

بررسی عوارض هیستوپاتولوژیکی اندام‌های آبشش، کبد و کلیه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برخی مزارع منطقه دوهزار استان مازندران

اشکان زرگر^{۱،*}، علی طاهری میرقائد^{۱،۵}، عیسی شریف پور^{۲،۵}، ملیکا قلیچ پور^{۱،۵}، عباسعلی آقایی

مقدم^{۳،۵}، بهروز قروی^{۳،۵}، مارینا پائولوچی^۴

^۱گروه بهداشت آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

^۲موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

^۳مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، گرگان، ایران

^۴دانشکده علوم و تکنولوژی، دانشگاه سانئو، بنونتو، ایتالیا.

^۵مرکز مطالعات و همکاری های بین الملل، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول azargar@ut.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۲۱

چکیده

با توجه به عدم وجود اطلاعاتی مبنی بر وضعیت سلامت ماهیان مزارع پرورشی و تعدد مزارع پرورش قزل‌آلا در شمال کشور، پایش سلامت ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان در سه مزرعه از استان مازندران به کمک مطالعات بافت‌شناسی انجام شد. نمونه‌برداری در غالب سه گروه وزنی و برای هر گروه تعداد ۱۰ عدد ماهی، انجام گردید. گروه اول ماهیان با وزن زیر ۱۰۰ گرم، گروه دوم ماهیان با وزن ۷۰۰-۳۰۰ گرم و گروه سوم ماهیان با وزن بالای ۱/۵ کیلوگرم بودند ماهیان پس از صید، بافت آبشش، کبد و کلیه ماهیان نمونه‌برداری شده خارج شد و نمونه‌های بافت اندام‌های هر ماهی در فالتکون مجزایی که حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد بود تثبیت شد. مقاطع بافتی با استفاده از پروتکل استاندارد تهیه شده و پس از رنگ‌آمیزی با استفاده از اتوزین-هماتوکسیلین به کمک میکروسکوپ نوری بررسی شدند. هایپرپلازی، هایپرتروفی، ادم اپیتلیال، فیوزن لاملا، آنژیوسم، کرلی لاملا و فیلامنت دوشاخه عوارض مشاهده شده در بافت آبشش بودند. در بافت کبد، دژنه شدن هپاتوسیت‌ها، اتساع فضای سینوزوئیدی، پرخونی/خونریزی، تجمع ملانوماکروفاژ، تجمع واکوئل چربی، هسته پیکنوزه، تورم هپاتوسیت‌ها و آگزودا با شدت های مختلف گزارش شد. کلیه نیز عوارضی همچون تحلیل رفتن گلومرول و اتساع فضای کپسول بومن، پرخونی/خونریزی، تجمع ماکروفاژها و دژنه شدن سلول‌ها را نشان داد. با توجه به نتایج، پیشنهاد می‌شود ارزیابی‌های تکمیلی مانند بررسی کیفیت آب و غذا و بررسی عوامل بیماری‌زا و پاتوژن‌ها در استخرهای مورد بررسی انجام شود.

واژگان کلیدی: هیستوپاتولوژی، قزل‌آلای رنگین کمان، مزارع پرورشی، عوارض بافتی، سلامت ماهیان.

مقدمه

یافته است به گونه‌ای که با پیشرفت تکنولوژی و ارتقاء صنعت آبی‌پروری، امروزه پرورش گونه‌های با ارزش اقتصادی و خوراکی ماهیان از رونق بالایی برخوردار است. در میان کلیه شاخه‌های علوم دامی، آبی‌پروری به‌عنوان یکی از صنایع تولید کننده پروتئین حیوانی تقریباً نیمی از کل عرضه ماهی را به خود اختصاص می‌دهد (FAO, 2010).

قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بعد از ماهی کپور عمده‌ترین و قدیمی‌ترین

محدودیت ذخایر دریاها و منابع آبی از یک طرف و افزایش روز افزون جمعیت کره زمین سبب شده تا انسان جهت تامین پروتئین سالم و با ارزش غذایی بالا، به پرورش انواع آبزیان در محیط‌های مصنوعی و در حاشیه آب‌های باز و بسته روی آورد. آبی‌پروری در ایران با واردات گونه‌های ماهیان پرورشی غیر بومی از سایر کشورها آغاز گردید و با تکمیل و ارتقای انواع روش‌های پرورش آبزیان تاکنون ادامه

بررسی وضعیت سلامت ماهیان ساکن آب‌های طبیعی جهت ارزیابی آلودگی در آبریان استفاده می‌شود (Handy *et al.*, 2002; Zimmerli *et al.*, 2007; Van Dyk *et al.*, 2009; Lukin *et al.*, 2011; Marchand *et al.*, 2011; McHugh *et al.*, 2011, 2013; Torres *et al.*, 2014; Saraiva *et al.*, 2015).

از آن‌جا که پرورش‌دهندگان به دلیل عدم تشخیص و درمان‌های مناسب با خسارات مالی شدید ناشی از بیماری‌ها روبرو هستند، به ندرت برای بررسی سلامت ماهیان پرورشی از مطالعات هیستوپاتولوژیک در مزارع پرورشی استفاده می‌کنند (Coz-Rakovac *et al.*, 2005; Rašković *et al.*, 2013; Saraiva *et al.*, 2015). پایش سلامت ماهیان پرورشی می‌تواند به پیشگیری از مواجهه با خسارات جبران‌ناپذیر نیز کمک کند. با توجه به مناسب بودن شرایط پرورش ماهیان سردآبی در منطقه شمال کشور و وجود مزارع متعدد پرورش ماهی قزل‌آلا در منطقه دوهزار استان مازندران که بخش عمده‌ای از تولید ماهیان پرورشی کشور را به خود اختصاص می‌دهد، پایش سلامت ماهیان این مزارع پرورشی ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین در این مطالعه سلامت ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان برخی از مزارع پرورشی منطقه دوهزار در استان مازندران با استفاده از روش مطالعات بافت‌شناسی بر روی اندام‌های کلیدی کبد و آبشش به اجرا درآمد. با توجه به این‌که مطالعات بافت‌شناسی یکی از ابزارهای کاربردی جهت بررسی سلامت اندام‌ها و به‌طور کلی سلامت ماهیان به‌شمار می‌رود (Baeverfjord and Kroghdahl, 1996; Van der Oost *et al.*, 2003; Saraiva *et al.*, 2007; Salamat and Zarie, 2012, 2015)، بنابراین در این بررسی از این روش استفاده شد. آبشش به عنوان اندامی که در ارتباط مستقیم با محیط آبی پیرامون ماهی است، کبد به عنوان اندامی که تمام فعالیت‌های متابولیسمی و فیزیولوژیک ماهی به گونه‌ای با این اندام در ارتباط است و کلیه به عنوان اندام

