

اثر ریزپلاستیک و فلز مس بر هموسیت‌های مختلف در خرچنگ دراز آب شیرین *Astacus leptodactylus*

امیر زیدی^۱، محمدرضا رضایی^{۱*}، محمدحسین صیادی^۱، امین غلامحسینی^۲، مهدی بنایی^۳

^۱گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
^۲بخش بهداشت و بیماری حیوانات آبی، گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
^۳گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیا بهبهان، بهبهان، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۸

چکیده

در این مطالعه، تأثیر سطوح مختلف ریزپلاستیک و فلز مس، به تنهایی و به صورت توأم، بر تعداد هموسیت کل و هموسیت‌های مختلف در خرچنگ دراز آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) به اجرا درآمد. بدین منظور تعداد ۳۷۸ خرچنگ با میانگین طول $10/64 \pm 0/76$ سانتی‌متر و وزن $41/12 \pm 5/15$ گرم در ۲۷ آکواریوم تقسیم شدند. طول دوره در معرض قرارگیری ۲۸ روز بود، بررسی تعداد هموسیت کل و هموسیت‌های مختلف در پایان دوره نمونه همولنف از خرچنگ‌ها گرفته شد. نتایج نشان داد تعداد سلول‌های هیالینوسیت در نمونه‌های در معرض ریزپلاستیک پلی‌اتیلن ۱ میلی‌گرم بر لیتر و تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس کمتر از گروه کنترل بود، تعداد گرانولوسیت در تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر ریزپلاستیک پلی‌اتیلن و تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر ریز پلاستیک توأم با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس نسبت به گروه کنترل افزایش داشت و برای سلول‌های نیمه گرانولوسیت ۱ میلی‌گرم بر لیتر ریز پلاستیک توأم با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس کاهش معنی‌دار و تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس نیز افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت ($P < 0/05$) همچنین تعداد هموسیت کل تیمارهای ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ریزپلاستیک توأم با ۱ میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس و تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر ریزپلاستیک توأم با ۱ میلی‌گرم سولفات مس نسبت به تیمار کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$)، در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که ریزپلاستیک پلی‌اتیلن و فلز مس به صورت تنها و توأم با هم می‌توانند از جمله عوامل آلاینده و آسیب‌رسان به سیستم ایمنی در خرچنگ دراز آب شیرین باشد.

کلید واژگان: همولنف، سیستم ایمنی، خرچنگ دراز آب شیرین، آلاینده محیطی

مقدمه

به‌دنبال توسعه فن‌آوری و پیشرفت‌های صنعتی، هر ساله حجم زیادی از انواع مختلف زباله‌ها و پسماندهای نوظهور در جهان تولید می‌شود، که نادیده گرفتن پیامدهای محیط زیستی، رهاسازی این حجم از آلودگی‌ها را به‌دنبال دارد (Barboza et al., 2018; Herrera et al., 2019). زباله‌ها و نخاله‌های پلاستیکی از جمله شناخته‌ترین نوع آلاینده‌های نوظهور می‌باشد که به یکی از بزرگترین مشکلات زیست‌محیطی تبدیل شده است. رهاسازی این آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های آبی در سال‌های اخیر رشد چشم‌گیری داشته است (Alimba and Faggio, 2019). از جمله منابع تولید این آلاینده‌ها صنایع بسته‌بندی، ساختمانی، خودروسازی، کشاورزی، نساجی، محصولات الکترونیکی، مواد آرایشی و بهداشتی می‌باشد (Kim et al., 2021).

پس از رهاسازی پلاستیک‌ها در طبیعت، تحت تأثیر اشعه ماوراء بنفش خورشید و سایر فرآیندهای فیزیکی یا شیمیایی به قطعات کوچکتری تبدیل می‌شوند که در اثر رهاسازی در محیط آبی، بر حیات آبریان و اکوسیستم آن‌ها تأثیر مستقیمی می‌گذارد (Frias and Nash, 2019). پلی-اتیلن یکی از بیش‌ترین پلاستیک‌های موجود در طبیعت می‌باشد (Hermabessiere et al., 2017). آبریان آب شیرین و آب‌شور ممکن است ریزپلاستیک‌ها را به‌جای غذا بلعند (Kim et al., 2021) که این مسئله منجر به بروز صدمات فیزیکی و شیمیایی در آن‌ها می‌شود. با گذشت زمان، تجمع ریزپلاستیک‌ها به‌خصوص در اندام‌های از جمله دستگاه گوارشی و تنفسی، سبب انسداد مجاری تنفسی و آسیب‌های فیزیکی به سیستم گوارشی آبریان مختلف شود، تا جایی که مطالعات (Torres and De-la-Torre, 2021) نشان می‌دهد که شکل خطرناک‌تری از آسیب به موجودات زنده دریایی با بلع ریزپلاستیک‌ها و نانوپلاستیک‌ها رخ می‌دهد که تأثیر منفی بر تغذیه، متابولیسم، تولید مثل و بقای گونه‌های مختلف آبریان می‌گذارد. در اغلب موارد نیز مختلف شیمیایی نظیر نرم‌کننده‌ها، رنگدانه‌ها، مواد ضد احتراق و فیلترهای اشعه فرابنفش به پلاستیک‌ها افزوده می‌شود (Kim et al., 2021) که آزاد شدن این ترکیبات در محیط به‌همراه ریزپلاستیک‌ها منجر به بروز آسیب‌های اکسیداتیو، اختلال در عملکرد غدد ترشحی درون‌ریز، مرگ سلولی،

سرکوب سیستم ایمنی، سمیت ژنتیکی، اختلال در عملکرد میانجی‌گرهای عصبی و حتی مرگ حیوانات می‌گردد (Digka et al., 2018; Banee et al., 2019; Ding et al., 2020).

