بزرگتر از مساحت پوست پوشاننده بدن را تحت پوشش دارند. مساحت زیاد آبشش ها و نیز فاصله ی اندکی که میان خون و آب در این بافت وجود دارد، بیانگر نقش این اندام در تبادل گاز و یون بوده و مقدار آن بر حسب محیط زیست و روش زندگی ماهی تعیین می گردد (Flik و Verbost, ۱۹۹۳). اپی تلیوم آبششی ماهیان سطحی گسترده برای انتشار گازهای تنفسی، دفع مواد زائد و تنظیم اسمزی می باشد (Karakisi و Isiaga, ۱۹۹۸). ساختار کلی این اندام چند منظوره در بیشتر ماهیان مشابه است (Laurent, ۱۹۸۴؛ Evans و همکاران، ۲۰۰۵). بطور کلی آبشش ماهیان از چهار کمان آبششی در هر طرف سر ساخته شده و حامل رشته های آبششی است که با زاویه عمود نسبت به محور جدار آبششی قرار گرفته اند. بر روی رشته های آبششی ساختار ظریف دیگری بصورت عمود به محور رشته قرار گرفته است که تیغه آبششی نام دارد. ساختارهای دیگری مانند آبشش اپرکولی، همی برانش آبششی، سودوبرانش و نیز آبشش اسپیراکلی (در ماهیان خاویاری و ماهیان غضروفی) از دیگر ساختارهای ضمیمه ی بافت

آبششی به شمار می روند (Evans و همکاران، ۲۰۰۵). مطالعات نشان داده اند که کامل شدن ساختار آبشش ها در مراحل انتهایی رشد و نمو اونتوزنیک صورت می گیرد و بخش های آن مانند بدن ماهی در طول عمر رشد می کنند (Harder، ۱۹۷۵). عدم وجود آبشش های کامل در اوایل حیات لارو ماهیان پدیده ای عمومی است (Hiroi و همکاران، ۱۹۹۸؛ Schreiber، ۲۰۰۱؛ Varsamos و همکاران، ۲۰۰۵؛ Evans و همکاران، ۲۰۰۵). نتایج مطالعات بافت آبششی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید نشان می دهد که از روز ابتدای تفریخ تا روز هفتم مطالعه، بافت آبششی شروع به رشد و گسترش نموده است، در ابتدا این بافت تنها متشکل از چهار کمان آبششی حامل تعداد اندکی رشته های آبششی رشد نیافته که حامل تیغه های آبششی بسیار اندکی می باشند، می باشد، هیچگونه بافت سودوبرانشی مشاهده نمی شود و سرپوش آبششی آنقدر رشد نیافته است که بتواند محفظه ی آبششی را کامل پوشش دهد، با گذشت زمان نسبت به روز ابتدایی تفریخ رشد بافت آبششی افزایش یافته و بر تعداد تیغه های آبششی افزوده شده است. نتایج نشان داد که بر روی کمان های آبششی، در ابتدا رشته های آبششی شکل می گیرند و تیغه های آبششی که ساختار های ظریفی هستند پس از آنکه رشته آبششی تا حدی رشد نمودند بر روی آنها تشکیل می شوند. می توان احتمال داد که در روزهای نخست تشکیل آبشش و تا پیش از تکمیل رشد تیغه های آبششی، رشته ها کار تنفسی انجام می دهند. به نظر می رسد که بافت زاینده تیغه های آبششی در بخش رأسی رشته آبششی و در مجاور اپی تلیوم پوشاننده دیواره مویرگ رأسی قرار گرفته است. جوانه تیغه های آبششی در دو سمت بخش رأسی رشته تشکیل می شوند. با رشد بافت پیوندی رشته آبششی که با تشکیل غضروف آبششی در پایه نیز همراه است، بخش رأسی به سمت بالا رانده شده و تیغه ها بر روی بدنه رشته آبششی قرار می گیرند. تشکیل رشته های جدید آبششی در بخش رأسی ادامه دارد و بنابراین قدیمی ترین تیغه ها که طولیتر هستند و ساختار کاملتری دارند آنهاپی هستند که نزدیکتر به بخش پایه ای رشته های آبششی قرار دارند. نتایج مطالعات بر روی ماهیان استخوانی نیز نشان داده که تیغه های جدید آبششی در بخش رأسی رشته های آبششی شکل می گیرند و قدیمی ترین تیغه ها در پایه رشته ها قرار دارند (Harder، ۱۹۷۵). این در حالی است که در الاسمورنش ها، ناحیه رشد تیغه ها در پایه رشته ها قرار گرفته و تیغه های بخش رأسی رشته ها، قدیمی ترین تیغه ها هستند (Harder، ۱۹۷۵).

ایجاد تیغه های آبششی در گونه های مختلف متفاوت است. در توربوت *Scophthalmus maximus* اولین رشته های آبششی در هنگام گذر از لارو کیسه زرده دار به لارو دارای تغذیه آزاد ظاهر می شوند، حال آنکه تیغه های آبششی درست قبل از شروع دگردیسی (متامورفوز) پدیدار می شوند (Schreiber، ۲۰۰۱). در پیش لارو *Stizostedion vitreum*، Walleye رشته های آبششی در هنگام باز شدن دهان یعنی سه روز پس از تفریخ قابل مشاهده اند. پدیدار شدن تیغه ها با زمان آغاز تغذیه فعال (ده روز پس از تفریخ) مقارن است و انتقال از تنفس پوستی به تنفس آبششی را مشخص می کند. الگوی رشد و نمو مشابهی در مورد باس دهان کوچک *Micropterus dolomieu*، تیلاپیا *Oreochromis mossambicus* و ماهی *Fundulus heteroclitus* مشاهده

شده که در این ماهیان نیز همانند لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید رشته های آبششی در زمان تفریخ یا در لارو کیسه زرده دار رشد نموده و تیغه های آبششی کمی بعد در لارو دارای شنای آزاد شکل گرفته اند (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۵). در باس دریایی *Dicentrarchus labrax* در لارو ۵ میلی متری کیسه زرده دار، چهار کمان آبششی وجود دارد. در لارو شش میلی متری رشته های آبششی رشد کرده و جوانه های مولد تیغه های آبششی قابل مشاهده اند (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۲). لارو هرینگ نیز در زمان تفریخ فاقد آبشش است، رشته ها و تیغه های آبششی در شاه ماهی *A. sapidissima* در اواخر پیش دگردیسی تشکیل می شود و در مورد تیلاپیا، تیغه های آبششی در هشت روزگی شروع به فعالیت نموده و کار تنفس لارو تیلاپیا را انجام می دهد (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۵).

ساختار تیغه های آبششی در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید، همانند تیغه های آبششی سایر ماهیان از سلول های پیلار، سلول های تنفسی سنگفرشی، سلول های پشتیبان و سلول های خونی در فضاهای خونی یا لاکونا (Lacuna) ساخته شده است. فضاهای خونی که مجراهای خونی داخل لاملا هستند با سلول های پیلار باز نگه داشته می شوند. این سلول ها احتمالاً از دور شدن دیواره های دو سمت ممانعت می کنند. به لحاظ فراساختاری این سلول ها هسته های درشتی دارند و در سطح اتصالشان به همدیگر بازوهای پهن و طویل دارند (Harder، ۱۹۷۵). معمولاً سطوح تیغه های آبششی در ماهیان با سلول های تنفسی پوشیده شده است (Evans و همکاران، ۱۹۹۹). این سلول ها که سنگفرشی هستند و برای فراهم کردن حداقل فاصله انتشاری تبادل گازهای تنفسی تا حد ممکن نازک شده اند، هسته های کشیده دارند و از نظر ارگانل های درون سلولی نسبتاً فقیر به نظر می رسند. در ماهیان استخوانی این سلول ها تعداد کمی میتوکندری و تعداد زیادی وزیکول سیتوپلاسمی و دستگاه گلژی واضحی دارند. در اغلب ماهیان سطح سلول های سنگفرشی آبشش از برجستگی های ریز دایره واری که اثر انگشت نامیده می شوند ساخته شده است (Evans و همکاران، ۲۰۰۵). این برآمدگی های رأسی احتمالاً سبب افزایش ناحیه سطحی اپی تلیوم شده و ممکن است در چسبیدن موکوس به این سطح نقش داشته باشند (Evans و همکاران، ۲۰۰۵). در سطح آزاد سلول های سنگفرشی آبشش لارو ماهی سفید نیز این برجستگی ها مشاهده شدند که بصورت چین خوردگی های انگشتی شکلی دایره وار در سطح راسی این سلول ها قرار گرفته اند.

بافت رشته های آبشش نیز از چند نوع سلول ساخته شده است اما در کل شامل دو نوع سلول سنگفرشی (Pavement cell) و غنی از میتوکندری یا سلول های کلراید یا یونوسیت (Mitochondria Rich Cell: Chloride Cell: Ionocyte) است که به ترتیب ۹۰ و ۱۰ درصد از سطح بافت آبشش را ساخته اند (Evans و همکاران، ۲۰۰۵). کمان ها و رشته های آبششی با بافت چند لایه ای پوشیده شده اند که در آخرین لایه سنگفرشی است. در زیر این اپی تلیوم، بافت پیوندی قرار دارد که محتوی رگ های خونی و اعصاب است (Harder، ۱۹۷۵). در بین سلول های سازنده تیغه ها و رشته های آبششی سلول های موکوسی (جامی) نیز

مشاهده شدند موكوس ترشح شده توسط اين سلول ها علاوه بر محافظت سطحى از بافت آبششى در مقابل عوامل بيمارى زا و آلاينده هاى محيطى، به ايجاد محيطى مملو از يون كمك مى نمايد و اين امر باعث آسان شدن انتقال يون در سلول هاى ديگر مى گردد (Goss و همكاران، ۱۹۹۵).

فراساختار سلول هاى يونوسيت لارو ماهى سفيد هفت روزه ويژگى هاى سلول هاى يونوسيت آبشش ماهيان آب شيرين ديگر را نشان داد (McCormick، ۱۹۹۰؛ Shikano و Fujio، ۱۹۹۸؛ Varsamus، ۲۰۰۲؛ a و b؛ Chen و همكاران، ۲۰۰۴). اين سلول ها در مقايسه با سلول هاى سنگ فرشى فضاي سطحى بسيار كمترى را اشغال مى كنند (Evans و همكاران، ۲۰۰۵). در لارو ماهى سفيد، اين سلول ها هسته هاى درشت و گرد دارند كه عمدتاً در بخش قاعده اى قرار گرفته است. چين خوردگى هاى وسيع و عميق غشاي قاعده اى-جانبي، تعداد بسيار زيادى ميتوكوندري در مجاورت اين چين ها، چين خوردگى هاى راسى، شبكه اندوپلاسمى خشن بسيار گسترده در كل سطح سيتوپلاسم از ديگر خصوصيات يونوسيت هاى آبششى لارو هفت روزه ي ماهى سفيد بودند.

آبشش ها نقش بسيار مهمى در ثابت نگه داشتن تركيب يونى درون بدن در مواجهه با محيط هاى هيپراسموتيك (محيط با فشار اسمزى بالا) و هيپواسموتيك (محيط با فشار اسمزى پايين) دارند (Evans و همكاران، ۲۰۰۵). سلول هاى يونوسيت به عنوان مكان هاى براى خروج  $Na^+$  و  $Cl^-$  در ماهى هاى ساكن در آب دريا و به عنوان مسئول جذب فعال يون (خصوصاً سديم) در گونه هاى آب شيرين شناخته مى شوند (Evans و همكاران، ۲۰۰۵). در سطح سلولى كار تنظيم اسمزى ماهى به وجود يونوسيت ها يا سلول هاى غنى از ميتوكوندري وابسته است كه داراى آنزيم  $Na^+, K^+ - ATPase$  در غشاي قاعده اى جانبي مى باشند، همانطور كه پيشتر اشاره گرديد اين آنزيم در انتقال فعال يون هاى سديم و پتاسيم نقش ايفا مى كند. فراوانى يونوسيت ها و ميزان حضور  $Na^+, K^+ - ATPase$  ظرفيت تنظيم اسمزى را تحت تاثير قرار داده و توانايى ماهى را در بردبارى نسبت به شرايط اسمزى و يونى محيط كنترل مى كند (Nebel و همكاران، ۲۰۰۵).

مطالعات مختلف نشان مى دهد كه مورفولوژى يونوسيت ها در ماهيان مختلف، در شرايط مختلف محيطى از نظر شورى، و بر حسب دفع يا جذب يون ها تغيير كرده و متفاوت مى باشد (Uchida و همكاران، ۱۹۹۶؛ Shiraiishi و همكاران، ۱۹۹۷؛ Van Der Heijden و همكاران، ۱۹۹۷؛ Watanabe و همكاران، ۱۹۹۷؛ Seidelin و همكاران، ۱۹۹۹؛ Marshall و همكاران، ۲۰۰۲؛ Wilson و Laurent، ۲۰۰۲؛ Varsamus، ۲۰۰۲؛ a و b؛ Evans و همكاران، ۲۰۰۵).

مكان يابى سلول هاى يونوسيت در لارو ماهى سفيد و نيز بچه ماهى سفيد در حال رشد و نمو حضور سلول هاى يونوسيت را از بدو تشكيل آبشش در اين ماهى نشان داد. اين سلول ها در لارو و بچه ماهى سفيد بر روى رشته ها و كمان هاى آبششى، همى برانش متصل به ديواره ي خلفى محفظه ي آبششى و نيز سودوبرانش، قرار داشتند. تعداد آنها در رشته هاى آبششى در لارو بسيار كم بود. اين امر بيانگر حضور كم تعداد يونوسيت هاى

آبششی در این دوره بوده و به نظر می رسد که تا این روز آبشش ها نقش بسیار ناچیزی در تنظیم اسمزی داشته باشند و همچنان تنظیم اسمزی بر عهده کلیه ها باشد. پس از آن در طی رشد و نمو، تدریجا به تعداد، تراکم، شدت ایمونوفلوئورسانس و دامنه پراکنش این سلول ها در ساختمان آبشش افزوده می شود. بطوریکه در بچه ماهی سفید در سن رهاسازی، ایمونوفلوئورسانس قوی و پرتعداد از سلول های یونوسیت مشاهده گردید. مکان یابی این سلول ها نشان داد که هیچگونه یونوسیتی بر روی تیغه های آبششی وجود ندارد، بررسی ماهیان مختلف بیانگر این است که سلول های یونوسیت معمولا روی بافت پوششی تیغه ها یافت نمی شوند (Evans و همکاران، ۲۰۰۵). هر چند سازگاری به شرایط محیطی خاص مثل آبهای شیرین فقیر از نظر یونی در گربه ماهی زره دار، *Hypostomus plecostomus* (Fernandes و Perna-Martines، ۲۰۰۱) و تاسماهی ایرانی، *Acipenser persicus* (Khodabandeh و همکاران، ۲۰۰۸) سبب حضور سلول های یونوسیت روی تیغه های آبششی جهت بهبود ظرفیت تنظیم یونی آبشش شده است.

در کل محققین بسیاری هم عقیده اند که حضور یونوسیت بر روی تیغه ها به نیاز فیزیولوژیک بدن به جذب یون در بعضی ماهیان یوری هالین سازگار شده به آب شیرین مرتبط است (Uchida و همکاران، ۱۹۹۶؛ Sasai و همکاران، ۱۹۹۸؛ Sakamoto و همکاران، ۲۰۰۱؛ Versamos، ۲۰۰۲؛ Chen و همکاران، ۲۰۰۴).

همانطور که ذکر گردید، از ابتدای روز تفریح لارو ماهی سفید چهار کمان آبششی، حامل رشته ها و تیغه های آبششی رشد نیافته دیده می شود که همراه با نمو لارو رشد کرده و توسعه می یابند، همچنین مطالعات ایمونوهیستوشیمی نشان داد که سلول های یونوسیت از روز اول تفریح (هر چند به تعداد اندک) در بافت آبششی حضور دارند. نتایج مشابهی در زمینه ی حضور یونوسیت های آبششی در ابتدای زندگی در فلاندر دریایی، *K. bicoloratus* (Hwang، ۱۹۸۹)، تیلایپا، *O. mossambicus* (Li و همکاران، ۱۹۹۵)، قزل آلاهی رنگین کمان، *O. mykiss* (González و همکاران، ۱۹۹۶)، ماهی آزاد، *Salmo trutta* (Rojo و همکاران، ۱۹۹۷)، فلاندر ژاپنی، *P. olivaceus* (Hiroi و همکاران، ۱۹۹۸)، گوبی، *P. reticulate* (Fujio و Shikano، ۱۹۹۹)، سنگسر، *F. heteroclitus* (Katoh و همکاران، ۲۰۰۰) و باس دریایی، *D. labrax* (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۲) نیز گزارش شده است.

در قزل آلاهی رنگین کمان *O. mykiss* کمان های آبششی شش روز قبل از تفریح تشکیل می شوند. در این مرحله همه سلول های یونوسیت بر روی کیسه زرده، سر و شکم قرار دارند. رشته های آبششی سه روز قبل از تفریح شروع به شکل گرفتن می کنند. در همین زمان سلول های یونوسیت آبششی در روی کمان ها و بین جوانه های رشته های آبششی و کمی بعد روی رشته ها ظاهر می شوند (González و همکاران، ۱۹۹۶). همچنین Li و همکاران (۱۹۹۵) مشاهده نمودند که در لارو سه روزه تیلایپای آب شیرین *O. mossambicus* تعداد زیادی سلول کلراید بر روی رشته آبششی (حدود ۴۰۰۰ سلول در میلی متر مربع) وجود دارد که فعالند (Li و همکاران، ۱۹۹۵). در لارو ۸ تا ۱۸ روزه ی ماهی *Paralichthys olivaceus* سلول های یونوسیت آبششی

در کنار یونوسیت های پوستی قابل مشاهده هستند. یونوسیت های آبششی در این ماهی اولین بار در ۸ روزگی پدیدار می شوند و در طول نمو افزایش می یابند. پدید آمدن یونوسیت های آبششی، پیش از رشد کامل تیغه های آبششی، نشان می دهد که مهمترین نقش آبشش در طی رشد و نمو اولیه، بیش از تبادل گازهای تنفسی، تنظیم اسمزی است (Hiroi و همکاران، ۱۹۹۸). در لارو باس دریایی *D. labrax* بافت آبشش در زمان تفریح در تنظیم اسمزی شرکت دارد و سلول های یونوسیت بی شماری بر روی کمان آبششی دیده می شود (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۲). در این ماهی همگام با کاهش تعداد یونوسیت های پوستی، تعداد یونوسیت های رشته آبششی و نیز میزان فلورسنت آنها افزایش می یابد. در لارو ۱۰ میلی متری باس دریایی تقریباً نیمی از کل فعالیت  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در آبشش ها قرار گرفته است و نشان می دهد که این اندام تدریجاً قسمت اعظم کار تنظیم اسمزی را به عهده می گیرد (Varsamos و همکاران، ۲۰۰۲).

حضور کم تعداد یونوسیت های آبششی در لارو ماهی سفید نشان دهنده ی نقش اندک بافت آبششی در تنظیم اسمزی و یونی در مراحل ابتدایی زندگی است، و با توجه به ایمونوفلورسنت بسیار زیاد مشاهده شده در سیستم کلیوی، و نیز تعداد زیاد یونوسیت های پوستی به نظر می رسد که بخش اعظم وظیفه ی تنظیم اسمزی را در این مرحله از زندگی، کلیه ها و پوست بر عهده دارند. حضور پرتعداد یونوسیت های آبششی در سودوبرانش و نیز همی برانش بچه ماهی سفید نشان دهنده ی نقش تنظیم اسمزی این دو اندام در این مرحله از زندگی می باشد. سودوبرانش یا آبشش کاذب، ساختاری قرمز رنگ و مشابه با آبشش اصلی بوده که از نخستین کمان آبششی منشا می گیرد. این اندام از تیغه های آبششی، بافت پیوندی و رگ های خونی تشکیل شده است. تیغه های آبششی در سودوبرانش از سلول های سودوبرانشیال تشکیل شده اند که بر روی یک غشای پایه قرار گرفته اند. این سلول ها در مجاورت مویرگ های خونی موازی هم قرار گرفته اند که توسط تیغه های نازکی از غضروف حمایت می شوند. سودوبرانش یک اتصال مستقیم مویرگی با شبکه ی کوروئید چشم دارد که یک شبکه ی مویرگی متشکل از مویرگ های موازی تشکیل دهنده ی یک رته میرابل می باشد (Genten و همکاران، ۲۰۰۹).

بیش از ۲۰۰ سال پیش، Broussonet (۱۷۸۵) اعلام کرد که سودوبرانش ساختاری کوچک و مشابه با آبشش بوده که عملکرد تنفسی دارد، اما مطالعات بعدی نشان داد که این بافت نقشی در تنفس ماهیان بالغ ندارد (Roy و همکاران، ۱۹۹۷). در سال های اخیر مطالعات مختلف نقش اندوکراین (Bertin، ۱۹۵۸)، عصبی- ترشحی در ماهیان تلتوست دریایی و مصبی (King، ۱۹۹۳؛ Quinn، ۲۰۰۳)، اندام فراهم کننده ی اکسیژن (Munshi و همکاران، ۱۹۹۴)، نگهدارنده ی فشار طبیعی چشم به عنوان یک شبکه ی مویرگی رته- میرابیل (Pelster و Randall، ۱۹۹۸؛ Waser و Heisler، ۲۰۰۴)، اندام حسی (Bridges و همکاران، ۱۹۹۸) و بسیاری دیگر از اعمال مختلف را به این بافت نسبت داده اند اما نقش اساسی آن همچنان ناشناخته باقی مانده است. سودوبرانش در ماهیان تلتوست بطور کلی به عنوان یک همی برانش تغییر شکل یافته از کمان آبششی ماندیبولار شناخته می شود که در بخش فوقانی محفظه ی آبششی قرار گرفته است (Quinn و همکاران، ۲۰۰۳)، اما به دلیل تفاوت

در اندازه، محل قرار گرفتن و نیز حضور یا نبود آن در گونه های مختلف ماهیان، همچنان یکی از موارد مطالعه در ماهیان به شمار می رود (Roy، ۱۹۹۷؛ Hamidian و Alboghobeish، ۲۰۰۷). این در حالی است که در میان ۲۳۸ خانواده ی ماهیان تلئوست، سودوبرانش تقریباً در تمامی گونه ها دیده می شود و تنها در گونه های معدودی از اعضای خانواده های *Siluridae*، *Ictaluridae*، *Notopteridae*، *Cobitidae*، *Anguillidae* و تمامی گونه های جنس های *Gymnarchus* و *Cobitis* دیده نمی شود (Roy و همکاران، ۱۹۹۷). با توجه به نتایج مطالعه ی حاضر که نشان دهنده ی حضور پرتعداد یونوسیت ها در این اندام بود می توان نقش تنظیم اسمزی را نیز به عملکردهای این اندام افزود، که داشتن نقش تنظیم اسمزی از مواردی است که در سودوبرانش *Lagodon rhomboids* گزارش شده است (Dendy و همکاران، ۱۹۷۳).

نتایج شمارش سلول های یونوسیت در آبشش لارو و بچه ماهی سفید نشان داد که در هر میلی متر مربع از سطح این بافت به ترتیب حدوداً ۳۵۱ و ۵۰۱ سلول کلراید وجود دارد که بیشترین تعداد آنها بر روی فیلامنت و پس از آن به ترتیب بر روی لاملاها، در پایه ی لاملاها و در فضای بین لاملایی وجود دارند. بر اساس مطالعات Chan و Wong (۲۰۰۱) در هر میلی متر مربع از بافت آبشش مارماهی ژاپنی، *Anguilla japonica* (۵۰۰ گرمی)، ۱۰۰۶ سلول کلراید وجود دارد، این میزان در تحقیقات Varsamos (۲۰۰۲) در آبشش باس دریایی، *Dicentrarchus labrax* (۲۴۰ گرمی) برابر با ۶۲۵۰ سلول کلراید، در تحقیقات Van der Heijden و همکاران (۱۹۹۷) در آبشش تیلایپای موزامبیک، *Oreochromis mossambicus* (۶۵ گرمی) برابر با ۶۲۳۳ سلول کلراید، در مطالعات Lin و همکاران (۲۰۰۳) در آبشش خامه ماهی، *Chanos chanos* (۳۱ گرمی) برابر با ۴۰۰ سلول، در تحقیقات Pelis و McCormick (۲۰۰۱) در آبشش سالمون آتلانتیک، *Salmo salar* (۲۵ گرمی) ۱۲۰ سلول کلراید و در تحقیقات خوشنود و همکاران (۱۳۸۷) در آبشش بچه تاسماهی ایرانی، *Acipenser persicus* (۲-۳ گرمی) ۲۸۹ سلول کلراید شمارش گردید. با توجه به نتایج مطالعه حاضر و در مقایسه این نتایج با نتایج سایر محققین به نظر می رسد که تعداد سلول های یونوسیت در بافت آبششی در گونه های مختلف، در ماهی های با اندازه های مختلف با توجه به میزان فعالیت های فیزیولوژیک در سنین و اوزان مختلف متفاوت می باشد.

#### ۵-۱-۴- دستگاه گوارش

دستگاه گوارش در لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر متشکل از دهان، حلق، مری، روده ی قدامی، روده ی خلفی و مخرج می باشد. بافت دستگاه گوارش در طول لوله ی گوارش تقریباً آرایش منظمی داشته و از چهار لایه ی اصلی تشکیل شده است:

(۱) لایه ی مخاطی (mucosa)، که به سمت لومن لوله قرار گرفته است و خود از سه لایه تشکیل شده است: اپیتلیوم داخلی، آستر مخاط (lamina propria) یا لایه ی بافت پیوندی سلول دار، که حاوی رگ های خونی و اعصاب است، و در سمت بیرونی از لایه ی عضله ی مخاطی (muscularis mucosae) تشکیل شده است؛ (۲) لایه

ی زیرمخاط (submucosa)، لایه ای است که مخاط را پشتیبانی می کند، و از بافت پیوندی کمتر سلولی شده، رگ های خونی، بافت لنفاتیک و شبکه ی عصبی تشکیل شده است و فاقد غدد زیرموکوسی می باشد؛ (۳) لایه ی عضلانی، که عموماً از یک لایه داخلی عضلات حلقوی و یک لایه ی عضلانی عمودی تشکیل شده است؛ (۴) سروز (serosa)، که از بافت پیوندی تشکیل شده است که توسط یک لایه ی سلول های سنگفرشی ساده از اپیتلیوم مزانتتری پوشیده شده است.

تمامی بخش های دستگاه گوارش از این چهار لایه تشکیل شده اند بجز دهان و حلق که فاقد لایه ی سروزی هستند (Dutta و Hossein، ۱۹۹۶).

تغییر وضعیت نموی از لارو به مرحله ی نوجوانی نیازمند تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک متعددی می باشد. از جمله ی این تغییرات نمو گسترده در دستگاه گوارش، همزمان با تغییرات در روند تغذیه ای است. مشخص شده است که تفاوت های گسترده ای در زمینه ی نمو بخش های مختلف دستگاه گوارش در گونه های مختلف ماهیان وجود دارد. بررسی های مختلفی تاکنون در زمینه ی مطالعه ی دستگاه گوارش لارو، بچه ماهی و نیز ماهیان بالغ گونه های مختلف صورت گرفته است (Blaxter و همکاران، ۱۹۸۳؛ Luizi و همکاران، ۱۹۹۹؛ Hamlin و همکاران، ۲۰۰۰؛ Adriaens و همکاران، ۲۰۰۱؛ Zambonino Infante و Cahu، ۲۰۰۱؛ Ortiz-Delgado و همکاران، ۲۰۰۳؛ Holmberg و همکاران، ۲۰۰۴؛ Zouiten و همکاران، ۲۰۰۸؛ Suiberto و همکاران، ۲۰۰۹). در مطالعه ای بر روی توربوت، *S. maximus*، Tytler و همکارانش (۱۹۹۳) گزارش دادند که لوله گوارش که در زمان تفریح لوله ساده ای است در ظرف هفت روز به بخش های مجزا تقسیم بندی می شود. همچنین در شاه ماهی، *Seriola lalandi*، نیز دستگاه گوارش در طی ۱۸ روز به بخش های مختلف تمایز یافت که آخرین بخش تمایز یافته زواید پیلوریک بود (Chen و همکاران، ۲۰۰۶). دستگاه گوارش ماهیان تلئوست از یک لوله ی مستقیم و تمایز نیافته در زمان تفریح به یک مجرای گوارشی پیچیده و متشکل از بخش های مختلف در زمان جوانی تبدیل می گردد. در زمان آغاز تغذیه ی خارجی، دستگاه گوارش به سرعت تغییر کرده و ساختار عملکردی پیدا می کند (Govoni و همکاران، ۱۹۸۶؛ Segner و همکاران، ۱۹۹۴؛ Sarasquete و همکاران، ۱۹۹۵، ۱۹۹۶؛ Douglas و همکاران، ۱۹۹۹؛ Ribeiro و همکاران، ۱۹۹۹؛ Hamlin و همکاران، ۲۰۰۰). وجود سلول های موکوسی از بخش های اساسی لایه ی مخاطی دستگاه گوارش به شمار رفته و در لارو و بالغ ماهیان دیده می شود (Sarasquete و همکاران، ۱۹۹۵، ۲۰۰۱؛ Ribeiro و همکاران، ۱۹۹۹؛ Arellano و همکاران، ۲۰۰۲). این سلول ها در مهره داران مختلف (حتی انسان) مسئول انتقال، جذب و محافظت از دستگاه گوارش را بر عهده دارند (Rhodes و همکاران، ۱۹۸۵؛ Anderson، ۱۹۸۶؛ Pajak و Danguy، ۱۹۹۳؛ Park و Kim، ۲۰۰۱).

مری در گونه های مختلف ماهیان تلئوست مشابه با سایر مهره داران بوده و وظیفه ی اصلی آن انتقال ذرات غذایی از حفره ی دهانی و حلق به سمت بخش های بعدی دستگاه گوارش می باشد. به همین دلیل ساختمان



آن از اپی تلیوم سنگفرشی مطبق و نیز سلول های ترشح کننده ی موکوس تشکیل شده است (Al Abdulhadi, ۲۰۰۵). آناتومی عمومی و لایه بندی مری در لارو و بچه ماهی سفید مشابه با آنچه پیشتر در گونه های مختلف ماهیان بیان شده است می باشد (Sis و همکاران، ۱۹۷۹؛ Clarke و Witcomb، ۱۹۸۰؛ Hirji، ۱۹۸۳؛ Ferraris و همکاران، ۱۹۸۷؛ Cataldi و همکاران، ۱۹۸۷؛ Morrison و Wright، ۱۹۹۹). یکی از مشخصه های بخش جلویی دستگاه گوارش در لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر که به دلیل تکمیل رشد در بچه ماهیان بهتر و واضح تر دیده می شود، داشتن لایه ی عضلانی مخطط در بخش حلقی می باشد. این لایه در بیرون بصورت حلقوی و در بخش داخلی بصورت طولی قرار گرفته است، این بخش مشابه با نتایجی است که در گربه ماهی قنات، *Ichталurus punctatus* (Sis و همکاران، ۱۹۷۹)، خامه ماهی، *Chanos chanos* (Ferraris و همکاران، ۱۹۸۷)، امبرجک، *Seriola dumerili* (Grau و همکاران، ۱۹۹۲)، تیلاپیا، *Oreochromis niloticus* (Morrison و Wright، ۱۹۹۹) و دو گونه ی مشابه از Caraciformes و Anostomidae (Albrecht و همکاران، ۲۰۰۱) بدست آمده است. لایه ی مخاطی مری نیز مشابه با نتایج Clarke و Witcomb (۱۹۸۰) و Verigina و Zholdasova (۱۹۸۶) بوده و در سطح مری سلول های متعددی موکوسی مشاهده گردید. پدیدار شدن سلول های موکوسی ترشح کننده ی موکوس در اپی تلیوم مری در گونه های مختلف ماهیان متفاوت است: در کفشک، *Solea solea* (Boulhic و Gabaudan، ۱۹۹۲)، کفشک سنگالی، *Solea senegalensis* (Ribeiro و همکاران، ۱۹۹۹)، فلاندر دم زرد، *Limanda ferruginea* (Baglolle و همکاران، ۱۹۹۷)، شوریده ی بزرگ طلائی، *Pseudosciaena crocea* (Mai و همکاران، ۲۰۰۵)، دلفک ماهی، *Amphiprion melanopus* (Green و McCormick، ۲۰۰۱)، تاسماهی سیبری، *Acipenser baerii* (Gisbert و همکاران، ۱۹۹۹)، تاسماهی سبز، *Acipenser medirostris* (Gisbert و Doroshov، ۲۰۰۳)، سوف، *Sander lucioperca* (Ostaszewska، ۲۰۰۵)، گربه ماهی اروپایی، *Silurus glanis* (Kozarić و همکاران، ۲۰۰۸) و در *Petenia splendida* (Alvarez-González و همکاران، ۲۰۰۸)، سلول های موکوسی عملکردی همزمان با گشودگی دهان و یا درست قبل از شروع تغذیه ی خارجی دیده می شوند، این در حالی است که در گونه های دیگری مانند توربوت، *Scophthalmus maximus* (Segner و همکاران، ۱۹۹۴)، بریل، *Scophthalmus rhombus* (Hachero-Cruzado و همکاران، ۲۰۰۹)، هالیبوت، *Paralichthys californicus* (Gisbert و همکاران، ۲۰۰۴)، سیم دریایی، *Sparus aurata* (Sarasquete و همکاران، ۱۹۹۵)، سیم سفید، *Diplodus sargus* (Ortiz-Delgado و همکاران، ۲۰۰۳)، پورگی سرخ، *Pagrus pagrus* (Darias و همکاران، ۲۰۰۵)، پاندورای معمولی، *Pagellus erythrinus* (Micale و همکاران، ۲۰۰۶)، باس دریایی، *Dicentrarchus labrax* (García - Hernández و همکاران، ۲۰۰۱)، کوبیا، *Rachycentron canadum* (Faulk و همکاران، ۲۰۰۷)، کاد اقیانوس اطلس، *Gadus morhua* (Morrison، ۱۹۹۳) و *Melanogrammus aeglefinus* (Hamlin و همکاران، ۲۰۰۰) سلول های موکوسی در مراحل پیشرفته تری از نمو دیده می شوند. در لارو ماهی سفید سلول های موکوسی از زمان هج و

پیش از باز شدن دهان و شروع تغذیه ی خارجی در تعداد اندک پدیدار شده و در زمان شروع تغذیه ی خارجی بطور واضحی بر تعداد آنها افزوده می شود.