ماهی پرورشی محسوب می‌گردد که در اثر پرورش متراکم احتمال مواجهه با شرایط استرس‌زا و در نتیجه به خطر افتادن سلامت آن‌ها وجود دارد که با ادامه یافتن این شرایط حساسیت ماهیان به عوامل بیماری‌زا نیز افزایش می‌یابد (Hoseini *et al.*, 2020). بنابراین، پایش وضعیت سلامت ماهیان پرورشی جهت کنترل شرایط محیطی از اهمیت بالایی برخوردار است. برخلاف بسیاری از گونه‌های جانوری خشکی‌زی، اطلاعات اندکی در مورد سلامت گونه‌ها تحت شرایط آبی‌پروری وجود دارد (Tort *et al.*, 2011; Huntingford and Kadri, 2014). حفظ بهداشت و سلامت مزارع پرورش ماهی مفهومی است که بر اساس آن باید ماهیان تحت شرایطی پرورش یابند که نرخ رشد، کارایی غذا و بقای آن‌ها بهینه باشد به گونه‌ای که مشکلات تغذیه‌ای، بیماری‌های محیطی و عفونی ماهیان به حداقل کاهش یابد. همچنین، برهم کنش ناشی از عوامل تهدید کننده سلامت ماهیان مزارع پرورشی ممکن است اثری کاملاً متفاوت و شدیدتر از اثر هر یک از این عوامل تهدید کننده به تنهایی داشته باشد (Plumb and Hanson, 2010).

روش‌های مختلفی برای بررسی و ارزیابی وضعیت بهداشتی و سلامت ماهیان وجود دارد. یکی از این روش‌ها مطالعات بافت‌شناسی می‌باشد. مواجهه طولانی مدت با عوامل استرس‌زای محیطی و تغذیه‌ای و درگیری ماهیان با عوامل بیماری‌زای عفونی اثرات پاتولوژیک را به دنبال دارد. این اثرات با استفاده از مطالعات بافت‌شناسی قابل بررسی بوده و اثر کلی این عوامل تهدید کننده در وضعیت بافت‌شناسی یک اندام انعکاس می‌یابد، بنابراین توصیف تغییرات بافتی در اندام‌های مختلف می‌تواند ابزاری کارآمد و مفید جهت ارزیابی وضعیت سلامت ماهیان باشد (Baeverfjord and Kroghdahl, 1996; Van der Oost *et al.*, 2003; Saraiva *et al.*, 2007; Salamat and Zarie, 2012, 2015). از روش مطالعه آسیب‌های بافتی، به‌طور گسترده در

کلیدی در تنظیم اسمزی مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش ها

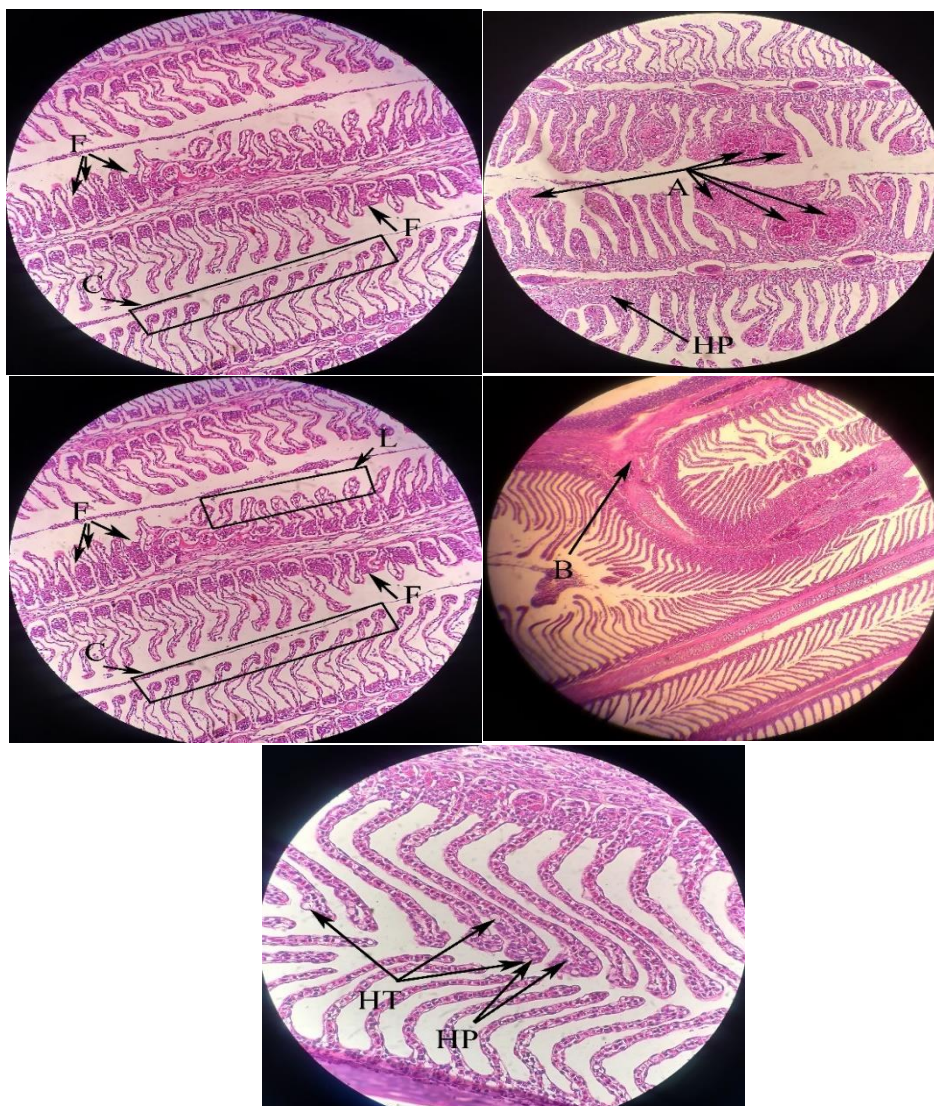
جهت بررسی سلامت ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی، سه مزرعه پرورشی واقع در استان مازندران که هر یک دارای وزن‌های مختلف از ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بودند به طور تصادفی نمونه‌برداری در فصل بهار صورت گرفت. نمونه‌برداری در غالب سه گروه وزنی انجام گردید. گروه اول ماهیان با وزن زیر ۱۰۰ گرم، گروه دوم ماهیان با وزن ۷۰۰-۳۰۰ گرم و گروه سوم ماهیان با وزن بالای ۱/۵ کیلوگرم بود. با توجه به این‌که سن ماهیان ارتباط مستقیمی با حساسیت به عوامل بیماری‌زا و استرس‌های محیطی دارد، بنابراین بررسی آسیب‌های بافتی ماهیان در رده‌های سنی مختلف ضروری به نظر می‌رسد. در هر مزرعه نیز به طور تصادفی تعداد ۱۰ عدد ماهی از هر یک از گروه‌های وزنی صید شد. بنابراین از هر مزرعه ۳۰ عدد ماهی و در مجموع ۹۰ عدد ماهی نمونه‌برداری و مورد بررسی قرار گرفت. ماهیان با توجه به پروتکل مصوب در شورای اروپا پس از صید شدن با استفاده از ضربه زدن به سرشان کشته شدند (Saraiva et al., 2015, 2016).