پس از ورود سولفات مس به محیط آبی، به یون‌های Cu^{2+} و SO_4^{2-} تبدیل می‌شود، یون Cu^{2+} می‌تواند به پروتئین‌های بدن موجودات متصل شود و در فرآیندهای متابولیسمی سلولی نقش داشته باشد (Tavares-Dias, 2021) بنابراین جهت تأمین منابع برای فعالیت‌های متابولیکی، می‌توان به‌عنوان مواد افزودنی به جیره غذایی آبریان اضافه شود (Shi et al., 2021). همچنین فلز مس با فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی از جمله تنفس میتوکندری و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، با رشد سلولی در ارتباط است (Tao and Gitlin, 2003). فلز مس به‌عنوان بخش مهمی در متابولیسم سخت‌پوستان، جهت سنتز آنزیم‌های مهم از جمله هموسیانین، سوپراکسید دیسموتاز و فنل‌اکسیداز نقش دارد. اگرچه این فلز به‌عنوان یک عنصر کمیاب و ضروری برای بدن تلقی می‌شود؛ اما افزایش غلظت آن می‌تواند نقش سمی در بدن ایفا کند (Vardhan et al., 2019). در مطالعات نیز مصرف بیش از حد عنصر مس در ایمنی مواد غذایی و اکوسیستم به‌صورت بالقوه سمی عنوان کرده‌اند (Schmidt et al., 2021). عنصر مس با توجه به افزایش جمعیت، توسعه صنایع و کشاورزی، امروزه به یک آلاینده معمول در محیط‌های آبی تبدیل شده است که اثرات منفی بر موجودات آبی دارد (Tavares-Dias, 2021). از جمله منابع تولید فلز مس می‌توان به فاضلاب‌های صنعتی، غذاها و داروهای حاوی مس در صنعت آبی‌پروزی (Swapna et al., 2012; Yuan et al., 2019) (به‌عنوان جلبک‌کش و قارچ‌کش $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$) اشاره کرد (Tavares-Dias, 2021). مساحت سطح بالا و آبریز بودن ریزپلاستیک‌ها سبب شده که این ترکیبات توانایی حمل سایر مواد شیمیایی سمی مانند فلزات سنگین (Imhof et al., 2016) و بی‌فنیل‌های پلی‌کلرینه (Jiang et al., 2018) را داشته باشند. از طرفی، فعل و انفعالات بین فلزات سنگین و ریزپلاستیک می‌تواند تا حد زیادی بر تجمع زیستی و سمیت فلزات اثرگذار باشد (Brennecke et al., 2016). در این راستا، مطالعات مختلفی در رابطه با فعل و انفعالات فلزات سنگین و ریزپلاستیک‌ها صورت گرفته است که نتایج

قابل توجهی ارائه داده‌اند. داورپناه و گیلهرمینو (۲۰۱۵) به بررسی برهمکنش ریزپلاستیک فلز سنگین مس در ریز جلبک‌ها پرداختند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که اثر سمیتی بین این دو ترکیب وجود ندارد. همچنین Kim و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که قرار گرفتن نیکل در معرض ریزپلاستیک‌ها سبب کاهش سمیت عنصر مذکور به تنهایی در دافنی مگنا (*Daphnia magna*) می‌شود. در مقابل، برخی مطالعات دیگر بیانگر افزایش سمیت برخی فلزات در حضور انواع مختلف ریزپلاستیک‌ها است. به‌عنوان مثال، Luís و همکاران (۲۰۱۵) افزایش سمیت کروم شش ظرفیتی (Cr (VI)) در حضور ریزپلاستیک‌ها در ماهی گوبی نابالغ را گزارش کردند.

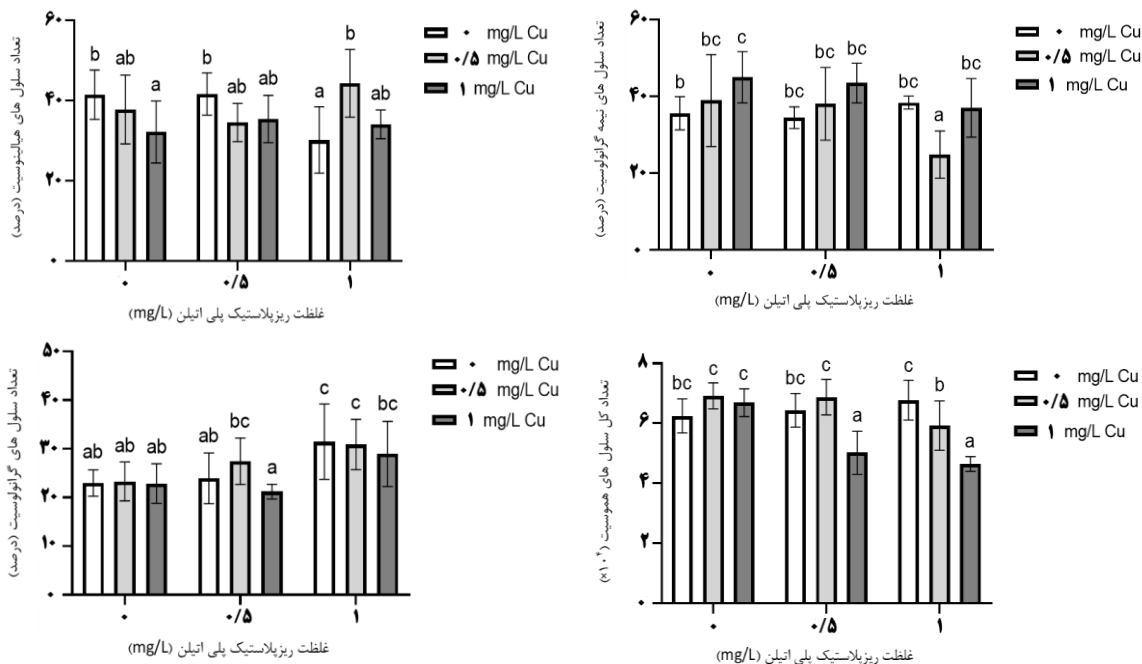
خرچنگ دراز آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) یکی از گونه‌های سخت‌پوستان می‌باشد که به‌عنوان شاخص مناسب جهت پایش سلامت و کیفیت محیط و آلودگی زیستی زیستگاه عنوان شده است (Alcorlo et al., 2006; Suárez-Serrano et al., 2010). این گونه عادات غذایی همه‌چیزخواری، امکان پرورش ساده، سرعت رشد بالا، باروری قوی دارد، که امروزه نیز به‌دلیل ارزش غذایی بالا (Zhou et al., 2021) به‌عنوان منبع غذایی مورد استقبال قرار گرفته است، کشور چین در طی دو سال گذشته به‌عنوان بزرگترین تولید کننده این منبع غذایی معرفی شده است (Rodríguez-Estival et al., 2019). تولید خرچنگ در سال ۲۰۲۱ به میزان ۱۰ درصد (۲۶۳۳۵۹۵ تن) نسبت به سال ۲۰۲۰ افزایش داشته است (PRC, 2022). خرچنگ دراز آب شیرین به‌عنوان مدل گونه انتخاب شده جزء گونه‌هایی است که در معرض آلاینده‌های مختلفی از جمله فلزات سنگین استفاده شده در سموم کشاورزی و جلبک‌کش می‌باشد. همچنین میکروپلاستیک‌های موجود در طبیعت که امروزه به‌عنوان آلاینده‌های نوظهور شناخته شده‌اند، نیز می‌توانند عاملی برای حمل و ورود بیشتر این آلاینده‌ها به بدن موجودات و اثرات منفی بر سیستم ایمنی باشند. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر ریزپلاستیک‌ها و فلز مس به‌صورت جدا و توأم بر پارامترهای ایمنی هموسیت در خرچنگ دراز آب شیرین (*A. leptodactylus*) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پودر پلی‌اتیلن با اندازه متوسط ذرات کمتر از ۰/۰۲ میلی‌متر