ترشح موکوس در مری به عنوان مکانیسمی به منظور مقابله با تغییر شرایط محیطی و حفظ تعادل یونی در ماهیان در مراحل ابتدایی زندگی شناخته می شود (Domeneghini و همکاران، ۱۹۹۸؛ Sarasquete و همکاران، ۲۰۰۱). همچنین مطالعات فراساختاری که تاکنون صورت گرفته است نشان می دهد که اپی تلیوم مری همچنین در تنظیم اسمزی و یونی در آب شیرین و شور نقش دارد. به این صورت که در محیط های هایپراسموتیک (با فشار اسمزی بالا) آب نوشیده شده در مری از راه حذف غیرفعال و فعال یون های  $Na^+$  و  $Cl^-$  نمک زدایی می شود، این در حالی است که این بخش از دستگاه گوارش نفوذپذیری اندکی نسبت به آب و سایر یون ها دارد، این امر در نهایت موجب کاهش اسمولالیتته ی آب نوشیده شده می گردد و جذب آن را در روده آسان می کند (Allen و همکاران، ۲۰۰۹). علاوه بر این گلیکوکونژوگه های خنثی ای که توسط سلول های موکوسی مری ترشح می شوند در هضم ابتدایی غذا، جذب مواد ساده ی قابل جذب مانند دی ساکاریدها و اسیدهای چرب کوتاه زنجیره نقش ایفا می کنند (Sarasquete و همکاران، ۲۰۰۱).

جوانه های چشایی از دیگر مشخصات دستگاه گوارش به شمار می روند که در لارو و بچه ماهی سفید در محفظه ی آبششی و روی کمان های آبششی و در محفظه ی دهانی- حلقی بخوبی دیده می شوند. این جوانه های چشایی در سیم دریایی، *Sparus auratus*، وجود ندارند (Elbal و Agulleiro، ۱۹۸۶)، در فلاندر دم زرد تنها در محفظه ی دهانی (Baglole و همکاران، ۱۹۹۷)، در سوف در حلق (Hirji، ۱۹۸۳)، در گربه ماهی قنات در بخش جلویی مری (Sis و همکاران، ۱۹۷۹)، و در حلق و مری اعضای خانواده ی (Unal) Ambassidae و همکاران، ۲۰۰۰)، و در *C. tarichi* جوانه های چشایی بوفور در حلق و به تعداد کمتر در مری دیده می شوند (Unal و همکاران، ۲۰۰۱).

در ماهیان مختلف محل قرار گیری دندان ها متفاوت است، دندان ها بر روی لب ها، آرواره ها، زبان و حلق ممکن است دیده شوند. در لارو ماهی سفید یک تا دو جوانه ی دندان حلقی بسیار کوچک در دیواره ی تحتانی حلق مشاهده شد، اما در بچه ماهی دندان های حلقی مشاهده شد که در بخش زیرین آنها جوانه های دندانی نیز وجود داشتند. دندان های حلقی اصولاً در بسیاری از گونه های ماهیان دیده می شوند که از جمله ی آنها می توان به *Aphanius persicus* (Monsefi و همکاران، ۲۰۱۰) و کپور معمولی، *Cyprinus carpio* (بانان خجسته و همکاران، ۱۳۸۸)،

در لارو و بچه ماهی سفید بخشی مشخص به عنوان معده مشاهده نگردید، و ساختار بخش ابتدایی دستگاه گوارش از حلق و مری کوتاه به روده منتهی می گردد. در مطالعاتی که پیشتر توسط بانان خجسته و همکاران (۱۳۸۸) بر روی ماهی کپور معمولی، *Cyprinus carpio*، صورت گرفته نیز هیچگونه بخشی بصورت معده ی مشخص در این ماهی شناسایی نشده است. بطور کلی گزارش شده است که ساختار مشخصی به نام معده اصولاً

در اعضای خانواده های Cyprinidae، Labridae، Scaridae، Cyprinodontidae و برخی اعضای Poecilidae وجود ندارد (Genten و همکاران، ۲۰۰۹).

روده طویل ترین بخش دستگاه گوارش بوده و بیشترین بخش از فضای شکمی را به خود اختصاص می دهد، این بخش یکی از نخستین بخش های دستگاه گوارش است که تمایز می یابد. اپی تلیوم روده بسیار پویا بوده و بافت فعالی است که مکان اصلی هضم و جذب مواد غذایی به شمار می رود، و همچنین نقش اساسی در تنظیم هورمونی و عصبی سنتز آنزیم ها و صفرا و نیز ترشح آنها از پانکراس و کبد ایفا می کند. در زمان تفریخ، روده اندامی لوله ای شکل و ساده با لومن صاف است. در طی مرحله ی لسیتوتروفی (تغذیه ی داخلی از کیسه ی زرده)، بخش عقبی روده خم شده و دریچه ی روده ای یا ایلئوسکال را بوجود می آورد که بصورت یک تنگ شدگی در اپی تلیوم روده دیده می شود و روده را به دو بخش جلویی و عقبی تقسیم می کند. اپی تلیوم روده ای مسیری مستقیم اما دارای چین های متعدد است. در بیشتر گونه های ماهیان، مانند آنچه در لارو و بچه ماهی سفید مشاهده گردید، اصولاً تفاوت بافت شناسی مشخصی بین روده ی جلویی و عقبی دیده نمی شود، هر دو بخش از سلول های اپی تلیالی استوانه ای ساده با هسته های قاعده ای تشکیل شده اند که سیتوپلاسم بازوفیل داشته و دارای میکروویلی های راسی دائمی هستند. با پیشرفت نمو دستگاه گوارش چین های روده ای افزایش یافته و فضای بیشتری از محوطه ی شکمی را به خود اختصاص می دهند. این تغییرات جهت سازگار کردن افزایش طول دستگاه گوارش در فضای محدود شکمی، و جهت افزایش سطح اپیتلیال روده جهت هضم و جذب مقادیر افزاینده ی مواد غذایی صورت می گیرد. البته تمام گونه های ماهیان دارای روده ی پیچ خورده نمی باشند، برای مثال، در *Plecoglossus altivelis* (Nakagawa و همکاران، ۲۰۰۲) و یا گورخرماهی، *Danio rerio* (Wallace و همکاران، ۲۰۰۵)؛ در این موارد، افزایش سطح جذب روده تنها از راه افزایش چین های روده ای صورت می گیرد. بطور کلی سه ناحیه را می توان در روده بر اساس ویژگی های هیستولوژیک و نیز عملکردی مشخص کرد: قطعه ی جلویی- میانی (در روده ی جلویی)، که ترشحات پانکراس و صفراوی را دریافت می کند، از نظر بافتی، دارای سلول های اپی تلیال استوانه ای با میکروویلی های راسی دائمی است و دارای تعداد قابل توجهی سلول های موکوسی است. این ناحیه از روده مهمترین مکان جذب لیپیدها می باشد (Diaz و همکاران، ۱۹۹۷؛ Olsen و همکاران، ۲۰۰۰)، در حالی که پروتئین ها اصولاً در روده ی عقبی جذب می شوند (Deplano و همکاران، ۱۹۹۱). این در حالی است که مطالعات دیگر نشان می دهد که هضم و جذب لیپیدها در بخش های عقبی و انتهایی روده ادامه می یابد (García-Hernández و همکاران، ۲۰۰۱؛ Gisbert و همکاران، ۲۰۰۵). روده ی عقبی از نظر بافتی مشابه با بخش جلویی- میانی بوده و تنها تفاوت آن در تعداد و اندازه ی چین خوردگی هایش می باشد، که بلندتر، عمیق تر و با تعداد بیشتری دیده می شوند. در برخی گونه های ماهیان، مانند ماهیان خاویاری، روده ی عقبی درست قبل از رکتوم بلافاصله پس از تفریخ، دریچه های ماریچی را بوجود می آورد که بطور مشخصی ناحیه ی جذبی را در این بخش از روده افزایش می دهد (Doroshov و Buddington).

۱۹۸۶؛ Gisbert و همکاران، ۱۹۹۸). روده در بخش کوتاهی به نام رکتوم ختم می شود، در ماهی سفید این بخش توسط سلول های استوانه ای ساده و تعداد اندکی سلول های موکوسی پوشیده شده است. تفاوت هایی در این بخش در بین ماهیان مختلف دیده می شود برای مثال در برخی ماهی ها این بخش توسط اپی تلیوم استوانه ای مژکدار و یا توسط اپی تلیوم مکعبی ساده پوشیده شده است (Zambonino – Infante و همکاران، ۲۰۰۸).

مهمترین و بیشترین تعداد سلول هایی که در اپی تلیوم روده دیده می شوند انتروسیت ها و سلول های موکوسی هستند. انتروسیت ها بیشترین تعداد سلول را در اپی تلیوم روده به خود اختصاص داده و در جذب مواد غذایی، هضم درون سلولی و تنظیم اسمزی نقش دارند. انتروسیت ها در روده ی جلویی مسئول جذب لیپیدها و اسیدهای آمینه از راه انتشار هستند در حالی که در روده ی عقبی به منظور جذب پروتئین ها از راه پینوسیتوز (قطره خواری) تخصص یافته اند. سلول های موکوسی روده ای دومین گروه سلول های پرتعداد در اپی تلیوم روده به شمار می روند و در طول بخش های مختلف روده پراکنده هستند. این سلول ها بوجود آورنده ی یک سد فیزیکی بین اپی تلیوم روده و مواد درون لومن می باشند. سلول های موکوسی ترشح کننده ی موسین ها، مسئول اصلی ایجاد این سد از راه ترشح ترکیبات موکوپلی ساکاریدی هستند. تمایز این سلول های ترشح کننده ی موکوس، بر اساس مرحله ی نمو لارو دو الگوی متفاوت دارد. برای مثال در گرگ ماهی، اسنوک خلیج، تاسماهی سیبری و تاسماهی سبز، کفشک، فلاندر دم زرد و یا باس دریایی منقوط، سلول های موکوسی در مخاط روده قبل از شروع تغذیه ی خارجی و یا درست همزمان با آن بوجود می آیند، در حالی که در گونه های دیگری مانند سوف، سیم دریایی، هالیبوت کالیفرنایی، کفشک سنگالی، کاد و یا ... سلول های موکوسی در مراحل دیرتری از نمو شکل می گیرند (Zambonino – Infante و همکاران، ۲۰۰۸). سلول های موکوسی روده ای حاوی مخلوطی از گلیکوپروتئین های خنثی و اسیدی هستند که ترکیب شیمیایی آنها در دوران لاروی و جوانی تا بالغ یکسان باقی می ماند. مواد موکوسی ترشح شده از سلول های موکوسی روده ی انتهایی موجب لغزنده شدن دیواره ی روده جهت خروج مواد دفعی می شود در حالی که موکوس ترشح شده در بخش های ابتدایی روده جهت محافظت از مخاط روده و آسان کردن جذب مواد غذایی بکار گرفته می شود (Genten و همکاران، ۲۰۰۹).

سکوم های گوارشی یا پیلوریک نوعی سازگاری جهت افزایش سطح روده بدون افزایش طول و یا ضخامت آن به شمار می روند. این زوائد روده ای همچنین در تنظیم اسمزی و بویژه در جذب آب در ماهیان مواجه شده با شرایط هایپر اسموتیک نقش دارند (Allen و همکاران، ۲۰۰۹). در میان مهره داران، تنها ماهیان تلوست دارای زوائدی مانند سکوم های پیلوریک در اتصال با دستگاه گوارش می باشند که بطورکلی با آنچه در پرندگان یا پستانداران دیده می شود و تنها وظیفه ی تخمیری بر عهده دارند متفاوت است (Diamond و Buddington، ۱۹۸۷). سکوم های پیلوریک در ۶۰٪ از گونه های شناخته شده ی ماهیان وجود دارد و تعداد آنها بسیار متفاوت است، و از هیچ (نبود سکوم های پیلوریک) تا بیش از ۱۰۰۰ عدد بر اساس گروه و گونه ی ماهی دیده می شود.

حضور و نبود سکوم های گوارشی در ماهیان مختلف نیز مانند تعداد سکوم ها بین و درون گونه های مختلف بسیار متفاوت می باشد و نشان دهنده ی سازگاری های مختلف ماهیان با شرایط تغذیه ای متفاوت و نیز تفاوت های ساختاری در دستگاه گوارش می باشد (Dutta و Hossain، ۱۹۹۶). این زوائد انگشت مانند که از بخش جلویی دستگاه گوارش منشا می گیرند، افزایش دهنده ی سطح جذب روده می باشند. علاوه بر این به نظر می رسد که سکوم های گوارشی محل هضم به کمک آنزیم های پانکراسی می باشند و برخی محققین معتقدند که محل ذخیره ی غذا و مکانی جهت تکثیر فلور طبیعی روده به شمار می روند (Diamond و Buddington، ۱۹۸۷؛ Dutta و Hossain، ۱۹۹۶). سکوم های پیلوریک در خنثی کردن شیره ی اسیدی تشکیل شده توسط معده نقش دارند (Rust، ۲۰۰۲) بنابراین نبود آنها در ماهیانی که فاقد معده هستند، مانند ماهی سفید، قابل درک می باشد.

غدد ضمیمه ی دستگاه گوارش، کبد، پانکراس و کیسه ی صفرا، نقش مهمی در فرآیندهای تغذیه ای و حفظ هموستاز بدن ماهی دارند (Hoehne-Reitan و Kjørsvik، ۲۰۰۴). کبد اندامی بسیار مهم است که نقش آن نه تنها در متابولیسم مواد غذایی، تبدیل و انتقال آنها به بافت های محیطی، بلکه تولید صفرا و سمیت زدایی از ترکیبات مضر با منشا درونی (متابولیت ها) و بیرونی است. پانکراس متشکل از یک بخش برون ریز است که ترشح کننده ی آنزیم های گوارشی است و در هضم روده ای مواد غذایی نقش ایفا می کند و یک بخش درون ریز دارد که جزایر لانگرهانس نامیده می شود و ترشح کننده ی هورمون هایی نظیر انسولین، سوماتوستاتین، پپتیدپانکراسی و یا گلوکاگون می باشد. کیسه ی صفرا نیز یکی دیگر از غدد ضمیمه ی دستگاه گوارش می باشد که ترشح کننده ی صفرا می باشد که در کبد تولید شده و به منظور امولسیفیه کردن ذرات غذایی (مانند لیپیدها) و افزایش pH معده بکار برده می شود. در ماهیان تلئوست هپاتوسیت ها در اطراف سیاهرگ اصلی کبدی چیده شده اند. مطالعات میکروسکوپی انجام شده بر بافت کبد نشان می دهد که می توان انواعی از هپاتوسیت ها را بر اساس اندامک های سلولی، مواد ذخیره ای و سطوح سلولی شناسایی کرد (Takashima و Hibiya، ۱۹۹۵). مهمترین ماده ی ذخیره ای در کبد ماهیان گلیکوژن و در موارد کمتری لیپید است. زمان تمایز کبد در گونه های مختلف متفاوت است و بطور کلی وابسته به روند چرخه ی زندگی می باشد (Hoehne-Reitan و Kjørsvik، ۲۰۰۴). محققین مختلف بیان کرده اند که نمو کبد بطور مشخص نشان دهنده ی مرحله ی نموی در زمان تفریح گونه های مختلف به شمار می رود. برای مثال، کبد در گونه های کاد اطلس (Morrison، ۱۹۹۳)، هادوک (Hamlin و همکاران، ۲۰۰۰)، گرگ ماهی معمولی (Hoehne-Reitan و Kjørsvik، ۲۰۰۴)، سیم دریایی سفید (Ortiz-Delgado و همکاران، ۲۰۰۳)، دلچک ماهی پرکولا، *Amphiprion percula* (Önal و همکاران، ۲۰۰۸)، تیلاپیا (Morrison و همکاران، ۲۰۰۱)، و اسنوک خلیج (Alvarez - González و همکاران، ۲۰۰۸) کبد در زمان تفریح شکل گرفته و نمو یافته است، این امر در لارو ماهی سفید نیز مشاهده گردید، که در نخستین روز تفریح کبد بصورت یک اندام کاملاً مشخص قابل مشاهده بود، این در

حالی است که در گونه های دیگری مانند سیم دریایی (Sarasquete و همکاران، ۱۹۹۵)، شقایق ماهی (Green و McCormick، ۲۰۰۱)، هالیبوت کالیفرنیا (Gisbert و همکاران، ۲۰۰۴a)، هالیبوت اطلس (Hoehne-Reitan و Kjørsvik، ۲۰۰۴)، دنتکس معمولی (Santamaría Rojas و همکاران، ۲۰۰۴)، پاندورای معمولی (Micale و همکاران، ۲۰۰۶)، باس ماسه ای منقوط (Peña و همکاران، ۲۰۰۳)، گروپر کلیپی (*Epinephelus bruneus* Kato) و همکاران، ۲۰۰۴)، تاسماهی سبز (Gisbert و Doroshow، ۲۰۰۳)، سوف (Ostaszewska، ۲۰۰۵) و گربه ماهی اروپایی (Kozarić و همکاران، ۲۰۰۸)، کبد پس از خروج لارو از تخم و در طی روند تغذیه ی اندوژنیک نمو می یابد.

صفا توسط سلول های کبدی ترشح شده و به درون کانال های کوچک برون سلولی صفاوی ریخته می شود. کانالچه های صفاوی به هم متصل شده و مجرای صفاوی را بوجود می آورند که در نهایت به مجرای کبدی منتهی می شوند. این مجرا کبد را ترک کرده و به درون روده ی جلویی باز می شود. در بسیاری از گونه های ماهیان، مجرای کبدی، دارای شاخه ای به نام ductus cysticus می باشد که صفا را به کیسه ی صفا برده و در آنجا ذخیره می کند. دیواره های مجاری صفاوی از یک لایه سلول مکعبی تا استوانه ای که بر روی یک لایه از بافت پیوندی قرار گرفته است تشکیل شده است. تشکیلات بافت شناسی مجرای کبدی نیز مشابه با این بخش بوده اما دارای یک لایه عضله ی صاف نیز می باشد (Takashima و Hibiya، ۱۹۹۵). نمو بافتی کبد و سیستم انتقال صفا در ارتباط با نمو هیپاتوسیت ها و افزایش توانایی آنها در سنتز، ذخیره و تبادل کربوهیدرات ها و لیپیدها می باشد (Hoehne-Reitan و Kjørsvik، ۲۰۰۴). بخش برون ریز پانکراس در ماهیان تلتوست یک اندام پراکنده در مزانتر احاطه کننده ی دستگاه گوارش بوده و در مجاورت بافت چربی قرار دارد. بخش هایی از پانکراس در طول رگ های خونی اصلی کبدی در برخی گونه ها دیده می شود و هیپاتوپانکراس را در گروه هایی مانند کپورماهیان، کاراسین ها و برخی گربه ماهیان شکل می دهد (Takashima و Hibiya، ۱۹۹۵؛ Petcoff و همکاران، ۲۰۰۶)، در حالی که در سایر گونه ها مانند مارماهیان آنگوئیلید، اردک ماهی شمالی و یا گربه ماهی ژاپنی، پانکراس همانند آنچه در مهره داران عالی تر دیده می شود یک اندام مستقل می باشد (Hoehne-Reitan و Kjørsvik، ۲۰۰۴).

کیسه ی صفا در ماهیان یک اندام کمکی در دستگاه گوارش بوده و وظیفه ی آن ذخیره و ترشح صفاوی غلیظ شده است. صفا عملکردهای مختلفی بر عهده دارد، از جمله، آسان کردن عملکردهای مختلف گوارشی و حذف متابولیت های کونژوگه در کبد، از جمله زنبوبیوتیک ها (Genten و همکاران، ۲۰۰۹؛ Kozarić و همکاران، ۲۰۰۸).

#### ۵-۱-۵- کلیه و سیستم دفع ادرار

کلیه دو وظیفه ی اساسی بر عهده دارد: حذف ترکیبات زائد از خون، و تنظیم تعادل غلظت یونی و متابولیت ها در خون که موجب حفظ تعادل فیزیولوژیک مناسب جهت فعالیت صحیح تمام سلول های بدن می گردد (Vize

و همکاران، ۲۰۰۲). عملکرد کلیه بطور کلی با فیلتراسیون خون و سپس بازجذب یون ها و متابولیت های مورد نیاز از راه انتقال اپی تلیالی صورت می گیرد. این عمل توسط نفرون ها انجام می شود، که واحد عملکردی کلیه به شمار می روند. نفرون از یک فیلتر تصفیه کننده ی خون به نام گلومرول تشکیل شده است که به یک سیستم اپی تلیالی توبولی متصل می باشد. گلومرول دارای سلول های اپی تلیومی ویژه ای به نام پودوسیت می باشد که دارای زوائد سلولی بلندی هستند که در کنار یکدیگر ساختاری سبد مانند بوجود می آورند که مویرگ های خونی را در بر می گیرد. غشای پایه ی بین پودوسیت ها و سلول های اندوتلیالی مویرگی در کنار یکدیگر سد ویژه ای در مقابل خون بوجود می آورند که به ملکول های کوچک، یون ها و مایع خون اجازه می دهد که وارد فضای ادرای شوند، در حالی که پروتئین ها که دارای وزن ملکولی بالا هستند در خون باقی می مانند. مایع فیلتر شده درون لومن توبول های کلیوی جریان می یابد، و در طول توبول های پروکسیمال و دیستال بر اساس فعالیت های نقل و انتقال یون ها و مواد ترکیب آن تغییر می کند. این ادرار نهایتاً توسط مجاری جمع کننده ی ادراری دستخوش آخرین تغییرات در میزان آب و نمک ها شده و در پایان از راه منفذ ادراری از بدن خارج می شود (Vize و همکاران، ۲۰۰۲).

در جریان روند تکامل مهره داران، سه فرم مختلف از کلیه بر اساس افزایش پیچیدگی در ساختار قابل تشخیص می باشد: پرونفروس، مزونفروس و متانفروس (Saxén، ۱۹۸۷). پرونفروس نخستین ساختار کلیوی است که در جریان تشکیل جنین پدیدار می شود. در مهره داران دارای لارو آزاد شناگر، مانند ماهیان و دوزیستان، پرونفروس کلیه ی عملکردی در مراحل ابتدایی زندگی لاروی می باشد (Howland، ۱۹۲۱؛ Tytler، ۱۹۸۸؛ Tytler و همکاران، ۱۹۹۶؛ Vize و همکاران، ۱۹۹۷) و نقش مهمی در فرآیند تنظیم اسمزی دارد (Howland، ۱۹۲۱). در ادامه ی نمو، مزونفروس در طول و اطراف پرونفروس تشکیل شده و در نهایت در دوران بلوغ کل ساختار کلیه را به خود اختصاص می دهد.

پرونفروس بطورکلی یک اندام ساده است. این اندام از یک جفت نفرون که دارای دو گلومرول متصل به هم در بخش میانی بدن می باشد، تشکیل شده است. توبول های پرونفریک بصورت مستقیم به گلومرول متصل می شوند، یک جفت مجرای پرونفریک در دو سمت بدن قرار دارد که ادرار را به بیرون بدن می فرستند (Tytler، ۱۹۸۸؛ Tytler و همکاران، ۱۹۹۶). این ساختار در بخش جلویی ساختمان کلیه در لارو تازه هیچ شده ی ماهی سفید و بویژه در روزهای ابتدایی مطالعه، قابل تشخیص می باشد. این امر نشان می دهد که همانند آنچه در لارو سایر ماهیان تلئوست دیده می شود، در روزهای آغازین پس از تفریح، نقش تنظیم اسمزی و دفع مواد زائد از بدن بر عهده ی کلیه ی پرونفروس می باشد. از سوی دیگر، در سالمون، (*Oncorhynchus keta* Takahashi و همکاران، ۱۹۷۸)، گوبی، (*Lebistes reticulates* John و Agarwal، ۱۹۸۸)، هرینگف، (*Clupea harengus* Tytler و همکاران، ۱۹۹۶)، و گورخرماهی، (*Danio rario* Drummond و همکاران، ۱۹۹۸) همانند آنچه که در لارو ماهی سفید مشاهده گردید، پرونفروس از زمان تفریح دارای گلومرول بوده در حالی که در توربوت،

*Scophthalmus maximus* (Tytler و همکاران، ۱۹۹۶) کلیه تا روز دوم فاقد گلوامورول بوده و نخستین نشانه های تشکیل ادرار کاملاً فیلتر شده همزمان با مشاهده ی گلوامورول های کلیوی در این ماهی می باشد.

مطالعات مکان یابی ایمونوهیستوشیمیایی آنزیم  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase در لارو ماهی سفید نشان داد که سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی پروکسیمال دارای ایمونوفلورسانس ضعیفی در غشای قاعده ای خود می باشند در حالی که توبول های دیستال دارای ایمونوفلورسانس بسیار قوی و مشخصی در غشاهای قاعده ای - جانبی خود بوده و همچنین ایمونوفلورسانس بسیار قوی در توبول های جمع کننده ی ادرار در انتهای بافت کلیه دیده می شود. این امر نشان دهنده ی فعالیت بالای این سلول ها در نقل و انتقالات یونی بویژه یون های سدیم و پتاسیم بوده که همچنین انرژی لازم را جهت نقل و انتقال سایر یونها فراهم می کند (Khodabandeh و همکاران، ۲۰۰۹؛ Nebel و همکاران، ۲۰۰۵). هیچگونه ایمونوفلورسانسی در گلوامورول ها (چه در لارو و چه در بچه ماهی) مشاهده نگردید، این امر مطابق با نتایج مطالعات پیشین از جمله در باس دریایی، *Dicentrarchus labrax* (Nebel و همکاران، ۲۰۰۵) و تاسماهی ایرانی، *Acipenser persicus* (Khodabandeh و همکاران، ۲۰۰۹) می باشد، عدم وجود ایمونوفلورسانس در گلوامورول ها مطابق با نقش این بخش می باشد که عمل فیلتراسیون خون را بدون صرف انرژی و استفاده از ناقلین یونی و تنها براساس فشار خون انجام می دهد.

ایمونوفلورسانس مشاهده شده در بافت کلیوی بچه ماهیان سفید نیز مشابه با آنچه در لارو این ماهی مشاهده گردید بود، به این صورت که توبول های پروکسیمال دارای میزان اندکی فلورسانس و توبول های دیستال دارای ایمونوفلورسانس بسیار قوی بودند، مجرای جمع کننده و میزناهی نیز دارای ایمونوفلورسانس بسیار شدیدی بودند. نتایج مشابهی در مطالعه ی بافت کلیوی ماهی یخی بالغ، *Chionodraco hamatus* (Masini و همکاران، ۲۰۰۱) نیز گزارش شده است. سلول های توبول های پروکسیمال در بازجذب فیلترای گلوامورولی حاوی  $\text{Na}^+$ ،  $\text{Cl}^-$ ،  $\text{HCO}_3^-$ ، گلوکز، اسیدهای آمینه، ویتامین ها، پروتئین های کوچک ملکول و سایر الکترولیت ها نقش دارند (Hickman و Trump، ۱۹۶۹؛ Dantzler، ۲۰۰۳). یون سدیم بصورت فعال بوسیله ی آنزیم  $\text{Na}^+$ ،  $\text{K}^+$ -ATPase از غشای قاعده ای - جانبی سلول های توبول های پروکسیمال عبور می کند، در حالیکه بازجذب یون کلر بصورت غیرفعال رخ می دهد (Dantzler، ۱۹۹۲). برخلاف آنچه در پستانداران و پرندگان دیده می شود که ۹۹٪ یون های سدیم و کلر فیلتر شده، بازجذب می شوند، تنها ۳۵-۹۷٪ این یون ها در خزندگان، دوزیستان، لامپری های آب شیرین و تلئوست های دارای کلیه های گلواموروله بازجذب می گردد (Dantzler، ۱۹۹۲). علاوه بر نقشی که توبول های پروکسیمال در بازجذب ایفا می کنند، سلول های اپی تلیال این توبول ها در ترشح یون های  $\text{Na}^+$ ،  $\text{Cl}^-$  و یون های دو ظرفیتی در ماهیان الاسموبرانش (Frömter و Beyenbach، ۱۹۸۵) و ماهیان دریازی و یوری هالین (Beyenbach، ۱۹۸۶؛ Beyenbach و Baustian، ۱۹۸۹؛ Dantzler، ۱۹۹۲؛ Beyenbach، ۱۹۹۵؛ Liu و Beyenbach، ۱۹۹۶) نیز نقش دارند. در کلیه های گلواموروله ی فلاندر زمستانی، *Pseudopleuronectes americanus* کوسه ی سگ ماهی، *Squalus acanthias* و کیلی فیش، *Fundulus heteroclitus*، یون های



$Na^+$  و  $Cl^-$  مهمترین مایعات و الکترولیت های ترشح شده توسط توبول های پروکسیمال هستند (Beyenbach, ۱۹۹۵). دو قطعه ی توبول پروکسیمال، پروکسیمال I و پروکسیمال II در الاسموبرانش ها، ماهیان خاویاری، موش ماهیان، و تلوست های دارای کلیه های گلومروله (مانند ماهی سفید) مشاهده می شود (Hentschel و Elger, ۱۹۸۹). مطالعات نشان می دهد که ترشح یون های  $Na^+$ ،  $Cl^-$  و  $P_i$  در طول توبول پروکسیمال II رخ می دهد (Beyenbach, ۱۹۸۶؛ Elger و همکاران، ۱۹۹۸) در حالی که توبول پروکسیمال I که نسبتا کوتاهتر است مکان بازجذب یون ها محسوب می شود (Elger و همکاران، ۱۹۹۸).

#### ۵-۱-۶- چشم و بینایی

بینایی نقش مهمی در مراحل اولیه ی زندگی ماهی دارد. میزان دقت و تشخیص بینایی ماهیان در طی روند انتوزنی بهبود می یابد (Otten, ۱۹۸۱؛ Blaxter, ۱۹۸۶؛ Fernald, ۱۹۹۱؛ Miller و همکاران، ۱۹۹۳). این تغییرات در بینایی می تواند به دوری جستن بهتر از شکارچیان، به دلیل دیدن بهتر شکارچیان (Gamble و Fuiman, ۱۹۸۷؛ Batty, ۱۹۸۹؛ Blaxter و Fuiman, ۱۹۹۰) و به افزایش پیدا کردن طعمه (Rosenthal و Hempel, ۱۹۷۱؛ Blaxter و Staines, ۱۹۷۱؛ Confer و Blades, ۱۹۷۵؛ O'Brien, ۱۹۷۹؛ Eggers, ۱۹۷۷؛ Breck و Gitter, ۱۹۸۳؛ Wright و O'Brien, ۱۹۸۴؛ Wanzenböck و Schiemer, ۱۹۸۹؛ Browman و O'Brien, ۱۹۹۲) کمک کند.

در زمان تفریح، چشم در لارو بیشتر گونه های ماهیان تلوست تمایز نیافته است. چشم در این مرحله از عدسی و شبکیه ای که کاملا تمایز نیافته است تشکیل شده است. در زمان شروع تغذیه ی خارجی تنها فتورسپتورهای مخروطی در شبکیه دیده می شوند (Blaxter, ۱۹۷۵؛ Kawamura و همکاران، ۱۹۸۴). سلولهای مخروطی دوتایی دیرتر و در طی روند نمو بوجود می آیند، و سلول های استوانه ای در طی یا پس از ورود به دوران جوانی یا بلوغ تشکیل می شوند، این موارد در *Clupea harengus* (Blaxter و Jones, ۱۹۶۷؛ Sandy و Blaxter, ۱۹۸۰)، *Solea solea* (Sandy و Blaxter, ۱۹۸۰)، *Pagrus major* (Kawamura و همکاران، ۱۹۸۴)، و *Hippoglossus hippoglossus* (Kvenseth و همکاران، ۱۹۹۶) گزارش شده اند. به بیان دیگر مطالعات نشان می دهد که در برخی گونه ها، برخی سلول های مخروطی در دوران جنینی شکل می گیرند در حالی که سلول های استوانه ای تنها پس از پایان دوران جنینی (Sandy و Blaxter, ۱۹۸۰؛ Jhons, ۱۹۸۲) شکل گرفته و در طول نمو لارو تا مرحله ی بلوغ به رشد و تکثیر خود ادامه می دهند (Jhons و Fernald, ۱۹۸۱؛ Szamier و Ripps, ۱۹۸۳).

