



تأثیر کمپوست و کود شیمیایی بر بافت شناسی قسمت راسی کلیه ماهی کپورنقره ای

اعظم اسد سفتجانی^۱، رحیم عبدی^{۱*}، محمد علی سالاری علی آبادی^۱، زهرا بصیر^۲

۱- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر،

خرمشهر، ایران

۲- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

*ایمیل نویسنده مسئول: Email: abdir351@gmail.com

چکیده

به منظور مطالعه تاثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه ای و کود شیمیایی بر بافت شناسی قسمت راسی کپورنقره ای انتقال ماهیان به استخرهایی به ابعاد یک هکتار با طول و عرض مساوی با ارتفاع آب دو متر از یک منبع واحد به مدت دو ماه انجام پذیرفت. نمونه برداری حدود ۲۰ قطعه از ماهیان سالم و دارای خصوصیات زیست سنجی مشابه از هر استخر انجام گرفت. سپس نمونه های بافتی به ضخامت ۵ میلی متر از قسمت راسی کلیه برداشت شد. نمونه های بافتی پس از طی مراحل معمول آماده سازی شامل فیکس کردن در فرمالین بافر ده درصد، آبگیری با الکل اتیلیک، شفاف سازی بوسیله محلول گزبلول، بلوک گیری با پارافین، برش با میکروتوم دورانی، انتقال نمونه بر روی لام و رنگ آمیزی با همتاکسیلین-اوتوزین انجام و در نهایت بوسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج مطالعات میکروسکوپی ناحیه راسی کلیه در گونه مورد مطالعه نشان از افزایش بافت همبند بینایی در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل بوده و در گروه کنترل بیشتر فضاها توسط سلول ها اشغال شده بود. با توجه به یافته های اخیر می توان نتیجه گرفت که می توان از کمپوست مصرفی قارچ دکمه ای به عنوان جایگزین مناسب کودهای شیمیایی در استخرهای پرورشی این گونه مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: کمپوست، کود شیمیایی، بافت شناسی، راس کلیه

۱- مقدمه

ماهی کپور نقره ای دارای بدنی کشیده و نقره ای رنگ که دارای شکمی واجد یک خط تیز از ابتدای برجستگی شکم تا مخرج می باشد. سر نسبتا بزرگ، چشم ها نسبتا کوچک و پایین تر از خط افقی محوری بدن واقع شده است. فضای بین دو چشم زیاد و دارای دهان زیرین و بزرگ هلالی است و لب پایین اندکی جلوتر قرار دارد. کلیه ماهیان دارای اعمالی از جمله تولید ادرار، خونسازی و عملکرد لنفاوی توسط بافت لنفوئیدی موجود در آن می باشد. کلیه دارای دو بخش که بخش خلفی آن دارای عملکرد دفعی بوده در حالی که بخش قدامی رأس کلیه نامیده شده و در بسیاری از گونه ها، رشد نفرون ها در این بخش کم می شود و به جای آن بافت های لنفاوی در این قسمت رشد می کنند. بافت های لنفاوی رأس کلیه در اطراف شاخه های سیاهرگ خلفی رشد نموده و متشکل از شبکه ظریفی از سلول های رتیکولر و مملو از سلول های بالغ و نابالغ خونی می باشد. سلول های خونی پس از بلوغ، از طریق دیواره های عروق وارد گردش خون می شوند. واکنش ایمنی توسط ماکروفاژها و لنفوسیت در این قسمت انجام می شود. رأس کلیه در ماهیان علاوه بر فعالیت های خون سازی نقش مهمی در برداشت سلول های تخریب شده داشته و در ایمنی شرکت می کند. رأس کلیه در ماهیان اندام لنفوئیدی (لنفاوی) و همتاپویتیک اصلی بوده