از شرکت بازرگانی اشراق ایران، شیراز (ایران) و سولفات مس استفاده شده از شرکت مرک آلمان خریداری شد. این مطالعه از ماه آبان تا آذر ۱۴۰۰ در واحد بهداشت حیوانات آبی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، ایران انجام شد و به تأیید کمیته اخلاق دانشگاه شیراز (۱۴۰۰/۰۷/۱۲-۷۸۵۲) رسید. خرچنگ دراز آب شیرین (*Astacus leptodactylus*)، از هر دو جنس (نر و ماده) با میانگین طول $10/64 \pm 0/76$ سانتی‌متر و وزن $5/15 \pm 41/12$ گرم از مجموعه تالاب‌های هفت برم شیراز با استفاده از تورهای دست‌ساز به‌صورت سید همراه با طعمه، صید و به آزمایشگاه منتقل شدند. خرچنگ‌ها ۱۴ روز تحت شرایط $pH: 7/2 \pm 0/5$ ، دما 15 ± 3 درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول $8/2 \pm 0/2$ میلی‌گرم در لیتر، هدایت الکتریکی $692/76 \pm 73 \mu S cm^{-1}$ ، دوره نوری ۱۴ (روشنایی) به ۱۰ (تاریکی) ساعت و $0/3 \pm 0/06 E g L^{-1} EC$ سازگار شدند، سپس خرچنگ‌ها در آکواریوم‌های شیشه‌ای ($0/4 \times 1 \times 0/4 m^3$) با آب کلرزدایی شده نگهداری شدند. غذاهای به خرچنگ‌ها با غذای خوراک میگوهای تجاری (آسیاب خوراک بیضا، شیراز، ایران: لیپید ۱۰-۱۱٪، پروتئین ۴۵-۵۵٪، فیبر ۲-۱/۵٪ و کربوهیدرات ۳۰-۲۰٪) دوبار در روز جهت تأمین نیازهای غذایی خرچنگ‌ها (Yonar et al., 2017) انجام شد. کیفیت آب آکواریوم‌ها به‌صورت روزانه جهت کم کردن میزان استرس بررسی شد. مواد دفعی و غذایی باقی‌مانده از هر آکواریوم به‌صورت روزانه خارج و تعویض آب شیرین تجدید می‌شد.

بعد از ۱۴ روز دوره سازگاری، خرچنگ‌ها در قالب طرح فاکتوریل 3×3 ، در ۹ گروه با ۳ تکرار به‌صورت تصادفی در آکواریوم‌ها قرار گرفتند. ۳۷۸ خرچنگ در ۲۷ آکواریوم (۱۴ خرچنگ در هر آکواریوم) با آب همراه با سولفات مس و پلی‌اتیلن قرار گرفتند. تقسیم‌بندی تیمارها ترکیبی از ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر پلی‌اتیلن و ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس بود. گروه‌های کنترل در آب لوله‌کشی بدون پلی‌اتیلن و سولفات مس قرار داشتند. دوره در معرض قرارگیری خرچنگ‌ها با پلی‌اتیلن و سولفات مس ۲۸ روز به‌صورت مداوم بود. بعد از هر ۲۴ ساعت تعویض آب (۶۰٪) صورت گرفت و مواد دفعی به‌وسیله سیفون از کف آکواریوم‌ها جدا شد، سپس مقدار پلی‌اتیلن وزن‌شده و محلول سولفات مس به آب اضافه شد. طی دوره در معرض قرارگیری خرچنگ‌ها دو بار در روز غذادهی شدند، در حالی که قبل از



شکل ۱- بررسی اثر ریزپلاستیک و فلز مس بر تعداد سلول‌های هیالینوسیت، گرانولوسیت، نیمه‌گرانولوسیت و تعداد کل هموسیت در همولف خرچنگ دراز آب شیرین (*Astacus leptodactylus*)

تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون دانکن برای مقایسه تفاوت در هر پارامتر بین گروه‌های کنترل و تیمار استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از Graph Pad Prism 8.0.2 صورت گرفت. اختلاف معنی‌داری در سطح $P < 0.05$ ارزیابی شد.

نتایج

پس از ۲۸ روز دوره در معرض قرارگیری خرچنگ دراز آب شیرین (*A. leptodactylus*) با ریزپلاستیک پلی‌اتیلن و سولفات مس، سلول‌های موجود در همولف و شاخص شمارش کل هموسیت‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج مربوط به تعداد سلول‌های هیالینوسیت در همولف خرچنگ دراز آب شیرین در معرض با ریزپلاستیک پلی‌اتیلن و سولفات مس نشان داد که تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر ریزپلاستیک پلی‌اتیلن و تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ($P < 0.05$). نتایج قرار گرفتن خرچنگ دراز آب شیرین در معرض ریزپلاستیک پلی‌اتیلن و سولفات مس برای تعداد سلول‌های گرانولوسیت در تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر ریزپلاستیک پلی‌اتیلن و تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر ریزپلاستیک توأم با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P < 0.05$). علاوه بر این، نتایج به‌دست آمده بیانگر این

نمونه‌برداری یک روز گرسنگی داشتند (Banaee et al., 2020; Zeidi et al., 2022).