اگر چه تغییرات زیادی در شکل و ساختار چشم در گونه های مختلف ماهیان دیده می شود، اما طرح کلی آن در بین ماهیان مختلف مشابه است. قسمت های عمده ی چشم، مانند آنچه که در سایر مهره داران دیده می شود، شامل اتاق جلویی، عنبیه، عدسی، اتاق پشتی که حاوی مایع زجاجیه است و توسط شبکیه مفروش شده است. چشم در بخش جلویی، اندکی پهن شده بطورتی که عدسی کروی، تقریبا در تماس با قرنیه قرار می گیرد. قرنیه

بخش شفافی از لایه ی صلبیه ی چشم به شمار می رود. لایه ی مشیمیه که دارای مویرگ های خونی بسیاری می باشد بین لایه های شبکیه و صلبیه قرار گرفته است (Kvenseth و همکاران، ۱۹۹۶). لایه ی شبکیه که نقش اساسی را در فرآیند بینایی برعهده دارد، متشکل از یک بافت پوششی رنگدانه دار، سلول های بینایی یا فتورسپتورها (شامل سلول های استوانه ای و مخروطی)، سلول های دو قطبی و نزدیک ترین لایه نسبت به مایع زجاجیه، یعنی سلول های گانگلیونی و رشته های عصبی است که به عصب بینایی منتهی می شوند، می باشد (Sandy و Blaxter، ۱۹۸۰؛ Kvenseth و همکاران، ۱۹۹۶).

در نخستین روز تفریح، لارو تازه هیچ شده ی ماهی سفید، ساختار کامل شبکیه و کره ی چشم را با تمام اجزایش دارا می باشد، این وضعیت نشان دهنده ی نمو مستقیم چشم و سیستم بینایی می باشد (Evans و Fernald، ۱۹۹۰) و با نمو چشم در ماهیانی که دارای مراحل دگردیسی هستند متفاوت است (Pankhurst و همکاران، ۱۹۹۳؛ Pankhurst و Butler، ۱۹۹۶؛ Pankhurst و Eagar، ۱۹۹۶؛ Pankhurst و Hilder، ۱۹۹۸؛ Shand و همکاران، ۱۹۹۹). در بچه ماهی سفید، ساختار کلی چشم و لایه های مختلف شبکیه مشابه با ساختار چشم در لارو این ماهی بوده و تنها تفاوت مربوط به اندازه ی چشم می باشد که بطور مشخصی بسیار بزرگتر شده است. رشد چشم در ماهیان تلتوست همراه با رشد اندازه ی بدن بوده و تا پایان رشد ادامه می یابد (Easter و همکاران، ۱۹۷۷؛ Fernald، ۱۹۸۹). در اغلب مهره داران، تولید سلول های عصبی در شبکیه در طول دوران جنینی و یا به فاصله ی کوتاهی پس از تولد تکمیل می شود. این در حالی است که در ماهیان تلتوست، تولید تشکیل سلول های جدید در شبکیه بجز اینکه در مراحل جنینی و لاروی صورت می گیرد، در دوران نوجوانی، جوانی تا بلوغ نیز ادامه می یابد (Müller، ۱۹۵۲؛ Wagner، ۱۹۷۴؛ Johns و Easter، ۱۹۷۷؛ Johns، ۱۹۷۷). این دوره ی طولانی تشکیل سلول ها در شبکیه، با رشد مشخص سطح چشم در بسیاری از ماهیان همراه بوده بگونه ای که سطح شبکیه می تواند در عرض تنها چند سال به بیش از ۱۰۰ برابر گسترش یابد (Lyal، ۱۹۵۷). البته بخشی از این گسترش و افزایش در سائیز به گسترده شدن سلول هایی که از قبل وجود داشته اند مربوط می شود و باقی آن با سلول های تازه تشکیل یافته تکمیل می گردد.

#### ۵-۱-۷- مغز و سیستم عصبی

مغز در لارو و بچه ماهی سفید متشکل از مغز قدامی یا پروزن سفالون (Prosencephalon)، مغز میانی یا مزن سفالون (Mesencephalon) و مغز خلفی یا رومین سفالون (Rombencephalon). مغز قدامی، خود به دو بخش تلو سفالون و دین سفالون تقسیم می شود. بنابراین پنج زیربخش ساختمان مغز به ترتیب شامل: تلو سفالون، دین سفالون، مزن سفالون، متن سفالون و میلن سفالون می باشند.

تلن سفالن (telencephalon) شامل لوب های بویایی (olfactory lobes) و نیمکره های مغزی (cerebral hemispheres)، دین سفالن (diencephalon) شامل اپی تالاموس، تالاموس و هیپوتالاموس، مزن سفالن (mesencephalon) شامل لوب های بینایی (optic lobes) و تگمنتوم (tegmentum)، متن سفالن

(metencephalon) شامل مخچه (cerebellum)، و میلن سفالن (myelencephalon) شامل بصل النخاع (medulla oblongata). بصل النخاع در انتها پهن شده و نخاع (spinal cord) را بوجود می آورد که در بخش مرکزی آن کانال باریکی قابل مشاهده است که ادامه ی بخش عقبی سیستم بطنی مغز می باشد. تلم سفالن نسبت به همین بخش در مغز پستانداران کاهش یافته است و از لوب های بویایی و نیمکره های مغزی (مخ یا Cerebrum) تشکیل شده است. بطن های مغزی تاحدی در این بخش قابل مشاهده هستند. بخش دین سفالن یا مغز میانی به دو بخش اپی تالاموس پستی که ایجاد کننده ی غده ی پینه آل، گانگلیون هابنولار (Cerebrum habenular ganglion) و خود تالاموس است، و بخش دوم هیپوتالاموس که در موقعیت شکمی قرار گرفته است. مزن سفالن بزرگ بوده و توسط لایه های تکتوم بینایی (optic tectum) پوشیده می شود، و در بخش زیرین آن تگمنتوم (tegmentum) دیده می شود. تکتوم بینایی از نظر ظاهر کلی به دو لوب بینایی تقسیم شده و ظاهر لایه لایه ای دارد. مخچه مهمترین بخش پستی متن سفالن است. نقش این بخش، تنظیم هماهنگی بین پاسخ های حرکتی است، همانطور که در سایر مهره داران دیده می شود. مخچه بخوبی توسعه یافته است.

بصل النخاع (medulla oblongata) بخش اساسی تشکیل دهنده ی مغز عقبی بوده و در بخش دمی (caudal) آن نخاع شکل می گیرد. در نخاع (spinal cord)، ماده ی خاکستری تفاوت زیادی با آنچه در مهره داران عالی تر دیده می شود دارد، در این بخش شاخ های ماده ی خاکستری بسیار به هم نزدیک می باشند به شکلی که ماده ی سفید در بین آنها به سختی دیده می شود و ماده ی خاکستری به شکل حرف Y دیده می شود.

نورون ها و سلول های نوروگلیا بخش سلولی مغز و نخاع را تشکیل می دهند. بخش تلم سفال در ماهیان با این بخش در مغز سایر مهره داران متفاوت است. بطن های جانبی یا اصلا وجود ندارند و یا توسط بافت عصبی احاطه شده اند. در سال ۱۸۹۳، Gage بیان کرد که آرایش غیرمعمول مغز جلویی به این دلیل است که دیواره های جانبی آن در طی نمو به سمت بیرون چین می خورند، این در حالی است که در سایر مهره داران، این بخش ها به سمت داخل خم می شوند. سپس در سال ۱۸۹۶، Studnička نیز این عقیده را مبنی بر چین خوردگی دیواره های جانبی مغز جلویی تایید کرد و در نهایت این نظر با عنوان تئوری واژگونی شناخته شد و در گونه های مختلف ماهیان مطالعه گردید، (Johnston، ۱۹۱۱؛ Holmgren، ۱۹۲۰؛ Kuhlbeck، ۱۹۲۹؛ Meader، ۱۹۳۹؛ Nieuwenhuys، ۱۹۶۲ a و b، ۱۹۶۳، ۲۰۰۹؛ Bannister، ۱۹۷۳ و Butler، ۲۰۰۰). اخیرا نشان داده شده است که در بخش های پستی و گیجگاهی تلم سفالن در ماهیان تلتوست، دو ناحیه وجود دارد: ناحیه ی پستی، که مشخصا وارونه شده است، و ناحیه ی شکمی که بصورت جانبی رشد کرده و در فرآیند وارونه شدن دخالت نداشته است، بنابراین می توان نظریه وارونگی را به صورت وارونگی گیجگاهی موضعی تکمیل نمود (Wullimann و Rink، ۲۰۰۲؛ Wullimann و Mueller، ۲۰۰۴؛ Mueller و Wullimann، ۲۰۰۹؛ Wullimann، ۲۰۰۹).

بیشتر مطالعات بر روی مغز و سیستم عصبی ماهیان در زمینه ی بررسی جزئیات بخش های مختلف مغز بوده و مطالعات اندکی در زمینه ی مقایسه ی میان مغز گونه های مختلف ماهیان با یکدیگر صورت گرفته است (Ferreiro-Galve و همکاران، ۲۰۰۸؛ Wullimann و Rink، ۲۰۰۲؛ Nieuwenhuys، ۲۰۱۱) براساس این مطالعات تفاوت هایی میان مغز ماهیانی که در اکوسیستم های مختلف زندگی می کنند وجود دارد که این امر وابسته به نیازهای عصبی هر ماهی در محیط مخصوص به خود می باشد. برای مثال تفاوت های قابل توجهی میان اندازه ی نسبی تلم سفالن و نیز اندازه ی نسبی و مورفولوژی خارجی (میزان چین خوردگی) نیمکره های مخ میان کوسه ها و ماهیان تلتوست دیده می شود (Collin و Lisney، ۲۰۰۶). هنوز دلیل اینکه این مناطق در مغز کوسه ماهیان در مقایسه با ماهیان تلتوست گسترش بیشتری دارد به خوبی شناخته نشده است، چرا که هنوز بسیاری از عملکردهای این بخش ها در مغز هر دو گروه ناشناخته باقی مانده است (Meek و Nieuwenhuys، ۱۹۹۸؛ Smeets، ۱۹۹۸؛ New، ۲۰۰۱). در هر دو گروه کوسه ها و ماهیان تلتوست، گونه های پلاژیک در مقایسه با گونه های ساحلی و یا وابسته به آبسنگ های مرجانی دارای تلم سفالن با اندازه ی نسبی کوچک تری می باشند (Northcutt، ۱۹۷۸؛ Huber و همکاران، ۱۹۹۷)، این امر نشان دهنده ی نقش مغز در ماهیانی است که در محیط های پیچیده و دارای ساختارهای متعدد زندگی می کنند. با این حال مغز در گونه هایی از ماهیان پلاژیک مانند کوسه ماهی *Carcharhinus falciformis* و ماهی تلتوست *Coryphaena hippurus* مشخصا بزرگ و قابل توجه می باشد، این امر می تواند به رفتار زندگی این ماهیان ارجاع داده شود برای مثال مشخص شده است که کوسه های خانواده ی *Carcharhinidae* جانورانی اجتماعی بوده و گله هایی متشکل از ده تا بیش از هزاران فرد را تشکیل می دهند و دارای رفتارهای اجتماعی و تولیدمثلی بسیار پیچیده ای از جمله رقص های تولیدمثلی و سلسله مراتب اجتماعی می باشند (Johnson و Nelson، ۱۹۷۳؛ Gruber و Myrberg، ۱۹۷۷؛ Ritter و Godknecht، ۲۰۰۰). البته همانطور که Kotrschal و همکاران (۱۹۹۸) بیان کرده است، اندازه ی تلم سفالن ممکن است وابسته به پیچیدگی زیستگاه نباشد، و به جای آن با رفتارهای اجتماعی پیچیده و برهمکنش های درون و بین گونه ای که بطور ویژه در ماهیان آبسنگ های مرجانی دیده می شود متناسب باشد، به عنوان مثال بزرگی اندازه ی نسبی در تلم سفالن در گونه های *C. falciformis* و *C. hippurus* را می توان به رفتارهای اجتماعی پیچیده ی این ماهیان در اجتماعشان نسبت داد (Kotrschal و همکاران، ۱۹۹۸؛ Bshary و همکاران، ۲۰۰۲). از دیرباز، اندازه ی مخچه با میزان پیچیدگی رفتارهای حرکتی ماهیان نسبت داده شده است (Bauchot و همکاران، ۱۹۷۷؛ New، ۲۰۰۱) ولی علیرغم کمی اطلاعات در مورد این بخش از مغز ماهیان، بطور عمومی پذیرفته شده است که این بخش از مغز مشخصا در رفتارهای عصبی- حرکتی نقش بسیار مهمی دارد (Meek و Nieuwenhuys، ۱۹۹۸؛ Nieuwenhuys و همکاران، ۱۹۹۸؛ Smeets، ۱۹۹۸؛ New، ۲۰۰۱). برای مثال اندازه ی مخچه و میزان چین خوردگی های آن در کوسه ماهیان *Alopias*

*C. falciformis* و *superciliosus* بسیار قابل توجه می باشد، و این گونه ها از قدرت بالای شنا برخوردار می باشند (Compagno, ۱۹۸۴).

رشد مغز رابطه ی آلومتریکی معکوسی با رشد بدن دارد (Northcutt و همکاران، ۱۹۷۸)، چرا که هم از نظر انتوژنیک و هم از نظر فیلوژنیک، ماهیان کوچک تر دارای مغز با اندازه ی نسبی بزرگتر (و برعکس) می باشند (Bauchot و همکاران، ۱۹۸۲؛ Brandstaetter و Kotrschal، ۱۹۹۰؛ Ridet و Bauchot، ۱۹۹۰). مغز ماهیان آرایش معمول مغز بیشتر مهره داران را نشان می دهد. وجود تعداد اندکی مسیرهای خروجی از مغز سبب شده است که بخش زیادی از سیستم حرکتی در ماهیان توسط نخاع کنترل گردد (Northcutt و Davis، ۱۹۸۳؛ Northcutt و Davis، ۱۹۸۳؛ Nieuwenhuys و همکاران، ۱۹۹۸) که البته سیستم مانتر که جهت فرارهای ناگهانی در مغز دیده می شود از این امر استثناست. سیگنال های حسی دریافت شده از بخش های مختلف بدن از راه اعصاب ویژه ی مغزی به مغز می رسند، این اعصاب شامل سه قلو (V)، چهره ای (VII)، واگ (X) و سه عصب خط جانبی (دو جلویی و یک خلفی). نخاع در بخش جلویی، به ساقه ی مغز و مزن سفالن و دین سفالن متصل می گردد. مخچه از بخش فوقانی-جلویی نخاع برآمده و یک جفت لوب های بینایی مزن سفالن را می پوشاند. تلو سفالن از یک جفت نیمکره های مغزی تشکیل شده است که در جلوی آنها لوب های بویایی قرار گرفته اند. ساقه ی مغز مرکز اصلی تمام ساختارهای حسی بدنی بجز بویایی و بینایی می باشد (Allis، ۱۸۹۷؛ Johnston، ۱۹۰۱؛ Herrick، ۱۹۰۶؛ Ariens Kappers و همکاران، ۱۹۶۷؛ Northcutt، ۱۹۹۶؛ Webb و Northcutt، ۱۹۹۷). سقف بطن چهارم نیز توسط شبکه ی کوروئید پوشیده شده است که درجات مختلفی از تمایز را در ماهیان مختلف از خود نشان می دهد (Weiger و همکاران، ۱۹۸۸).

## ۵-۲- بررسی اثرات آترازین بر لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر

### ۵-۲-۱- تعیین میزان LC50 علف کش آترازین برای لارو و بچه ماهی سفید

میزان LC50 ۹۶ ساعته ی علف کش آترازین برای لارو و بچه ماهی سفید با توجه به محاسبه ی انجام گرفته توسط نرم افزار Probit 1.5، به ترتیب ppm ۱۸/۵۳ و ppm ۲۴/۹۵ محاسبه گردید. در زمان انجام LC50 بر روی لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید، ماهیان در برخورد با آترازین رفتارهای مختلفی از خود بروز دادند. در ابتدای مواجهه با آترازین، بویژه در غلظت های بالا، لاروها بی حرکت مانده و در پاسخ به تغییر ناگهانی در محیط اطراف چندثانیه ای شنای خود را متوقف می کردند، پس از گذشت چند ثانیه شروع به شنای سریع کرده و سعی در فرار از آب حاوی آترازین داشتند، بسیاری از لاروها، حرکات "دارت" گونه ای به سمت سطح آب داشته، اما پس از رسیدن به سطح آب مانند ماهیان مرده و بدون شنا کردن به طرف کف ظرف سقوط می کردند، و چند ثانیه ای در کف ظرف به پهلو باقی مانده و در صورت ضربه زدن به دیواره ی ظرف، مجدداً با حرکت دارت گونه ای به سطح آب نزدیک می شده و مجدد به کف ظرف می افتادند. و پس از گذشت مدت زمانی (بسته به میزان غلظت آترازین) می مردند.

در هنگام انجام بخش LC50 و نیز در چهار روز مواجهه ی بچه ماهیان با آترازین به مدت چهار روز، تغییرات رفتاری در بچه ماهیان مشاهده گردید، همانند آنچه که در مطالعه ی لاروها مشاهده شد، در ابتدای مواجهه ی بچه ماهیان با آترازین، شنای خود را متوقف کرده و به نظر می رسد که نسبت به تغییر ناگهانی در محیط اطراف خود واکنش نشان می دهند. پس از گذشت چند ثانیه، بویژه در غلظت های بالاتر آترازین، با شنای سریع به اطراف سعی در فرار از آب آلوده داشتند. فعالیت سرپوش آبششی افزایش یافته و ماهیان جهت تنفس به سطح آب نزدیک تر می شدند. در آکواریوم های با غلظت بیشتر آترازین، رفتار شنای عمودی به سمت سطح آب نیز در ماهیان مشاهده گردید. در چنین آکواریوم هایی، مقادیر زیادی موکوس از سرتاسر بدن ترشح می شد، این موکوس حتی در محفظه ی دهانی و آبششی نیز بوضوح قابل مشاهده بود. در نهایت ماهیان تعادل خود را از دست داده و به پهلو در کف آکواریوم سقوط کرده و تا مدتی به این حالت باقی می ماندند، در صورت ضربه زدن به دیواره ی آکواریوم این بچه ماهیان به حرکت سریع به سمت سطح آب رفته و مجدداً به کف آکواریوم سقوط می کردند. همچنین به نظر می رسد که در ساعات ابتدایی مواجهه ی ماهیان با آترازین در آب، رفتار تهاجمی این ماهیان به شدت افزایش یافته و به یکدیگر حمله می کردند، این رفتار در روزهای پایانی مشاهده نشد.

ماهیان، جاندارانی شاخص جهت مطالعات اکوتوکسیکولوژی به شمار می روند چرا که نقش مهمی در زنجیره های غذایی اکوسیستم داشته، قابلیت تجمع مواد سمی در بدن خود را دارند، و به غلظت های اندک آلاینده ها در محیط واکنش نشان می دهند (Cavas و Ergene-Gözükara، ۲۰۰۵)، به همین دلیل، بکارگیری بیومارکرهای ماهیان به عنوان شاخصی جهت برآورد میزان آلودگی های محیطی از اهمیت فوق العاده ای برخوردار بوده و به کمک آن می توان مراحل ابتدایی آلودگی را در یک اکوسیستم تعیین نمود (Lopez-Barea، ۱۹۹۶؛ Van Der Oost و همکاران، ۲۰۰۳). داده های حاصل از بررسی سمیت در محیط های آبی می تواند به عنوان راهنمای کیفیت آب مورد استفاده قرار گیرد (Sunderam و همکاران، ۱۹۹۴). نتایج حاصل از اندازه گیری LC50 (غلظت کشنده ی ۵۰٪ جمعیت) آترازین نشان می دهد که سمیت آترازین در *R. frisii kutum* وابسته به مدت زمان مواجهه و نیز غلظت می باشد. این در حالی است که برخی محققین نشان داده اند که سمیت آترازین می تواند وابسته به مدت زمان مواجهه نباشد (Lakota و همکاران، ۱۹۸۹). غلظتی از آترازین که به عنوان غلظت کشنده ی نیمی از جمعیت (LC50) محاسبه گردید، بیشتر از غلظت هایی بود که بیشتر توسط Bathe و همکاران (۱۹۷۳) برای خورشیدماهی آبشش آبی *Lepomis macrochirus* به میزان ۱۶ میلی گرم بر لیتر؛ Neškovic و همکاران (۱۹۹۳) برای کپور معمولی، *Cyprinus carpio* به میزان ۱۸/۸ میلی گرم بر لیتر؛ و Hussein و همکاران (۱۹۹۶) برای تیلاپیا، *Oreochromis niloticus* به میزان ۹/۳۷ میلی گرم بر لیتر گزارش گردیده است. سمیت مواد شیمیایی برای جانداران آبی تحت تاثیر سن، اندازه، و میزان سلامت گونه ها می باشد (Abdul-Farah و همکاران، ۲۰۰۴). پارامترهایی مانند کیفیت آب، دما، pH، اکسیژن محلول، کدورت آب، میزان حضور گیاهان آبی، غلظت و فرمول ترکیب شیمیایی مورد استفاده نیز می توانند بطور مشخصی بر نتایج

اثرات سمیت تاثیر داشته باشند (Gupta و همکاران، ۱۹۸۱؛ Young، ۲۰۰۰). ماهیان مواجهه شده با غلظت های بالای آترازین استرس بالایی را پیش از مرگ تجربه کردند. نقص تنفسی ناشی از اثرات سمی آترازین بر بافت آبششی *R. frisii kutum* مشابه با نتایج Abdul-Farah و همکاران (۲۰۰۴)؛ De Mel و Pathiratne (۲۰۰۵)؛ Tilak و همکاران (۲۰۰۷)؛ Ayoola (۲۰۰۸)، می باشد که نشان داده اند که آفت کش ها در عملکرد اندام های تنفسی اختلال ایجاد می کنند. در هر صورت، مرگ جاندار ممکن است بصورت مستقیم و در اثر ویژگی های سمی ماده ی آلاینده رخ دهد و یا بصورت غیرمستقیم و به دلیل نامساعد کردن محیط اطراف و یا هردوی این عوامل با یکدیگر اتفاق افتد. رفتار غیرطبیعی مشاهده شده در هنگام مواجهه ی ماهیان با آترازین در مطالعه ی حاضر مشابه با نتایج Hussein و همکاران (۱۹۹۶) بر روی *Oreochromis niloticus* و *Chrysichthys auratus*، Pandey و همکاران (۲۰۰۵) بر روی *Channa punctatus* و Chandra (۲۰۰۸) بر روی *Heteropneutes fossilis* می باشد. از سوی دیگر در مطالعه ای که توسط Alvarez و Fuiman (۲۰۰۵) بر روی لارو ماهی درام سرخ صورت گرفته است نشان داده شده است که مواجهه با دوزی برابر با غلظت محیطی و زیر حد کشنده ی آترازین (۴۰-۸۰ میکروگرم بر لیتر)، که در رواناب های پس از توفان دیده می شود می تواند سبب کاهش نرخ رشد، افزایش سرعت شنا، شنا در مسیرهای مارپیچی و نیز افزایش تحرکات لاروها نسبت به گروه شاهد گردد. این تغییرات در رفتار همچنین موجب دو برابر شدن نرخ کلی متابولیسم در لاروهای مواجهه شده با آترازین می گردد. Alvarez و Fuiman (۲۰۰۵) پیشنهاد داده اند که این امر می تواند سبب افزایش مرگ و میر شده و منجر به کاهش حدود ۲۴٪ در جمعیت ماهیان جوان گردد.

#### ۵-۲-۲- اثرات آترازین بر رشد و ویژگی های مورفولوژیک لارو و بچه ماهی سفید

لارو ماهی سفید به مدت ۷ روز در مواجهه با ۳ غلظت زیرحد کشنده (sublethal) از آترازین و نیز در آب فاقد آترازین (به عنوان شاهد) قرار گرفتند. در طول این دوره هیچگونه مرگ و میری در لاروهای مورد آزمایش مشاهده نگردید. همچنین بچه ماهیان سفید نیز به مدت چهار روز در مواجهه با یک غلظت تحت کشنده ی آترازین قرار گرفتند و در طول این چهار روز هیچگونه مرگ و میری در آنها مشاهده نگردید. بررسی طول و وزن لاروها و بچه ماهیان در گروههای مواجهه شده با آترازین و شاهد (آب فاقد آترازین) نشان داد که هیچگونه تفاوت آماری معنی داری میان گروههای مورد آزمایش وجود ندارد. همچنین جهت برآورد وضعیت رشد لاروها و بچه ماهیان در تیمار شاهد و تیمار غلظت های مختلف آترازین، فاکتور وضعیت بدنی محاسبه گردید که مقایسه میانگین این مقادیر با گروه های شاهد نشان می دهد که اختلاف آماری معنی داری وجود ندارد. رابطه ی طول-وزن در ماهی یکی از ابزارهای مهم مطالعات شیلاتی به شمار می رود. این رابطه نشان دهنده ی میانگین وزنی یک گروه طولی است (Beyer، ۱۹۸۷) و نشان دهنده ی سلامت یک جمعیت ماهی می باشد (Bolger و Connolly، ۱۹۸۹). در نتیجه ی مطالعه ی طولی-وزنی ماهیان بطور وسیعی مورد استفاده قرار گرفته است که از میان آنها می توان به Shenouda و همکاران (۱۹۹۴) بر روی گونه های *Chrysichthys* در بخش جنوبی

رودخانه ی نیل در مصر؛ Alfred-Ockiya و Njoku (۱۹۹۵) بر روی کفال رودخانه ی نیوکالابار؛ Ahmed و Saha (۱۹۹۶) بر روی کپورماهیان دریاچه ی کپیتال در بنگلادش؛ King (۱۹۹۶) بر روی ماهیان آب شیرین نیجریه؛ Hart (۱۹۹۷) بر روی *Mugil cephalus* در مصب بونی؛ Diri (۲۰۰۲) بر روی *Tilapia guineensis* در خلیج الچی، Abowei (۲۰۱۰) بر روی *Ilisha africana*؛ فلاحی و همکاران (۱۳۸۳) بر روی لارو ماهی سفید، *Rutilus frisii kutum*؛ یوسفیان و همکاران (۱۳۸۷) بر روی بچه تاسماهی ایرانی، *Acipenser persicus*؛ و حسین زاده صحافی و همکاران (۱۳۸۷) بر روی بچه ماهی نرس کپور هندی روهو، *Labeo rohita* اشاره کرد. ضریب وضعیت بدنی نشان دهنده ی وضعیت سلامت ماهی براساس این فرضیه است که ماهیان سنگین تر در یک محدوده ی طولی از وضعیت بهتری برخوردار هستند (Bagenal و Tesch، ۱۹۷۸). به همین دلیل ضریب وضعیت بدنی به عنوان شاخصی از رشد و وضعیت تغذیه مورد استفاده قرار می گیرد (Fagade، ۱۹۷۹). ضریب وضعیت با افزایش طول کاهش می یابد (Fagade، ۱۹۷۹)، و همچنین تحت تاثیر سیکل های تولیدمثلی ماهی نیز قرار می گیرد (Welcome، ۱۹۷۹). ضریب وضعیت گونه های مختلفی از ماهیان سیچلید توسط Siddique (۱۹۷۷)، Fagade (۱۹۷۸، ۱۹۷۹ و ۱۹۸۳)، Dodzie و Wangila (۱۹۸۰)، Arawomo (۱۹۸۲) و Oni و همکاران (۱۹۸۳) گزارش شده است. ضریب وضعیت برخی گونه های دیگر نیز گزارش شده است که از میان آنها می توان به Alfred-Ockiya (۲۰۰۰)، برای *Chana chana* در آب های شیرین تالاب های دلتای رودخانه ی نیجر؛ Hart (۱۹۹۷) برای *Mugil cephalus* در مصب بونی؛ Abowei و Hart (۲۰۰۷)، برای ۱۰ گونه از ماهیان رودخانه ی نان، و Abowei و Davies (۲۰۰۹) برای *Clarotes lateceps*، در آب های شیرین پایین دست رودخانه ی نان اشاره کرد. در مطالعه ی حاضر هیچگونه اختلاف آماری معنی داری در گروه های مواجه شده با آترازین در مقایسه با گروه شاهد در ضریب وضعیت بدنی مشاهده نگردید، این نتایج نشان می دهد که تمامی ماهیان مورد مطالعه از نظر رشدی در یک وضعیت مشابه بوده و آترازین در غلظت زیر حد کشنده و مواجهه ی حاد نمی تواند بر رشد یا ضریب وضعیت بدنی لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر تاثیر داشته باشد، این در حالی است که در مطالعه ی Alvarez و Fuiman (۲۰۰۵) غلظت های تحت کشنده ی آترازین موجب کاهش میزان رشد در لارو ماهی دارم سرخ گردیده است، علاوه بر این مطالعات دیگری نیز نشان داده اند که آترازین برخی فرآیندهای بیولوژیک را از جمله رشد، متابولیسم، سیستم ایمنی و هورمونی را در گونه های مختلفی از قورباغه ها و ماهی ها تحت تاثیر قرار می دهد (Fatima و همکاران، ۲۰۰۷؛ Forson و Storfer، ۲۰۰۶؛ Freeman و Rayburn، ۲۰۰۵؛ Houck و Sessions، ۲۰۰۶؛ Nieves-Puigdollor و همکاران، ۲۰۰۷؛ Rowe و همکاران، ۲۰۰۸؛ Rymuszka و همکاران، ۲۰۰۷؛ Srinivas و همکاران، ۱۹۹۱). این امر نشان می دهد که گونه ی ماهی در پاسخ نسبت به یک آلاینده می تواند تاثیر قابل توجهی بر میزان اثرات داشته باشد.

مهمترین تغییر مورفولوژیکی که در لاروهای مواجه شد با آترازین مشاهده گردید تخریب باله های دمی، شکمی و پشتی، بصورت ایجاد شیارهای کوچک و یا بزرگ در باله ها بود. این تغییرات در لاروهای هر سه تیمار مشاهده



گردید و از نظر شدت، هر سه گروه وضعیت نسبتاً مشابهی داشتند، تنها به نظر می‌رسید که شدت این آسیب‌های به باله‌ها در گروه مواجه شده با غلظت بیشتر آترازین (۹/۲۶ میلی‌گرم بر لیتر) اندکی شدیدتر بود. تغییرات اندکی در سطح مورفولوژیک در بچه ماهیان مواجه شده با آترازین مشاهده گردید که در آسیب‌های جزئی و بسیار خفیف باله‌های دمی خلاصه می‌شد، البته در چند مورد محدود بویژه در چهارمین روز مواجهه با آترازین بچه ماهیانی مشاهده شدند که آسیب به باله‌های دمی بسیار شدید شده و تقریباً چنگال دمی بطور کامل آسیب دیده بود. مطالعاتی که پیشتر در زمینه‌ی بررسی اثرات مورفولوژیک آترازین بر جانداران مختلف انجام شده است نشان می‌دهد که در گورخر ماهی، *Danio rerio*، آترازین با غلظت ۱/۳ میکروگرم بر لیتر موجب افزایش میزان تغییر شکل بدنی و تورم در مراحل ابتدایی زندگی (Görge و Nagel، ۱۹۹۰) و در غلظت‌هایی بین ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند موجب تاخیر در ارگانوژنز در این ماهی گردد (Wiegand و همکاران، ۲۰۰۱). آسیب به باله‌ها بصورت تخریب و از بین رفتگی باله‌ها و کنده شدن باله‌های دمی از موارد مشخص اثرات آترازین به شمار می‌رود که پیشتر توسط Vethaak (۱۹۹۳) بیان شده است. تخریب باله‌ها یکی از معمول‌ترین علائمی است که در ماهیان استخوانی مشاهده می‌شود. مراحل ابتدایی تخریب باله‌ای بصورت ضخیم شدن اپی‌تلیوم در لبه‌های باله‌ها مشاهده می‌شود، با پیشرفت آسیب، تخریب بافت نرم باله و شکستگی لبه‌های باله‌ها مشاهده شده که در نهایت به تخریب کامل باله منتهی می‌گردد (ICES، ۱۹۹۶). مشاهده‌ی تخریب باله‌ها بطور وسیعی از ماهیان نمونه برداری شده از آب‌های با کیفیت پایین گزارش شده است و یکی از اصلی‌ترین بیماری‌های گزارش شده در نتیجه‌ی مواجهه‌ی ۶ گونه از ماهیان با فاضلاب شهری و کشاورزی در خلیج بوگت می‌باشد (Malins و همکاران، ۱۹۸۸). فراوانی تخریب باله‌ها در سوف و ماهی‌های طلایی، در مناطقی که دریافت‌کننده‌ی پساب مزارع نیشکر می‌باشند بسیار بالاست (Lindesjö و Thulin، ۱۹۹۰؛ ۱۹۹۴). همچنین تخریب باله‌ها در فلاندر زمستانی از مناطقی که به شدت آلوده به زنوبیوتیک‌های آلی (مانند PAHs، PCBs، DDT و مشتقات آنها) می‌باشند نشان‌دهنده‌ی رابطه‌ی معنی‌دار میان غلظت آلاینده‌ها در رسوبات، محتویات معده، و ترشحات صفر با میزان تخریب و خوردگی باله‌ها می‌باشد (Johnson و همکاران، ۱۹۹۲b). در مطالعه‌ی دیگری، van den Heuvel و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که همبستگی معنی‌داری میان فراوانی تخریب شدید باله‌ها در بالغین سوف زرد و میزان غلظت رسوبات آلاینده به نفت وجود دارد. تخریب باله‌ها تنها به گستره‌ی وسیعی از آلاینده‌ها وابسته نبوده، بلکه رابطه‌ی مثبتی با میزان غلظت آلاینده‌ها نیز از خود نشان می‌دهد. شیوع این ناهنجاری وابسته به گونه، جنسیت، سن و طول ماهی نمی‌باشد (Malins و همکاران، ۱۹۸۸؛ Lindesjö و Thulin، ۱۹۹۴). عوامل استرس‌زای شیمیایی که بر عملکرد سلول‌های موکوسی و یا اپی‌تلیوم پوست اثر می‌گذارند می‌توانند علت اصلی تخریب باله‌ها باشند (Sinderman، ۱۹۸۴). همچنین، این امکان وجود دارد که ماهیانی که در مواجهه‌ی مزمن با آلاینده قرار گرفته‌اند در معرض بیشتر این عارضه قرار گیرند و عفونت‌های باکتریایی و قارچی نیز به آن دامن‌بزند. هرچند که تخریب باله‌ها یک عارضه‌ی شاخص و مخصوص

گروه خاصی از آلاینده ها نمی باشد اما بوفور از آن در مطالعات پایش محیطی استفاده می شود، چرا که تشخیص خوردگی و تخریب باله ها بسیار آسان است، و از نظر اقتصادی هزینه ی خاصی در بر ندارد. به همین دلیل این ناهنجاری در ماهیان بوفور به عنوان یک اندیکاتور جهت برآورد کیفیت محیط در برنامه های مختلف پایشی مورد استفاده قرار می گیرد (Au, 2004).