در ابتدا هر یک از ماهیان از نظر بدشکلی ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند. پس از باز شدن شکم، محوطه شکمی ماهی نیز از نظر ظاهری از جمله شکل و رنگ و وجود یا عدم وجود ضایعات قابل مشاهده، مورد بررسی قرار گرفت. جهت تهیه مقاطع بافتی، نمونه‌های بافت‌های آبشش، کبد و کلیه تمام ماهیان به صورت تفکیک شده و فرد به فرد جداسازی شدند. نمونه‌های بافت تمام اندام‌های هر ماهی در فالكون مجزایی حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد تثبیت شدند. پس از ۴۸ ساعت محلول فرمالین تعویض و نمونه‌ها تا زمان تهیه مقاطع بافتی در فرمالین بافری ۱۰ درصد باقی ماندند. برای آماده-

سازی مقاطع بافتی در دستگاه تیشوپروسسور انجام شد. پس از این مرحله قالب‌گیری انجام و قالب تهیه شده برای مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار داده شد تا کاملاً منسجم و سفت شود. سپس با استفاده از دستگاه میکروتوم، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. برش‌های تهیه شده برای مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند. سپس نمونه‌های لام با استفاده از رنگ اتوزین-هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت مقاطع بافتی تهیه شده جهت ارزیابی ضایعات بافتی با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند (Hascheck, 2010) و نتایج به شکل تصاویری از عوارض تشخیص داده شده نمایش داده شدند.

نتایج

در نمونه‌های بافت آبشش ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان سه مزرعه پرورشی مورد بررسی، عوارضی همچون هایپرپلازی (Lamellar/filament hyperplasia)، هایپرتروفی (Lamellar/filament hypertrophy)، ادم اپیتلیال (Lamellar epithelial lifting/edema)، فیوژن لاملا (Lamellar fusion)، آنژیورسم (Aneurysm)، کرلی لاملا (Curling lamella) و فیلامنت دو شاخه (Branching filament) مشاهده شد. هایپرپلازی و ادم لایه اپیتلیال از شایع‌ترین عوارض بافتی مشاهده شده در آبشش ماهیان مورد بررسی بود. آنژیورسم از نظر فراوانی وقوع عوارض بافتی در آبشش، رتبه دوم را داشت. بدشکلی‌های ساختاری همچون دوشاخه شدن لاملای اولیه (فیلامنت) در ماهیان با سن بالاتر مشاهده شد (شکل ۱).

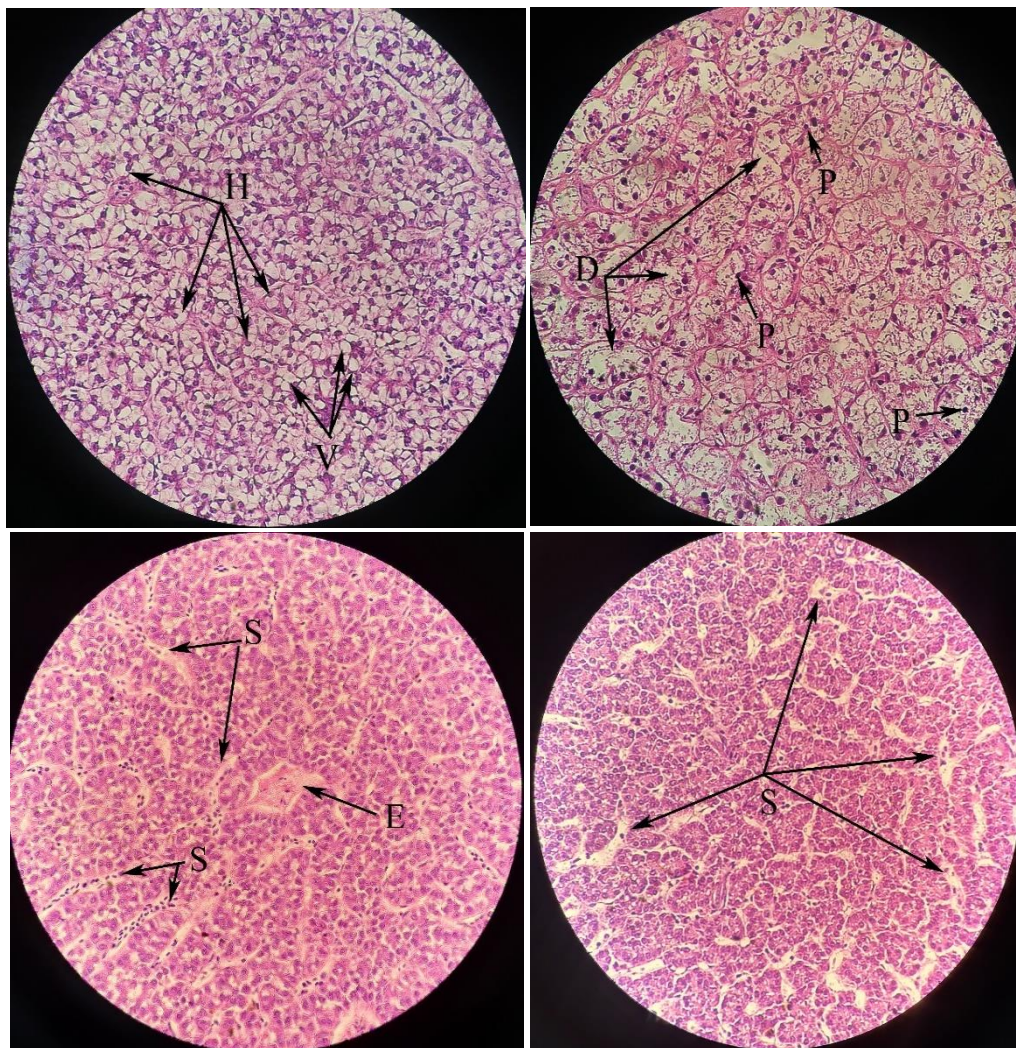


شکل ۱- عوارض هیستوپاتولوژیک بافت آبشش ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان در سه مزرعه پرورشی در استان مازندران. F: فیوژن، C: کرلی لاملا، A: آنورسم، HP: هایپرپلازی، HT: هایپرتروفی، L: ادم لایه اپیتلیال و B: فیلامنت دوشاخه. تصاویر با بزرگنمایی ۲۰۰ و ۴۰۰ می‌باشند.