نمونه‌برداری و شمارش هموسیت‌ها: نمونه‌های همولف از شریان استرونوم به‌وسیله سرنگ (۲/۵ میلی‌لیتری) حاوی ۰/۴ میلی‌لیتر محلول (Banaee et al., 2019) به‌عنوان ضد انعقاد خارج شد، این ماده از ترکیب ۱۱۵ میلی‌مول گلوکز، ۳۳۶ میلی‌مول NaCl، ۲۷ میلی‌مول سدیم سیترات و ۹ میلی‌مول EDTA با pH 7 برابر با ۷ (خنثی) ساخته شد (Safari et al., 2014) که باعث جلوگیری از تجزیه هموسیت‌ها و انعقاد سریع جهت شمارش سلول‌ها می‌شود. نمونه‌های همولف پس از نمونه‌گیری با هم مخلوط شدند. شمارش کل هموسیت‌ها (Total Hemocyte Count) با اصلاح روش Ward و همکاران (۲۰۰۶) انجام شد. شمارش سلول‌ها در هموسیتومتر با بزرگنمایی $400\times$ (Jiang et al., 2004) با استفاده از رابطه زیر انجام شد:

$$THC = \frac{1000 \times 2 \times \text{کل سلول‌های شمارش شده}}{16}$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک ارزیابی شد. سپس تغییرات بین متغیرهای مختلف خرچنگ دریایی در معرض آلاینده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس دو طرفه (ANOVA) مورد

است که تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر ریزپلاستیک توأم با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس موجب کاهش معنی داری در تعداد سلول‌های نیمه گرانولوسیت و تیمار، ۱ میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس نیز افزایش معنی‌داری را نسبت گروه کنترل داشته است ($P < 0/05$)، نتایج تعداد هموسیت‌های کل نشان داد که تیمارهای ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ریزپلاستیک توأم با ۱ میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس و تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر ریزپلاستیک توأم با ۱ میلی‌گرم سولفات مس نسبت به تیمار کنترل کاهش معنی داری داشته‌اند ($P < 0/05$ ، شکل ۱).

بحث

ذرات ریزپلاستیک بلعیده شده توسط موجودات آبی، اختلال در عملکرد سیستم ایمنی را به دنبال دارد (Brown *et al.*, 2001). ایمنی ذاتی به‌عنوان عامل دفاعی در برابر عوامل خارجی مختلف (ذرات ریزپلاستیک) عمل می‌کند (Smith and Lumsden, 1983). ریزپلاستیک‌ها می‌توانند مکانیسم دفاعی طبیعی در موجودات آبی را مختل و به‌عنوان یک عامل استرس‌زا عمل کنند تا جایی که ممکن است منجر به کاهش فعالیت فاگوسیتوزی، زنده مانی سلول و اختلال در غشای لیزوزومی و تضعیف سیستم ایمنی شود (Sharifinia *et al.*, 2020). همچنین گزارش شده است که ریزپلاستیک‌ها به دلیل شرایط سطحی مناسب و تخلخل می‌توانند سایر آلاینده‌ها مانند فلزات سنگین از جمله مس، روی، کروم و کادمیوم را جذب کنند (Besson *et al.*, 2020; Liao and Yang, 2020). پلاستیک‌ها به‌عنوان حامل برای انتقال فلزات سنگین به بدن موجودات زنده شناخته شده‌اند (Holmes *et al.*, 2012). همچنین وجود فلزات سنگین نیز به تنهایی در محیط باعث سرکوب سیستم ایمنی در موجودات آبی می‌شود (Qin *et al.*, 2012; Wei and Yang, 2015). هموسیت‌ها در عملکرد ایمنی سخت‌پوستان از جمله فاگوسیتوز، کپسوله کردن اجسام خارجی، سمیت سلولی، ذخیره‌سازی و آزادسازی سیستم پروفنول‌اکسیداز نقش حیاتی دارند (Johansson *et al.*, 2000). از دست‌دادن و آسیب هموسیت‌ها باعث کاهش توانایی ایمنی، افزایش حساسیت در برابر عوامل بیماری‌زا و کاهش نرخ بقا می‌شود (Lorenzon *et al.*, 1999; Wang and Chen, 2006). سه نوع هموسیت شامل هیالینوسیت‌ها، نیمه‌گرانولوسیت‌ها با گرانول‌های کوچک و

گرانولوسیت‌ها در بدن سخت‌پوستان وجود دارد. هیالینوسیت‌ها مسئول فاگوسیتوز هستند، نیمه گرانولوسیت‌ها برای کپسوله کردن ذرات ریز و گرانولوسیت‌ها برای سیستم پروفنول‌اکسیداز که جزء مهمی از سیستم‌های دفاعی سلولی است، نقش دارند (Impellitteri *et al.*, 2022).

نتایج نشان داد تعداد سلول‌های هیالینوسیت در خرچنگ دراز آب شیرین در معرض با ۱ میلی‌گرم ریزپلاستیک و ۱ میلی‌گرم مس کاهش معنی‌داری داشته است، همچنین گرانولوسیت نیز در گروه شامل ریزپلاستیک و ریزپلاستیک همراه با مس افزایش معنی‌داری داشت. هیالینوسیت‌ها کوچکتر از گرانولوسیت‌ها هستند، هسته‌های بزرگ و سیتوپلاسم کمی دارند و معمولاً بدون گرانول شناخته می‌شوند (Impellitteri *et al.*, 2022). از طرف دیگر، گرانولوسیت‌ها با هسته کوچکتر و گرانول‌های سیتوپلاسمی متعدد بزرگتر هستند. سه دسته از گرانولوسیت‌ها شامل گرانولوسیت‌های اسیدوفیل، گرانولوسیت‌های بازوفیل و سلول‌های حاوی گرانول‌های اسیدی و بازی وجود دارند که براساس خواص رنگ‌آمیزی گرانول‌های سیتوپلاسمی آن‌ها متمایز شده‌اند. گرانولوسیت‌ها همچنین قادر به تولید کاذب و دارای فعالیت فاگوسیتی هستند (Carballal *et al.*, 1997; Matozzo *et al.*, 2016).