### ۵-۲-۳- اثرات آترازین بر بافت آبششی

آبشش در روزهای ابتدایی مراحل نموی لارو سفید نمو اندکی داشته و برای مثال تیغه های آبششی بسیار کم تعداد و یا کوتاه هستند، اما در همین تعداد اندک نیز می توان جداسازی اپیتلیوم لاملایی، هایپرپلازی سلول های اپی تلیوم آبششی، ضخیم شدگی فیلامنت، تورم در سلول های تیغه های آبششی، شامل سلول های سنگفرشی پوشاننده ی تیغه ها، نکروز سلول های اپی تلیومی، تورم و هایپرپلازی سلول های اپی تلیومی تیغه های آبششی همی برانش آبششی و نکروز سلول های اپی تلیومی همی برانش آبششی را مشاهده نمود. این تغییرات در هر سه گروه آزمایشی مواجه شده با آترازین مشاهده می شوند اما به نظر می رسد که میزان اثرات در بافت آبششی متناسب با میزان غلظت آترازین بوده و در گروه مواجه شده با بیشترین غلظت آترازین، میزان آسیب ها شدیدتر بوده و با کاهش غلظت در دو گروه دیگر، اثرات نیز خفیف تر می شود. مطالعات ایمونوهیستوشیمی گروه مواجه شده با بیشترین غلظت آترازین (۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر) و گروه شاهد نشان داد که روند افزایش تعداد سلول های یونوسیت آبششی در طول دوره ی آزمایش در لاروهای مواجه شده با آترازین با شیب کندتری نسبت به گروه شاهد ادامه می یابد. مقایسه ی آماری میانگین تعداد سلول های یونوسیت آبششی در این چهار روز بین دو گروه شاهد و آترازینی هیچگونه تفاوت آماری معنی داری را نشان نمی دهد، اما بطور کلی تعداد سلول ها در گروه شاهد بیشتر از گروه مواجه شده با آترازین هستند. اندازه گیری سلول های یونوسیت آبششی به کمک نرم افزار Image Tools، نشان داد که میانگین طول این سلول ها در گروه شاهد ۱۰/۷۹ و میانگین پهنای این سلول ها در همین گروه ۶/۲۷ میکرون می باشد. این مقادیر (طول و پهنای) در سلول های یونوسیت آبششی گروه آترازینی به ترتیب ۱۱/۲۱ و ۶/۸۷ میکرون اندازه گیری گردید. مقایسه ی آماری این مقادیر نشان داد که هر چند ابعاد این سلول ها در گروه آترازینی اندکی بزرگتر می باشد، اما اختلاف آماری معنی داری وجود ندارد. همچنین مطالعات فراساختاری به کمک میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان می دهد که تغییراتی مانند نکروز در اپی تلیوم تیغه ها و رشته های آبششی و کاهش برجستگی های راسی سلول های سنگفرشی اپی تلیوم آبششی در بافت آبششی اتفاق افتاده است. از سوی دیگر مطالعه ی فراساختاری بوسیله ی میکروسکوپ الکترونی گذاره نشان دهنده ی تغییراتی مانند تغییر در ساختار درونی میتوکندری ها به شکل تغییرات در کریستاها و نکروز در بخش هایی از شبکه ی اندوپلاسمی خشن می باشد.

در بچه ماهیان مواجه شده با آترازین، تغییرات متعددی در بافت آبششی مشاهده گردید، مهمترین این تغییرات شامل: جداسازی اپی تلیوم تیغه های آبششی، ضخیم شدگی رشته های آبششی، اتصال تیغه های آبششی

مجاور، جدادگی اپی تلیوم تیغه های آبششی و نکروز سلول های اپی تلیوم در همی برانش آبششی، نکروز سلول های اپی تلیومی تیغه های آبششی، پرخونی در تیغه های آبششی، ادم در سلول های سنگفرشی اپی تلیوم تیغه های آبششی، جدادگی اپی تلیوم روی خارهای آبششی می باشد. تغییر بافتی قابل ملاحظه ای در بافت سودوبرانش مشاهده نگردید و تنها به نظر می رسد که این بافت دچار پرخونی شده است. مطالعات ایمونوهیستوشیمی نشان داد که از نظر پراکنش سلول های یونوسیت در بافت آبششی تفاوتی میان گروه شاهد و گروه مواجه شده با آترازین وجود ندارد و این سلول ها در بافت آبششی، بر روی کمان آبششی، بر روی فیلامنت ها و در پایه ی لاملاها، سودوبرانش و همی برانش دیده می شوند. شمارش تعداد سلول های یونوسیت آبششی در بچه ماهیان نشان داد که تعداد این سلول ها در گروه شاهد از گروه آترازینی بیشتر است اما این اختلاف از نظر آماری معنی دار نیست. اندازه گیری ابعاد سلول های یونوسیت نشان می دهد که میانگین طول سلول ها در گروه شاهد کمتر از گروه آترازینی بوده و این تفاوت از نظر آماری معنی دار می باشد. از سوی دیگر میانگین پهنای سلول ها نیز در گروه شاهد کمتر از گروه آترازینی است اما این مقادیر از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند، این امر نشان می دهد که یونوسیت ها در گروه مواجه شده با آترازین بزرگتر از یونوسیت های گروه شاهد می باشند. مطالعات فراساختاری بافت آبششی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان دهنده ی تغییراتی مانند نکروز سلول های اپی تلیومی تیغه ها، رشته و کمان آبششی، روی هم افتادگی و به هم چسبیدن تیغه های آبششی و افزایش ترشحات موکوسی بر سطح سلول های سنگفرشی، می باشد. همچنین مطالعات فراساختاری بافت آبششی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره نشان دهنده ی تغییراتی از قبیل نکروز در بخش هایی از شبکه ی اندوپلاسمی خشن در سلول های یونوسیت، کوچک شدن و تغییر در اندازه ی میتوکندری ها، و نکروز در بخش قاعده ای سلول های یونوسیت، می باشد. آبشش یکی از بافت هایی است که آترازین در آن تجمع می یابد (Gunkel و Streit، ۱۹۸۰؛ du Preez و van Vuren، ۱۹۹۲)، و مطالعات متعددی تاکنون نشان داده اند که آترازین می تواند عملکرد تنظیم اسمزی و یونی آبشش را در بی مهرگان آب شیرین، مانند خرچنگ ها تحت تاثیر قرار دهد (Prasad و همکاران، ۱۹۹۰؛ Silvestre و همکاران، ۲۰۰۲)، آسیب بافت آبششی در اثر مواجهه با آترازین بیشتر نیز توسط Fisher-Scherl و همکاران (۱۹۹۱)، در قزل آلای رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss*؛ Neskovic و همکاران (۱۹۹۳)، در کپور معمولی، *Cyprinus carpio*؛ Alazemi و همکاران (۱۹۹۶)، *Gnathonemus petersii*، Jayachandran و Pugazhendy (۲۰۰۹)، *Labeo rohita*؛ گزارش شده است. تغییرات هیستوپاتولوژیک ناشی از مواجهه با آترازین در آبشش ماهیان شامل، افزایش ضخامت اپیدرم و پهنای لاملا، اتصال تیغه های آبششی، هایپرپلازی (افزایش غیرطبیعی تعداد سلول ها)، چماقی شکل شدن بافت غضروفی، خونریزی و نیز تخریب بافتی و علاوه بر این، تورم، افزایش پهنای و اتصال تیغه های آبششی و تخریب سلول های اپیتلیومی در غلظت های بالاتر آترازین می باشد. آسیب های بافتی همزمان با افزایش میزان غلظت آترازین

شدیدتر می گردند. بوجود آمدن بافت غضروفی چماقی شکل احتمالاً نشان دهنده ی این است که تیغه های آبششی بسیار شکننده می شوند و در نتیجه نیاز به محافظت بیشتر دارند (Yang و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعات پیشین پیشنهاد داده اند که تغییرات تورمی ایجاد شده در آبشش به احتمال زیاد به دلیل افزایش نفوذپذیری مویرگ ها است (Roberts، ۱۹۸۷). هایپرپلازی همچنین به عنوان مکانیسمی جهت حفاظت در برابر عوامل التهابی محیطی محسوب می شود که سطح تنفسی را کاهش داده و فاصله ی نفوذ بین ماده ی آلاینده و خون را افزایش می دهد (Meissner و Diamandopoulos، ۱۹۷۷)، نتیجه ی چنین وضعیتی افزایش ضخامت لایه های اپیتلیومی است که می تواند منجر به افزایش ضخامت اپیدرم و پهنای تیغه ها شده و به اتصال تیغه های آبششی مجاور منتهی گردد که در مطالعه ی حاضر مشاهده گردید. چنین آسیب های بافتی همچنین در آبشش قزل آلا ی رنگین کمان (Velisek و همکاران، ۲۰۰۶) و کپور معمولی، *Cyprinus carpio*، (Cengiz، ۲۰۰۶) نیز گزارش شده است. به نظر می رسد که خونریزی در تیغه های آبششی به دلیل آشفتگی در سیستم خونرسانی باشد (Alazemi و همکاران، ۱۹۹۶)، همچنین Cengiz (۲۰۰۶) نشان داد که نتایج مشابهی در هنگام مواجهه ی کپور معمولی با دلتامترین به دست می آید. با توجه به نتایج Cengiz (۲۰۰۶) تخریب سلول های اپیتلیومی نتیجه ی پاسخ مستقیم به آلاینده های محیطی است. نتایج مشابهی در آبشش قزل آلا ی رنگین کمان مواجهه شده با سایپرترین (Velisek و همکاران، ۲۰۰۶) نیز به دست آمده است. در هر حال، تمامی آسیب های بافتی که در مطالعه ی حاضر مشاهده گردیدند می توانند موجب اختلال در تنفس، ترشح و بازجذب مواد در آبشش گردند.

مطالعات قبلی نشان داده اند که علاوه بر تخریب بافت آبششی، آترازین بر دیگر عوامل موثر در تنظیم اسمزی نیز اثر گذار است، از جمله، تغییر ترکیب یونی بدن در اسمولت های آب شیرین ماهی آزاد اطلس، *Salmo salar* (Nieves-Puigdoller و همکاران، ۲۰۰۷)، کاهش تحمل شوری در ماهی آزاد اطلس، *Salmo salar* (Waring و Moore، ۲۰۰۴) و تغییر در میزان هورمون کورتیزول در ماهی آزاد اطلس، *Salmo salar* (Alazemi و همکاران، ۱۹۹۶). مطالعات اندکی مشخصاً بر روی سلول های یونوسیت در مواجهه ی با آترازین صورت گرفته است، در یک مورد در مطالعه ی فراساختاری این سلول ها مشخص شده است که آترازین موجب تخریب چین خوردگی های سطح سلول ها شده و نقش حفاظتی موکوس سطحی را مختل می کند و این امر به نوبه خود موجب اختلال در تبادل یون ها می گردد (Alazemi و همکاران، ۱۹۹۶)، همچنین تورم در یونوسیت های آبششی از دیگر اثرات مواجهه با آترازین به شمار می رود (Paulino، ۲۰۱۲). اما مطالعات بر روی سایر آلاینده ها نشان می دهد که یونوسیت های آبششی به دلیل فعالیت بالایی که در تبادل یون ها با محیط دارند، هدف خوبی برای اثر گذاری آلاینده ها به شمار می روند، به همین دلیل تغییراتی از قبیل افزایش وزیکول های راسی در یونوسیت ها، نکروز بخش راسی این سلول ها، تورم و نکروز میتوکندری ها، نکروز سیتوپلاسم و هسته، در مواجهه با آلاینده های مختلفی از جمله کلریدجیوه، هپتاکلر، نیکوتین، سرب، گلايفوزات و مؤثرترین گزارش شده است

(Khoshnood و همکاران، ۲۰۱۱؛ Konar، ۱۹۶۹؛ Olojo و همکاران، ۲۰۰۵؛ Olurin و همکاران، ۲۰۰۶؛ Bingsheng و همکاران، ۱۹۹۴).

آبشش ماهی ها اندامی چند منظوره بوده که اعمال تنفس، تنظیم اسمزی، تنظیم تعادل اسیدی-بازی و دفع ترکیبات زائد نیتروژنه را بر عهده دارد. این اندام دارای سطح تماس گسترده ای با آب اطراف بوده و به همین جهت نسبت به حضور مواد شیمیایی و آلاینده ها در آب بسیار حساس می باشد. (Au، ۲۰۰۴). در مطالعات مروری که توسط Mallat (۱۹۸۵) و Wood (۲۰۰۱) صورت گرفته است، مشخص شده است تغییرات هیستوپاتولوژیک اپی تلیوم آبشش ها هر چند که نشان دهنده مواجهه با آلاینده ها هستند اما این تغییرات اختصاصی نبوده و در مورد بسیاری از آلاینده ها موارد مشابهی دیده می شود. برای مثال هایپریپلازی سلول های اپیتلیوم، اتصال لاملاها، هایپرتروفی در اپی تلیوم، ادم و جداسدگی اپیتلیوم و نیز تخریب بافت سنگفرشی از عوارض آشنایی هستند که در مورد گستره وسیعی از آلاینده ها نظیر کودهای ارگانوکلره و ارگانوفسفره، ترکیبات نفتی، علف کش ها و فلزات سنگین دیده می شوند (Baker، ۱۹۶۹؛ Gardner و Yevich، ۱۹۷۹؛ GlobalTox، ۱۹۹۷؛ Hemalatha و Banerjee، ۱۹۹۷). ایجاد تورم و هایپریپلازی سلول های موکوسی در اثر آلودگی محیط به نفت خام ایجاد می شود (Woodward و همکاران، ۱۹۸۱؛ Woodward و همکاران، ۱۹۸۳؛ Haensly و همکاران، ۱۹۸۰؛ Khan و Kiceniuk، ۱۹۸۴؛ Prasad، ۱۹۸۸؛ Khan و Payne، ۱۹۹۷). کوتاه شدن رشته های آبششی و اتصال تیغه های آبششی در ماهی سوف مواجه شده با پساب کارخانه کاغذسازی مشاهده شده است (Lindesjoo و Thulin، ۱۹۹۴)، همچنین تکثیر غیر طبیعی سلول های یونوسیت آبششی و افزایش اندازه ی آنها و سپس مرگ ماهی در عرض چند ساعت پس از مواجهه ماهی سیم خط طلایی *Rhabdosargus sarba* با بلوم ناشی از *Chattonella marina* که ایجاد کنند سرخ می کند گزارش شده است (Tang و Au، ۲۰۰۴). به نظر می رسد که پاسخ های بافت آبششی به آلاینده ها به بیولوژی ماهی (جنسیت و سن ماهی) و یا تغییرات فصلی وابسته نیست. بطور کلی هیستوپاتولوژی بافت آبششی جهت پایش کلی محیط از نظر وجود یا نبود آلاینده ها و نیز اثر گذاری یک آلاینده بر بافت موجودات آبی ساکن در محیط بسیار مفید است هر چند که تغییرات آن برای آلاینده ی خاصی اختصاصی نمی باشند (Au، ۲۰۰۴).

هیچگونه مطالعه ای در زمینه ی بررسی اثرات آترازین بر تعداد و اندازه ی یونوسیت ها صورت نگرفته است، نتایج مطالعه ی حاضر نشان می دهد که سلول های یونوسیت های آبششی در لارو و بچه ماهی سفید، در گروه مواجه شده با آترازین، از تعداد سلول ها کاسته و بر ابعاد آنها افزوده شده است. پیشتر (Evans، ۱۹۸۷) در مورد اثرات انواع آلاینده ها بر اپی تلیوم آبششی ماهیان بیان داشت که یکی از مهمترین سلول هایی که در اپی تلیوم آبششی پس از مواجهه با انواع آلاینده ها (فلزات سنگین، سموم کشاورزی، آلودگی های نفتی، بارانهای اسیدی و ...) دچار تغییرات شدیدی می شود سلول های یونوسیت هستند، این سلول ها به دلیل فعالیت زیادی که در

تبادلات یونی دارند در مواجهه با آلاینده ها دچار تغییر می شوند و ادم ایجاد شده در آنها (که به سلولها ظاهر بزرگتری می دهد) نتیجه ی افزایش فعالیت این سلول ها به منظور مقابله با آلاینده می باشد.

#### ۵-۲-۴- اثرات آترازین بر پوست لارو و بچه ماهی سفید

پوست بیرونی ترین لایه ی بدن بوده و در تماس مستقیم با آب پیرامونی و انواع آلاینده ها می باشد. این بافت دارای سطح وسیعی می باشد و به همین دلیل در معرض مستقیم اثرات آلاینده ها قرار دارد، اما غیرفعال بودن اکثریت سلول های پوستی از نظر تبادلات با محیط بیرونی و نیز پوشش های کراتینی، فلسی و یا موکوس سطحی بدن تا حدودی آنها را از صدمات ناشی از آلاینده های محیطی دور نگه می دارد (McKim و Lien, ۲۰۰۱). بسیاری از آلاینده ها اثرات خود را از طریق تخریب باله ها و بخش های نازک پوست آنها نشان می دهند که تشریح کامل این مبحث در بخش اثرات آترازین بر ویژگی های مورفولوژیک لارو و بچه ماهی سفید گزارش گردید. مطالعات اندکی در زمینه ی بررسی اثرات سموم، آفت کش ها و یا آلاینده های محیطی بر ویژگی های هیستوپاتولوژیک پوست انجام شده است از جمله مطالعه ی Häkkinen و همکاران (۲۰۰۳) که بررسی اثرات مواجهه ی همزمان لارو *Coregonus lavaretus* با رتن (از ترکیبات PAH) و اشعه ی UV پرداخته است. در این مطالعه، که اثرات سمیت رتن فقط در حضور اشعه ی UV نمود پیدا کرده است، تغییراتی از قبیل واکنش شدن سلول های اپیدرمی، جداسازی بخش هایی از اپیتلیوم از بافت های زیرین، نکروز سلول های اپیتلیالی و مرگ آنها و از بین رفتن هسته ها در بافت پوست گزارش شده است. در مطالعه ی دیگری که توسط Sayed و همکاران (۲۰۱۲) بر روی اثرات ترکیب ۴-نونیل فنل بر ماهی *Claria gariepinus* صورت گرفته است، تغییرات هیستوپاتولوژیک مانند از هم گسیختگی سلول های اپیدرمی، افزایش اندازه ی سلول های موکوسی، نکروز سلول های اپیدرمی، و واکنش شدن این سلولها گزارش شده است.

در بافت پوست لارو ماهی سفید مواجهه شده با آترازین نیز تغییرات بافتی کوچکی مانند جدا شدن اپی درم از بخش هایی از بدن و نکروز سلول های اپی درمی پوشاننده ی باله ها، مشاهده گردید. از سوی دیگر مطالعات ایمونوهیستوشیمیایی بافت پوست لارو ماهی سفید مواجهه شده با بیشترین غلظت آترازین نشان داد که از نظر نحوه ی پراکنش سلول ها در سطح بدن لارو و نیز شکل ظاهری سلول ها هیچگونه تفاوت آشکاری میان دو گروه وجود ندارد. شمارش سلول های یونوسیت نشان داد که بطور متوسط در هر میلی متر مربع از بافت پوست این ماهیان حدوداً ۴۲۸ سلول یونوسیت وجود دارد. مقایسه ی تعداد کل سلول های یونوسیت پوستی در لارو ماهی سفید مواجهه شده با بیشترین غلظت آترازین با گروه شاهد نشان می دهد که تعداد این سلول ها در گروه مواجهه شده با آترازین کمتر از تعداد این سلول ها در گروه شاهد می باشد هرچند که این تفاوت از نظر آماری معنی دار نیست. همچنین اندازه گیری ابعاد این سلول ها نشان داد که میانگین طول این سلول ها  $11/89 \pm 0/77$  میکرومتر و میانگین پهنای این سلول ها  $8/06 \pm 0/48$  میکرومتر می باشد. مقایسه ی این مقادیر با گروه شاهد نشان می دهد که ابعاد سلول های یونوسیت در ماهیان مواجهه شده با آترازین بزرگتر از ابعاد این

سلول‌ها در گروه شاهد بوده، اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد. هیچگونه مطالعه‌ای در زمینه اثرات علف‌کش آترازین بر یونوسیت‌های پوستی در ماهیان مختلف صورت نگرفته است، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که آترازین در غلظت‌های تحت‌کشنده نمی‌تواند اثر چندانی بر بافت پوست، حتی در لاروهایی که فاقد فلس می‌باشند و پوشش کراتینی پوست هنوز تکمیل نشده است داشته باشد، این علف‌کش در غلظت‌های تحت‌کشنده و مواجهه‌ی حاد نمی‌تواند اثر چندانی بر وضعیت یونوسیت‌های پوستی داشته باشد، هرچند که به نظر می‌رسد، ابعاد و تعداد این سلول‌ها در پاسخ به مواجهه با آترازین اندکی افزایش یافته باشد، شاید اگر مواجهه‌ی ماهیان با همین غلظت تحت‌کشنده‌ی آترازین در مدت زمان طولانی‌تر (مواجهه‌ی مزمن) صورت می‌گرفت، این علف‌کش اثرات مشخص‌تری بر بافت پوست می‌توانست داشته باشد.

### ۵-۲-۵- اثرات آترازین بر دستگاه گوارش لارو و بچه ماهی سفید

دستگاه گوارش یک سیستم چند منظوره در بدن ماهی‌ها به شمار می‌رود. این دستگاه علاوه بر نقش اساسی خود، که هضم و جذب مواد غذایی و دفع مواد زائد از بدن می‌باشد، در تنظیم آب و یون‌ها و نیز سمیت زدایی از برخی آلاینده‌ها به کمک غدد ضمیمه‌ی خود مانند کبد نقش ایفا می‌کند. از آنجاییکه دستگاه گوارش با آب و مواد غذایی بلعیده شده از محیط پیرامون بطور مستقیم در ارتباط می‌باشد، به راحتی می‌تواند هدف آسیب توسط آلاینده‌های مختلف واقع شود (Au, 2004). آسیب به دستگاه گوارش، می‌تواند تمامی عملکردهای مهم آن را تحت تاثیر قرار داده و بازماندگی جاندار را از راه اختلال در فرآیندهای تغذیه‌ای، تنظیم اسمزی و یا سمیت زدایی از آلاینده‌ها و متابولیت‌های بدن تحت تاثیر قرار دهد (Sindermann, 1979; Au, 2004). لوله‌ی گوارش در لارو ماهی سفید در روزهای ابتدایی پس از تفریح فعال نبوده و منفذ دهان و مخرج بسته می‌باشند و تغذیه‌ی لارو با تکیه بر ذخیره‌ی کیسه‌ی زرده صورت می‌گیرد. به همین دلیل در روزهای ابتدایی دوره‌ی آزمایش، هیچگونه تغییر خاصی در بافت دستگاه گوارش که بتوان آن را به مواجهه با آترازین مربوط دانست مشاهده نمی‌شود. در بررسی این بافت پس از گشودگی دهان، اثرات آترازین به تدریج قابل مشاهده می‌باشند، برای مثال در بخش‌های ابتدایی دستگاه گوارش، در بخش حلق، سلول‌های شاخی دیواره‌ی فوقانی حلق دچار نکروز شده‌اند، تعداد سلول‌های موکوسی در روده بسیار افزایش یافته است و این سلول‌های موکوسی دچار اندکی تورم می‌باشند، جداسدگی بخش‌هایی از اپی‌تلیوم روده از غشای پایه، ادم در بخش فوقانی سلول‌های استوانه‌ای مژک‌دار اپی‌تلیوم روده، نکروز سلول‌های اپی‌تلیومی دیواره‌ی تحتانی حلق، ادم و هایپرپلازی سلول‌های جوانه‌های چشایی، از مواردی می‌باشند که در لاروهای مواجهه شده با غلظت‌های مختلف آترازین مشاهده گردید. این تغییرات بافتی در گروه مواجهه شده با بیشترین غلظت آترازین از همه بیشتر بوده و در دو گروه دیگر اثرات خفیف‌تر می‌باشند. همچنین، مطالعات بافت‌شناسی دستگاه گوارش بچه ماهیان مواجهه شده با آترازین تغییرات بافتی از جمله، تورم سلول‌های موکوسی و افزایش محتوای موکوسی آنها، نکروز در سلول‌های اپی‌تلیال روده، جداسدگی سلول‌های اپی‌تلیال چین‌های روده‌ای از غشای پایه، را نشان می‌دهد.

مطالعات مختلفی تاکنون در زمینه ی بررسی اثرات زنبویوتیک های مختلف بر دستگاه گوارش ماهیان صورت گرفته است از جمله، Llyod (۱۹۶۰)؛ McCarty و همکاران (۱۹۷۸)؛ Datta و Sinha (۱۹۸۹)؛ Gosh و Chakrabarty (۱۹۹۰)؛ Senapati و همکاران (۲۰۰۹). هیچگونه مطالعه ای تاکنون در زمینه ی بررسی اثرات علف کش آترازین بر دستگاه گوارش گونه های مختلف ماهیان انجام نشده است و بطور کلی مطالعات در زمینه ی بررسی اثرات علف کش ها بر دستگاه گوارش ماهیان بسیار نادر هستند، اما مطالعات متعددی در زمینه بررسی اثرات آلاینده ها و ویژگی های مختلف دستگاه گوارش ماهیان صورت گرفته است که از جمله ی آنها می توان به موارد زیر اشاره کرد: Senapati و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه ی اثرات علف کش آل میکس بر روی *Anabas testudineus* نشان دادند که مواجهه ی با این علف کش موجب ایجاد تغییراتی از قبیل تخریب بخش راسی سلول های اپی تلیالی سنگفرشی مطبق دهان، حلق و مری، برهم خوردن نظم سلول های اپی تلیالی استوانه ای، ترشح بسیار زیاد موکوس از سلول های موکوسی، و نکروز در چین های روده ای می گردد. افزایش ترشح موکوس از سلول های موکوسی و نکروز در سلول های اپی تلیالی دستگاه گوارش در مواجهه ی *Notopterus notopterus* با آرسنیک گزارش گردیده است (Chakrabarty و Ghosh، ۲۰۰۱). مطالعات میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان داد که در مواجهه ی *A. testudineus* با سرب و کادمیوم، نکروز در بخش های مختلف دستگاه گوارش قابل مشاهده می باشد (Bose، ۲۰۰۵). همچنین، Senapati و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی اثرات سمیت علف کش گلایفوزات بر دستگاه گوارش *Channa punctatus* نکروز و تغییرات پاتولوژیکی را در تمامی بخش های دستگاه گوارش گزارش نمودند. سطح راسی سلول های اپی تلیالی نقش مهمی در جذب مواد و ذرات غذایی داشته و به دلیل پوشیده شدن توسط لایه ای از موکوس در برابر آسیب محافظت می شوند و لایه های زیرین خود را نیز به اینصورت محافظت می کنند. این لایه ی موکوسی بر روی سطح راسی سلول های اپی تلیالی دستگاه گوارش در لغزنده کردن مسیر جهت عبور آسان مواد غذایی نیز نقش دارد (Sinha و Chakrabarti، ۱۹۸۶؛ Sinha و Chakrabarti، ۱۹۸۷). به همین دلیل، تخریب بخش راسی سلول های اپی تلیالی علاوه بر ایجاد اختلال در جذب مواد غذایی، می تواند موجب مختل شدن عملکرد لایه ی موکوسی نیز گردد. مختل شدن عملکرد لایه ی موکوسی در بخش های ابتدایی دستگاه گوارش موجب ایجاد اختلال در بلعیدن غذا می گردد، کاهش بلع غذا می تواند به گرسنگی و مشکلات تغذیه ای منتهی گردد (Senapati و همکاران، ۲۰۱۲). تخریب سلول های اپی تلیالی روده و کاهش طول چین های روده ای از تغییرات بافتی است که در مواجهه *Hypophthalmichthys molitrix* با نیکل گزارش شده است (Athikesavan و همکاران، ۲۰۰۶). تغییر نظم سلول های اپی تلیومی استوانه ای و هایپرپلازی آنها، مکانیسمی محافظتی از سوی روده در برخورد با آلاینده ها به شمار می رود (Tuvikene و همکاران، ۱۹۹۹). به نظر می رسد که افزایش تعداد سلول های موکوسی و افزایش محتوای موکوسی آنها که در مطالعه ی حاضر مشاهده گردید به دلیل نقش حفاظتی موکوس ترشحی از دستگاه گوارش بوده که در مواجهه ی بسیاری از گونه های ماهیان با انواع آلاینده ها مشاهده می



شود (Au, ۲۰۰۴). نکرور و تخریب سلول های اپی تلیال استوانه ای در روده که در لارو و بچه ماهی سفید مشاهده گردید می تواند توانایی های تغذیه ای ماهی را تحت تاثیر قرار دهد، به دلیل فعالیت بالایی که این سلول ها در نقل و انتقال یونها، آب و ذرات غذایی ایفا می کنند در برابر مواد آلاینده آسیب پذیرتر بوده و به سرعت دچار نکرور می شوند (Sindermann, ۱۹۷۹؛ Au, ۲۰۰۴؛ Tuvikene و همکاران، ۱۹۹۹). از سوی دیگر به نظر می رسد که آسیب های ایجاد شده در بخش های مختلف دستگاه گوارش وابسته به میزان غلظت آترازین می باشند، چرا که این آسیب ها بطور مشخص در لاروهای مواجهه شده با غلظت های بالاتر آترازین بیشتر می باشد.

کبد، مهمترین اندام جهت تغییر زیستی آلاینده ها، دفع فلزات سنگین مضر، هضم مواد غذایی، ذخیره ی مواد غذایی و متابولیسم هورمون های جنسی به شمار می رود (Health, ۱۹۹۵؛ Hinton و همکاران، ۲۰۰۱). مطالعات متعددی در زمینه ی تغییرات سلولی و بافتی کبد در گونه های مختلف ماهیان مواجهه شده با آلاینده های مختلفی صورت گرفته است (Hinton و Lauren, ۱۹۹۰؛ Hinton و همکاران، ۱۹۹۲؛ Hinton, ۱۹۹۴؛ Vandenberghe, ۱۹۹۶؛ GlobalTox, ۱۹۹۷؛ Braunbeck, ۱۹۹۸؛ Khoshnood, ۲۰۱۰). اغلب آفت کش ها در کبد و به کمک سیستم آنزیمی خاص آن به متابولیت های مختلفی تغییر می یابند، این فرآیند می تواند آسیب های بافتی را در سطوح مختلف در کبد ایجاد کند (Health, ۱۹۹۵؛ Hinton و همکاران، ۲۰۰۱).

مهمترین تغییرات بافتی و سلولی مشاهده شده در بافت کبد لارو ماهی سفید مواجهه شده با علف کش آترازین شامل موارد زیر بودند: افزایش فضای بین سلولی در میان هپاتوسیت ها، پرخونی، نکرور هپاتوسیت ها، تورم در سینوزوئیدهای کبدی و نیز هایپرپلازی و ادم در سلول های دیواره ی مجرای صفراوی، واکوئوله شدن سیتوپلاسم و ترشحات سیتوزولی. تمامی این تغییرات بافتی در هر سه گروه مواجهه شده با آترازین مشاهده گردیدند. وزیکوله شدن هپاتوسیت ها، نکرور در بخش بافت چربی کبدی و نکرور برخی هپاتوسیت ها، مهمترین تغییرات مشاهده شده در بافت کبدی بچه ماهیان سفید مواجهه شده با آترازین می باشند.