سینوزوئیدی و تورم هپاتوسیت‌ها عمده‌ترین عوارضی بودند که در کبد‌های نمونه‌برداری شده مشاهده شدند. تجمع چربی بیشتر در سیتوپلاسم هپاتوسیت‌ها تعداد کمی از کبد‌ها قابل مشاهده بود و در موارد نادری به شکل چند واکوئل چربی پراکنده در برخی نمونه‌های بافت کبد ظاهر شد.

در بررسی نمونه‌های بافت کلیه تحلیل رفتن گلومرول و اتساع فضای کپسول بومن (Bowman's capsule dilation and glomerol shrinkage)، پرخونی/خونریزی (Hemorrhage/Congestion)، تجمع ماکروفاژها (Macrophage aggregation) و دژنره شدن سلول‌ها (Degeneration) مشاهده و

با توجه به شکل ۲، دژنره شدن هپاتوسیت‌ها (Hepatocyte Degeneration)، اتساع فضای سینوزوئیدی (Sinusoidal dilation)، پرخونی/خونریزی (Hemorrhage/Congestion)، تجمع ملانوماکروفاژ (Melanomacrophage aggregation)، تجمع واکوئل چربی (Hepatocyte vacuolization)، هسته پیکنوزه (Pyknotic nuclear hypertrophy)، تورم هپاتوسیت‌ها (Hepatocyte hypertrophy) و اغزودا (Exudate) از جمله عوارض هیستوپاتولوژیک بودند که با شدت‌های مختلف در کبد ماهیان سه مزرعه پرورش قزل‌آلای مورد بررسی مشاهده شدند. پرخونی، اتساع فضای



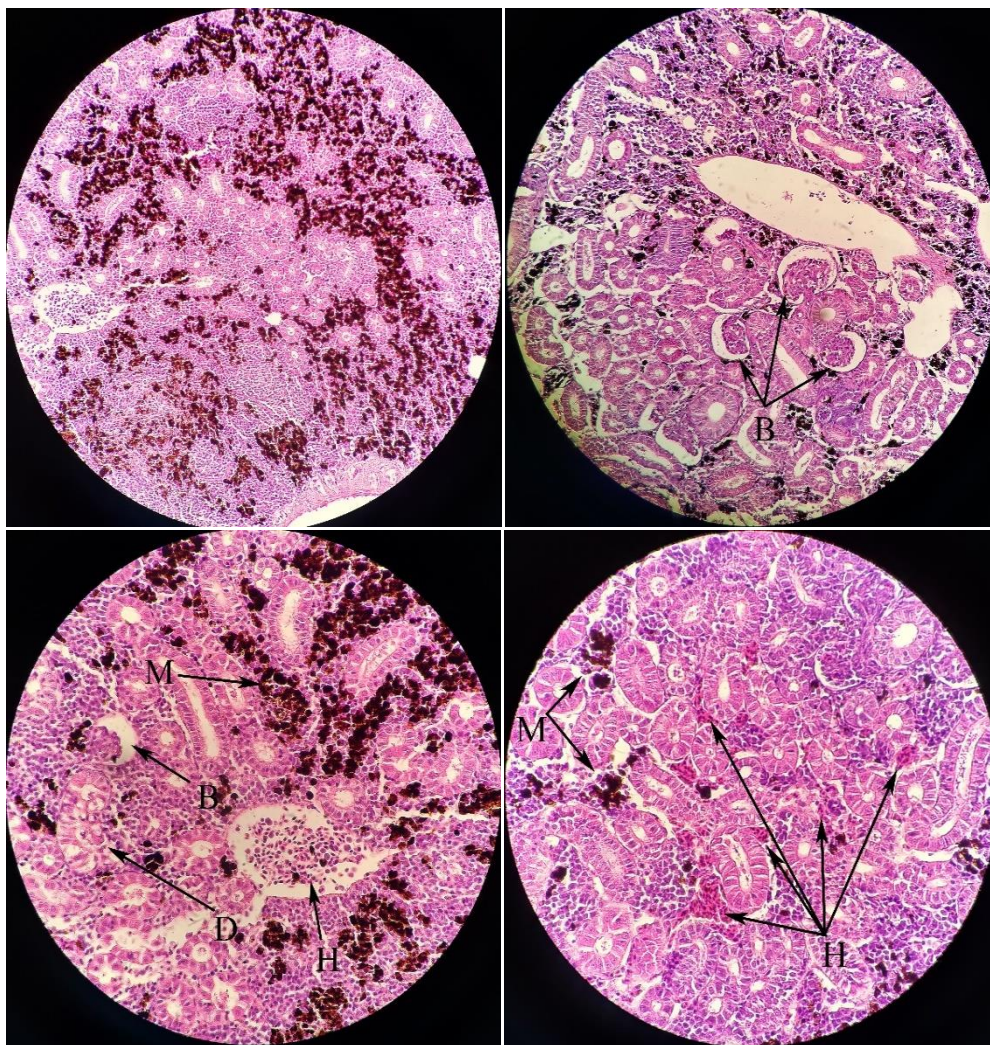
شکل ۲- عوارض هیستوپاتولوژیک بافت کبد ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان در سه مزرعه پرورشی در استان مازندران. H: هایپرتروفی هپاتوسیت، V: واکول چربی، D: دژنه شدن هپاتوسیت ها، P: هسته پیکنوزه، S: اتساع فضای سینوزوئیدی و E: اغزودا. تصاویر با بزرگنمایی ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ می‌باشند.