استرس‌های محیطی مانند آلودگی و عوامل بیماری‌زا در آب‌های آلوده، باعث تغییر در تعداد هیالینوسیت‌ها (مسئول عملکرد فاگوسیتوز) در سخت‌پوستان می‌شود (Lorenzon *et al.*, 2001). مواجهه با مس باعث کم شدن تعداد هیالینوسیت و افزایش تعداد نیمه گرانولوسیت نسبت به گروه کنترل شد (Qyli *et al.*, 2020). برخی مطالعات نیز کاهش تعداد نیمه گرانولوسیت‌ها در مواجهه با آلاینده‌ها را گزارش کرده‌اند (Hernández-Pérez *et al.*, 2020). در مورد مس، با توجه به اینکه نیمه گرانولوسیت‌ها در خرچنگ ساحلی (*Carcinus aestuarii*) قادر به فعالیت فنل‌اکسیداز هستند (Matozzo & Mrin, 2010)، می‌توان فرض بر این داشت که سمیت مس می‌تواند باعث استرس اکسیداتیو و آپوپتوز شود و به دنبال آن باعث افزایش سلول‌های نیمه گرانولوسیت می‌شود. افزایش تکثیر و فعالیت فنول‌اکسیداز باعث ایجاد شرایط بهینه برای تعداد هموسیت کل در همولنف می‌شود (Qyli *et al.*, 2020).

مس به‌طور قابل توجهی عملکرد سلول‌های ایمنی،

را از دست بدهند و شکننده‌تر شوند (Faggio *et al.*, 2018). سیستم ایمنی سخت‌پوستان شامل پاسخ‌های دفاعی سلولی و غیرسلولی است و هموسیت‌های در گردش، به‌عنوان سلول‌های توانمند ایمنی، از نظر عملکردی به بیگانه‌زیست‌ها مختلف موجود در محیط آبی پاسخ می‌دهند (Qyli *et al.*, 2020). از آنجا که هموسیت‌های در گردش، به‌وسیله همولنف یک دفاع داخلی اولیه در برابر عوامل استرس‌زای محیطی مختلف است، می‌تواند منجر به اختلال در کارایی بی‌مهرگان برای از بین بردن عوامل بیماری‌زا در معرض آلاینده‌ها شود (Ray *et al.*, 2015; Stara *et al.*, 2019).

براساس یافته‌های مطالعه حاضر، احتمالاً تغییراتی که در ایمنی رخ می‌دهد می‌تواند نتیجه دو فرآیند متفاوت (۱) مواد سمی جذب شده می‌توانند از طریق آبشش‌ها به همولنف و سایر موارد منتقل شوند. بافت‌هایی که می‌توانند مستقیماً بر هموسیت‌ها و سایر سلول‌ها تأثیر بگذارند (مانند اسکلت سلولی هموسیت‌ها) و (۲) استرس اکسیداتیو و آپوپتوز سلولی ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) ناشی از سموم و هیپوکسی که به‌نوبه خود در لیزوزوم‌های هموسیت ایجاد می‌شود، می‌تواند به‌طور مستقیم بر ظرفیت دفاعی ایمنی تأثیر بگذارد، باشد (Gürkan, 2018). تغییر عملکرد سیستم ایمنی در خرچنگ ساحلی (*Carcinus aestuarii*) در پاسخ به عوامل استرس‌زای مختلف، ممکن است منجر به تهاجم فرصت‌طلبانه عوامل بیماری‌زا و انگل‌های محیطی به بدن میزبان شود و آسیب‌پذیری این گونه‌ها را در محیط‌های آلوده افزایش دهد (Qyli *et al.*, 2020). همچنین بیان شده است که نسبت آپوپتوز در میگوهای تغذیه شده با ۱۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مس مکمل به ۲/۸ درصد افزایش نشان داد و به‌طور قابل توجهی بیشتر از گروه‌هایی بود که با جیره‌های تغذیه شده با ۱۰ تا ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم مس مکمل تغذیه شده بودند (Guo *et al.*, 2022). به‌عنوان نتیجه گیری کلی می‌توان بیان کرد که حضور ریزپلاستیک پلی اتیلن به‌صورت تنها و توأم با فلز مس اثرات منفی بر فاکتور سیستم ایمنی، تعداد هموسیت کل و هموسیت‌های مختلف (هیالینوسیت، گرانولوسیت و نیمه گرانولوسیت) در خرچنگ دراز آب شیرین دارد و باعث تضعیف سیستم ایمنی می‌شود که در نهایت گونه را مستعد بیماری در برابر آلاینده‌های محیطی نشان می‌دهد، بنابراین این گونه می‌تواند به‌عنوان

فعالیت لیزوزیم و فاگوسیتوز را مهار می‌کند بنابراین اختلالات سیستم ایمنی را به‌دنبال دارد (Gopi *et al.*, 2019; Hoseini *et al.*, 2022). همچنین بیان شده است که در گروه‌های دارای ریزپلاستیک به‌صورت تک آلاینده، با افزایش میزان ریزپلاستیک نیز مقدار هیالینوسیت روند کاهشی داشته است (Dolar *et al.*, 2021) و مقدار گرانولار نیز در گروه دارای ریزپلاستیک توأم با فلز مس نیز افزایش‌شان داده است (Dolar *et al.*, 2021). بنابراین، تغییرات ناشی از استرس مشاهده شده در تعداد هموسیت‌های مختلف بیانگر تغییر در نسبت سلول‌های خاص است که ممکن است هموستاز فیزیولوژیکی خرچنگ را تغییر دهد (Qyli *et al.*, 2020).

گروه‌های حاوی ریزپلاستیک توأم با فلز مس به‌طور قابل توجهی باعث کاهش میزان هموسیت کل شده است، که می‌تواند به‌دلیل برهم خوردن ایمنی سلولی خرچنگ دراز آب شیرین باشد، توضیح احتمالی برای THC پایین‌تر، افزایش همولیز در پی پراکسیداسیون لیپیدی بود (Dong *et al.*, 2018). مشابه نتایج در هموسیت‌های صدف (*Tapes philippinarum*) زمانی که در معرض مس قرار گرفتند، کاهش قابل توجهی در فعالیت فاگوسیتی گزارش شده است (Matozzo *et al.*, 2001). مرگ سلولی، یا بی‌حرکتی هموسیت به آبشش‌ها یا سایر بافت‌ها همان‌طور که در خرچنگ ساحلی مدیترانه (*Palinurus elephas*) (Matozzo and Mrin, 2010) و میگو (*Palaemon elegans*)، در معرض فلزات سنگین (Lorenzon *et al.*, 2001) مشاهده شده است از جمله دلایل کاهش هموسیت‌های در گردش می‌باشد.