کبد نسبت به آلاینده های محیطی بسیار حساس می باشد، چرا که بسیاری از آلاینده ها این قابلیت را دارند که در بافت کبد تجمع یابند و منجر به مواجهه ی سلول های این بافت با مقادیری چندین برابر آنچه در محیط وجود دارد و یا بافت های دیگر در معرض آن قرار گرفته اند، شوند (Health, ۱۹۹۵). بطور کلی، آسیب های هیستوپاتولوژیک کبد برای آلاینده ی خاصی اختصاصی نمی باشند. علاوه بر این، نمی توان هرگونه آسیب بافتی در کبد را به عنوان یک بیومارکر بکار برد چراکه برخی از آسیب های کبدی می توانند وابسته به گونه های خاصی باشند. برای مثال، مواجهه با PAHs, PCBs, DDTs, کلردان و نیز دیلدترین موجب افزایش گستره ای از آسیب های کبدی در کفشک انگلیسی، *Pleuronectes vetulus* می شوند از جمله نئوپلاسمی در هپاتوسیت ها، هپاتوسیت های مگالوسیتیک، چندشکلی هسته های هپاتوسیت ها و واکوئوله شدن؛ اما در فلاندر زمستانی، *Pleuronectes americanus* مواجهه با PAHs, DDTs و یا کلردان بطور معنی داری موجب واکوئوله شدن،

افزایش تکثیر غیرنئوپلاسمیک هپاتوسیت ها، نکردهای غیر اختصاصی در هپاتوسیت ها می شود (Schiewe و همکاران، ۱۹۹۱؛ Johnson و همکاران، ۱۹۹۳؛ Myers و همکاران، ۱۹۹۳). تفاوت های اختصاصی بین گونه ای در حساسیت نسبت به مواد شیمیایی، و تفاوت در پراکنش مواد شیمیایی در محیط های مختلف می تواند توجیه کننده ی تفاوت ها در میزان ریسک مواد شیمیایی مختلف در میان گونه ها، نوع آسیب های بافتی و بین مطالعات مختلف باشد (Stehr و همکاران، ۱۹۹۷). تغییرات هیستوپاتولوژیک مشاهده شده در بافت کبد لارو و بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین در مطالعه ی حاضر از قبیل واکوئله شدن سیتوپلاسم هپاتوسیت ها، هایپرتروفی و نکردهای سلول های هپاتوسیت، نکرده در مویرگ های خونی کبدی و نیز افزایش بافت پیوندی کبدی از مواردی است که در مواجهه ی گونه های مختلف با آلاینده های متفاوت مشاهده شده است که از جمله ی آنها می توان به مواجهه ی *Ophiocephalus striatus* با کلرید کادمیوم (Bais و Lpkhande، ۲۰۱۲)؛ مواجهه ی *Salmo trutta* و *Barbatula barbatula* با آفت کش ها، PAHs و آمونیاک (Gernhöfer و همکاران، ۲۰۰۱)؛ مواجهه ی کپور معمولی، *Cyprinus carpio* با آمونیاک (ناجی و همکاران، ۱۳۸۸)؛ مواجهه ی تیلاپیا، *Oreochromis niloticus* با علف کش رونداپ (Jiraungkoorskul و همکاران، ۲۰۰۲)؛ مواجهه ی تیلاپیا، *Oreochromis niloticus* با روی (Abdel-Warith و همکاران، ۲۰۱۱)؛ مواجهه ی *Heteropneustes fossilis* با سایپرترین (Joshi و همکاران، ۲۰۰۷) و مواجهه ی *Poecilia sphenops* با پرکلرات سدیم (Burcu و همکاران، ۲۰۰۹) اشاره کرد. مقایسه ی نتایج مطالعه ی حاضر با تحقیقاتی که بیشتر بر روی اثرات آلاینده های مختلف بر بافت کبدی صورت گرفته است تایید کننده ی این نکته است که تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبدی بطور کلی اختصاصی نبوده و تغییرات مشابهی در مواجهه با طیف وسیعی از آلاینده ها مشاهده می شود. همچنین این نکته را می توان برداشت کرد که آترازین در غلظت های تحت کشنده آنقدر سمی می باشد که می تواند اثرات سلولی و بافتی قابل توجهی را در کبد لارو و بچه ماهی سفید ایجاد کند.

تحقیقاتی که در زمینه ی بررسی اثرات سمیت آترازین بر بافت کبدی انجام شده است، برای مثال در موش های نژاد ویستار که دوزی خوراکی به میزان ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن آترازین را به مدت ۱۴ روز دریافت کرده بودند، میزان ذخیره ی گلیکوژنی کبد کاهش یافته و موش ها علائم اولیه ی سمیت را از خود نشان دادند. این پدیده به خاصیت سمی بودن آترازین برای سلول های کبدی برمی گردد که از فعالیت آنزیم های اصلی دخیل در فرآیند گلیکونئوژنز (مانند هگزوکیناز، گلیکوژن سنتاز و گلوکوکیناز) ممانعت به عمل می آورد (Gluszczak و همکاران، ۲۰۰۶)، این امر می تواند به کاهش وزن بدن منتهی گردد (Severi-Aguiar و Silva-Zacarin، ۲۰۱۲). این امر مطابق با یافته های Curic و همکاران (۱۹۹۹) می باشد که به بررسی اثرات مواجهه ی دو هفته ای ماهی gilthead sea bream با ۲ میلی گرم بر کیلوگرم آترازین پرداختند و کاهش ذخیره ی گلیکوژنی کبد و افزایش لیپیدهای آن را مشاهده نمودند. از سوی دیگر، هیچگونه تغییری در میزان ذخیره ی گلیکوژنی یا لیپیدی کبد در لاروهای وزغ *Xenopus laevis* مواجه شده با غلظت های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر

لیتر مشاهده نشده است (Zaya و همکاران، ۲۰۱۱)، نتایج این مطالعه نشان می دهد که مواجهه با آترازین در طی نمو لاروهای تمایز نیافته تاثیر می گذارد اما اثرات هیستوپاتولوژیکی برجای نمی گذارد. در بلدرچین ژاپنی، *Coturnix japonica*، تخریب بصورت واکنش شدن کبد در غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن آترازین که بصورت خوراکی و به مدت ۴۵ روز مصرف شده است مشاهده می شود (Hussein و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه بر این هایپرپلازی مجرای صفراوی نیز در این بلدرچین ها مشاهده شده است. تغییرات هیستوپاتولوژیکی نیز در بافت کبدی گورخرماهی، *Danio rario* مواجه شده با آترازین مشاهده شده است (Yuanxiang و همکاران، ۲۰۱۱). این تغییرات شامل تغییر در ترکیب پروتئینی هپاتوسیت ها نیز می باشد. این امر پیشنهاد شده است که این تغییرات در ترکیب پروتئین ها وابسته به طیفی از فرآیندهای زیستی سلولی مانند پاسخ به استرس اکسیداتیو، فرآیندهای انکوژنز و ... می باشد. مثال دیگری از فرآیندهای زیستی سلولی که می توانند در پاسخ به مواجهه با آترازین تغییر کنند متابولیسم لیپیدها و مقاومت به انسولین می باشد، که این مورد به طور ویژه در مواجهه ی طولانی مدت و مزمن با آترازین دیده می شود (Lim و همکاران، ۲۰۰۹).

#### ۵-۲-۶- اثرات آترازین بر کلیه ی لارو و بچه ماهی سفید

کلیه ی ماهیان نقش مهمی در حفظ هموستاز اسمزی بدن ایفا می کند. علاوه بر این، بافت کلیوی حجم زیادی از جریان خون را دریافت کرده و مسیر مهمی جهت دفع متابولیت های زنبوبیوتیک های مختلف می باشد. از آنجاییکه بافت کلیوی بطور مداوم با آلاینده ها در مسیر دفع آنها در تماس می باشد، سلول های این بافت در معرض آسیب شدید می باشند (Au، ۲۰۰۴). آسیب های هیستوپاتولوژیک غیراختصاصی در بافت کلیوی (شامل دژنره شدن اپی تلیوم توبول های کلیوی، وسیع شدن لومن توبول ها، تشکیل سیلندرهای پروتئینی یا سلولی درون لومن توبول ها، نکروز توبول ها یا تخریب سلول های اپی تلیال آنها، و تخریب بافت هماتوپوئیتیک درون کلیوی) در مواجهه ی ماهیان با سموم ارگانوکلره، ترکیبات نفتی، سموم ارگانوفسفره، علف کش ها و فلزات سنگین گزارش شده است (Meyers و Hendricks، ۱۹۸۵؛ GlobalTox، ۱۹۹۷). تحقیقات نشان داده است که سن در میزان تخریب بافت کلیوی موثر بوده اما جنسیت بر آن بی اثر است (Myres و همکاران، ۱۹۹۳). فراوانی آسیب های کلیوی در ماهیان تحت تاثیر نوع زنبوبیوتیکی که با آن مواجه شده اند می تواند موثر باشد، اما این آسیب ها مشخصا خفیف تر از آسیب هایی هستند که در کبد این ماهیان مشاهده می شود (Myres و همکاران، ۱۹۹۳). سلول های اپیتلیال توبول های کلیوی سلول هایی بسیار فعال و دارای سطح راسی بسیار گسترده می باشند که در فرآیندهای دفع و جذب یونها، آب و ترکیبات مختلف نقش ایفا می کنند (Au، ۲۰۰۴). این باور وجود دارد که کلیه ها اندیکاتورهای حساسی نسبت به آلاینده های محیطی به شمار می روند زیرا به عنوان یکی از اصلی ترین اندام های تنظیم اسمزی و سیستم ایمنی بدن در ماهی ها به شمار می روند. مواجهه ی لاروها و بچه ماهیان سفید با آترازین در جاتی از آسیب های بافتی در کلیه را نشان داد. در لارو ماهی سفید مواجهه شده با آترازین، تغییرات نسبتا شدید و زیادی در بافت کلیه در تمامی گروه های مواجهه شده با آترازین مشاهده گردید.

این تغییرات شامل ادم در سلول های اپی تلیال توبول های پروکسیمال و دیستال، هایپرتروفی، هایپرپلازی و تجمع ترکیبات هیالینی در سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی و کاهش فضای لومن، و نکروز در شبکه ی گلمرولی و افزایش فضای کپسول بومن، ایجاد اشکال غیرطبیعی در سلول های اپی تلیال توبول های پروکسیمال، نکروز سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی و انسداد لومن توبول، و در نهایت نکروز و از هم گسیختگی در بافت هماتوپوئیتیک بخش راسی کلیه می باشد. واکنش‌ها شدن سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی و هایپرتروفی آنها در روزهای پایانی دوره ی آزمایش و در اثر مواجهه ی بیشتر با آترازین بسیار شدیدتر گردید. همچنین جداشدگی سلول های اپی تلیوم توبول پروکسیمال از غشای پایه، نکروز در تعدادی از سلول های اپی تلیوم توبول جمع کننده، نکروز در بافت هماتوپوئیتیک بخش راسی کلیه، از مهمترین تغییرات بافتی مشاهده شده در بافت کلیوی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین بود. مطالعات اندکی در زمینه ی بررسی اثرات آترازین بر بافت کلیوی ماهیان گونه های مختلف صورت گرفته است، برای مثال، مواجهه ی *Gobiocypris rarus* با آترازین موجب چروک شدن گلمرول و افزایش فضای کپسول بومن و نیز تخریب سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی، و نیز متسع شده آنها می گردد (Yang و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین Oulmi و همکاران (۱۹۹۵) نشان دادند که آترازین در غلظت های بین ۱۰ تا ۸۰ میکروگرم در لیتر می تواند موجب تخریب بافتی توبول های پروکسیمال کلیه در ماهی قزل آلی رنگین کمان گردد که می تواند دفع کلیوی یون ها و پروتئین ها را افزایش دهد. با توجه به نتایج Schwaiger و همکاران (۲۰۰۰) و Zaroogian و همکاران (۲۰۰۱)، انبساط توبول های کلیوی احتمالاً به دلیل تجمع اجسام ائوزینوفیلی است که پیشنهاد شده است که VTG می باشند. تجمع اجسام ائوزینوفیلی می تواند نهایتاً به مسدود شدن لوله های کلیوی و از دست رفتن عملکرد کلیوی منجر گردد. در مطالعه ای که توسط Fischer-Scherl و همکاران، ۱۹۹۱ بر روی اثرات آترازین بر ماهیان جوان قزل آلی رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss*، گزارش شده است که آترازین موجب تغییرات فراساختاری بر بافت کلیوی این ماهیان می گردد، و با ایجاد تخریب در توبول های کلیوی موجب افزایش دفع کلیوی سدیم، پتاسیم، کلر و پروتئین ها در این ماهی می گردد، این محققین همچنین گزارش کرده اند که دوزهای تحت کشنده ی آترازین (در محدوده ی ۱۰ تا ۱۶۰ میکروگرم بر لیتر) سبب گستره ای از تغییرات در توبول های کلیوی، شامل تکثیر شبکه اندوپلاسمی صاف، میتوکندری ها و لیزوزوم های غیرطبیعی، تکثیر پراکسی زوم ها و برهم خوردن نظم طبیعی دستگاه گلژی می گردد (Fischer-Scherl و همکاران، ۱۹۹۱). همچنین در مطالعات دیگری نیز بیان شده است که آترازین موجب آسیب به اپیتلیوم توبول های کلیوی، در کپور معمولی، *Cyprinus carpio* (Neskovic و همکاران، ۱۹۹۳) می گردد. در بررسی اثرات آترازین بر *Caquetaia kraussii* و *Colossoma macropomum* که توسط Segnini de Bravo و همکاران (۲۰۰۵) صورت گرفته است، نشان داده شده است که آترازین موجب تخریب غشای پلاسمایی و زوائد سلولی سلول های اپی تلیال توبول های کلیوی، تغییر شکل میتوکندری ها، کاهش شبکه ی اندوپلاسمایی خشن، و افزایش وزیکول های اتوفاژی در این سلول ها می گردد.

تغییرات تخریبی بافت ها در توبول های کلیوی همچنین در ماهیان (Zha) minnow و همکاران، ۲۰۰۷) و کپور معمولی (Schwaiger و همکاران، ۲۰۰۰) مواجه شده با اتینیل استرادیول نیز گزارش شده است. چروکیدگی در گلمورول و افزایش فضای کپسول بومن نشان دهنده ی تغییرات در ترشح مواد از کلیه در ماهیان مواجه شده با آترازین است. Roy و Bhattacharya (۲۰۰۶) گزارش کرده اند که نتایج مشابهی در بافت کلیوی پس از مواجهه های کلیوی موجب افزایش دفع کلیوی سدیم، پتاسیم، کلر و پروتئین ها در قزل آلاهی رنگین کمان، *Channa punctatus* با آرسنیک مشاهده شده است. پیشتر بیان شده است که آترازین با ایجاد تخریب در توبول های کلیوی (*Oncorhynchus mykiss* Fisher-Scherl و همکاران، ۱۹۹۱) و کپور معمولی، (*Cyprinus carpio* Neskovic و همکاران، ۱۹۹۳) می شود. نتایج مطالعه ی حاضر مشابه با نتایج سایر محققین در زمینه ی اثرات آترازین بر بافت کلیوی می باشد و نشان می دهد که آترازین در مواجهه ی حاد و کوتاه مدت، و در مقادیر تحت کشنده می تواند آسیب های شدیدی در بافت کلیوی ایجاد نماید. آسیب به بافت کلیوی، برهم خوردن تعادل آب و یونها را به دنبال داشته و در طولانی مدت می تواند بر بقای جاندار اثر منفی بگذارد (Yang و همکاران، ۲۰۱۰).

توبول های پروکسیمال در ماهی ها و پستانداران در فرآیندهای بازجذب مواد و تخریب ماکروملکول ها به کمک لیزوزوم ها نقش دارند (Hickman و Trump، ۱۹۶۹). پس از بازجذب، بیشتر ماکروملکول ها ذرات درون سلولی را در مهره داران عالی تر شکل می دهند (Rollason و Brewer، ۱۹۸۴). در جریان این فرآیند، علف کش ها از کلیه دفع شده و آسیب های زیادی در این بافت به جای می گذارند. نکروز و واکوئل شدن سلول های اپی تلیال کلیوی، چروکیدگی و جمع شدن گلمورول و افزایش فضای کپسول بومن، علاوه بر مواردی که پیشتر در مواجهه ی گونه های مختلف ماهیان با آترازین ذکر گردید، در مواجهه ی کپور معمولی، *Cyprinus carpio* با مالاتیون (Dhanapakiam و Premalatha، ۱۹۹۴)، مواجهه ی *Cirrhinus mrigala* با سایپرمتین (Prashanth، ۲۰۱۱)، مواجهه ی *Channa punctatus* با اندرین (Sastry و Sharma، ۱۹۷۹)، و مواجهه ی کپور معمولی، *Cyprinus carpio* با هپتاکلر (Konar، ۱۹۷۹) گزارش شده است. بطور کلی ثابت شده است که زمانی که یک ماده ی سمی وارد بدن جاندار می شود، توسط جریان خون به کبد انتقال داده می شود تا تحت فرآیند سمیت زدایی قرار گیرد، کبد معمولاً می تواند بخشی از ماده را به متابولیت های بی خطر تبدیل کند و بخشی از آن در خون باقی مانده و به کلیه برده می شود تا از آنجا به بیرون از بدن دفع گردد، اما در هر حال در هر دو ی این بافت ها، ماده ی سمی اثرات خود را بصورت تخریب در سلولهای این بافت ها برجای می گذارد (Yang و همکاران، ۲۰۱۰). در همین زمینه در مطالعه ی Fisher-Scherl و همکاران (۱۹۹۱) گزارش شده است که متابولیسم آترازین در کلیه صورت گرفته و این ترکیب توسط آبشش ها از بدن دفع می گردد. این محققین گزارش کرده اند که آترازین سبب تجمع ضایعات سلولی در کپسول بومن، بدلیل تکثیر زیاد پودوسیت ها شده و فیلتراسیون گلمورولی را حتی در غلظت بسیار اندک ۵ میکروگرم در لیتر تحت تاثیر قرار می دهد. شاید به همین دلیل است که تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کلیوی لارو و بچه ماهی سفید نیز بسیار زیاد می باشد، مقایسه ی بافت کلیوی لاروها

و بچه ماهی های مواجهه شده با یکدیگر نیز نشان می دهد که شدت و گستره ی این آسیب های بافتی در لاروها به مراتب بیشتر از بچه ماهیان می باشد، این امر با مطالعات سایر محققین در زمینه ی شدیدتر بوده اثرات آلاینده ها در مراحل ابتدایی زندگی مطابقت دارد (Au، ۲۰۰۴؛ Yang و همکاران، ۲۰۱۰؛ Evans، ۱۹۸۷).

#### ۵-۲-۷- اثرات آتزازین بر ترکیب یونی بدن در لارو و بچه ماهی سفید

اندازه گیری غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $Cl^-$  در بدن لارو ماهی سفید مواجهه شده با آتزازین نشان می دهد که در گروه مواجهه شده با غلظت ۱ آتزازین (۹/۲۶ میلی گرم بر لیتر) بیشترین غلظت یونی متعلق به یون  $Ca^{2+}$  بوده و پس از آن به ترتیب یون های  $Cl^-$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $K^+$ ،  $Na^+$  قرار می گیرند. در لاروهای مواجهه شده با غلظت ۲ آتزازین (۴/۶۳ میلی گرم بر لیتر) نیز بیشترین غلظت یونی متعلق به یون  $Ca^{2+}$  بوده و پس از آن به ترتیب یون های  $Na^+$ ،  $Cl^-$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $K^+$  قرار می گیرند. در لاروهای مواجهه شده با غلظت ۳ آتزازین (۲/۳۱ میلی گرم بر لیتر) نیز مشابه با دو گروه دیگر بیشترین غلظت یونی متعلق به یون  $Ca^{2+}$  بوده و پس از آن به ترتیب یون های  $Cl^-$ ،  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Mg^{2+}$  قرار می گیرند. در گروه شاهد بیشترین غلظت متعلق به یون  $Na^+$  بوده و پس از آن به ترتیب یون های  $Ca^{2+}$ ،  $Cl^-$ ،  $K^+$  و  $Mg^{2+}$  قرار می گیرند. در بچه ماهی سفید مواجهه شده با آتزازین بیشترین غلظت یونی متعلق به یون  $Ca^{2+}$  بوده و پس از آن به ترتیب یون های  $Cl^-$ ،  $Na^+$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $K^+$ ،  $Na^+$  و  $Cl^-$  قرار می گیرند. بطور کلی به نظر می رسد که آتزازین اثرات خفیف اما مشخصی بر میزان ترکیب یونی بدن لاروها و بچه ماهیان سفید داشته است، شاید اگر دوره ی مواجهه ی با آتزازین بصورت طولانی تری (مواجهه ی مزمن) صورت بگیرد و یا در طول دوره ی مواجهه با آتزازین استرس شوری نیز مورد بررسی واقع شود، اثرات آتزازین بر ترکیب یونی بدن این ماهی ها بهتر نمود پیدا کند. پیشتر گزارش شده است که آتزازین موجب افزایش دفع کلیوی سدیم، کلر و پروتئین ها در قزل آلائی رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss* (Fisher-Scherl و همکاران، ۱۹۹۱) و کپور معمولی، *Cyprinus carpio* (Neskovic و همکاران، ۱۹۹۳) می گردد. از سوی دیگر در مواجهه اسمولت های ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) در غلظت ۵  $\mu\text{g/L}$  و بیشتر، افزایش کورتیزول پلازما و افزایش یونهای تک ظرفیتی مشاهده گردید، و نیز معرفی ماهیان مواجهه شده با غلظت های ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۲/۷  $\mu\text{g/L}$  آتزازین، به آب دریا سبب مرگ و میر در این ماهیان شد و ماهیان زنده مانده نیز علائم شدیدی از استرس فیزیولوژیک مانند افزایش کورتیزول پلازما، افزایش تیروکسین، افزایش اسمولاریته و افزایش غلظت یونهای تک ظرفیتی را نشان دادند (Moore و Waring، ۲۰۰۴). این محققین نشان دادند که مواجهه با آتزازین پس از ۷ روز موجب کاهش تحمل شوری در ماهی آزاد اطلس می گردد. اسمولت های آب شیرین ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) مواجهه شده با ۱۰۰  $\mu\text{g/L}$  آتزازین نیز دچار کاهش یون های  $Cl^-$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $Na^+$  و  $Ca^{2+}$  پلازما و افزایش سطح کورتیزول شدند. این ماهیان پس از انتقال به آب شور دچار افزایش هماتوکریت، کورتیزول پلاسمایی و افزایش یون های  $Cl^-$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $Na^+$  و  $Ca^{2+}$  و کاهش هورمون

های T<sub>3</sub> و T<sub>4</sub> گردیدند. نتایج این بررسی ها نشان داد که آترازین موجب اختلال در فرآیندهای تنظیم یونی، رشد و هورمونی در این ماهی می گردد (Nieves-Puigdoller و همکاران، ۲۰۰۷). در مطالعه ی دیگری نیز، Paulino و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی اثرات آترازین بر *Prochilodus lineatus* پرداخته و نشان دادند که آترازین موجب تغییر در اسمولالیت بدن و نیز غلظت یون های سدیم و کلر می شود. این در حالی است که در مطالعه ی Matsumoto و همکاران (۲۰۱۰) بر روی اثرات آترازین بر اسمولت های ماهی آزاد آتلانتیک *Salmo salar* گزارش شده است که مواجهه حاد و کوتاه مدت با مقادیر محیطی آترازین اثری بر میزان غلظت یون های سدیم، پتاسیم، منیزیم و کلر نداشته است، اما پیشتر Prasad و Reddy (۱۹۹۴) نشان دادند که آترازین موجب افزایش وزن بدن، افزایش سدیم و پتاسیم سرم و کاهش یون های کلسیم و منیزیم می گردد. با توجه به تغییرات شدید هیستوپاتولوژیک مشاهده شده در بافت های آبششی و کلیوی لاروها و بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین بدیهی است که تغییر در ترکیب یونی بدن در پاسخ به این تغییرات به دلیل نقص عملکردی این دو اندام مهم دخیل در فرآیند تنظیم اسمزی قابل درک باشد.

#### ۵-۲-۸- اثرات آترازین بر مغز و سیستم عصبی لارو و بچه ماهی سفید

مهمترین تغییرات مشاهده شده در سیستم عصبی لاروهای مواجه شده با آترازین شامل، نکروز بخش هایی از ماده ی سفید در مغز و نخاع، ادم و هایپرتروفی و تجمع مایع در جسم سلولی نورون ها، پرخونی و تجمع سلول های خونی در بافت عصبی، تخریب کامل جسم سلولی برخی نورون ها در ماده خاکستری و تجمع بخش های نکروتیک در بافت عصبی، نکروز در بخش های فوقانی بطن های مغزی و نکروز در هسته های نورون ها در بخش ماده ی خاکستری مغز، از مهمترین تغییرات سلولی و بافتی در بافت عصبی لاروهای مواجه شده با آترازین می باشند. در بافت عصبی بچه ماهیان سفید مواجه شده با آترازین نیز بویژه در بافت مغز، تغییرات بافتی مانند نکروز در مسیرهای میلینی در ماده ی سفید بخش های مختلف مغز، ادم در بخش جسم سلولی نورون ها، پرخونی و تجمع سلول های خونی در بافت عصبی و نکروز در جسم سلولی و هسته های نورون ها در بخش ماده ی خاکستری مغزی مهمترین تغییراتی هستند که قابل مشاهده می باشند. مطالعات اندکی در زمینه ی بررسی اثرات علف کش آترازین بر بافت شناسی سیستم عصبی صورت گرفته است، اما مطالعات بیشتری به بررسی اثرات آترازین بر میزان فعالیت آنزیم های بافت عصبی از جمله استیل کولین استراز پرداخته اند که از جمله ی آنها می توان به Xing و همکاران (۲۰۱۰) بر روی کپور معمولی، *Cyprinus carpio*، Tyler Mehler و همکاران (۲۰۰۸) بر روی *Lepomis macrochirus*، *Pimephales promelas*، و *Chironomus tentans*، Belden و Lydy (۲۰۰۱) بر روی *Chironomus tentans*، Hussein و همکاران (۱۹۹۶) بر روی *Oreochromis niloticus* و *Chrysichthyes auratus*، اشاره کرد. این مطالعات نشان داده اند که آترازین موجب کاهش و یا مهار فعالیت آنزیم استیل کولین استراز مغزی می گردد. از سوی دیگر، برخی مطالعات نشان داده اند که آترازین در ماهی ها، می تواند در بافت مغز تجمع یابد (Gunkel و Streit، ۱۹۸۰؛ du Preez و van Vuren، ۱۹۹۲؛ Eisler، ۱۹۸۹)

و در مطالعه ی Colborn (۲۰۰۴ و ۲۰۰۶) بیان شده است که در زمان نمو مغز و سیستم عصبی، مدت زمان مواجهه با آترازین مهمتر از میزان غلظت آن در ایجاد اثرات می باشد. هر چند که علف کش ها، مانند آترازین، اصولاً باید بر سیستم عصبی بی اثر باشند، اما مطالعات متعددی تاکنون نشان داده اند که این ترکیبات موجب ایجاد تغییرات مختلف در عملکرد این بخش از بدن جانوران می شوند. مطالعات Podda و همکاران (۱۹۹۷) نشان داده است که آترازین اثرات سمی مشخصی بر عملکرد سیستم عصبی مرکزی دارد. تیمار موش های آزمایشگاهی با آترازین بطور مشخصی موجب کاهش میزان فعالیت نورون های مخچه (بخشی که به عملکردهای حرکتی بدن، کنترل تونوس عضلات و حفظ تعادل مربوط می شود) می گردد (Podda و همکاران، ۱۹۹۷). در مطالعه ی دیگری نیز نشان داده شده است که آترازین بر میزان تولید دوپامین و نوراپی نفرین مغزی اثر گذاشته و عملکردهای مغزی وابسته به این نوروترانسمیترها را تحت تاثیر قرار می دهد (Das و همکاران، ۲۰۰۰). مطالعاتی که در زمینه ی بررسی اثرات سایر آفت کش ها بر روی بافت عصبی صورت گرفته است نشان می دهد که تغییراتی از قبیل آسیب به ماده ی سفید مغز بصورت ایجاد حالت اسفنجی در این بافت، نکروز در جسم سلولی نورون ها در ماده ی خاکستری و نیز ادم و هایپرتروفی برخی نورون ها در مغز و نخاع، مشابه با نتایج مطالعه ی حاضر، در مواجهه ی گربه ماهی آفریقایی، *Clarias gariepinus*، با پاراکوات (Omitoyin و همکاران، ۲۰۰۶)، مواجهه ی تیلاپیی نیل، *Oreochromis niloticus*، با گلایفوزات (Jiraungkoorskul و همکاران، ۲۰۰۲؛ Ayoola، ۲۰۰۸)، مواجهه ی ماهی طلائی، *Carassius auratus*، با رونداپ (Lushchak و همکاران، ۲۰۰۹)، مواجهه ی *Clarias gariepinus* و *Tilapia rendalli* با اندوسولفان (Matthiessen و Roberts، ۱۹۸۲)، مواجهه ی *Ophiocephalus punctatus* با مالاتیون (Pugazhvendan و همکاران، ۲۰۰۹)، مواجهه ی قزل آلای رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss*، با اندوسولفان (Altinok و Capkin، ۲۰۰۷) نیز گزارش شده است. مغز و سیستم عصبی مرکزی، مرکز کنترل حرکات و کل فرآیندهای فیزیولوژیک بدن می باشد و آسیب به این بافت می تواند رفتار و بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک موجود را تحت تاثیر قرار دهد (Au، ۲۰۰۴). تغییرات هیستوپاتولوژیک مختلف در بافت مغز در ماهیان مختلف در مواجهه با آلاینده های مختلف تاکنون گزارش شده است که طیف وسیعی از آلاینده ها و تغییرات را در بر می گیرد، این در حالی است که بافت مغز تماس مستقیمی با محیط پیرامونی نداشته و آلاینده ها از راه گردش خون به این بافت راه می یابند، بنابراین و با توجه به شدت و گستره ی آسیب های بافتی در سیستم عصبی، به نظر می رسد که این بافت را می توان جزو بافت های بسیار حساس به آلاینده ها و به عنوان شاخصی جهت بررسی حضور مواد آلاینده در محیط عنوان کرد (Au، ۲۰۰۴).

### ۵-۳- نتیجه گیری نهایی

مقایسه ی نتایج مطالعه ی حاضر با سایر مطالعاتی که پیشتر در زمینه ی بررسی اثرات آترازین و سایر علف کش ها بر روی بافت ها و وضعیت فیزیولوژیک ماهیان مختلف صورت گرفته است نشان می دهد که آترازین در غلظت



های تحت کشنده برای لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر، *Rutilus frisii kutum*، از سمیت بالایی برخوردار بوده و در این غلظت ها می تواند اثرات هیستوپاتولوژیک نسبتاً شدیدی بر بافتهای مختلف بر جای بگذارد. این در حالی است که نتایج مطالعه ی حاضر نشان می دهد که آترازین در مقادیر تحت کشنده و مواجهه ی حاد تاثیری بر پارامترهای رشد و وضعیت بدنی لارو و بچه ماهی دریای خزر ندارد. همچنین با توجه به تغییرات هیستوپاتولوژیک شدیدی که آترازین در بافت های دخیل در فرآیند تنظیم اسمزی مانند آبشش، کلیه و دستگاه گوارش ایجاد کرده است و نیز تغییراتی که در ترکیب یونی بدن لارو و بچه ماهی بوجود آورده است می توان بیان کرد که آترازین علف کشی است که می تواند فرآیند تنظیم اسمزی را در این ماهی در مراحل ابتدایی زندگی تحت تاثیر جدی قرار دهد.

# منابع

بانان خجسته، م.، ابراهیمی، س.، رضانی، م.، حق نیا، ح. ۱۳۸۸. مطالعه ی هیستولوژی و هیستوشیمیایی مری و روده ی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). فصلنامه ی علمی پژوهشی زیست شناسی جانوری. سال اول. شماره چهارم. تابستان ۸۸. ۱۷-۲۶.

حسین زاده صحافی، ه.، رجبی، ن.، طلوعی، م. ح.، سبحانی، م. ۱۳۸۷. شاخص های رشد بچه ماهی نارس کپور هندی روهو (*Labeo rohita*) تا مرحله ی یکساله در شرایط اقلیمی استان گیلان. پژوهش و سازندگی. ۷۸: ۱۶۷-۱۷۵.

خوشنود، ز.، خدابنده، ص.، مسافر خورجستان، س. ۱۳۸۷. مکان یابی آنزیم  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase و سلولهای کلراید آبششی به روش ایمونوهیستوشیمی در بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله علمی شیلات ایران. سال هفتم. شماره ۴. زمستان ۱۳۸۷. ۱۷-۲۵.

رستمی بشمن، م.، سلطانی، م.، ساسانی، ف. ۱۳۷۹. مطالعه اثرات هیستوپاتولوژی برخی از فلزات سنگین (سولفات مس، سولفات روی، سولفات جیوه، کلرور کادمیوم) بر بافت های ماهی کپور معمولی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۵. ش ۴: ۱-۳.

زند، ا.، باغستانی، م. ع.، شیمی، پ.، فقیه، ا. ۱۳۸۲. تحلیلی بر مدیریت سموم علف کش در ایران. نشر آموزش کشاورزی. صفحه ۴۱.

زند، ا.، باغستانی، م. ع.، نظام آبادی، ن.، مین باشی معینی، م.، هادی زاده، م. ح. ۱۳۸۸. مروری بر آخرین فهرست علف کش ها و علف های هرز مهم ایران. مجله پژوهش علف های هرز. ۱ (۲): ۸۳-۱۰۰.

شاپوری، م.، عربان، ش.، اسماعیلی ساری، ع. ۱۳۸۸. بررسی تاثیر فلز مس بر تغییرات هیستوپاتوژیک بافت های کبد، عضله و گنادهای ماهی کپور معمولی. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. سال سوم. ش ۶: ۲۳-۲۹.

فلاحی، م.، دقیق روحی، ج.، نهرور، م.، مرادی چافی، م.، سرپناه، ع. ۱۳۸۳. بررسی رشد و بقای لارو ماهی سفید با تغذیه ی روتیفر و مقایسه آن با غذای کنستانتره. پژوهش و سازندگی. ۶۳: ۶۶-۷۱.

گرویی، ح.، جمیلی، ش.، رستمی، م. ۱۳۸۷. اثر سمیت حاد سولفات آلومینیوم بر بافت آبشش ماهی کلمه *Rutilus rutilus* پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان. ش ۷۹: ۱۹۳-۱۹۶.

ناجی، ط.، خارا، ح.، رستمی، م.، نصیری پرمان، ا. ۱۳۸۸. بررسی اثر سمیت آمونیاک بر بافت کبد ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio*. علوم و تکنولوژی محیط زیست. دوره یازدهم. ش ۱: ۱۳۱-۱۴۸.

ناجی، ط.، صفائیان، ش.، رستمی، م.، صبرجو، م. ۱۳۸۶. بررسی اثرات سولفات روی بر بافت آبشش بچه ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio*. علوم و تکنولوژی محیط زیست. دوره نهم. ش ۲: ۲۹-۳۶.