کلیدی در تبدیل زیستی و دفع مواد زاید و مضر از مراکز درون‌ریز و برون‌ریز بدن را بر عهده دارند، در اغلب بررسی‌های سلامت ماهیان، عموماً به‌عنوان اندام‌های کلیدی مورد بررسی قرار می‌گیرند. آبشش‌ها به دلیل این که مستقیماً با محیط‌زیست آبی در ارتباط هستند بیش‌تر و سریع‌تر از سایر اندام‌ها تحت تأثیر آلاینده‌ها و عوامل بیماری‌زا قرار می‌گیرند. این اندام از قدرت بازسازی بالایی نیز برخوردار است و قادر است ظرف مدت چند روز تا چند هفته پس از برطرف شدن علت مشکل، به‌طور کامل بهبود پیدا کند (Wolf et al., 2015). ادم لایه اپیتلیال یکی از عوارض بافتی رایج در آبشش ماهیان می‌باشد. این

گزارش شد (شکل ۳). شدت آسیب‌های بافتی مختلف در هر یک از اندام‌های آبشش، کبد و کلیه در میان ماهیان سنین مختلف (کمتر از ۱۰۰ گرم، ۳۰۰ تا ۷۰۰ گرم و بیش از ۱/۵ کیلوگرم) به روش نیمه کمی مقایسه شد (جدول ۱).

بحث

در این مطالعه عوارض بافتی اندام‌های آبشش، کبد و کلیه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان سه مزرعه پرورشی در منطقه دوهزار استان مازندران مورد بررسی قرار گرفت. از آن‌جا که این اندام‌ها از فعالیت متابولیک بالایی برخوردار بوده و هر سه آن‌ها نقش



شکل ۳- عوارض هیستوپاتولوژیک بافت کلیه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان در سه مزرعه پرورشی در استان مازندران. M: تجمع ملانوماکروفاژها، B: تحلیل گلومرول و اتساع کپسول بومن، D: دژنره شدن سلول‌های بافت خونساز کلیه و H: پرخونی عروق و خونریزی. بزرگنمایی تصاویر ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ می‌باشد.

Skidmore, 1975) و یا به دلیل ادم شدید باشد (Arellano *et al.*, 1999; Schwaiger *et al.*, 2004). هایپرپلازی عارضه بافتی دیگری است که به موازات ادم لایه اپیتلیال در آبشش ماهیان نمونه برداری شده مشاهده شد. هایپرپلازی که در اثر تکثیر سلول‌های لاملاهای اولیه و ثانویه رخ می‌دهد که یک مکانیسم دفاعی در برابر کمبود اکسیژن آب می‌باشد و در نهایت منجر به کاهش سطح تنفسی و افزایش فاصله انتشار خون مویرگ‌ها می‌شود (Cengiz, 2006; Bagherzadeh *et al.*, 2013). بنابراین می‌توان گفت که اثرات فیزیولوژیک هایپرپلازی با کمبود اکسیژن در آب مرتبط است.

تغییر در بافت احتمالاً جهت محافظت از مویرگ‌های شکننده لاملاهای ثانویه در برابر آسیب‌های خارجی بیشتر و یا نفوذ میکروبی می‌باشد. هر چند که این مکانیسم دفاعی سبب افزایش فاصله انتشار میان مویرگ‌ها و محیط خارج می‌شود که مانعی برای تنفس، دفع و تنظیم اسمزی به شمار می‌رود (Arellano *et al.*, 1999; Van Heerden *et al.*, 2004; Wolf *et al.*, 2015). لیفت اپیتلیال به دنبال ادم این لایه اتفاق می‌افتد که ممکن است نتیجه کاهش سطح آبشش باشد که به دلیل نیاز به حفظ ثبات اسمزی و در عین حال حفظ از بین رفتن تدریجی سلول‌های اپیتلیال ایجاد شود (Abel and

جدول ۱- مقایسه شدت آسیب هاب بافتی مشاهده شده در اندام های آبشش، کبد و کلیه سه رده سنی ماهیان قزل آلائی رنگین کمان (کمتر از ۱۰۰ گرم، ۳۰۰ تا ۷۰۰ گرم، بیش از ۱/۵ کیلوگرم) در برخی مزارع پرورشی استان مازندران. (-) عدم وجود آسیب بافتی، (+) شدت ضعیف آسیب بافتی، (++) شدت متوسط آسیب بافتی، (+++) شدت زیاد آسیب بافتی.

آبشش	کمتر از ۱۰۰ گرم	۳۰۰ تا ۷۰۰ گرم	بیش از ۱/۵ کیلوگرم
هایپرپلازی	+	++	+++
هایپرتروفی	—	+	+
ادم اپیتلیال	+	++	+++
فیوژن لاملا	—	+	++
آنژیورسم	+	+	++
کرلی لاملا	+	++	++
فیلامنت دو شاخه	—	—	++
کبد			
دژنره شدن هیاتوسیت ها	+	+	++
اتساع فضای سینوزوئیدی	+	+	+++
پرخونی/ خونریزی	+	+	+++
تجمع ملانوماکروفاژ	—	—	+
تجمع واکول چربی	—	+	++
هسته پیکنوزه	—	—	+
تورم هیاتوسیت ها	+	++	++
اگزودا	—	+	+
کلیه			
تحلیل رفتن گلومرول	—	+	++
پرخونی/ خونریزی	+	+	++
تجمع ماکروفاژها	+++	+++	+++
دژنره شدن سلول ها	—	+	+

هایپرپلازی در حالت گسترده تر می‌تواند منجر به چسبیدن چند لاملای ثانویه به یکدیگر شده و عارضه فیوژن را ایجاد کند. Sharifpour و همکاران (۲۰۱۱) عوارض هایپرپلازی و فیوژن را در آبشش ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*) و سوف دریای خزر (*Sander lucioperca*) گزارش کردند که علت آن را آلودگی های محیط آبی دریای خزر بیان نمودند. آنژیورسم از دیگر عوارض مشاهده شده در لاملای ثانویه آبشش برخی از ماهیان بررسی شده در تحقیق حاضر بود. به دلیل وجود مواد محرک در آب این عارضه باعث اختلال در جریان خون آبشش می‌شود، تخریب سلول های پیلار و افزایش جریان خون در لاملاها باعث اتساع کانال حاشیه‌ای، خونریزی و آنژیورسم می‌شود (Takashima and Hibiya, 1995; Rosety-Rodríguez et al., 2002). بزرگ بودن اندازه برخی از آنژیورسم‌ها در

بررسی حاضر، بیانگر شدت اختلال و عارضه می‌باشد. Flores-Lopes و Thomaz (۲۰۱۱) اشاره کردند که آنژیورسم‌ها می‌توانند واکنش خاصی از بافت آبشش به عوامل سمی باشند. این مسمومیت تنها به دلیل ورود مواد سمی از خارج به محیط آب پرورش نیست بلکه می‌تواند به دلیل مسمومیت ناشی از بالا رفتن دی اکسید کربن و یا آمونیاک آب به دلیل مدیریت نادرست تغذیه ماهیان و کیفیت آب باشد. Abdel-Moneim و همکاران (۲۰۱۲) نیز آنژیورسم را در آبشش ماهیان *Oreochromis niloticus* تالاب‌های آلوده گزارش کردند. آنژیورسم یکی از عوارض آبششی با درجه شدید محسوب می‌شود زیرا برگشت‌پذیری و بهبود آن در مقایسه با عوارض بافتی حادث شده در لایه اپیتلیال اغلب به سختی صورت می‌گیرد (Poleksić and