مطالعات مختلف در معرض قرارگیری خرچنگ دراز آب شیرین با ریزپلاستیک را گزارش کرده اند (Zeidi *et al.*, 2022) که در برخی از این مطالعات کاهش تعداد هموسیت کل اغلب در سخت‌پوستان در معرض شرایط استرس‌زا صورت گرفته است. هر گونه کاهش در تعداد کل هموسیت‌ها یا فعالیت فاگوسیتی آن‌ها به‌دلیل قرار گرفتن در معرض آلاینده‌ها، می‌تواند پاسخ دفاعی میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا را مختل کند (Allam *et al.*, 2000; Battison *et al.*, 2003) در حضور عوامل استرس‌زای محیطی، لیزوزوم‌های سخت‌پوستان که در تخریب درون سلولی بیگانه‌زیست‌ها نقش دارند، ممکن است پایداری غشای خود

این مقاله برگرفته از رساله دکتری (شماره شناسه: ۱۴۰۰/۷۸۵۲)، گروه مهندسی محیط زیست دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه بیرجند می‌باشد. نویسندگان این تحقیق از حمایت‌های دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه بیرجند و دانشکده دامپزشکی، بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان، قدردانی می‌کنند.

شاخص زیستی جهت سلامت اکوسیستم و محیط آبی و شاخصی برای بررسی اثر آلاینده‌های مختلف بر موجودات کفزی در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی

منابع

- Alcorlo P., Otero M., Crehuet M., Baltanás A., Montes C. 2006.** The use of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*, Girard) as indicator of the bioavailability of heavy metals in environmental monitoring in the River Guadiamar (SW, Spain). *Science of the Total Environment* 366(1), 380-390.
- Alimba C.G., Faggio C. 2019.** Microplastics in the marine environment: Current trends in environmental pollution and mechanisms of toxicological profile. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 68(1), 61-74.
- Allam B., Paillard C., Howard A., Le Penne M. 2000.** Isolation of the pathogen *Vibrio tapetis* and defense parameters in brown ring diseased Manila clams *Ruditapes philippinarum* cultivated in England. *Diseases of Aquatic Organisms* 41(2), 105-113.
- Banaee M., Akhlaghi M., Soltanian S., Gholamhosseini A., Heidarieh H., Fereidouni M.S. 2019.** Acute exposure to chlorpyrifos and glyphosate induces changes in hemolymph biochemical parameters in the crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 222(1), 145-155.
- Banaee M., Soltanian S., Sureda A., Gholamhosseini A., Hagi B.N., Akhlaghi M., Derikvandy A. 2019.** Evaluation of single and combined effects of cadmium and micro-plastic particles on biochemical and immunological parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere* 236(1), 124335.
- Banaee M., Akhlaghi M., Soltanian S., Sureda A., Gholamhosseini A., Rakhshaninejad M. 2020.** Combined effects of exposure to sub-lethal concentration of the insecticide chlorpyrifos and the herbicide glyphosate on the biochemical changes in the freshwater crayfish *Pontastacus leptodactylus*. *Ecotoxicology* 29(1), 1500-1515.
- Gu S.H., Nicolas V., Lalis A., Sathirapongsasuti N., Yanagihara R. 2013.** Complete genome sequence and molecular phylogeny of a newfound Hantavirus harbored by the Doucet's musk shrew (*Crocidura douceti*) in Guinea. *Infection, Genetics and Evolution* 20(1), 118-123.
- Battison A., Cawthorn R., Horney B. 2003.** Classification of *Homarus americanus* hemocytes and the use of differential hemocyte counts in lobsters infected with *Aerococcus viridans* var. *homari* (Gaffkemia). *Journal of Invertebrate Pathology* 84(3), 177-197.
- Besson M., Jacob H., Oberhaensli F., Taylor A., Swarzenski P.W., Metian M. 2020.** Preferential adsorption of Cd, Cs and Zn onto virgin polyethylene microplastic versus sediment particles. *Marine Pollution Bulletin* 156(1), 111223.
- Brennecke D., Duarte B., Paiva F., Caçador I., Canning-Clode J. 2016.** Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 178(1), 189-195.
- Brown D.M., Wilson M.R., MacNee W., Stone V., Donaldson K. 2001.** Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene particles: a role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines. *Toxicology and Applied Pharmacology* 175(3), 191-199.
- Carballal M.J., Lopez M.C., Azevedo C., Villalba A. 1997.** Hemolymph cell types of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 29(2), 127-135.
- Davarpanah E., Guilhermino L. 2015.** Single and combined effects of microplastics and copper on the population growth of the marine microalgae *Tetraselmis chuii*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 167(1), 269-275.
- Digka N., Tsangaris C., Torre M., Anastasopoulou A., Zeri C. 2018.** Microplastics in mussels and