یوسفیان، م.، عبدالحی، ح.، مخدومی، چ.، سلیمانی رودی، ع. ۱۳۸۷. پرورش بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*, Borodin 1897) در استخرهای خاکی و بررسی عوامل موثر بر رشد آن. پژوهش و سازندگی. ۷۸: ۱۵۶-۱۶۶.

**Abdel-Warith, A. A., Younis, E. M., Al-Asgah, N. A., Wahbi, O. M. 2011.** Effect of zinc toxicity on liver histology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Scientific Research and Essays. 6(17): 3760-3769.

**Abdul Awah, M., Begum, A. A., Chandra, K. J., Ahmed, G. U., Kurohmaru, M. 2001.** Myxosporidian infection of gills and skin among carp from nursery ponds in Bangladesh: histopathology. VETERINARSKI ARHIV. 71 (5): 265-276.

**Abdul-Farah, M.; Ateeq, B.; Ali, M.N.; Ahmad, W. 2004.** Studies on lethal concentrations and toxicity stress of some xenobiotics on aquatic organisms. Chemosphere. 55: 257–265.

**Abowei, J. F. N. 2010.** The Condition Factor, Length – Weight Relationship and Abundance of *Ilisha africana* (Block, 1795) from Nkoro River Niger Delta, Nigeria. Advance Journal of Food Science and Technology. 2(1): 6-11.

**Abowei, J.F.N and A.I. Hart, 2007.** Size, Composition, age, growth, mortality and exploitation rate of *Chysichthys nigrodigitatus* from Nun River, Niger Delta, Nigeria. Afr. J. Appl. Zool. Environ. Biol. 9: 44-50.

**Abowei, J.F.N. and A.O. Davies. 2009.** Some population parameters of *Clarotes laticeps* (Rupell, 1829) from the fresh water reaches of the lower river, Niger Delta, Nigeria. Am. J. Sci. Res. 2: 15-19.

**Adriaens, D., Aerts, P., Verraes, W. 2001.** Ontogenetic Shift in Mouth Opening Mechanisms in a Catfish (Clariidae, Siluriformes): A Response to Increasing Functional Demands. Journal of Morphology. 247:197–216.

**Agarwal, S., and John, P. A .1988.** Studies on the development of the kidney of the guppy, *Lebistes reticulatus*, part 1. The development of the pronephros. J. Anim. Morphol. Physiol. 35:17–24.

**Ahlstrom, E.H., Amaoka, K., Hensley, D.A., Moser, H.G., and Sumida, B.Y. 1984.** Pleuronectiformes: development, ontogeny and systematics of fishes. Am. Soc. Ichthyol. Herpetol. Ser. 1: 641–670.

**Ahmed, K. K. and S. B. Saha. 1996.** Length-weight relationship of major carps in Kaptai lake. Bangladash. NAGA. The ICLARM Q. 19(2): 28.

**Al Abdulhadi, H. A. 2005.** Some comparative histological studies on alimentary tract of Tilapia fish (*Tilapia spilurus*) and Sea bream (*Mylio cuvieri*). Egyptian Journal of Aquatic Research. 31 (1): 387-397.

- Al Hazzaa, R. and Hussein, A. 2007.** Larval Development of Himri, *Barbus luteus* (Cyprinidae: Cypriniformes) Reared in the Laboratory. Turkish Journal of Zoology. 31: 27-33.
- Alazemi, B. M., Lewis, J. W., Andrews, E. B. 1996.** Gill damage in the freshwater fish *Gnathonemus petersii* (family: Mormyridae) exposed to selected pollutants: an ultrastructural study. Environ. Technol. 17: 225–238.
- Albrecht, M. P., Ferreira, M. F. N., Caramasch, E. P. 2001.** Anatomical features and histology of the digestive tract of two related neotropical omnivorous fishes (Caraciformes; Anostomidae). J. Fish Biol. 58: 419-430.
- Alderice, D. F. 1988.** Osmotic and ionic regulation in teleost eggs and larvae. In Fish Physiology, vol. XIA (ed. W. S. Hoar and D. J. Randall), pp. 163–251. New York: Academic Press.
- Alfred-Ockiya, J. F. 2000.** The length-weight relationship of snake head (*Chana chana*) from the fresh water swamps of Niger Delta. J. Aquat. Sci. 15: 12-14.
- Allen , P. A., Cech , J. J. J., Kültz, D. 2009.** Mechanisms of seawater acclimation in a primitive, anadromous fish, the green sturgeon. Journal of Comparative Physiology Part B. 179 (7): 903 – 920.
- Allis, E. P. 1897.** The cranial muscles and cranial and first spinal nerves in *Amia calva*. J. Morphol. 12: 487-807.
- Allran, J. W., and Karasov, W. H. 2001.** Effects of atrazine on embryos, larvae, and adults of anuran amphibians. Environmental Toxicology and Chemistry. 20 (4): 769-775.
- Altinok, I., and Capkin, E. 2007.** Histopathology of Rainbow Trout Exposed to Sublethal Concentrations of Methiocarb or Endosulfan. Toxicol. Pathol. 35 (3): 405-410.
- Alvarez-González , A., Márquez-Couturier, G., Arias-Rodriguez, L. 2008.** Advances in the digestive physiology and nutrition of bay snook *Petenia splendida*. In: Cruz, E. L., Ricque, D., Tapia, M., (eds.) Avances Em Nutrición Acuícola IX. Universidad Autónoma de Nuevo León , Monterrey, Mexico, pp. 135–235.
- Anderson T. A. 1986.** Histological and cytological study of the gastrointestinal tract of the luderick, *Girella tricuspidata* (Pisces, Kyphosidae), in relation to diet. J. Morphol. 190: 109-119.
- ANZECC, 1992.** Australian water quality guidelines for fresh and marine waters. National water quality management strategy paper no. 4. Australian and New Zealand Environment and Conservation council, Canberra.
- Arawomo, G. A. A. 1982.** The growth of *Sarotherodon niloticus*. In: Proceedings of the 2nd Annual Conference of the Institute. New Bussa, Nigeria. 221-227.

- Arellano J.M., Storch V. and Sarasquete C. 2002.** Ultrastructural study on the intestine of Senegal sole, *Solea senegalensis*. J. Appl. Ichthyol. 17: 1-5.
- Ariens Kappers, C. U., Huber, G. C. and Crosby, E. C. 1967.** The Comparative Anatomy of the Nervous System of Vertebrates Including Man, Vols I-III. New York, NY: Hafner.
- Arya, N. 2005.** Pesticides and human health. Canadian Journal of Public Health-Revue Canadienne de Sante Publique. 96: 89-92.
- Athikesavan, S., Vincent, S., Ambrose, T., Velmurugan, B. 2006.** Nickel induced histopathological changes in the different tissues of freshwater fish, *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes). Journal of Environmental Biology. 27(2): 391-395.
- Au, D. W. T. 2004.** The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. Marine Pollution Bulletin. 48: 817–834.
- Ayoola, S. O. 2008.** Toxicity of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. African Journal of Agricultural Research. 3 (12):825-834.
- Ayson FG, Kaneko T, Hasegawa S, Hirano T. 1994.** Development of mitochondrion-rich cells in the yolk-sac membrane of embryos and larvae of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) in fresh water and seawater. J. Exp. Zool. 270(2): 129-135.
- Bagenal, T. B. and A. T. Tesch. 1978.** Conditions and Growth Patterns in Fresh Water Habitats. Blackwell Scientific Publications, Oxford. Bakare, O., 1970. Bottom Deposits as Food of Inland Fresh Water Fish. In: Kainji, A Nigerian Manmade Lake. Visser, S.A., (Ed.), Kanyi Lake Studies, Vol.1. Ecology Published for the Nigerian Institute.
- Baglole, C. J., Murray, H. M., Goff, G. P. 1997.** Ontogeny of the digestive tract during larval development of yellowtail fl ounder: a light microscopic and mucous histochemical study. Journal of Fish Biology. 51 (1): 120–134.
- Baglole, C. L., Goff , G. P., Wright, G. M. 1998.** Distribution and ontogeny of digestive enzymes in larval yellowtail and winter flounder . Journal of Fish Biology. 53: 767–784.
- Bais, U. E., and Lokhande, M. V. 2012.** Effect of cadmium chloride on histopathological changes in the freshwater fish *Ophiocephalus striatus* (Channa). International Journal of Zoological Research. 8(1): 23-32.
- Baker, M. 1969.** Histological and electron microscopical observation on copper poisoning in the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). J. Fish. Res. Board Can. 26, 2785–2793.
- Bálint, T., Ferenczy, J., Kátai, F., Kiss, I., Kráczér, L., Kufcsák, O., Láng, G., Polyhos, C., Szabó, I., Szegletes, T., Nemcsók, J. 1997.** Similarities and differences between the massive eel (*Anguilla anguilla* L) devastations that occurred in Lake Balaton in 1991 and 1995. Ecotoxicology and Environmental Safety. 37:17-23.

- Barry, M. J., O'Halloran, K., Logan, D. C., Ahokas, J. T., Holdway, D. A. 1995.** Sublethal effects of esfenvalerate pulse-exposure on spawning and non-spawning Australian crimsonspotted rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 28: 459-463.
- Bathe, R.; Ullmann, L., Sachsse, K. 1973.** Determination of pesticide toxicity to fish. Berlin-Dahlem. 37: 241–246.
- Battaglin, W. A., Rice, C. K., Foazio, M. J., Salmons, S., Barry, R. X. 2008.** The occurrence of glyphosate, atrazine, and other pesticides in vernal pools and adjacent streams in Washington, DC, Maryland, Iowa and Wyoming 2005–2006. Environ. Monit. Assoc. 155: 281–307.
- Battaglin, W. A., Thurman, E. M., Kalkhoff, S. J., Porter, S. D. 2003.** Herbicides and transformation products in surface waters of the Midwestern United States. J. Am. Water Res. Assoc. 39: 743–756.
- Batty, R. S. 1989.** Responses of marine fish larvae to visual stimulate. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 69: 647-654.
- Bauchot, R., Bauchot, M. L., Platel, R., Ridet, J. M. 1977.** Brains of Hawaiian tropical fishes; brain size and evolution. Copeia. 19: 42–46.
- Bauchot, R., Diagne, M., Ridet, J. M. 1982.** The brain of *Photoblepharon palpebratus steinitzi* (Pisces, Teleostei, Anomalopidae). J. Hirnforsch. 23: 399-404.
- Belden, J. B., and Lydy, M. J. 2001.** Effects of atrazine on acetylcholinesterase activity in midges (*Chironomus tentans*) exposed to organophosphorus insecticides. Chemosphere. 44: 1685-1689.
- Berra, T. M. and Humphrey, J. D. 2002.** Gross anatomy and histology of the hook and skin of forehead brooding male nurseryfish, *Kurtus gulliveri*, from northern Australia. Environmental Biology of Fishes. 65: 263–270.
- Bertin, L. 1958.** Organes de la respiration aquatique, in Traite de Zoologie, Vol. XIII, ed. by P. P.Grasse, pp. 1301-1341, Masson Publishing, Paris.
- Beyenbach, K. W. 1986.** Secretory NaCl and volume flow in renal tubules. Am. J. Physiol. 250: R753-R763.
- Beyenbach, K. W. 1995.** Secretory electrolyte transport in renal proximal tubules of fish. In: Wood CM, Shuttleworth TJ (eds) Fish physiology, vol XIV. Academic Press, San Diego, pp 85–104.
- Beyenbach, K. W., Baustian, M. D. 1989.** Comparative physiology of the proximal tubule. From the perspective of aglomerular urine formation. In: Kinne RKH (ed) Structure and function of the kidney, vol I. Karger, Basel, pp 103–142.

- Beyenbach, K. W., and Frömter, E. 1985.** Electrophysiological evidence for Cl secretion in shark renal proximal tubules. *Am. J. Physiol.* 248: F282-F295.
- Beyenbach, K. W., and Liu, P. L. F. 1996.** Mechanism of fluid secretion common to glomerular and glomerular kidneys. *Kidney Int.* 49:1543–1548.
- Beyer, J. E., 1987.** On length-weight relationship computing the mean weight of the fish of a given length class. *Fishbyte.* 5(1): 11-13.
- Bingsheng, Z., Yongyuan, Z., Ying, X. 1994.** Toxic Effects of meothrin on the gill ultrastructure in grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *Journal of Environmental Sciences.* 6 (1): 52-61.
- Blaxter, J. H. S., Danielssen, D., Moksness, E., and Øiestad, V. 1983.** Description of the early development of the halibut *Hippoglossus hipoglossus* and attempts to rear the larvae past first feeding. *Mar. Biol.* 73: 99-107.
- Blaxter, J. H. S., and Jones, M., P. 1967.** The development of the retina and retinomotor responses in the herring. *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 47: 677-697.
- Blaxter, J. H. S. 1975.** The eye of larval fish. In: Ali MA (ed.), *Vision in Fishes. New Approaches in Research.* Plenum Press. New York, pp. 427-443.
- Blaxter, J. H. S. 1986.** Development of sense organs and behavior of teleost larvae with special reference to feeding and predator avoidance. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 115: 980-1114.
- Blaxter, J. H. S. and Fuiman, L. A. 1990.** The role of the sensory systems of herring larvae in predator avoidance. *J. Mar. Biol.* 70: 413-427.
- Blaxter, J. H. S. and Stains, M. E. 1971.** Food searching potential in marine fish larvae. 4<sup>th</sup> Europ. Mar. Biol. Symp. 467-485.
- Bolger, T. and P. L. Connoly. 1989.** The selection indices for the measurement and analysis of fish condition. *J. Fish Biol.* 17(3): 1-182.
- Bose, R. 2005.** Effects of lead and cadmium on the digestive system and kidney of Indian fresh water perch, *Anabas testudineus* (Cuvier) and subsequent recovery by EDTA. Ph.D Thesis. The University of Burdwan, India.
- Boulhic, M., and Gabaudan, J. 1992.** Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the Dover sole, *Solea solea* (Linnaeus 1758). *Aquaculture.* 102 (4): 373 – 396.



- Brandstaetter, R. and Kotrschal, K. 1990.** Brain growth patterns in four European cyprinid fish species (Cyprinidae, Teleostei): roach (*Rutilus rutilus*), bream (*Abramis brama*), common carp (*Cyprinus carpio*) and sabre carp (*Pelecus cultratus*). *Brain, Behav. Evolut.* 35: 195-211.
- Breck, J. E., and Gitter, M. J. 1983.** Effect of fish size on the reactive distance of bluegill (*Lepomis macrochirus*) sunfish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40: 162-167.
- Bridges, C. R., Berenbrink, M., Muller, R., Waser, W. 1998.** Physiology and biochemistry of the pseudobranch: An unanswered question. *Comparative Biochemistry and Physiology, part A.* 119 (1): 67-77.
- Browman, H. I., and O'Brien, W. J. 1992.** The ontogeny of search behavior in the white crappie, *Pomoxis annularis*. *Env. Biol. Fish.* 34: 181-195.
- Bruner, K. A., Fisher, S. W., Landrum, P. F. 1994a.** The role of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, in contaminant cycling: I. The effect of body-size and lipid-content on the bioconcentration of PCBs and PAHs. *Journal of Great Lakes Research.* 20: 725-734.
- Bruner, K. A., Fisher, S. W., Landrum, P. F. 1994b.** The role of the zebra mussel, *Dreissena-Polymorpha*, in contaminant cycling: II. Zebra mussel contaminant accumulation from algae and suspended particles, and transfer to the benthic invertebrate, *Gammarus fasciatus*. *Journal of Great Lakes Research.* 20: 735-750.
- Bshary, R., Wickler, W., Fricke, H. 2002.** Fish cognition: a primate's eye view. *Animal Cognition.* 5:1-13.
- Buddington, R. K., and Diamond, J. M. 1987.** Pyloric ceca of fish: a "new" absorptive organ. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology.* 252: 65-76.
- Buddington, R. K., and Doroshov, S. I. 1986.** Structural and functional relations of the white sturgeon alimentary canal *Acipenser transmontanus*. *Journal of Morphology.* 190(2): 201-213.
- Burcu, K. T., Sema, I., Ü., Özlem, Ö. 2009.** The effects of sodium perchlorate on the liver of Molly Fish (*Poecilia sphenops*, Cyprinidae, Teleostei). *African Journal of Biotechnology.* 8 (11): 2640-2644.
- Burggren, W. W. 2005.** Review: Developing Animals Flout Prominent Assumptions of Ecological Physiology. *Comp. Biochem. Physiol, Part A.* 141: 430 – 439.
- Burggren, W. W. 2005.** Review: Developing Animals Flout Prominent Assumptions of Ecological Physiology. *Comp. Biochem. Physiol, Part A.* 141: 430 – 439.
- Butler, A. B. 2000.** Topography and topology of the teleost telencephalon: a paradox resolved. *Neurosci Lett.* 293:95-98.

- Carson, R. 1962.** Morphological effects of acute and chronic atrazine exposure in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 20:454-461.
- Cataldi, E., Cataudella, S., Monaco, G., Rossi A., Tancioni, L. 1987.** A study of the histology and morphology of the digestive tract of the sea-bream, *Sparus aurata*. J. Fish Biol. 30: 135-145.
- Cavas, T. and Ergene-Gözükar, S. 2005.** Micronucleus test in fish cells, a bioassay for in situ monitoring of genotoxic pollution in the marine environment. Environ. Mol. Mutagen. 46: 64–70.
- Chakrabarti, P. and Sinha, G. M. 1987.** Mucosal surface of the alimentary canal in *Mystus vittatus* (Bloch): A scanning electron microscopic study. Proceedings of the Indian National Science Academy. 53: 317-322.
- Chandra, S. 2008.** Toxic effect of Malathion on acetylcholinesterase activity of liver, brain and gills of freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. Environ. Conserv. 9: 45–52.
- Chang, S. L., Kuo, G. H. Liao, I. C. 2003.** Salinity Adaptation and Subsidence Attributes in the Early Stages of Japanese eel (*Anguilla japonica*), Acta Zool. Taiwan. 14(1): 33-44.
- Chen, B. N., Qin, J. G. Kumar, M. S. 2006.** Ontogenic Development of the Digestive System in Yellowtail Kingfish *Seriola lalandi* Larva. Aquaculture. 256: 489-501.
- Chen, C., Lin, L. Lee, T. 2004.** Ionocyte Distribution in Gills of the Euryhaline Milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal, 1775). Zool. Stud. 43(4): 772-777.
- Clarke, A. J., Witcomb, D. M. 1980.** A study of the histology and morphology of the digestive tract of the common eel (*Anguilla anguilla*). J. Fish Biol. 16: 159-170.
- Colborn, T. 2004.** Commentary: setting aside tradition when dealing with endocrine disruptors. ILAR. J. 45(4):394–400.
- Colborn, T. 2006.** A case for revisiting the safety of pesticides: a closer look at neurodevelopment. Environ Health Perspect. 114(1):10–17.
- Colborn, T., Dumanoski, D. Myers, J. P. 1996.** Our Stolen Future. Dutton, New York.
- Colborn, T., Saal, F. S. V., Soto, A. M. 1993.** Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans [review]. Environmental Health Perspectives. 101, 378-384.
- Compagno, L. J. V. 1984.** Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of sharks species to date. FAO Fisheries Synopsis 125, Vol. 4 (Parts 1 and 2).
- Confer, J. L., and Blades, P. I. 1975.** Omnivorous zooplankton and planktivorous fish. Limnol. Oceanogr. 20: 571-579.

- Connell, D. W., Lam, P. K. S., Richardson, B. R., Wu, R. S. S. 1999.** Introduction to Ecotoxicology. Blackwell Science, Abingdon. 170 pp.
- Crain, D. A., Guillette, L. J., Rooney, A. A., Pickford, D. B. 1997.** Alterations in steroidogenesis in alligators (*Alligator mississippiensis*) exposed naturally and experimentally to environmental contaminants. Environmental Health Perspectives, 105, 528-533.
- Csillik B., Fazakas J., Nemcsok J., Knyihar-Csillik E. 2000.** Effect of the pesticide deltamethrin on the Mauthner cells of Lake Balaton fish. Neurotoxicology. 21: 343-352.
- Curic, S., Gojmerac, T., Zuric, M. 1999.** Morphological changes in the organs of gilthead sea bream induced with low-dose atrazine. Vet. Archiv. (69): 135-148.
- Dantzler, W. H. 1992.** Comparative aspects of renal function. In: Seldin DW, Giebisch G (eds) The kidney: physiology and pathophysiology, 2nd edn. Raven Press, New York, pp 885–942.
- Dantzler, W. H. 2003.** Regulation of renal proximal and distal tubule transport: sodium, chloride and organic anions. Comp Biochem Physiol. 136:A453–A478.
- Darias , M. J., Murray, H. M., Gallant, J. W. 2005.** Gene expression of pepsinogen during the larval development of red porgy (*Pagrus pagrus*). Aquaculture. 248: 245 – 252.
- Das, P. C., W. K. McElroy, R. L. Cooper. 2000.** Differential modulation of catecholamines by chlorotriazine herbicides in pheochromocytoma (PC12) cells in vitro . Toxicol. Sci. 56:324-331.
- Davis, R. E. and Northcutt, R. G. 1983.** Fish Neurobiology. Vol. II. Ann Arbor: The University of Michigan Press.
- De Mel, G. W. J. L. M. V. T. M. and Pathiratne, A. 2005.** Toxicity assessment of insecticides commonly used in rice pest management to the fry of common carp, *Cyprinus carpio*, a food fish culturable in rice fields. J. Appl. Ichthyol. 21: 146–150.
- De Ventura Campo, B., de Angelis Franceschi, D., Marin-Morales, M. A. 2008.** Mutagenic and genotoxic effects of the atrazine herbicide in *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae) detected by the micronuclei test and the comet assay. Biochem. Physiol. 90: 42–51.
- DeLorenzo, M. E., Scott, G. I., Ross, P. E. 2001.** Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A review. Environmental Toxicology and Chemistry. 20: 84-98.
- Dendy, L., Philpott, C. W., Deter, R. L. 1973.** Localization of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and other enzymes in teleost pseudobranch. The Journal of Cell Biology. 57: 689-703.
- Dhanapakiam, P. and J. Premalatha, 1994.** Histopathological changes in the Kidney *Cyprinus carpio* to malathion and sevin. J. Environ. Biol. 15(4): 283-287.

- Diaz, J. P., Guyot, E., Vigier, S. M. 1997.** First events in lipid absorption during post-embryonic development of the anterior intestine in gilthead sea bream. *Journal of Fish Biology*. 51 (1): 180–192.
- Diri, M. S., 2002.** Length-weight relationship of *Sarotheredon melanotheron* and *Tilapia guineensis* in Elechi creek Niger Delta, Nigeria B.Sc. project Rivers State University of Science and Technology Port Harcourt. 33.
- Dodzie, S. and B. C. C. Wangila, 1980.** Reproductive biology, length-weight relationship and relative condition of pond raised *tilapia zilli* (Gervas). *J. Fish Biol.* 17: 243-253.
- Domeneghini, C., Pannelli Straini, R., and Veggetti, A. 1998.** Gut glycoconjugates in *Sparus aurata* L. (Pisces, Teleostei). A comparative histochemical study in larval and adult ages. *Histology and Histopathology*. 13 (2): 359 – 372.
- Douglas S. E., Gawlicka A., Mandla, S. and Galland, J. W. 1999.** Ontogeny of the stomach in winter flounder: characterization and expression of the pepsinogen and proton pump genes and determination of pepsin activity. *J. Fish Biol.* 55: 897-915.
- Drummond, I. A., Majumdar, A., Hentschel, H., Elger, M., Solnica-Krezel, L., Schier, A. F., Neuhauss, S. C. F., Stemple, D. L., Zwartkruis, F., Rangini, Z., Driever, W., Fishman, M. C. 1998.** Early development of the zebrafish pronephros and analysis of mutations affecting pronephric function. *Development*. 125:4655–4667.
- du Preez, H. H., van Vuren, J. H. J. 1992.** Bioconcentration of atrazine in the banded tilapia, *Tilapia sparrmanii*. *Comp. Biochem. Physiol.* 101C: 651–655.
- Easter, S. S., J., P. R. Johns L., Baumann. 1977.** Growth of the adult goldfish eye. 1. Optics. *Vision Res.* 17: 469–476.
- Ecobichon, D. J. 1991.** Toxic effects of pesticides, p. 565-622, In M. O. Amdur, et al., eds. Casarett and Doull's Toxicology- The basic science of poisons, 4th ed. McGraw-Hill, Inc., New York.
- Eggers, D. M. 1977.** The nature of prey selection by planktivorous fish. *Ecology*. 58: 46-59.
- Eisler, R. 1989.** Atrazine hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. US fish and wildlife service. *Biol Rep.* 85(1):18-21.
- Elbal, M. T. and Agulleiro, B., A. 1986.** Histochemical and ultrastructural study of the gut of *Sparus auratus* (Teleostei): *J. Submicrosc. Cytol.* 18 (2): 335-347.
- Elger, M., Werner, A., Herter, P., Kohl, B., Kinne, R. K. H., Hentschel, H. 1998.** Na-Pi cotransport sites in proximal tubule and collecting tubule of winter flounder (*Pleuronectes americanus*). *Am J Physiol* 274:F374–F383.

- Evans, B. I. and R. D. Fernald. 1990.** Metamorphosis and fish vision. *J. Neurobiol.* 21: 1037–1052.
- Evans, D. H. 1987.** The Fish Gill: Site of Action and Model for Toxic Effects of Environmental Pollutants. *Environmental Health Perspectives.* 71: 47-58.
- Fagade, S. 1983.** The biology of chromido *Tilapia guntheri* from a small lake. *Arch. Hydobil.* 97: 60-72.
- Fagade, S. O. 1978.** Age determination of *Tilapia melanotheron* (Ruppel) in the Lagos lagoon, Nigeria. *International Symposium on Ageing of Fish (In Bagenal), Teseh.* 71-77.
- Fagade, S. O. 1979.** Observation of the biology of two species of *Tilapia* from the Lagos lagoon Nigeria. *Bull. Inst. Fond Afr. Nore (Ser. A).* 41: 627-658.
- Fatima, M., Clarck, S. D., Sheppard, J. 2007.** Combined effects of herbicides on biomarkers reflecting immune endocrine interactions in goldfish. *Aquat. Toxicol.* 81: 159–167.
- Faulk, C. K., Benninghoff, A. D., Holt, G. J. 2007.** Gut morphology and function in *Atherinops affinis* (Teleostei: Atherinopsidae), a stomachless omnivore feeding on macroalgae. *Journal of Fish Biology.* 70 (2): 567 – 583.
- Faustino, M., and Power, D. M. 1998.** Development of osteological structures in the sea bream: vertebral column and caudal fin complex. *J. Fish Biol.* 52: 11-22.
- Fernald, R. D. 1991.** Teleost vision: seeing while growing. *J. Exp. Zool. Supplement.* 5: 157-180.
- Fernald, R. D. 1989.** Fish vision. pp. 247–265. In: B.A. Finlay & D.R. Sengelaub (ed.) *Development of the Vertebrate Retina*, Plenum Press, New York.
- Ferraris, R. D., Tan, J. D., Delacruz, M. C. 1987.** Development of the digestive tract of milkfish, *Chanos chanos* (Forsk.) : Histology and histochemistry. *Aquaculture.* 61: 241-257.
- Ferreiro-Galve, S., Carrera, I., Candal, E., Villar-Cheda, B., Anadón, R., Mazan, S., Rodríguez-Moldes, I. 2008.** The segmental organization of the developing shark brain based on neurochemical markers, with special attention to the prosencephalon. *Brain Research Bulletin.* 75: 236–240.
- Finney, D. T. 1971.** *Probit Analysis*; Cambridge University Press: Cambridge, UK.
- Fischer-Scherl, T., Veese, A., Hoffmann, R. W., Kühnhauser, C., Negele, R. D., Ewringmann, T., 1991.** Morphological effects of acute and chronic atrazine exposure in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20: 454–461.

- Fisher-Scherl, T., Veaser, A., Hoffmann, R. W., Kuhnhauser, C., Negele, R. D., Glauret, M. A. 1974.** Practical Methods in Electron Microscopy. North Holland Publishing-Amsterdam. Oxford. 3: 353-367.
- Flik, G. and Verboost, P. M. 1993.** Calcium Transport in Fish Gills and Intestine. J. exp. Biol., 184: 17–29.
- Forson, D. D., Storfer, A. 2006.** Atrazine increases rana virus susceptibility in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. Ecol. Appl. 16:2325–2332.
- Fortin, M. G., Couillard, C. M., Pellerin, J., Lebeuf, M. 2008.** Effects of salinity on sublethal toxicity of atrazine to mummichog (*Fundulus heteroclitus*) larvae, Marine Environmental Research. 65 (2): 158-189.
- Freeman, J. L., Rayburn, A. L., 2005.** Developmental impact of atrazine on metamorphosing *Xenopus laevis* as revealed by nuclear analysis and morphology. Environ. Toxicol. Chem. 24: 1648–1653.
- Freeman, J. L., Rayburn, A. L. 2005.** Developmental impact of atrazine on metamorphosing *Xenopus laevis* as revealed by nuclear analysis and morphology. Environ. Toxicol. Chem. 24:1648–1653.
- Fu C., J. M. Wilson, P. J. Rombough, and C. Brauner. 2010.** Ions first: Na<sup>+</sup> uptake shifts from the skin to the gills before O<sub>2</sub> uptake in developing rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Proc R Soc B. 277:1553–1560.
- Gage, S. P. 1893.** The brain of *Diemyctilis viridescens* from larval to adult life and comparison with the brain of *Amia* and of *Petromyzon*. The Wilder Quarter-Century Book. Comstock Publishing Company, Ithaca, pp 259–313.
- Gamble, J. C. and Fuiman, L. A. 1987.** Evaluation of in situ enclosures during a study of the importance of starvation to the vulnerability of herring larvae to a piscine predator. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 113: 91-103.
- García-Hernández, M. P., Lozano, M. T., Elbal, M. T. 2001.** Development of the digestive tract of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L). Light and electron microscopic studies. Anatomy and Embryology. 204 (1): 39–57.
- Gardner, G. R., and P. P., Yevich. 1970.** Histological and hematological responses of an estuarine teleost to cadmium. J. Fish. Res. Board Can. 27: 2185-2196.
- Genten, F., Terwinghe, E., Danguy, A. 2009. Atlas of fish histology. Science Publishers. Enfield, New Hampshire 03748. United States of America. pp. 144.
- Gernhöfer, M., Pawert, M., Schramm, M., Müller, E., Triebkorn, R. 2001.** Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery. 8: 241–260.

**Ghanizadeh Kazerouni, E., Khodabandeh, S. 2011.** Ionocyte Immunolocalization and the Effects of Ultraviolet Radiation on Their Abundance and Distribution in the Alenins of Caspian Sea Salmon, *Salmo Trutta Caspius*. Cell Journal (Yakhteh). 13 (1): 45-54.

**Ghosh, A. R., and Chakrabarti, P. 2001.** Impact of inorganic arsenic on mucosal surface of stomach, intestine and intestinal caeca of *Notopterus notopterus* (Pallas). Proceedings of the International Conference on Industrial Pollution and Control Technologies (ICIPACT) 469-473.

**Gisbert , E., and Doroshov, S. I. 2003.** Histology of the developing digestive system and the effect of food deprivation in larval green sturgeon (*Acipenser medirostris*). Aquatic Living Resources. 16 (2): 77–89.

**Gisbert , E., Ortiz-Delgado, J. B., Deplano, M., Diaz, J. P., Connes, R. 1991.** Appearance of lipid absorption capacities of the sea bass *Dicentrarchus labrax* during transition to the exotrophic phase. Marine Biology. 108 (3): 361–371.

**Gisbert , E., Piedrahita, R. H., and Conklin, D. E. 2004.** Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. Aquaculture. 232 (4): 455–470.

**Gisbert , E. , Rodríguez, A., Williot, P. 1998.** A histological study of the development of the digestive tract of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) during early ontogeny. Aquaculture. 167 (4): 195–209.

**Gisbert , E., Sarasquete , M.C. , Williot , P. 1999.** Histochemistry of the development of the digestive system of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt) during early ontogeny. Journal of Fish Biology 55 (3): 596 – 616.

**Gisbert, E., Villeneuve, L., Zambonino-Infante, J. L. 2005.** Dietary phospholipids are more efficient than neutral lipids for long chain polyunsaturated fatty acid supply in European sea bass *Dicentrarchus labrax* larval development. Lipids. 40 (6): 609 – 618.

**Glauret, M. A. 1974.** Practical Methods in Electron Microscopy. Vol. 3. North Holland Publishing, 353 pp.

**GlobalTox. 1997.** Technical evaluation of histopathology as an environmental monitoring tool for the mining industry in Canada. Report prepared for Aquatic Effects Technology Evaluation (AETE) Program, Ottawa. Natural Resources Canada by Global Tox International Consultants Inc., Ottawa, 153 pp.

**Gluzczak, L. Miron, D. S., Moraes, B. S., Simoes, R. R. Schetinger, M. R. C., Morsch, V. M., Loro, V. R. 2007.** Acute effect of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). Comparative Biochemistry and Physiology. 146: 519-524.