رنگ، اندازه و تعداد) می‌تواند به صورت غیر اختصاصی نشانه مواجهه ماهی با مواد سمی و یا افت کیفیت آب محیط زیست ماهی باشد (Fournie et al., 2001). در بررسی حاضر به دلیل گسترده‌تر بودن تجمعات رنگدانه‌دار در بافت کلیه ماهیان قزل‌آلای مورد بررسی نسبت به بافت کلیه ماهیان کاملاً سالم همین گونه، احتمال وجود آلودگی آب و کیفیت پایین آب برخی استخرها وجود مطرح است. به توجه به این که تجمع ملانوماکروفاژها با گذشت زمان افزایش می‌یابد، بنابراین برای قضاوت سلامت ماهیان باید فاکتور سن در نظر گرفته شود (Wolf et al., 2015). مشاهدات این بررسی نیز نشان داد که تجمعات ملانوماکروفاژها در ماهیان با وزن بیشتر و سن بالاتر بیشتر از ماهیان کوچک‌تر و کم‌سن‌تر بود. پر خونی و خونریزی از واکنش‌های اولیه یک بافت جهت مقابله با عامل استرس‌زا به شمار می‌رود. در بافت‌های کلیه ماهیان قزل‌آلای استخرهای پایش شده نیز پر خونی عروق و خونریزی در بافت زمینه مشاهده شد. مطالعات نشان می‌دهند که عوارض قابل رویت در بافت کلیه ماهیان همچون خونریزی، ملانوماکروفاژ، تحلیل گلوبول و اتساع کپسول بومن و نیز دژنره شدن توپول‌ها هم در ماهیان قرار گرفته در معرض سموم مشخص و فلزات سنگین (Handy and Penrice, 1993; Thophon et al., 2003) و هم در ماهیانی که معرض آلودگی‌های ارگانیکی و نیز ترکیبی از آلودگی‌های محیطی (Schwaiger et al., 1997) قرار بگیرند اتفاق می‌افتد. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که عوارض بافتی کلیه نیز مانند آبشش به‌طور اختصاصی ناشی از یک عامل استرس‌زا نیست (Camargo and Martinez, 2007). دژنره شدن سلول‌ها نیز به شکل بسیار محدود در کلیه برخی از ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان مزارع مورد بررسی مشاهده شد که حاکی از آن است که ماهیان تحت استرس قرار دارند. با این حال، عدم وجود نکروز در کنار دژنره شدن، نشان می‌دهد که مدت زمان مواجهه با عامل استرس‌زا

(Mitrović-Tutundžić, 1994) بر اساس Winkaler و همکاران (۲۰۰۱)، یکی از دلایل مهم وقوع هایپرتروفی و آنژیورسم در بافت آبشش ماهیان، هیپوکسی یا همان کمبود اکسیژن می‌باشد. با توجه به اینکه ماهی قزل‌آلا نسبت به اکسیژن حساس بوده و نیاز اکسیژنی بالاتری نسبت به سایر ماهیان پرورشی همچون ماهیان گرمابی دارد، بنابراین کاهش کیفیت و اکسیژن آب حتی به مقدار کم نیز ممکن است منجر به ایجاد شرایط هیپوکسی و در نتیجه بروز عارضه شدیدی چون آنژیورسم شود.

از نظر فیزیولوژیک، نقش اصلی کلیه ماهیان تنظیم اسمزی است، زیرا آبشش‌ها می‌توانند مسئول بیش از ۸۰ درصد دفع مواد زائد نیتروژنی باشند (Evans et al., 2005). بنابراین یکی از اندام‌های کلیدی و مهم جهت ارزیابی سلامت ماهیان چه در محیط‌های طبیعی و چه در مزارع پرورشی، کلیه است. از جمله رایج‌ترین تغییراتی که عمدتاً در بافت کلیه ماهیان قرار گرفته در معرض آلودگی‌ها مشاهده می‌شود، دژنره شدن توپول‌ها و تحلیل رفتن گلوبول به همراه اتساع کپسول بومن می‌باشد و دژنره شدن بافت خونساز کلیه عموماً نسبت به لوله‌های ادراری با تاخیر صورت می‌گیرد (Takashima and Hibiya, 1995). تجمع ملانوماکروفاژها عمده‌ترین عارضه‌ای بود که در نمونه‌های بافت کلیه ماهیان مورد بررسی مشاهده شد. قابل بیان است که رویت تجمعات ملانوماکروفاژی در بافت کلیه، کبد و طحال ماهیان استخوانی تا حد متوسط، پدیده‌ای معمول و طبیعی به شمار می‌رود. فراوانی، شکل توزیع و رنگ این ساختارها بسته به نوع گونه ماهی متفاوت است. این ساختارها شامل ماکروفاژهایی هستند که حاوی رنگدانه‌های ملانین، هموسیدرین، لیپوفوژین و یا سروید می‌باشند. برخی از عملکردهای این ساختارها، اریتروافگوسیتوز، ذخیره آهن و تشخیص آنتی ژن‌ها عنوان شده است (Wolf et al., 2015). با این حال، اثبات شده است که مقایسه تغییرات تجمعات ملانوماکروفاژی (از جمله

غلظت بالایی از پروتئین و مقدار زیادی مواد زائد سلولی خارج شده از خون و عروق لنفاوی است (Bernet et al., 1999).

بررسی مقاطع بافتی اندام‌های کبد، کیه و آبشش ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان مزارع پرورشی در استان مازندران نشان داد که ماهیان تاحدودی تحت استرس‌های محیطی و استرس‌های ناشی از شرایط نامطلوب پرورش قرار دارند. پیشنهاد می‌شود برای بهبود وضعیت سلامت ماهیان این استخرها، پایش فاکتورهای کیفی آب به صورت مستمر در مزارع انجام شود تا کیفیت آب در حد مطلوبی قرار گیرد. کنترل اکسیژن، pH، آمونیاک و مواد معلق در آب می‌تواند تا حد زیادی عوارض برگشت‌پذیر آبشش‌ها و کلیه را اصلاح کند. اصلاح کیفیت و مقدار جیره غذایی نیز در سلامت کبد و حفظ کیفیت مطلوب آب موثر است که با آنالیز جیره غذایی و محاسبه مقدار دقیق غذای مصرفی می‌توان به نتایج مطلوبی رسید.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین‌المللی (CISSC) وزارت علوم، تحقیقات و فناوری کشور به انجام رسیده است.