- fish from the Northern Ionian Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 135(1), 30-40.
- Ding J., Huang Y., Liu S., Zhang S., Zou H., Wang Z., Geng J. 2020.** Toxicological effects of nano- and micro-polystyrene plastics on red tilapia: are larger plastic particles more harmless?. *Journal of Hazardous Materials* 396(1), 122693.
- Dolar A., Selonen S., van Gestel C.A., Perc V., Drobne D., Kokalj A.J. 2021.** Microplastics, chlorpyrifos and their mixtures modulate immune processes in the terrestrial crustacean Porcellio scaber. *Science of the Total Environment* 772(1), 144900.
- Dong J., Cheng R., Yang Y., Zhao Y., Wu G., Zhang R., Li, X. 2018.** Effects of dietary taurine on growth, non-specific immunity, anti-oxidative properties and gut immunity in the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. *Fish & Shellfish Immunology* 82(1), 212-219.
- Faggio C., Tsarpali V., Dailianis S. 2018.** Mussel digestive gland as a model tissue for assessing xenobiotics: an overview. *Science of the Total Environment* 636(1), 220-229.
- Frias J.P., Nash R. 2019.** Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Marine pollution bulletin* 138(1), 145-147.
- Jiang G., Yu R., Zhou M. 2004.** Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of *Penaeus japonicus* to virulence of white spot syndrome virus. *Aquaculture* 241(1-4), 61-75.
- Gopi N., Vijayakumar S., Thaya R., Govindarajan M., Alharbi N.S., Kadaikunnan S., Vaseeharan B. 2019.** Chronic exposure of *Oreochromis niloticus* to sub-lethal copper concentrations: effects on growth, antioxidant, non-enzymatic antioxidant, oxidative stress and non-specific immune responses. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 55(1), 170-179.
- Guo H., Xian J.A., Zheng P.H., Lu Y.P., Wang L., Zhang X.X., Wang A L. 2022.** Dietary copper affects antioxidant status of shrimp (*Penaeus monodon*) reared in low salinity water. *Aquaculture Reports* 22(1), 100979.
- Gürkan M. 2018.** Effects of three different nanoparticles on bioaccumulation, oxidative stress, osmoregulatory, and immune responses of *Carcinus aestuarii*. *Toxicological & Environmental Chemistry* 100(8-10), 693-716.
- Hermabessiere L., Dehaut A., Paul-Pont I., Lacroix C., Jezequel R., Soudant P., Duflos G. 2017.** Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: a review. *Chemosphere* 182(1), 781-793.
- Hernández-Pérez A., Noonin C., Söderhäll K., Söderhäll I. 2020.** Environmental concentrations of sulfamethoxazole increase crayfish *Pacifastacus leniusculus* susceptibility to White Spot Syndrome Virus. *Fish & Shellfish Immunology* 102(1), 177-184.
- Herrera A., Štindlová A., Martínez I., Rapp J., Romero-Kutzner V., Samper M. D., Gómez M. 2019.** Microplastic ingestion by Atlantic chub mackerel (*Scomber colias*) in the Canary Islands coast. *Marine Pollution Bulletin* 139(1), 127-135.
- Holmes L.A., Turner A., Thompson R.C. 2012.** Adsorption of trace metals to plastic resin pellets in the marine environment. *Environmental Pollution* 160(1), 42-48.
- Hoseini S.M., Sinha R., Fazel A., Khosraviani K., Hosseinpour Delavar F., Arghideh M., Van Doan H. 2022.** Histopathological damage and stress-and immune-related genes' expression in the intestine of common carp, *Cyprinus carpio* exposed to copper and polyvinyl chloride microparticle. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology* 337(2), 181-190.
- Imhof H.K., Laforsch C., Wiesheu A.C., Schmid J., Anger P.M., Niessner R., Ivleva N.P. 2016.** Pigments and plastic in limnetic ecosystems: A qualitative and quantitative study on microparticles of different size classes. *Water Research* 98(1), 64-74.
- Impellitteri F., Curpăn A. S., Plăvan G., Ciobica A., Faggio C. 2022.** Hemocytes: A Useful Tool for Assessing the Toxicity of Microplastics, Heavy Metals, and Pesticides on Aquatic Invertebrates. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19(24), 16830.
- Jiang R., Lin W., Wu J., Xiong Y., Zhu F., Bao L.J., Zeng E Y. 2018.** Quantifying nanoplastic-bound chemicals accumulated in *Daphnia magna* with a passive dosing method. *Environmental Science: Nano* 5(3), 776-781.
- Johansson M.W., Keyser P., Sritunyalucksana K., Söderhäll K. 2000.** Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture* 191(1-3), 45-52.
- Kim D., Chae Y., An Y J. 2017.** Mixture toxicity of nickel and microplastics with different functional groups on *Daphnia magna*. *Environmental Science & Technology* 51(21), 12852-12858.

- Kim J.H., Yu Y.B., Choi J.H. 2021.** Toxic effects on bioaccumulation, hematological parameters, oxidative stress, immune responses and neurotoxicity in fish exposed to microplastics: A review. *Journal of Hazardous Materials* 413(1), 125423.
- Liao Y.L., Yang J.Y. 2020.** Microplastic serves as a potential vector for Cr in an in-vitro human digestive model. *Science of the Total Environment* 703(1), 134805.
- Lorenzon S., De Guarrini S., Smith V.J., Ferrero E/A. 1999.** Effects of LPS injection on circulating haemocytes in crustaceans in vivo. *Fish & Shellfish Immunology* 9(1), 31-50.
- Lorenzon S., Francese M., Smith V.J., Ferrero E.A. 2001.** Heavy metals affect the circulating haemocyte number in the shrimp *Palaemon elegans*. *Fish & Shellfish Immunology* 11(6), 459-472.
- Luís L G., Ferreira P., Fonte E., Oliveira M., Guilhermino L. 2015.** Does the presence of microplastics influence the acute toxicity of chromium (VI) to early juveniles of the common goby (*Pomatoschistus microps*)? A study with juveniles from two wild estuarine populations. *Aquatic Toxicology* 164(1), 163-174.
- Matozzo V., Ballarin L., Pampanin D.M., Marin M.G. 2001.** Effects of copper and cadmium exposure on functional responses of hemocytes in the clam, *Tapes philippinarum*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 41(1), 163-170.
- Matozzo V., Marin M.G. 2010.** First cytochemical study of haemocytes from the crab *Carcinus aestuarii* (Crustacea, Decapoda). *European Journal of Histochemistry* 54(1), e9-e9.
- Matozzo V., Pagano M., Spinelli A., Caicci F., Faggio C. 2016.** *Pinna nobilis*: a big bivalve with big haemocytes?. *Fish & Shellfish Immunology* 55(1), 529-534.
- Yonar S.M., Köprücü K., Yonar M.E., Silici S. 2017.** Effects of dietary propolis on the number and size of pleopadal egg, oxidative stress and antioxidant status of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz). *Animal Reproduction Science* 184(1), 149-159.
- PRC B. of F.M. of A. 2022.** 2021 China fishery statistical yearbook. China Agriculture Press, Beijing.
- Qin Q., Qin S., Wang L., Lei W. 2012.** Immune responses and ultrastructural changes of hemocytes in freshwater crab *Sinopotamon henanense* exposed to elevated cadmium. *Aquatic Toxicology* 106(1), 140-146.
- Qyli M., Aliko V., Faggio C. 2020.** Physiological and biochemical responses of Mediterranean green crab, *Carcinus aestuarii*, to different environmental stressors: Evaluation of hemocyte toxicity and its possible effects on immune response. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 231(1), 108739.
- Ray S., Mukherjee S., Bhunia N.S., Bhunia A.S., Ray M. 2015.** Immunotoxicological threats of pollutants in aquatic invertebrates. *Emerging Pollutants in the Environment-Current and Further Implications. In Tech*, pp. 149-167.
- Rodríguez-Estival J., Morales-Machuca C., Pareja-Carrera J., Ortiz-Santaliestra M.E., Mateo R. 2019.** Food safety risk assessment of metal pollution in crayfish from two historical mining areas: Accounting for bioavailability and cooking extractability. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 185(1), 109682.
- Safari O., Shahsavani D., Paolucci M., Atash M.M.S. 2014.** Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements on the growth performance, nutrient digestibility, immune responses and stress resistance of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. *Aquaculture* 432(1), 192-203.
- Schmidt L., Novo D.L.R., Druzian G.T., Landero J.A., Caruso J., Mesko M.F., Flores, E.M.M. 2021.** Influence of culinary treatment on the concentration and on the bioavailability of cadmium, chromium, copper, and lead in seafood. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 65(1), 126717.
- Sharifinia M., Bahmanbeigloo Z.A., Keshavarzifard M., Khanjani M.H., Lyons B.P. 2020.** Microplastic pollution as a grand challenge in marine research: a closer look at their adverse impacts on the immune and reproductive systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 204(1), 111109.
- Shi B., Lu J., Hu X., Betancor M.B., Zhao M., Tocher D.R., Jin M. 2021.** Dietary copper improves growth and regulates energy generation by mediating lipolysis and autophagy in hepatopancreas of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture* 537(1), 736505.
- Smith G.S., Lumsden J.H. 1983.** Review of neutrophil adherence, chemotaxis, phagocytosis and killing. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 4(1-2), 177-236.
- Stara A., Kubec J., Zuskova E., Buric M., Faggio C., Kouba A., Velisek J. 2019.** Effects of S-