- González, M. E., Blánquez, M. J., Rojo, C. 1996.** Early gill development in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Morphol.* 229: 201–217.
- Görge, G., Nagel, R. 1990.** Toxicity of lindane, atrazine, and deltamethrin to early life stages of zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Ecotox. Environ. Safe.* 20: 246–255.
- Goss, G. G., Laurent, P. and Perry, S. F. 1995.** Gill Morphology and Acid– Base Regulation. *Fish Physiol.* 14: 257–284.
- Gossiaux D. C., Landrum P. F., Fisher, S. W. 1998.** The assimilation of contaminants from suspended sediment and algae by the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Chemosphere.* 36: 3181-3197.
- Govoni, J. J., Boehlert, G. W. Watanabe, Y. 1986.** The physiology of digestion in fish larvae. *Env. Biol. Fish.* 16: 59-77.
- Grau, A., Crespo, S., Sarasquete, M. C., Gonzalez de Canales, M. L. 1992.** The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili*, Risso: a light and scanning electron microscope study. *J. Fish Biol.* 41: 287-303.
- Green , B. S. , and McCormick , M. I. 2001.** Ontogeny of the digestive and feeding systems in the anemonefish *Amphiprion melanopus*. *Environmental Biology of Fishes.* 61 (1): 73–83.
- Grobler, E., van Vuren, J. H. J., du Preez, H. H. 1989.** Routine oxygen consumption of *Tilapia sparrmanii* (Cichlidae) following acute exposure to atrazine. *Comp. Biochem. Physiol.* 93C: 37–42.
- Gruber, S. H. & Myrberg, A. A. J. 1977.** Approaches to the study of the behavior of sharks. *American Zoologist.* 17: 471–486.
- Guillette, L. J. J., Vonier, P. M. & McLachlan, J. A. 2002.** Affinity of the alligator estrogen receptor for serum pesticide contaminants. *Toxicology.* 182: 151-154.
- Gunkel, G., Streit, B., 1980.** Mechanisms of bioaccumulation of a herbicide (atrazine,S-triazine) in a freshwater mollusk (*Ancylus fluviatilis* Müll.) and a fish (*Coregonus fera* Jurine). *Water Res.* 14: 1573–1584.
- Gupta, P. K., Khangant, B. S., Durve, V. S. 1981.** The temperature dependence of the acute toxicity of copper to freshwater pond snail, *Viviparus bengalensis* L. *Hydrobiologia.* 83: 461–464.
- Hachero-Cruzado, I., Ortiz-Delgado, J. B., Borrega, B. 2009.** Larval organogenesis of flatfish brill *Scophthalmus rhombus* L: histological and histochemical aspects. *Aquaculture.* 286 (1–2): 138–149.



**Hamelink, J. L., and Spacie, A. 1977.** Fish and chemicals: the process of accumulation. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 17: 167-177.

**Hamidian, G. and Alboghobeish, N. 2007.** Histological study of pseudobranch in *Ctenopharyngodon idella*. AATEX 14. Special Issue. 693-696.

**Hamlin, H. J., Hunt Von Herbing, I., and King, L. J. 2000.** Histological and morphological evaluations of the digestive tract and associated organs of haddock throughout post-hatching ontogeny. Journal of Fish Biology. 57 (3): 716-732.

**Hanke, W., Gluth, G., Bubel, H., Müller, R. 1983.** Physiological changes in carps induced by pollution. Ecotox. Environ. Saf. 7: 229-241.

**Harder, W. 1975.** Anatomy of fishes. 2 vols. E. Schweizerbart, Stuttgart, Germany.

**Hart, S.A., 1997.** The Biology of *Mugil cephalus* in Bonny River estuary. M.Sc. Thesis University of Port Harcourt, Nigeria, pp: 42. Hart, A.I. and J.F.N. Abowei, 2007. A study of the length-weight relationship, condition factor and age of ten fish species from the lower Nun river. NigerDelta. Afr. J. A ppl. Zool. Environ. Biol. 9: 13-19.

**Hayes, T. B., Case, P., Chui, S., Chung, D., Haeffele, C., Hatson, K., Lee, M., Mai, V. P., Marjuoa, Y., Parker, J., Tsui, M. 2006.** Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we understanding the impact. Environmental Health Perspective, 114, 40-49.

**Hemalatha, S., Banerjee, T. K. 1997.** Histopathological analysis of acute toxicity of zinc chloride on the respiratory organs of airbreathing catfish, *Heteropneustes saccobranchnus fossilis* (Bloch). Veterinarski Arhiv. 67, 11-24.

**Hentschel, H., Elger, M. 1989.** Morphology of glomerular and aglomerular kidneys. In: Kinne RKH (ed) Structure and function of the kidney, vol I. Karger, Basel, pp 1-72.

**Herrick, C. J. 1906.** On the centers of taste and touch in the medulla oblongata in fishes. J. Comp. Neurol. Psychol. 16: 403-439.

**Hickman, C. P., and Trump, B. F. 1969.** The kidney. In: Hoar WS, Randall DJ (eds) Fish physiology, vol I. Academic Press, New York, pp 91-239.

**Hirji, K. N. 1983.** Observations on the histology and histochemistry of the oesophagus of the Perch, *Perca fluviatilis* L. J. Fish Biol. 22: 145-152.

**Hiroi, J., Kaneko, T., Seikai, T. and Tanaka, M. 1998.** Developmental Sequence of Chloride Cells in the Body Skin and Gills of Japanese Flounder (*Paralichthys olivaceus*) Larvae. Zool. Sci. 15: 455-460.

- Hoehne-Reitan, K., and Kjørsvik, E. 2004.** Functional development of the liver and exocrine pancreas in teleost fish. In: Govoni , J.J. (ed.) *The Development of Form and Function in Fishes and the Question of Larval Adaptation* . American Fisheries Society, Symposium 40. American Fisheries Society, Bethesda, MD, pp. 9 – 36 .
- Holmberg, A., Schwerte, T., Pelster, B., Holmgren, S. 2004.** Ontogeny of the gut motility control system in zebrafish *Danio rerio* embryos and larvae. *The Journal of Experimental Biology*. 207: 4085-4094.
- Holmgren, N. 1920.** Zur Anatomie und Histologie des Vorder- und Zwischenhirns der Knochenfische. *Acta Zool*. 1:137–315.
- Hossain, A. M., and Dutta, H. M. 1996.** Assessment of structural and functional similarities and differences between caeca of the bluegill. *Journal of Fish Biology*. 53 (6): 1317–1323.
- Houck, A., Sessions, S. K. 2006.** Could atrazine affect the immune system of the frog, *Rana pipiens*? *Bios*. 77: 107–112.
- Howland, R. B. 1921.** Experiments on the effect of the removal of the pronephros of *Ambystoma punctatum*. *J. Exp. Zool*. 32: 355-384.
- Huber, R., van Staaden, M. J., Kaufman, L. S., Liem, K. F. 1997.** Microhabitat use, trophic patterns, and the evolution of brain structure in African cichlids. *Brain, Behavior and Evolution*. 50: 167–182.
- Hussain R., Mahmood F., Khan, M. Z., Khan A., Muhammad, F. 2011.** Pathological and genotoxic effects of atrazine in male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Ecotoxicology*. 20: 1–8.
- Hussein, S. Y., El-Nasser, M. A., Ahmed, S. M. 1996.** Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on freshwater fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthyes auratus* at Assiut, Egypt. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 57: 503–510.
- Hussein, S. Y., El-Nasser, M. A., Ahmed, S. M. 1996.** Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on freshwater fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthyes auratus* at Assiut. *Egypt. B. Environ. Contam. Toxicol*. 57: 503–510.
- Hwang, P. P. 1989.** Distribution of Chloride Cells in Teleost Larvae. *J. Morphol.*, 200: 1–8.
- ICES. 1996.** Common diseases and parasites of fish in the North Atlantic: Training guide for identification. ICES Cooperative Research Report, No. 19, pp. 1–27.
- Isiag, S. and Karakisi, H., 1998.** Fine Structure of the Chloride Cell in the Gill Epithelium of *Branchydanio rerio* (Cyprinidae, Teleostei), *Turk. J. Vet. Anim. Sci*. 22:431-436.

- Jafari, M., Kamarudin, M. S., Saad, C. R., Arshad, A., Oryan, S., Bahmani, M. 2009.** Development of Morphology in Hatchery-Reared *Rutilus frisii kutum* Larvae. *European Journal of Scientific Research*. 38 (2): 296-305.
- Jayachandran, K. and Pugazhendy, K. 2009.** Histopathological Changes in the Gill of *Labeo rohita* (Hamilton) Fingerlings Exposed to Atrazine. *American-Eurasian Journal of Scientific Research* 4 (3): 219-221.
- Jiraungkoorskul, W., Upatham, E. S., Kruatrachue, M., Sahaphong, S., Vichasri-Grams, S., Pokethitiyook, P. 2002.** Histopathological effects of Roundup a Glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *ScienceAsia*. 28: 121-127.
- Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C. R., Brighty, G. & Sumpter, J. P. 1998.** Widespread sexual disruption in wild fish. *Environmental Science & Technology*. 32: 2498-2506.
- Johns, P. R. 1977.** Growth of the adult goldfish eye. III. Source of the new retinal cells. *J. Comp. Neurol.* 176: 343-358.
- Johns, P. R., and Easter, S. S. 1977.** Growth of the adult goldfish eye. II. Increase in retinal cell number. *J. Comp. Neurol.* 176: 331-342.
- Johns, P. R. 1982.** The formation of photoreceptors in the growing retinas of larval and adult goldfish. *J. Neurosci.* 2: 179-198.
- Johns, P. R., and R. D. Fernald. 1981.** Genesis of rods in teleost fish retina. *Nature* 293:141-142.
- Johnson, L. L., Stein, J. E., Collier, T. K., Casillas, E., McCain, B. B., Varanasi, U. 1992.** Bioindicators of contaminant exposure, liver pathology, and reproductive development in prespawning female winter flounder (*Pleuronectes americanus*) from urban and nonurban estuaries on the northeast Atlantic coast. *National Technical Information Service, US*, pp. 1-71.
- Johnson, R. H. & Nelson, D. R. 1973.** Agonistic display in the gray reef shark, *Carcharhinus menisorrhah*, and its relationship to attacks on man. *Copeia*. 45: 76-84.
- Johnston, J. B. 1911.** The telencephalon of ganoids and teleosts. *J. Comp. Neurol.* 21:489-591.
- Johnston, J. B. 1901.** The brain of Acipenser. A contribution to the morphology of the vertebrate brain. *Zool. Jahrb.* 15, 59-260.
- Jop, K. M. 1991.** (Atrazine Technical)-Acute Toxicity to Fathead Minnows (*Pimephales promelas*) Under Static Conditions. *MORWATER AQUA*. 46 pp.
- Joshi, N., Dharmalata, M., Sahu, A. P. 2007.** Histopathological changes in liver of *Heteropneustes fossilis* exposed to cypermethrin. *Journal of Environmental Biology*. 28(1): 35-37.

- Kaneko, T., Hasegawa, S., Takagi, Y., Tagawa, M. and Hirano, T. 1995.** Hypo-osmoregulatory ability of eye-stage embryos of chum salmon. *Mar. Biol.* 122: 165–170.
- Kato, K., Ishimaru, K., Sawada, Y. 2004.** Ontogeny of digestive and immune system organs of larval and juvenile kelp grouper *Epinephelus bruneus* reared in the laboratory. *Fisheries Science.* 70 (6): 1061–1069.
- Katoh, F., Shimizu, A., Uchida, K., Kaneko, T., 2000.** Shift of chloride cell distribution during early life stages in seawater-adapted killifish (*Fundulus heteroclitus*). *Zool. Sci.* 17, 11 –18.
- Kawamura G, Tsuda R, Kumai H, Ohashi S. 1984.** The visual cell morphology of *Pagrus major* and its adaptive changes with shift from pelagic to benthic habitats. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 50: 1975-1980.
- Khodabandeh, S., Khoshnood, Z., Mosafer, S. 2008.** Immunolocalization of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase-rich cells in the gill and urinary system of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, fry. *Aquaculture Research.* 1-8.
- Khoshnood, Z., Khodabandeh, S., Shahryari Moghaddam, M., Mosafer Khorjestan, S. 2011.** Histopathological and Pathomorphological Effects of Mercuric Chloride on the Gills of Persian Sturgeon, *Acipenser persicus*, Fry. *International Journal of Natural Resources and Marine Sciences.* 1 (1): 23-32.
- Khoshnood, Z., Mokhlesi, A., Khoshnood, R. 2010.** Bioaccumulation of some heavy metals and histopathological alterations in liver of *Euryglossa orientalis* and *Psettodes erumei* along North Coast of the Persian Gulf. *African Journal of Biotechnology.* 9(41): 6966-6972.
- King, J. A. C. 1993.** Ultrastructure of the pseudobranch in the euryhaline cyprinodontid fish, *Rivulus marmoratus*, *Journal of Morphology.* 218 (2), PP: 127-142.
- King, R. P. 1996.** Population dynamics of the mud skipper *Periophthalmus barbarus* (Gobiidae) in the estuarine swamps of Cross River Nigeria. *J. Aquat. Sci.* 11: 31-34.
- Konar, S. K. 1969.** Histopathological Effects of the Insecticides, Heptachlor and Nicotine, on the Gills of the catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Japanese Journal of Ichthyology.* 15 (4): 156-159.
- Konar, S. K. 1979.** Hazards of water pollution by pesticides in: Proceeding of international Symposium on environmental pollution and toxicology. Nov, 28-30. 1977. Hissar Campus, Haryana. India.
- Kotrschal, K., van Staaden, M. J., Huber, R. 1998.** Fish brains: evolution and environmental relationships. *Reviews in Fish Biology and Fisheries.* 8: 373–408.
- Kozarić, Z., Kužir, S., Petrinec, Z. 2008.** The development of the digestive tract in larval European catfish (*Silurus glanis* L.). *Anatomia Histologia Embryologia.* 37 (2): 141–146.

**Kreuger J., Peterson M., and Lundgren E. 1999.** Agricultural inputs of pesticide residues to stream and pond sediments in a small catchment in southern Sweden. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 62: 55-62.

**Kreutz, L. C., Barcellos, L. J. G., Silva, T. O., Anziliero, D., Martins, D., Lorenson, M., Marteninghe, A., da Silva, L. B. 2008.** Acute toxicity test of agricultural pesticides on silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings. *Ciência Rural, Sanra Maria*. 38 (4): 1050-1055.

**Kuhlenbeck, H. 1929.** Die Grundbestandteile des Endhirns im lichte der Bauplanlehre. *Anat Anz*. 67:1–51.

**Kumaraguru, A. K., and Beamish, F. W. H. 1981.** Lethal toxicity of permethrin (NRDC-143) to rainbow trout, *Salmo gairdneri*, in relation to body weight and water temperature. *Water Research*. 15: 503-505.

**Kvenseth, A. M., Pittman, K., Helvik, J. V. 1996.** Eye development in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): differentiation and development of the retina from early yolk-sac stages through metamorphosis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci*. 53: 2524- 2532.

**Lakota, S., Razska, A., Utracki, T., Chmiel, Z. 1989.** Side effect of deltamethrin and cypermthrin in the environment of water biocenoses. *Organika*. 71: 71–77.

**Lakra, W. S., Nagpure, N. S. 2009.** Genotoxicological studies in fishes: A review. *Indian J. Anim. Sci*. 79: 93- 98.

**Landis, W. G., and Yu, M. H. 1995.** Introduction to environmental toxicology: impacts of chemicals upon ecological systems. CRC Press, Boca Raton, Florida.

**Landrum, P. F., and Fisher, S. W. 1998.** Influence of lipids on the bioaccumulation and trophic transfer of organic contaminants in aquatic organisms, p. 203-234, In M. T. Arts and B. C. Wainman, eds. *Lipids in freshwater ecosystems*. Springer-Verlag, Inc., New York.

**Lasker, R. and Threadgold, L. T. 1968.** Chloride Cells in the Skin of the Larval Sardine. *Exp. Cell Res*. 52: 582– 590.

**Laurent, P. 1984.** Morphology and Physiology of Organs of Aquatic Respiration in Vertebrates: the gill. *J Physiol*. 79: 98–112.

**Lawton, J. C., Pennington, P. L., Chung, K. W., Scott, G. I. 2006.** Toxicity of atrazine to the juvenile hard clam, *Mercenaria mercenaria*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 65: 388–394.

**LeBlanc, D. M., Wood, C. M., Fudge, D. S., Wright, P. A. 2010.** A Fish Out of Water: Gill and Skin Remodeling Promotes Osmo- and Ionoregulation in the Mangrove Killifish *Kryptolebias marmoratus*. *Physiological and Biochemical Zoology*. 83 (6): 932-949.

- Lehotay, S. J., Harman-Fetcho, J. A., McConnell, L. L. 1998.** Agricultural pesticide residues in oysters and water from two Chesapeake Bay tributaries. *Marine Pollution Bulletin*. 37: 32-44.
- Leis, J. M., Hay, A. C., Miskiewicz, A. G. 2004.** Larval Development of the Rare Australian Aploactinid Fish *Matsubarichthys inusitatus* (Pisces: Scorpaeniformes). *Zoological Studies*. 43(3): 580-588.
- Li, J., Eygensteyn, J., Lock, R. C., Verbost, P. M., Van Der Heijden, A. J. H., Wendelaar Bonga, S. E. and Flik, G. 1995.** Branchial Chloride Cells in Larvae and Juveniles of Freshwater Tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *J. Exp. Biol.*, 198: 2177–2184.
- Lim S., Ahn S. Y., Song I. C., Chung M. H., Jang H. C., Par K. S., Lee K., Pak Y. K., Lee H. K. 2009.** Chronic Exposure to the Herbicide Atrazine Causes Mitochondrial Dysfunction and Insulin Resistance. *PLOS ONE*. 4 (4): 1-11.
- Lindesjö, E., and Thulin, J. 1990.** Fin erosion of perch *Perca fluviatilis* and ruffe *Gymnocephalus cernua* in a pulp mill effluent area. *Dis. Aquat. Organ.* 8: 119–126.
- Lindesjö, E., and Thulin, J. 1994.** Histopathology of skin and gills of fish in pulp mill effluents. *Dis. Aquat. Organ.* 18, 81–93.
- Lisney, T. J., and Collin, S. P. 2006.** Brain morphology in large pelagic fishes: a comparison between sharks and teleosts. *Journal of Fish Biology*. 68: 532–554.
- Lopez-Barea, J. 1996.** Biomarkers to detect environmental pollution. *Toxicol. Lett.* 88: 79-86.
- Loretz, C. A. 2011.** Rapid transitions among functional states support efficient osmoregulatory acclimation: focus on “Functional plasticity of mitochondrion-rich cells in the skin of euryhaline medaka larvae (*Oryzias latipes*) subjected to salinity changes”. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 300: R855–R857.
- Lorz, H. W., Glenn, S. W., Williams, C. M., Kunkel, L. A., Norris, L. A., Loper, B. R. 1979.** Effecta of selected herbicides on smolting of coho salmon. EPA-600/3-79-071. National Technical Information Service, Springfield, VA.
- Luczyńska, J., Tońska, E., Luczyński, M. J. 2009.** Essential mineral components in the muscles of six freshwater fish from the Mazurian Great Lakes (northeastern Poland). *Arch. Pol. Fish.* 17: 171-178.
- Luizi , F. S. , Gara , B. , Shields , R. J. 1999.** Further description of the development of the digestive organs in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae, with notes on differential absorption of copepod and Artemia prey. *Aquaculture*. 176: 101–116.

- Luizi, F. S., Gara, B., Shields, R. J. Bromage, N. R. 1999.** Further description of the development of the digestive organs in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae, with notes on differential absorption of copepod and Artemia prey. *Aquaculture*. 176: 101-116.
- Macek, K. J., Burton, K. S., Sauter, S., Gnilka, S., Dean, J. W. 1976.** Chronic toxicity of atrazine to selected aquatic invertebrates and fishes. EPA-600/3-76-047. National Technical Information Service, Springfield, VA, USA.
- Mai, K., Yu, H., Ma, H. 2005.** A histological study on the development of the digestive system of *Pseudosciaena crocea* larvae and juveniles. *Journal of Fish Biology* 67 (4): 1094–1106 .
- Malins, D. C., McCain, B. B., Landahl, J. T., Myers, M. S., Krahn, M. M., Brown, D. W., Chan, S. L., Roubal, W. T. 1988.** Neoplastic and other diseases in fish in relation to toxic chemicals: an overview. *Aquat. Toxicol.* 11: 43–67.
- Malins, D. C., McCain, B. B., Landahl, J. T., Myers, M. S., Krahn, M. M., Brown, D. W., Chan, S. L., Roubal, W. T. 1988.** Neoplastic and other diseases in fish in relation to toxic chemicals: an overview. *Aquat. Toxicol.* 11: 43–67.
- Mallatt, J. 1985.** Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42: 630-648.
- Masini, M. A., Sturla, M., Prato, P., Uva, B. 2001.** Ion transport systems in the kidney and urinary bladder of two Antarctic teleosts, *Chionodraco hamatus* and *Trematomus bernacchii*. *Polar Biol.* 24: 440–446.
- Matsumoto, J., Hosmer, A. J., Van Der Kraak, G. 2010.** Survival and iono-regulatory performance in Atlantic salmon smolts is not affected by atrazine exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C.* 152: 379-384.
- Matthiessen, P., and Roberts, R. J. 1982.** Histopathological changes in the liver and brain of fish exposed to endosulfan insecticide during tsetse fly control operations in Botswana. *Journal of Fish Diseases.* 5(2): 153-159.
- McBride, R. K., Richards, B. D. 1975.** The effects of some herbicides and pesticides on sodium uptake by isolated perfused gills from the carp *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.* 51C: 105–109.
- McCarthy, I. D., and Fuiman, L. A. 2008.** Growth and protein metabolism in red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae exposed to environmental levels of atrazine and malathion. *Aquatic Toxicology.* 88: 220-229.
- McCormick, S. D. 1990.** Fluorescent Labeling of Intact Cells by Use of a Fluorescent Derivative of Ouabain: Salinity and Teleost Chloride Cells. *Cell Tissue Res.* 260: 529-533.

- McKim, J. M., Lien, G. J. 2001.** Toxic responses of the skin. In: Schlenk, D., Benson, W.H. (Eds.), Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts/Organs, vol. 1. Taylor & Francis, London/New York, pp. 225-268.
- Meador, R. G. 1939.** The forebrain of bony fishes. Proc Kon Ned Akad Wetensch Sect Sci 42: 657–670.
- Meek, J. & Nieuwenhuys, R. 1998.** Holosteans and teleosts. In The Central Nervous System of Vertebrates (Nieuwenhuys, R., ten Donkelaar, H. J. & Nicholson, C., eds), pp. 759–938. Berlin: Springer-Verlag.
- Metz, J. R., van den Burg, E. H., Wendelaar Bonga, S. E., Flik, G. 2003.** Regulation of branchial Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase in common carp *Cyprinus carpio* L. acclimated to different temperature. The Journal of Experimental Biology. 206: 2273-2280.
- Meyers, T. R., Hendricks, J. D. 1985.** Fundamental of aquatic toxicology. In: Rand, G.M., Petrocelli, S.R. (Eds.), Methods and Applications. Hemisphere Publishing Corporation, USA, pp. 283–331.
- Micale , V., Garaffo, M., Genovese, L. 2006.** The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common pandora *Pagellus erythrinus* L. Aquaculture. 251(2–4): 345– 365.
- Miles, C. J., and Pfeuffer, R. J. 1997.** Pesticides in canals of South Florida. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 32: 337-45.
- Miller, T. J., Crowder, L. B., Rice, J. A. 1993.** Ontogenetic changes in behavioral and histological measures of visual acuity in three species fish. Environmental Biology of Fishes. 37: 1-8.
- Mondon, J. A., S. Duda, B. F. Nowak. 2001.** Histological, growth and 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity responses of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* to contaminated marine sediment and diet. Aquatic Toxicology. 54: 231-247.
- Monsefi, M. Z., Gholami, Z., Esmaeili, H. R. 2010.** Histological and Morphological Studies of digestive tube and liver of the Persian tooth-carp, *Aphanius persicus* (Actinopterygii: Cyprinodontidae). IUFS Journal of Biology. 6 (1): 57-64.
- MooPAM. 1989.** Manual of oceanographic and pollutant analysis methods. Kuwait.
- Moore, A., and Waring, C. P. 1996.** Sublethal effects of the pesticide Diazinon on olfactory function in mature male Atlantic salmon parr. Journal of Fish Biology. 48: 758-775.
- Moore A., and Waring C. P. 1998.** Mechanistic effects of a triazine pesticide on reproductive endocrine function in mature male Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. Pesticide Biochemistry and Physiology. 62: 41-50.



- Moore A., and Waring C. P. 2001.** The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquatic Toxicology*. 52: 1-12.
- Moore, A. 1998.** Mechanistic Effects of a Triazine Pesticide on Reproductive Endocrine Function in Mature Male Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) Parr. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 62: 41-50.
- Morrison , C. M. 1993.** Histology of the Atlantic Cod, *Gadus morhua*: An Atlas. Part Four. Eleutheroembryo and Larva. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences 119. National Research Council of Canada, Ottawa.
- Morrison, C. M., Miyake, T., Wright, J. R. J. 2001.** Histological study of the development of the embryo and early larva of *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). *Journal of Morphology*. 247 (2): 172–195.
- Morrison C. M., Wright, J. J. R. 1999.** A study of the histology of the digestive tract of the Nile tilapia. *J. Fish Biol.* 54: 597-606.
- Mortoja, R., Mortoja–Pierson, M. 1967.** Initiation Aux Techniques de l histologie animale. Masson et Cie, Paris, 345.
- Mueller, T., Wullimann, M. F. 2009.** An evolutionary interpretation of teleostean forebrain anatomy. *Brain. Behav. Evol.* 74:30–42.
- Mulla, M. S., and Mian, L. S. 1981.** Biological and environmental impacts of the insecticides malathion and parathion on nontarget biota in aquatic ecosystems. *Residue Reviews*. 78. 100-135.
- Müller, H. 1952.** Bau and Wachstum der Netzhaut des Guppy (*Lebistes reticulatus*). *Zool. Jahrb. Abt. Allg. Zool. Physiol. Tiere.* 63: 275-324.
- Munshi, J. S. D., Roy, P. K., Ghosh, T. K., and Olson, K. R. 1994.** Cephalic circulation in the air-breathing snakehead fish, *Channa punctata*, *C. gachua* and *C. marulius* (Ophiocephalidae, Ophiocephaliformes), *Anatomy Research*, 238, 77-91.
- Myers, M. S., Stehr, C. M., Olson, O. P., Johnson, L. L., McCain, B. B., Chan, S. L., Varanasi, U. 1993.** National benthic surveillance project: Pacific Coast—Fish histopathology and relationships between toxicopathic lesions and exposure to chemical contaminants for cycles I to V (1984–88). National technical information service, US, pp. 1–147.
- Nakagawa, H., Umino, T., Sekimoto, T. 2002.** Characterization of the digestive tract of wild ayu. *Fisheries Science*. 68 (2): 341–346.
- Nebel, C., Nègre-Sadargues, G., Blasco, C., Charmantier, G. 2005.** Morphofunctional ontogeny of the urinary system of the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Anat Embryol.* 209: 193-206.

- Nebel, C., Romestand, B., Nègre-Sadargues, G., Grousset, E., Aujoulat, F., Bacal, J., Bonhomme, F. and Charmantier, G. 2005.** Differential Freshwater Adaptation in Juvenile Sea-bass *Dicentrarchus labrax*: Involvement of Gills and Urinary System. *J. Exp. Biology.* 208: 3859-3871.
- Neskovic, N. K., Elezovic, I., Karan, V., Poleksic, V., Budimir, M., 1993.** Acute and sub-acute toxicity of atrazine to carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 25: 173–182.
- New, J. G. 2001.** Comparative neurobiology of the elasmobranch cerebellum; theme and variations on a sensorimotor interface. *Environmental Biology of Fishes.* 60: 93–108.
- Nieuwenhuys, R. 1962a.** The morphogenesis and the general structure of the actinopterygian forebrain. *Acta Morphol Neerl Scand.* 5: 65–78.
- Nieuwenhuys, R. 1962b.** Trends in the evolution of the actinopterygian forebrain. *J. Morphol.* 111: 69–88.
- Nieuwenhuys, R. 1963.** The comparative anatomy of the actinopterygian forebrain. *J. Hirnforsch.* 13:171–192.
- Nieuwenhuys, R. 2009.** The forebrain of actinopterygians revisited. *Brain. Behav. Evol.* 73:229–252.
- Nieuwenhuys, R. 2011.** The development and general morphology of the telencephalon of actinopterygian fishes: synopsis, documentation and commentary. *Brain Struct Funct.* 215:141–157.
- Nieuwenhuys, R. H., ten Donkelaar, H. J., Nicholson, C. 1998.** The meaning of it all. In *The Central Nervous System of Vertebrates* (Nieuwenhuys, R., ten Donkelaar, H. J. & Nicholson, C., eds), pp. 2135–2195. Berlin: Springer-Verlag.
- Nieuwenhuys, R., ten Donkelaar, H. J., Nicholson, C. 1998.** *The Central Nervous System of Vertebrates*, Vols 1-3. Berlin: Springer Verlag, 2219 pp.
- Nieves-Puigdoller, K., Björnsson, B. T., McCormick, S. D. 2007.** Effects of hexazinone and atrazine on the physiology and endocrinology of smolt development in Atlantic salmon. *Aquat. Toxicol.* 84, 27–37.
- Northcutt, R. G. 1978.** Brain organization in the cartilaginous fishes. In *Sensory Biology of Sharks, Skates and Rays* (Hodgson, E. S. & Mathewson, R. F., eds), pp. 117–193. Arlington, VI: Office of Naval Research.
- Northcutt, R. G. 1996.** The agnathan ark: The origin of craniate brains. *Brain, Behav., Evolut.* 48, 237-247.

**Northcutt, R. G. and Davis, R. E. 1983.** Fish Neurobiology, Vol. I. Ann Arbor: The University of Michigan Press.

**Northcutt, R. G., Neary, T. J. Senn, D. G. 1978.** Observations on the brain of the coelacanth *Latimeria chalumnae*: external anatomy and quantitative analysis. *J. Morph.* 155, 181-192.

**Nwani, C. D., Lakra, W. S., Nagpure, N. S., Kumar, R., Kushwaha, B., Srivastava, S. K. 2010.** Toxicity of the Herbicide Atrazine: Effects on Lipid Peroxidation and Activities of Antioxidant Enzymes in the Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch). *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 7: 3298-3312.

**O'Brien, J. E. 1962.** Automatic analyses of chloride in sewage. *Wastes Eng.* 33: 670-672.

**O'Brien, W. J. 1979.** The predator-prey interaction of planktivorous fish and zooplankton. *Amer. Sci.* 67: 572-581.

**O'Connell, C. P. 1981.** Development of Organ Systems in the Northern Anchovy *Engraulis mordax* and Other Teleosts. *Am. Zool.* 21: 429– 446.

**Olojo, E. A. A., Olurin, K. B., Mbaka, G., Oluwemimo, A. D. 2005.** Histopathology of the gill and liver tissues of the African catfish *Clarias gariepinus* exposed to lead. *African Journal of Biotechnology.* 4(1): 117-122.

**Olsen, R. E., Myklebust, R., Ringø, E. 2000.** The influences of dietary linseed oil and saturated fatty acids on caecal enterocytes in Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.): a quantitative ultrastructural study. *Fish Physiology and Biochemistry.* 22 (2): 207–216.

**Olurin, K. B., Oloji, E. A. A., Mbaka, G. O., Akindele, A. T. 2006.** Histopathological responses of the gill and liver tissues of *Clarias gariepinus* fingerlings to the herbicide, glyphosate. *African Journal of Biotechnology.* 5 (24): 2480-2487.

**Omitoyin, B. O., Ajani, E. K., Fajimi, A. O. 2006.** Toxicity Gramoxone (paraquat) to juvenile African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *American Eurasian. J. Agric. Environ. Sci.* 1(1): 26-30.

**Önal, U., Langdon, C., and Celik, I. 2008.** Ontogeny of the digestive tract of larval percula clownfish, *Amphiprion percula* (Lacepede 1802): a histological perspective. *Aquaculture Research.* 39 (11): 1077–1086.

**Oni, S. K., J. Y. Olayemi J. D. Adegboye, 1983.** The comparative physiology of three ecologically (Rupel). *Synodonts schall. Block and Schneider and Tilapia zilli* (Gervais). *J. Fish. Biol.* 22: 105-109.

**Orme, S., Kegley, S. 2004.** PAN Pesticide Database; Pesticide Action Network: San Francisco, CA, USA.

- Ortiz-Delgado, J. B., Darias, M. J., Canavate, J. P., Yufera, M., Sarasquete, C. 2003.** Organogenesis of the digestive tract in the white seabream, *Diplodus sargus*. Histological and histochemical approaches. *Histol Histopathol.* 18: 1141-1154.
- Ostaszewska, T. 2005.** Developmental changes of digestive system structures in pike-perch (Sander lucioperca L.). *Electronic Journal of Ichthyology.* 2 (2): 65–78.
- Otten, E. 1981.** Vision during growth of a generalized Haplochromis species: *H. elegans* Trewavas 1933 (Pisces: Cichlidae). *Neth. J. Zoology.* 31: 650-700.
- Pajak B., and Danguy, A. 1993.** Characterization of sugar moieties and oligosaccharide sequences in the digital intestinal epithelium of the rainbow trout by means of lectin histochemistry. *J. Fish Biol.* 43: 709-722.
- Pandey, S., Kumar, R., Sharma, S., Nagpure, N. S., Sirivastava, S. K., Verma, M. S. 2005.** Acute toxicity bioassays of mercuric chloride and malathion on air breathing fish *Channa punctatus* (Bloch). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 61: 114–120.
- Pankhurst, P. M. & P. E. Butler. 1996.** Development of the sensory organs in the greenback flounder, *Rhombosolea tapirina*. *Mar. Freshwat. Behav. Physiol.* 28: 55–73.
- Pankhurst, P. M. & P. E. Hilder. 1998.** Effect of light intensity on feeding of striped trumpeter *Latris lineata* larvae. *Mar. Freshwat. Res.* 49: 363–368.
- Pankhurst, P. M., N. W. Pankhurst, J. C. Montgomery. 1993.** Comparison of behavioural and morphological measures of visual acuity during ontogeny in a teleost fish, *Forsterygion varium*, Tripterygiidae (Forster, 1801). *Brain Behav. Evol.* 42:178–188.
- Park, J. Y., and Kim, I. S. 2001.** Histology and mucin histochemistry of the gastrointestinal tract of the mud loach, in relation to respiration. *J. Fish Biol.* 58: 861-872.
- Paulino, M. G., Sakuragui, M. M., Fernandes, M. N. 2012.** Effects of atrazine on the gill cells and ionic balance in a neotropical fish, *Prochilodus lineatus*. *Chemosphere.* 86: 1-7.
- Peña, R., Dumas, S., Villalejo-Fuerte, M. 2003.** Ontogenetic development of the digestive tract in reared spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. *Aquaculture* 219 (1-4): 633 – 644.
- Peakall, D. B. 1992.** Animal biomarkers as pollution indicators. Chapman & Hall, London/New York. 291 pp.
- Pelster, B., and Randall, D. J. 1998.** The physiology of the root effect, in *Fish Physiology*, ed. by S. F. Perry, and B. L. Tufts, pp. 113-139, Academic Press, New York.
- Perkins, E. J., and D. Schlenk. 1998.** Immunochemical characterization of hepatic cytochrome P450 isozymes in the channel catfish: assessment of sexual, developmental and treatment-related

effects. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology* 121: 305-310.