منابع

- Abdel-Moneim A.M., Al-Kahtani M.A., Elmenshawy O.M. 2012. Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia. *Chemosphere* 88(8), 1028-1035.
- Abel P.D., Skidmore J.F. 1975. Toxic effects of an anionic detergent on the gills of rainbow trout. *Water Research* 9(8), 759-765.
- Arellano J.M., Storch V., Sarasquete C. 1999. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales sole, *Solea senegalensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 44(1), 62-72.

طولانی نبوده است. تداوم و شدت یافتن دژنره شدن منجر به ایجاد نکروز در اندام می گردد (Takashima and Hibiya., 1995).

با توجه به غنی بودن کبد از جریان خون و وظایف اصلی کبد یعنی سم‌زدایی و فرآیند تصفیه زیستی (Van der Oost et al., 2003)، این اندام نیز هم‌تراز کلیه و آبشش تحت تاثیر آلودگی‌ها و استرس‌های محیطی قرار می‌گیرد (Rodrigues and Fanta, 1998). در بررسی حاضر اتساع فضای سینوزوئیدی، هسته پیکنوزه، دژنره شدن برخی از هپاتوسیت‌ها و بدشکلی‌هایی همچون گرد شدن و بادکردن هپاتوسیت‌ها و قرار گرفتن هسته‌ها در نزدیک غشا سلول در نمونه‌های کبد مشاهده شد. این عوارض در کبد گونه‌های دیگر که در معرض آلاینده‌های خاصی همچون سموم ارگانوفسفره قرار داشتند نیز گزارش شده است (Fanta et al., 2003). تجمع چربی در هپاتوسیت‌ها و رویت واکوئل‌های چربی در کبد ماهیان قزل‌آلای مزارع پایش شده، نشان می‌دهد که میزان انرژی ورودی بیش از میزان انرژی مورد نیاز برای متابولیسم، رشد، دفع، تولیدمثل و سایر فعالیت‌های فیزیولوژیکی ماهی است که به شکل تجمع چربی و یا گلیکوژن در هپاتوسیت‌ها مشاهده می‌شود (Wolf et al., 2015). جیره غذایی نامناسب می‌تواند دلیل این عارضه باشد که با اصلاح جیره می‌توان تا حد زیادی آن را برطرف نمود. کبد چرب به ویژه در ماهی‌های پرورش‌یافته در اسارت، که معمولاً با غذاهای پرکالری تغذیه می‌شوند و نیازی به صرف انرژی زیادی برای جستجوی غذا ندارند، رایج است. گونه ماهی نیز یکی از فاکتورهایی است که بر میزان تجمع چربی در کبد ماهیان اثر دارد (Wolf et al., 2015). آگزودا از جمله عوارضی است که مربوط به عروق و سیستم گردش خونی و لنفاوی است. در کبد برخی از ماهیان نمونه‌برداری شده این عارضه رویت شد که نشانه التهاب در بافت و مواجهه ماهی با عوامل استرس‌زا می باشد. مایع آگزودا حاوی

- Fanta E., Rios F.S.A., Romão S., Vianna A.C.C., Freiburger S. 2003. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54(2), 119-130.
- FAO 2010. The State of the World fisheries and aquaculture 2010. Food and Agriculture Organization of the United State, Roma. 218 p.
- Flores-Lopes F., Thomaz A.T. 2011. Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. *Brazilian Journal of Biology* 71, 179-188.
- Fournie J.W., Summers J.K., Courtney L.A., Engle V.D., Blazer V.S. 2001. Utility of splenic macrophage aggregates as an indicator of fish exposure to degraded environments. *Journal of Aquatic Animal Health* 13(2), 105-116.
- Handy R.D., Penrice W.S. 1993. The influence of high oral doses of mercuric chloride on organ toxicant concentrations and histopathology in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 106(3), 717-724.
- Handy R.D., Runnalls T., Russell P.M. 2002. Histopathologic biomarkers in three-spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*, from several rivers in Southern England that meet the freshwater fisheries directive. *Ecotoxicology* 11(6), 467-479.
- Haschek W.M. 2010. *Fundamentals of Toxicologic Pathology* 43-65.
- Huntingford F.A., Kadri S. 2014. Defining, assessing and promoting the welfare of farmed fish. *Revue Scientifique et Technique-office international des Epizooties* 33(1), 233-244.
- Hoseini S.M., Yousefi M., Taheri Mirghaedi A., Paray B.A., Hoseinifar S.H., Van Doan H. 2020. Effects of rearing density and dietary tryptophan supplementation on intestinal immune and antioxidant responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 528, 735537.
- Lukin A., Sharova J., Belicheva L., Camus L. 2011. Assessment of fish health status in the Pechora River: effects of contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74(3), 355-365.
- Baeverfjord G., Kroghdahl Å. 1996. Development and regression of soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish. *Journal of Fish Diseases* 19(5), 375-387.
- Bagherzadeh Lakani F., Sattari M., Sharifpour I., Kazemi R. 2013. Effect of hypoxia, normoxia and hyperoxia conditions on gill histopathology in two weight groups of beluga (*Huso huso*). *Caspian Journal of Environment Science* 11(1), 77-84.
- Bernet D., Schmidt H., Meier W., Burkhardt-Holm P., Wahli T. 1999. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases* 22(1), 25-34.
- Camargo M.M., Martinez C.B. 2007. Histopathology of gills, kidney, and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology* 5(3), 327-336.
- Camargo M.M., Martinez C.B. 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology* 5(3), 327-336.
- Cengiz E.I. 2006. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 22(2), 200-204.
- Coz-Rakovac R., Strunjak-Perovic I., Hacmanjek M., Lipej Z., Sostaric B. 2005. Blood chemistry and histological properties of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the North Adriatic Sea. *Veterinary Research Communications* 29(8), 677-687.
- Da Veiga M.L., de Lara Rodrigues E., Pacheco F.J., Ranzani-Paiva M.J.T. 2002. Histopathologic changes in the kidney tissue of *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836 (Characiformes, Prochilodontidae) induced by sublethal concentration of trichlorfon exposure. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 45(2), 171-176.
- Evans D.H., Piermarini P.M., Choe K.P. 2005. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews* 85(1), 97-177.