- metolachlor and its degradation product metolachlor OA on marbled crayfish (*Procambarus virginalis*). *Chemosphere* 224(1), 616-625.
- Suarez-Serrano A., Alcaraz C., Ibanez C., Trobajo R., Barata C. 2010.** *Procambarus clarkii* as a bioindicator of heavy metal pollution sources in the lower Ebro River and Delta. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73(3), 280-286.
- Swapna K.M., Rajesh R., Lakshmanan P.T. 2012.** Incidence of antibiotic residues in farmed shrimps from the southern states of India.
- Tao T.Y., Gitlin J.D. 2003. Hepatic copper metabolism: insights from genetic disease. *Hepatology* 37(6), 1241-1247.
- Tavares-Dias M. 2021.** Toxic, physiological, histomorphological, growth performance and antiparasitic effects of copper sulphate in fish aquaculture. *Aquaculture* 535(1), 736350.
- Torres F.G., De-la-Torre G.E. 2021.** Environmental pollution with antifouling paint particles: Distribution, ecotoxicology, and sustainable alternatives. *Marine Pollution Bulletin* 169(1), 112529.
- Vardhan K.H., Kumar P.S., Panda R.C. 2019.** A review on heavy metal pollution, toxicity and remedial measures: Current trends and future perspectives. *Journal of Molecular Liquids* 290(1), 111197.
- Wang F.I., Chen J.C. 2006.** Effect of salinity on the immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*. *Fish & Shellfish Immunology* 20(5), 671-681.
- Ward R.J., McCrohan C.R., White K.N. 2006.** Influence of aqueous aluminium on the immune system of the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Aquatic Toxicology* 77(2), 222-228.
- Wei K., Yang J. 2015.** Oxidative damage of hepatopancreas induced by pollution depresses humoral immunity response in the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. *Fish & Shellfish Immunology* 43(2), 510-519.
- Yuan Y., Jin M., Xiong J., Zhou Q. 2019.** Effects of dietary dosage forms of copper supplementation on growth, antioxidant capacity, innate immunity enzyme activities and gene expressions for juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology* 84(1), 1059-1067.
- Zeidi A., Rezaei M R., Sayadi M.H., Gholamhosseini A., Banaee M. 2022.** Evaluation of polyethylene microplastic bio-accumulation in hepatopancreas, intestine and hemolymph of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*. *International Journal of Aquatic Biology* 10(4), 273-279.
- Zhou M., Wu Q., Wu H., Liu J., Ning Y., Xie S., Bi X. 2021.** Enrichment of trace elements in red swamp crayfish: Influences of region and production method, and human health risk assessment. *Aquaculture* 535(1), 736366.

The effect of microplastics and copper metal on different hemocytes in freshwater crayfish *Astacus leptodactylus*

Amir Zeidi¹, Mohammadreza Rezaie^{*1}, Mohammadhossein Sayadi¹, Amin Gholamhoseini², Mahdi Banaee³

¹Department of Environmental Engineering, Faculty of Natural Resources and Environment, University of Birjand, Birjand, Iran.

²Department of Aquatic Animal Health and Disease, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

³Department of Aquaculture, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran.

*Corresponding author: mrrezaei@birjand.ac.ir

Received: 28.Jan.2023

Accepted: 06.Mar.2023

Abstract

In this study, the effect of different levels of microplastics and copper, alone and in combination, on the number of total hemocytes and different hemocytes in freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*) was conducted. For this purpose, 378 crayfish with an average length of 10.64 ± 0.76 cm and a weight of 41.12 ± 5.15 grams were divided into 27 aquaria. The exposure period was 28 days, the number of total hemocytes and different hemocytes were checked at the end of the experiment, and hemolymph samples were taken from the crayfish. The results showed that the number of hyalinocytes in the samples exposed to 1 mg/L polyethylene microplastic and 1 mg/L copper sulfate treatment was less than in the control group. The number of granulocytes increased in the treatment of 1 mg/L of polyethylene microplastic and 1 mg/L of microplastic combined with 0.5 mg/L of copper sulfate compared to the control group, and for semi-granulocyte cells, 1 mg/L of fine plastic combined with 0.5 mg/L of copper sulfate significantly decreased and the treatment with 1 mg/L of copper sulfate also had a significant increase compared to the control group ($P < 0.05$). Also, the number of total hemocytes in the treatments of 0.5 mg/L of microplastic combined with 1 mg/L of copper sulfate and the treatment of 1 mg/L of microplastic combined with 1 mg/L of copper sulfate decreased significantly compared to the control treatment ($P < 0.05$), finally it can be concluded that polyethylene microplastic and copper metal alone and together can be among the polluting and damaging factors to the immune system in freshwater crayfish.

Keywords: Hemolymph, Immune system, Crayfish, Environmental pollutant