**Perry, C. 1990.** Source, extent and degradation of herbicides in a shallow water aquifer near Hesston, Kansas. In *Water-Resources Investigation Report 91-4019*; US Geological Survey: Lawrence, KA, USA.

**Petcoff , G. M. , Díaz, A. O., Escalante, A. H. 2006.** Histology of the liver of *Oligosarcus jenynsii* (Ostariophysi, Characidae) from Los Padres Lake, Argentina. *Iheringia, Série Zoolologia*. 96 (2): 205 – 208.

**Poleksic, V., V. Karan, Z. Dulic, I. Elezovic and N. Neskovic. 1997.** Herbicides toxicity to fish: Histopathological effects. *Pesticides*. 12:257-268.

**Prasad, T. A. V. and D. C. Reddy. 1994.** Atrazine toxicity on hydromineral balance of fish *Tilapia mossambicus*. *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 28:313-316.

**Prasad, T. A. V., Srinivas, T., Rafi, G. M., Reddy, D. C. 1991.** Effect in vivo of atrazine on haematology and O<sub>2</sub> consumption in fish, *Tilapia mossambicus*. *Biochem. Int*. 23: 157–161.

**Prasad, T. A. V., Srinivas, T., Rafi, M., Reddy, D. C. 1990.** Chronic effect of atrazine on hydromineral balance in the crab. *Biochem. Int*. 22: 435–440.

**Prasad, T. A. V., Srinivas, T., Reddy, J. S., Reddy, D. C. 1995.** Atrazine toxicity on transport properties of hemocyanin in the crab (*Oziotelphusa senex senex*). *Ecotox. Environ. Saf*. 30: 124–126.

**Prashanth, M. S. 2011.** Histopathological changes observed in The kidney of freshwater fish, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) exposed to cypermethrin. *Recent Research in Science and Technology*. 3(2): 59-65.

**Pugazhvendan, S. R., Narendiran, N. J., Kumaran, R. G., Kumaran, S. Alagappan, K. M. 2009.** Effect of Malathion Toxicity in the Freshwater Fish *Ophiocephalus punctatus*-A Histological and Histochemical Study. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. 1 (3): 218-224.

**Quinn, M. C. J., Veillette, P. A., and Young, G. 2003.** Pseudobranch and gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>- ATPase activity in juvenile Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*: developmental changes and effects of growth hormone, cortisol and seawater transfer, *Comparative Biochemistry and Physiology*, part A. 135: 249-262.

**Ramesh, M., Srinivasan, R., Saravanan, M. 2009.** Effect of atrazine (Herbicide) on blood parameters of common carp *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes). *African Journal of Environmental Science and Technology*. 3 (12): 453-458.

- Reeder, A. L., Ruiz, M. O., Pessier, A., Brown, L. E., Levengood, J. M., Phillips, C. A., Wheeler, M. B., Warner, R. E. & Beasley, V. R. 2005.** Intersexuality and the cricket frog decline: Historic and geographic trends. *Environmental Health Perspectives*. 113: 261-265.
- Rhodes, J. M., Black, R. R., Gallimore, R., Savage, A. 1985.** Histochemical demonstration of desialitation and desulphation of normal and inflammatory bowel disease rectal mucus by faecal extracts. *Gut* 26: 1312-1318.
- Ribeiro, L., Zambonino-Infante, J. L., Cahu, C. L. 1999.** Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup 1858. *Aquaculture*. 179 (4): 465–473.
- Ribeiro L., Sarasquete C., and Dinis M. T. 1999.** Histological and histochemical development of the digestive system of *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) larvae. *Aquaculture*. 171, 293-308.
- Ridet, J.-M. and Bauchot, R. 1990.** Analyse quantitative de l'encéphale des Téléostéens: caractères évolutifs et adaptatifs de l'encéphalisation. I. Généralités et analyse globale. *J. Hirnforsch.* 31: 51-63.
- Ritter, E. K. & Godknecht, A. J. 2000.** Agonistic displays in the blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*). *Copeia*. 2: 282–284.
- Roje, D. M. 1996.** Molecular Phylogeny and Larval Morphology: A New Hypothesis of Relationships for the Flatfish Family Pleuronectidae (Percomorpha: Pleuronectiformes). Master of Science Thesis. University of Washington, USA.
- Rojo, M. C., Blázquez, M. J., González, M. E. 1997.** Ultrastructural evidence for apoptosis of pavement cells, chloride cells, and hatching gland cells in the developing branchial area of the trout *Salmo trutta*. *J. Zool. London*. 243: 637–651.
- Rollason, T. P. and Brewer, D. B. 1984.** A Study of glomerular Basement membrane anionic sites and glomerular visceral, epithelial Cell Coat in Protein Overload. Proteinuria in rats. *J. Pathol.* 142: 306-316.
- Rombough, P. 2007.** The functional ontogeny of the teleost gill: which comes first, gas or ion exchange? *Comp. Biochem. Physiol. Part A*. 148:732–742.
- Rombough, P. J. 1999.** The Gill of Fish Larvae. Is it Primarily a Respiratory or an Ionoregulatory Structure? *J. Fish Biol.* 55A:186–204.
- Rosenthal, H., and Hempel, G. 1971.** Experimental studies in feeding and food requirements of herring larvae (*Clupea harengus* L.). pp. 344-364. In: J.H.S. Blaxter (ed.) *The Early Life History of Fishes*, Springer Verlag, Berlin.
- Rowe, A. M., Ford, J., Reyes, H. 2008.** Development immunotoxicity of atrazine in rodents. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 102: 139–145.

- Roy, P. K., Ghosh, T. K., Munshi, J. S. D. 1997.** The pseudobranch: their structure and function in freshwater teleosts, in *Advances in Fish Research*, Vol. 2, ed. by B.R. Sing, pp. 81-96, Narendra Publishing House, Delhi.
- Roy, S., and Bhattacharya, S. 2006.** Arsenic-induced histopathology and synthesis of stress proteins in liver and kidney of *Channa punctatus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 65: 218–229.
- Rust , M. B. 2002.** Nutritional physiology. In: Halver, J. E., and Hardy , R. W. (eds.) *Fish Nutrition* . Academic Press, Amsterdam, pp. 367–452.
- Rymuszka, A., Linus, B., Burk, J. 2007.** Determination of the modulatory potential of atrazine on selected functions of immune cells isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Cent. Eur. J. Immunol.* 32: 97–100.
- Sakai, H. 1990.** Larval Developmental Intervals in *Teribolodon hakonensis* (Cyprinidae). *Japanese Journal of Ichthyology.* 37 (1): 17-28.
- Sakamoto, T., Uchida, K. and Yokota, S. 2001.** Regulation of the Iontransporting Mitochondria-rich Cell during Adaptation to Teleost Fishes to Different Salinities. *Zool. Sci.*, 18: 1163-1174.
- Sandy, J. M., and Blaxter, J. H. S. 1980.** A study of retinal development in larval herring and sole. *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 60: 59-71.
- Santamaría R., C.A., Marínde Mateo, M., Traveset, R. 2004.** Organogenesis in larval common *Dentex dentex* L. (Sparidae): histological and histochemical aspects. *Aquaculture.* 237: 207–228.
- Sarasquete, C., Polo, A., and Yúfera, M. 1995.** Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture.* 130: 79– 92.
- Sarasquete, C., Gisbert, E., Ribeiro, L., Vieira, L. Dinis, M. T. 2001.** Glycoconjugates in epidermal, branchial and digestive mucous cells and gastric glands of gilthead sea bream, *Sparus aurata*, Senegal sole, *Solea senegalensis* and Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* development. *Eur. J. Histochem.* 45, 267-278.
- Sarasquete, C., Polo A. and Yúfera, M. 1995.** Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquaculture.* 130: 79-92.
- Sarasquete, C., Gisbert, E., Ribeiro, L. 2001.** Glycoconjugates in epidermal, branchial and digestive mucous cells and gastric glands of gilthead sea bream, *Sparus aurata*, Senegal sole, *Solea senegalensis* and Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* development . *European Journal of Histochemistry.* 45 (3): 267– 278.

**Sarasquete, M. C., G3n3lez de Canales, M. L., Arellano, J. M., Munoz-Cueto, J. A., Ribeiro, L., Dinis, M.T. 1996.** Histochemical aspects of the yolk-sac and digestive tract of larvae of the Senegal sole, *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). *Histol. Histopathol.* 11: 881-888.

**Sasai, S., Katoh, F., Kaneko, T. and Tsukamoto, K. 2007.** Ontogenic Change of Gill Chloride Cells in Leptocephalus and Glass Eel Stages of the Japanese Eel, *Anguilla japonica*. *J. Mar. Biol.*, 150 (3): 487-496.

**Sastry, K.V. and Sharma, S.K. 1979.** The effect of endrin on the histopathological changes in the liver of *Channa punctatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 20: 674-677.

**Sax3n, L. 1987.** Organogenesis of the Kidney. Cambridge: Cambridge University Press. 124 pp.

**Schreiber, A. M. 2001.** Review: Metamorphosis and Early Development of the Flatfishes (Pleuronectiformes): an Osmoregulatory Perspective. *Comp. Biochem. Physiol.*, part B, 129:587-595.

**Schwaiger, J., Spieser, O. H., Bauer, C. 2000.** Chronic toxicity of nonylphenol and ethinylestradiol: haematological and histopathological effects in juvenile Common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquat. Toxicol.* 51: 69-78.

**Scrubner, E.A.; Thurman, E.M.; Goolsby, D.A.; Meyer, M.T.; Battaglin, W.A.; Kolpin, D.W. 2005.** Summary of significant results from studies of atrazine herbicides and their degradation products in surface water, groundwater, and precipitation in the Midwestern United States during the 1990s. In *U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report*; USGS: Lawrence, KS, USA; pp. 2005-5094.

**Segner, H., Storch, V., Reinecke, M., Kloas, W., Hanke, W. 1994.** The development of functional digestive and metabolic organs in turbot *Scophthalmus maximus*. *Mar. Biol.* 119: 471-486.

**Segnini de Bravo, M. I., Medina, J., Marcano, S., Finol, H. J., Boada-Sucre, A. 2005.** Effects of herbicide on the kidneys of two Venezuelan cultured fish: *Caquetaia kraussii* and *Colossoma macropomum* (Pisces: Ciclidae and Characeae). *International Journal of Tropical Biology.* 53: 55-59.

**Selim, H. 2003.** Retention and runoff losses of atrazine and metribuzin in soil. *J. Environ. Qual.* 32: 1058-1071.

**Senapati, T., Mukherjee, A. K., Ghosh, A. R. 2009.** Observations on the effect of glyphosate based herbicide on ultra structure (SEM) and enzymatic activity in different regions of alimentary canal and gill of *Channa punctatus* (Bloch). *Journal of Crop and Weed.* 5 (1): 236-245.

**Senapati, T., Mukherjee, A. K., Ghosh, A. R. 2012.** Observations on the effect of Alimix 20 WP herbicide on ultrastructure (SEM) in different regions of alimentary canal of *Anabas*



*testudineus* (Cuvier). International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences. 2(1): 32-39.

**SETAC, T. 1992.** Biomarkers: biochemical physiological and histological markers of anthropogenic stress. In: Hugget, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M., Bergman, H.L. (Eds.), SETAC Special Publication Series. Lewis Publishers, Chelsea, MI, 347 pp.

**Severi-Aguiar, G., and Silva-Zacarin, E. C. M. 2012.** Effects of Herbicide Atrazine in Experimental Animal Models. Toxicology. 74(2): 233-245.

**Shand, J., M. A. Archer, S. P. Collin. 1999.** Ontogenetic changes in the retinal photoreceptor mosaic in a fish, the black bream, *Acanthopagrus butcheri*. J. Comp. Neurol. 412: 203–217.

**Shelbourne, J. E. 1957.** Site of Chloride Regulation in Marine Fish Larvae. Nature, 180: 920–922.

**Shen, W, P., Horng, J. L., Lin, L. Y. 2011.** Functional plasticity of mitochondrion-rich cells in the skin of euryhaline medaka larvae (*Oryzias latipes*) subjected to salinity changes. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 300: R858–R868.

**Shenouda, T. S., F. A. Faten, M. R. Mahmoud, M. M. Ray. 1994.** A detail study on age and growth for *Chrysichthys auratus* and *Chrysichthys rueppelli* from the southern most part of the River Nile (Egypt). J. Egypt Ger. Soc. 200(1412): 73-101.

**Shikano, T. and Fujio, Y. 1998a.** Immunolocalization of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in the Branchial Epithelium of Chum Salmon Fry during Seawater and Freshwater Acclimation. J. Exp. Biol., 201: 3031-3040.

**Shikano, T. and Fujio, Y. 1998b.** Relationship of Salinity Tolerance to Immunolocalization of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase in the Gill Epithelium during Seawater and Freshwater Adaptation of the Guppy, *Poecilia reticulata*. Zool. Sci., 15: 35-41.

**Shikano, T., Fujio, Y., 1999.** Changes in salinity tolerance and branchial chloride cells of newborn guppy during freshwater and seawater adaptation. J. Exp. Zool. 284, 137–146.

**Shiraishi, K., Kaneko, T., Hasegawa, S. and Hirano, T. 1997.** Development of multicellular complexes of chloride cells in the yolk-sac membrane of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) embryos and larvae in seawater. Cell Tissue Res. 288, 583–590.

**Silvestre, F., Trausch, G., Spanò, L., Devos, P., 2002.** Effects of atrazine on osmoregulation in the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. Comp. Biochem. Physiol. 132C: 385– 390.

**Sinderman, C. J., 1984.** Fish and environmental impacts. Arch. Fisch Wiss. Berlin 35, 125–160.

**Sindermann, C. J. 1979.** Pollution-associated diseases and abnormalities of fish and shellfish: a review. Fishery Bulletin. 76 (4): 717-749.

**Singh, A. K. and Banerjee, T. K. 2008.** Recovery of damages in the skin of arsenic exposed *Clarias batrachus* following withdrawal of the stress. Iranian Journal of Environmental Health and Science Engineering. 5 (4): 217-224.

**Sinha, G. M. and Chakrabarti, P. 1986.** Scanning electron microscopic studies on the mucosa of the digestive tract in *Mystus aor* (Ham). Proceedings of the Indian National Science Academy. 52: 267-273.

**Siroka, Z., and J. Drastichova. 2004.** Biochemical markers of aquatic environment contamination - cytochrome P450 in fish. A. Review. Acta Vet. BRNO 73: 123-132.

**Siroka, Z., J. Krijt, T. Randak, and Z. Svobodova. 2004.** Cytochrome P450 induction in fish as a biochemical marker of Labe river contamination. Toxicology and Applied Pharmacology. 197: 189-196.

**Sis, R. F., Ives, P. J., Jones, D. M., Lewis, D. H., Hensly, W, E. 1979.** The microscopic anatomy of the oesophagus, stomach and intestine of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. J. Fish Biol. 14: 179-186.

**Smeets, W. J. A. J. 1998.** Cartilaginous fishes. In The Central Nervous System of Vertebrates (Nieuwenhuys, R., ten Donkelaar, H. J. & Nicholson, C., eds). pp. 551–654. Berlin: Springer-Verlag.

**Solomon, K. R., Baker, D. B., Richards, R. P., Dixon, K. R., Klaine, S. J., La Point, T.W., Kendall, R. J., Weisskopf, C. P., Giddings, J. M., Giesy, J. P., Hall, L. W., Williams, W.M. 1996.** Ecotoxicological risk assessment of atrazine in North American surface waters. Environ. Toxicol. Chem. 15, 31–76.

**Somejo, M. B., Herrera, A. A., Fabillo, M. D., Abucay, J. S. 2004.** The development of integumentary and skeletal systems of starved Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. 6<sup>th</sup> International Symposium on Tilapia in Aquaculture Philippine International Convention Center Roxas Boulevard, Manila, Philippines. 733-740.

**Spanó, L., Tyler, C. R., van Aerle, R., Devos, P., Mandiki, S. N. M., Silvestre, F., Thomé, J. P., Kestemont, P. 2004.** Effects of atrazine on sex steroid dynamics, plasma vitellogenin concentration and gonad development in adult goldfish (*Carassius auratus*). Aquatic Toxicology. 66: 369–379.

**Srinivas, T., Prasad, T. A. V., Raffi, G. M., Reddy, D. C. 1991.** Effect of atrazine on some aspects of lipid metabolism in fresh water fish. Biochem. Int. 23: 603–609.

**Steinberg, C. E. W., Lorenz, R., Spieser, O. H. 1995.** Effects of atrazine on swimming behavior of zebrafish, *Brachydanio rerio*. Water Research. 29: 981-985.

**Studnička, F. K. 1896.** Beiträge zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte des Vorderhirns der Cranioten. Sitzungsber K Böhm Ges Wiss Math Nat Kl. 15:1–32.

- Suiberto, M. R., Galuch, A. V., Bialecki, A., Nakatani, K. 2009.** Ontogenetic shifts in the digestive tube and diet of *Bryconamericus stramineus* Eigenmann, 1908 (Osteichthyes, Characidae). *Acta Limnol. Bras.* 21 (4): 465-472.
- Sullivan, K. B., and K. M. Spence. 2003.** Effects of sublethal concentrations of atrazine and nitrate on metamorphosis of the African clawed frog. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 22 (3): 627–635.
- Sunderam, R. I. M., Thompson, G. B., Chapman, J. C., Cheng, D. M. H. 1994.** Acute and chronic toxicity of endosulfan to two Australian Cladocerans and their applicability in deriving water quality criteria. *Arch. Environ. Cont. Toxicol.* 27: 541–545.
- Suzawa, M., Ingraham, H. A. 2008.** The Herbicide Atrazine Activates Endocrine Gene Networks via Non-Steroidal NR5A Nuclear Receptors in Fish and Mammalian Cells. *PLoS ONE* 3(5): e2117. doi:10.1371/journal.pone.0002117.
- Szamier, R. B., and H. Ripps. 1983.** The visual cells of the skate retina: Structure, histochemistry and disc-shedding properties. *J. Comp. Neurol.* 215:51-62.
- Takahashi, K., Hatta, N., Sugawara, Y., Sato, R. 1978.** Organogenesis and functional revelation of alimentary tract and kidney of chum salmon. *Tohoku J Agricult Res* 29:98–109
- Takashima, F., and Hibiya, T. 1995.** An Atlas of Fish Histology. Normal and Pathological Features , 2nd edition. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart.
- Tilak, K.S., Veeraiah, K., Bhaskara, P., Butchiram, M. S. 2007.** Toxicity studies of Butachlor to the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). *J. Environ. Biol.* 28: 285–487.
- Tillitt, D., Papoulias, D. M., Whyte, J. J., Richter, C. A. 2010.** Atrazine reduces reproduction in fathead minnow. *Aquatic Toxicology.* 99: 234-240.
- Tuvikene, A., S. Huuskonen, K. Koponen, O. Ritola and U. Mauer. 1999.** Oil shale processing as a source of aquatic pollution: monitoring of the biological effects in caged and feral freshwater fish. *Environ. Health Perspective.* 107 (9): 745-752.
- Tyler Mehler, W., Schuler, L. J., Lydy, M. J. 2008.** Examining the joint toxicity of chlorpyrifos and atrazine in the aquatic species: *Lepomis macrochirus*, *Pimephales promelas* and *Chironomus tentans*. *Environ. Pollut.* 152, 217–224.
- Tytler, P. 1988.** Morphology of the pronephros of the juvenile brown trout, *Salmo trutta*. *J Morphol* 195:189–204.
- Tytler, P., Ireland, J., Fitches, E. 1996.** A study of the structure and function of the pronephros in the larvae of the turbot (*Scophthalmus maximus*) and the herring (*Clupea harengus*). *Mar Fresh Behav Physiol.* 28:3–18.

- Tytler, P., Bell, M. V. and Robinson, J., 1993.** The Ontogeny of Osmoregulation in Marine Fish: Effects of Changes in Salinity and Temperature. In: Walther, B.T., Fyhn, H.J. (Eds.), *Physiological and Biochemical Aspects of Fish Development*. University of Bergen, Norway, pp. 249– 258.
- Uchida, K., Kaneko, T., Yamauchi, K. and Hirano, T. 1996.** Morphometrical Analysis of Chloride Cell Activity in the Gill Filaments and Lamellae and Changes in Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase Activity During Seawater Adaptation in Chum Salmon Fry. *J. Exp. Zool.*, 276: 193-200.
- Unal, G., Cetinkaya, O. and Elp M. 2000.** The embryonic and larval development of *Chalcalburnus tarichi* (Cyprinidae): An endemic fish species of the lake Van basin, Turkey. *Bulletion of pure and Applied Sciences*. Vol. 19A (No. 1). p. 27-41.
- Unal, G., Cetinkaya, O., Kankaya, E., Elp, M. 2001.** Histological Study of the Organogenesis of the Digestive System and Swim Bladder of the *Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811 (Cyprinidae). *Turkish Journal of Zoology*. 25: 217-228.
- van den Heuvel, M. R., M. Power, J. Richards, M. MacKinnon, D. G. Dixon. 2000.** Disease and gill lesions in yellow perch (*Perca flavescens*) exposed to oil sands mining-associated waters. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 46:334-341
- Van der Heijden, A. J. H., Van der Meij, J. C. A., Flik, G. and Wendelaar Bonga, S. E. 1999.** Ultrastructure and Distribution Dynamics of Chloride Cells in Tilapia Larvae in Fresh water and Sea water. *Cell Tissue Res.*, 297:119-130.
- Van Der Oost, R.; Beyer, J.; Vermeulen, N.P.E. 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharm.* 13: 57–149.
- Varsamos S., C. Nebel, and G. Charmantier. 2005.** Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: a review. *Comp Biochem Physiol A* 141:401–429.
- Varsamos, S., Diaz, J. P., Chamantier, G., Blasco, C., Connes, R. and Flik, G. 2002a.** Location and Morphology of Chloride Cells During the Post-embryonic Development of the European Sea Bass, *Dicentrarchus labrax*. *Anat. Embryol.* 205 (3): 203-213.
- Varsamos, S., Diaz, J.P., Charmantier, G., Flik, G., Blasco, C. and Connes, R. 2002b.** Branchial Chloride Cells in Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Adapted to Freshwater, Seawater and Doubly-concentrated Seawater. *J. Exp. Zool.* 293: 12–26.
- Varsamos, S., Nebel, C. and Charmatier, G. 2005.** Review: Ontogeny of Osmoregulation in Postembryonic Fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 141:401-429.
- Verigina, I. A., Zholdasova, I. M. 1986.** The structure of the digestive tract of the *Cobitis taenia* L. and one of the golden loach species *Sabanejewia aurata aralensis* (Kessler). *Ichthyology* 6: 1036-1040.

**Vethaak, A. D., 1993.** Fish disease and marine pollution; a case study of the flounder (*Platichthys flesus*) in Dutch coastal and estuarine waters. Academic thesis, University of Amsterdam, The Netherlands.

**Vize, P. D., Seufert, D. W., Carroll, T. J. and Wallingford, J. B. 1997.** Model systems for the study of kidney development: use of the pronephros in the analysis of organ induction and patterning. *Dev. Biol.* 188: 189-204.

**Vogel, J. M. 2004.** Tunnel vision: The regulation of endocrine disruptors. *Policy Sciences*, 37: 277-303.

**Wagner, H. J. 1974.** Development of the retina of *Nannacara anomala*, with special reference to regional variations of differentiation. *Z. Morphol. Tiere.* 79: 113-131.

**Wales, W. and Tytler, P. 1996.** Changes in Chloride Cell Distribution during Early larval Stages of *Clupea harengus*. *J. Fish Biol.* 49 (5): 801-814.

**Wallace, K.N., Akhter, S., Smith, E.N. 2005.** Intestinal growth and differentiation in zebra fish. *Mechanisms of Development.* 122 (2): 157-173.

**Walton, W. E. N. G., Hairston, J., Wetterrer, J. K. 1992.** Growth-related constraints on diet selection by sunfish. *Ecology.* 73: 429-437.

**Wanzenböck, J., and Schiemer, F. 1989.** Prey detection in cyprinids during early development. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46: 995-1001.

**Waring C.P., and Moore A. 1997.** Sublethal effects of a carbamate pesticide on pheromonal mediated endocrine function in mature male Atlantic salmon (*Salmo salar* L) parr. *Fish Physiology and Biochemistry.* 17: 203-211.

**Waring, C. P., Moore, A. 2004.** The effects of atrazine on Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts in fresh water and after sea water transfer. *Aquat. Toxicol.* 66: 93-104.

**Waser, W., and Heisler, N. 2004.** Oxygen delivery to the fish eye: blood flow in the pseudobranchial artery of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Fish Physiology and Biochemistry.* 30 (1): 77-85.

**Webb, J. F. and Northcutt, G. 1997.** Morphology and distribution of pit organs and canal neuromasts in non-teleost bony fishes. *Brain, Behav., Evolut.* 50: 139-151.

**Weigand, C., Krause, E., Steinberg, C., Pflugmacher, S. 2001.** Toxicokinetics of atrazine in embryos of the Zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 99: 199-205.

- Weiger, T., Lametschwandtner, A., Kotrschal, K. and Krautgartner, W. D. 1988.** Vascularization of the telencephalic chorioid plexus of a ganoid fish [*Acipenser ruthenus* (L.)]. *Am. J. Anat.* 182, 33-41.
- Welcome, R. L. 1979.** Fisheries Ecology of Flood Plain Rivers. Longman Press, London, pp: 317.
- Weselak, M., Arbuckle, T. E., Foster, W. 2007.** Pesticide Exposures and Developmental Outcomes: The Epidemiological Evidence. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 10, 41-80.
- Whiteside P. J., Miner B. 1984.** Pye Unicam Atomic Absorption Data Book – Pye Unicam Ltd. Cambridge.
- Wiegand, C., Krause, E., Steinberg, C., Pflugmacher, S. 2001.** Toxicokinetics of atrazine in embryo of the zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotox. Environ. Safe.* 49, 199–205.
- Wood, C. M. 2001.** Toxic responses of the gill. In: Schlenk, D., Benson, W.H. (Eds.), *Organs. In: Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts*, vol. 1. Taylor & Francis, London, pp. 1–89.
- Wright, D. I., and O'Brien, W. J. 1984.** The development and field test of a tactical model of planktivorous feeding of white crappie (*Pomoxis annularis*). *Ecolog. Monogr.* 54: 65-98.
- Wullimann, M. F. 2009.** Secondary neurogenesis and telencephalic organization in zebrafish and mice: a brief review. *Integr Zool* 4:123–133.
- Wullimann, M. F., Mueller, T. 2004.** Teleostean and mammalian forebrains contrasted: evidence from genes to behavior. *J Comp Neurol* 475:143–162.
- Wullimann, M. F., Rink, E. 2002.** The teleostean forebrain: a comparative and developmental view based on early proliferation, Pax6 activity and catecholaminergic organization. *Brain Res Bull* 57:363–370.
- Wullimann, M. F., and Rink, E. 2002.** The teleostean forebrain: A comparative and developmental view based on early proliferation, Pax6 activity and catecholaminergic organization. *Brain Research Bulletin.* 57 (3/4): 363–370.
- Xing, H., Wang, J., Li, J., Fan, Z., Wang, M., Xu, S. 2010.** Effects of atrazine and chlorpyrifos on acetylcholinesterase and Carboxylesterase in brain and muscle of common carp. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 30: 26-30.
- Yang, L., Zha, J., Li, W., Li, Z., Wang, Z. 2010.** Atrazine affects kidney and adrenal hormones (AHs) related genes expressions of rare minnow (*Gobiocypris rarus*). *Aquatic Toxicology.* 97, 204-211.

**Yoder, J., Watson, M., Benson, W. W. 1973.** Lymphocytes chromosome analysis of agricultural workers during extensive occupational exposure to pesticides. *Mutat. Res.* 21: 13–17.

**Young, R. A. 2000.** Biomedical discovery with DNA arrays. *Cell.* 102: 9–15.

**Yuanxiang J., Xiangxiang Z., Dezhao L., Zhengwei F. 2011.** Proteomic Analysis of Hepatic Tissue in Adult Female Zebrafish (*Danio rerio*) Exposed to Atrazine. *Arch Environ Contam Toxicol.*, DOI 10.1007/s00244-011-9678-7.

**Zambonino-Infante, J. L., and Cahu, C. L. 2001.** Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C.* 130 (4): 477 – 487.

**Zambonino-Infante, J., Gisbert, E., Sarasquete, C. 2008.** Ontogeny and physiology of the digestive system of marine fish larvae. In: Cyrino, J. E., Bureau, D., and Kapoor, B.G. (eds.) *Feeding and Digestive Functions of Fish.* Science Publishers Inc, Enfield, NH, pp. 277 – 344.

**Zarogian, G., Gardner, G., Horowitz, B.D., Gutjahr-Gobell, R., Haebler, R., Mills, L., 2001.** Effect of 17 $\beta$ -estradiol, o,p\_-DDT, octylphenol and p,p\_-DDE on gonadal development and liver and kidney pathology in juvenile male summer flounder (*Paralochthys dentatus*). *Aquat. Toxicol.* 54, 101–112.

**Zaya R. M., Amini Z., Whitaker A. S., Kohler S. L., Ide C. F. 2011.** Atrazine exposure affects growth, body condition and liver health in *Xenopus laevis* tadpoles. *Aquat Toxicol.* 104 (3-4): 243-253.

**Zha, J., Wang, Z., Wang, N., Ingersoll, C. 2007.** Histological alternation and vitellogenin induction in adult rare minnow (*Gobiocypris rarus*) after exposure to ethynylestradiol and nonylphenol. *Chemosphere* 66, 488–495.

**Zouiten, D., Khemis, I. B., Besbes, R., Cahu, C. 2008.** Ontogeny of the digestive tract of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) larvae reared in “mesocosms”. *Aquaculture.* 279 (1-4), 166-172.

**Abstract:**

To investigation of the toxic effects of atrazine on newly hatched larvae and releasing age fry of the Caspian Kutum, *Rutilus frisii kutum*, the 96h LC50 was determined as 18.53 ppm and 24.95 ppm, respectively. Newly hatched larvae were exposed to three sublethal concentrations of atrazine ( $1/2$ LC50,  $1/4$ LC50 and  $1/8$ LC50) for 7 days. Different histopathological alterations were observed in fins and integument, gills, Kidney, digestive system, liver and the brain of the exposed larvae. Fry's were exposed to one sublethal concentration of atrazine ( $1/2$ LC50) for four days, and like the larvae's, many histopathological alterations were observed in fins and integument, gills, Kidney, digestive system, liver and the brain of the exposed fry's, too. Also, measurements of the body ions:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{Cl}^-$  in atrazine exposed larvae and fry's compare to control groups showed that atrazine is changed the body ions composition. No significant differences were found in length growth rate, weight growth rate and the condition factor of the atrazine exposed larvae and fry. Immunohistochemical localization of the  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase in integumentary and gill ionocytes, showed no differences in dispersion pattern of the ionocytes in atrazine exposed larvae and fry, compare to control group. Measuring the dimensions of the ionocytes and counting the ionocytes showed that atrazine is affecting on ionocytes by mild increasing in size and mild decreasing in number. Ultrastructural studies, using SEM and TEM, showed that atrazine have significant effects on cellular and subcellular properties. It caused necrosis in surface of the pavement cells in branchial epithelium, necrosis in endoplasmic reticulum of the ionocytes and changed the shape of the mitochondria in these cells. Results showed that sublethal concentrations of atrazine were very toxic to larvae and fry of the *Rutilus frisii kutum*, and at these levels can made some serious histopathological alterations in their tissues. Related to the severe histopathological alterations in osmoregulatory organs, like gill, kidney and digestive system, and the alterations in the body ion composition, it could be concluded that atrazine could interfere with the osmoregulation process of the *Rutilus frisii kutum* at the early stages of the life history.

**Keywords:**

Atrazine, *Rutilus frisii kutum*, Gill, Kidney, Digestive system, Brain, Body Ions





**Islamic Azad University  
Science and Research Branch**

**Marine Biology PhD Thesis**

Title:

**Effects of Atrazine Herbicide on Physiological,  
Biochemical and Histological Biomarkers of  
Developmental Stages of Larvae and Fry in Caspian  
Kutum, *Rutilus frisii kutum***

**Supervisors:**

Dr. Shahla Jamili

Dr. Saber Khodabandeh

**Advisors:**

Dr. Ali Mashinchian Moradi

Dr. Abbass Ali Mottalebi

**By:**

Zahra Khoshnood

Summer, 2012