- 448, 375-381.
- Schwaiger J., Ferling H., Mallow U., Wintermayr H., Negele R.D. 2004. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquatic Toxicology* 68(2), 141-150.
- Schwaiger J., Wanke R., Adam S., Pawert M., Honnen W., Triebskorn R. 1997. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 6(1), 75-86.
- Sharifpour I., Rezvani G.S., Kazemi R. 2011. Histopathology of some important organs of perch (*Sander lucioperca*) and salmon (*Salmo trutta caspius*) in the southern Caspian Sea with emphasis on pollutants.
- Takashima F., Hibiya T. 1995. An atlas of fish histology: normal and pathological features.
- Thophon S., Kruatrachue M., Upatham E.S., Pokethitiyook P., Sahaphong S., Jaritkhuan S. 2003. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental Pollution* 121(3), 307-320.
- Torres L., Nilsen E., Grove R., Patiño R. 2014. Health status of Largescale Sucker (*Catostomus macrocheilus*) collected along an organic contaminant gradient in the lower Columbia River, Oregon and Washington, USA. *Science of the Total Environment*, 484, 353-364.
- Tort L., Pavlidis M.A., Woo N.Y.S. 2011. Stress and welfare in sparid fishes. Sparidae 75-94.
- Van der Oost R., Beyer J., Vermeulen N.P. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 13(2), 57-149.
- Van Dyk J.C., Marchand M.J., Smit N.J., Pieterse G.M. 2009. A histology-based fish health assessment of four commercially and ecologically important species from the Okavango Delta panhandle, Botswana. *African Journal of Aquatic Science* 34(3), 273-282.
- Van Heerden D., Vosloo A., Nikinmaa M. 2004. Effects of short-term copper exposure on gill structure, metallothionein
- Marchand M.J., Van Dyk J.C., Pieterse G.M., Barnhoorn I.E.J., Bornman M.S. 2009. Histopathological alterations in the liver of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* from polluted aquatic systems in South Africa. *Environmental Toxicology: An International Journal* 24(2), 133-147.
- McHugh K.J., Smit N.J., Van Vuren J.H.J., Van Dyk J.C., Bervoets L., Covaci A., Wepener V. 2011. A histology-based fish health assessment of the tigerfish, *Hydrocynus vittatus* from a DDT-affected area. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C* 36(14-15), 895-904.
- Plumb J.A., Hanson L.A. 2010. Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes. John Wiley and Sons. 492 p.
- Poleksić V., Mitrović-Tutundžić V. 1994. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. Oxford: Fishing News Books. pp. 339-52.
- Rašković B., Jarić I., Koko V., Spasić M., Dulić Z., Marković Z., Poleksić V. 2013. Histopathological indicators: a useful fish health monitoring tool in common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) culture. *Open Life Sciences* 8(10), 975-985.
- Rodrigues E.D.L., Fanta E. 1998. Liver histopathology of the fish *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchman after acute exposure to sublethal levels of the organophosphate Dimethoate 500. *Revista Brasileira de Zoologia* 15(2), 441-450.
- Rosety-Rodríguez M., Ordoñez F.J., Rosety M., Rosety J.M., Rosety I., Ribelles A., Carrasco C. 2002. Morpho-histochemical changes in the gills of turbot, *Scophthalmus maximus* L., induced by sodium dodecyl sulfate. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 51(3), 223-228.
- Salamat N., Zarie M. 2012. Using of fish pathological alterations to assess aquatic pollution: a review. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 4(3), 223-231.
- Saraiva A., Costa J., Eiras J. C., Cruz C. 2016. Histological study as indicator of juveniles farmed turbot, *Scophthalmus maximus* L. health status. *Aquaculture* 459, 210-215.
- Saraiva A., Costa J., Serrão J., Cruz C., Eiras J.C. 2015. A histology-based fish health assessment of farmed seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*

and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* 69(3), 271-280.

Wilhelm Filho D., Torres M.A., Tribess T.B., Pedrosa R.C., Soares C.H.L. 2001. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acará (*Geophagus brasiliensis*). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 34, 719-726.

Winkaler E.U., das Graças Silva A., Galindo H.C., dos Reis Martinez C.B. 2001. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 23, 507-514.

Wolf J. C., Baumgartner W. A., Blazer V. S., Camus A. C., Engelhardt J. A., Fournie J. W., Wolfe M.J. 2015. Nonlesions, misdiagnoses, missed diagnoses, and other interpretive challenges in fish histopathology studies: a guide for investigators, authors, reviewers, and readers. *Toxicologic Pathology* 43(3), 297-325.

Zimmerli S., Bernet D., Burkhardt-Holm P., Schmidt-Posthaus H., Vonlanthen P., Wahli T., Segner H. 2007. Assessment of fish health status in four Swiss rivers showing a decline of brown trout catches. *Aquatic Sciences* 69(1), 11-25.

Histopathological lesions of gill, liver and kidney of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in some farms in Dohezar region of Mazandaran Province

Ashkan Zargar^{1,5}, Ali Taheri Mirghaed^{1,5}, Issa Sharipour^{2,5}, Melika Ghelichpour^{1,5}, Abbasali Aghaei Moghaddam^{3,5}, Behrouz Gharavi^{3,5}, Marina Paolucci⁴

¹Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

²Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

³Inland Waters Aquatics Resources Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran.

⁴Department of Sciences and Technologies, University of Sannio, Benevento, Italy.

⁵Center for International Scientific Studies and Collaboration, Tehran, Iran.

*Corresponding author: azargar@ut.ac.ir

Received: 2021/12/12

Accepted: 2022/2/18

Abstract

Due to the lack of information on the health status of farmed fish and the number of trout farms in the north of the country, the health of rainbow trout was monitored in three farms in Mazandaran province with the help of histological studies. Sampling was performed in three weight groups and 10 fish for each group. The first group of fish weighing below 100 g, the second group of fish weighing 300-700 g, and the third group of fish weighing higher than 1.5 kg. After sampling, the gills, livers, and kidneys were removed and the tissue samples of each fish were fixed in a separate falcon tube containing 10% buffered formalin. Tissue sections were prepared using a standard protocol and examined by light microscopy after staining using eosin-hematoxylin. Lamellar/filament hypertrophy and hyperplasia, curling lamellar, epithelial lifting/edema, aneurysm, branching filament are the most injuries in the sampled gills. Hepatocyte degeneration, Sinusoidal dilation, Haemorage/Congestion, Hepatocyte vacuolization, Pyknotic nuclear, Melanomacrophage aggregation, Hepatocyte hypertrophy and Exudate were reported with different intensities in the liver tissue. The kidney samples showed some lesions as; Bowman's capsule dilation and Glumerol shrinkage, Haemorage/Congestion, Macrophage aggregation, and Degeneration. According to the results, it is suggested to improve the water quality, type, and amount of food in the studied farms. Additional assessments such as water and food quality and pathogens in the pools to be performed

Keywords: Histopathology, Rainbow trout, Farms, Tissue injuries, Fish health.