که لنفوسیت ها را در بر داشته و در تولید آنتی بادی نیز دخالت دارد. نقش رأس کلیه به عنوان مکان اصلی تولید سلول های اریترئوئیدی، لنفوئیدی و میلوئیدی ثابت شده است. رأس کلیه در ماهیان علاوه بر فعالیت های خون سازی نقش مهمی در بر داشت سلول های تخریب شده داشته و در ایمنی شرکت می کند. کپور ماهیان مشابه سایر ماهیان استخوانی فاقد مغز استخوان و غدد لنفاوی هستند. بهر حال در ماهیان مشابه پستانداران اندام های شرکت کننده در پاسخ ایمنی را می توان به دو گروه اندام های لنفاوی اولیه و ثانویه طبقه بندی کرد. اندام های لنفاوی اولیه تولید کننده اجزاء سلولی دخیل در امنیت سلولی بوده و اندام های لنفاوی ثانویه محیط فیزیولوژیکی مناسبی را فراهم می سازند که فاکتورهای ایمنی بتوانند با مولکول های بیگانه نظیر آنتی ژن ها مقابله کنند. عضو لنفاوی اولیه در ماهیان تیموس می باشد که یک عضو سطحی و زوج می باشد که در زیر اپیتلیوم حفره آبششی نزدیک آبشش ها قرار گرفته است. همچنین کلیه نیز یک عضو لنفوئیدی مهم است و شامل دو بخش کاملاً مجزا می باشد [۱-۳].

۲- بدنه اصلی مقالات

برای این منظور قطعاتی به ابعاد ۰/۵ سانتی متر از قسمت راسی کلیه ماهی های کپور نقره ای تهیه و به درون سبدهای نمونه گیری انتقال داده شد. در ادامه برای خروج فرمالین داخل الکال ۵۰ درصد قرار گرفته سپس به دستگاه هیستوکیت به منظور پاساژ بافتی (آبگیری، شفاف سازی و پارافینه شدن) انتقال داده شدند. آبگیری بافت ها، توسط سری افزایشی اتانول (۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد) انجام و جهت شفاف سازی نمونه های بافتی به محلول گزلیول انتقال یافتند. جهت پارافینه شدن در داخل پارافین مذاب در دمای ۵۸-۵۶ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. با استفاده از دستگاه میکروتوم از نمونه های بافتی برش هایی تهیه شد و در درون حمام آب گرم با دمای ۶۰ درجه قرار داده شدند. پس از باز شدن چین ها، نمونه ها توسط لام های آغشته به مخلوطی از سفیده تخم مرغ، گلیسرین و چند قطره تیمول برداشته شده و جهت خشک شدن در آزمایشگاه به مدت ۲۴ ساعت قرار می گیرد (شکل ۱).

ابتدا نمونه ها با گزلیول پارافین زدایی شده و با سری کاهشی اتانول (۱۰۰، ۹۰، ۸۰ و ۷۰) آبدهی شدند. سپس با استفاده از رنگ های همتاکسین و اتوزین رنگ آمیزی صورت گرفت. مرحله بعد، آبگیری که با سری افزایشی الکال (۸۰، ۹۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد) انجام گرفته و لامل با چسب کانادا بالزام بر روی لام چسبانده شد.

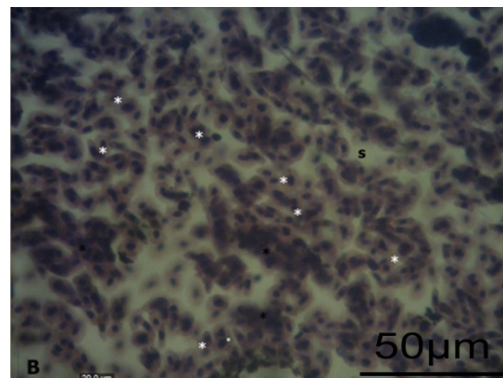
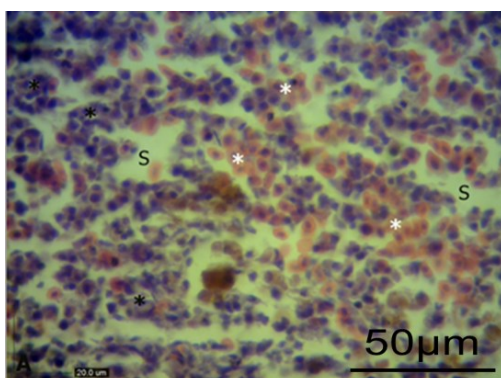
در این مطالعه به منظور بررسی اسلایدهای بافتی تهیه شده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین Dino capture استفاده شد. پس از آماده شدن نمونه های بافتی رأس کلیه ماهیان مورد مطالعه، به روش معمول در آزمایشگاه بافت شناسی دانشگاه علوم و فنون خرمشهر، نمونه ها به وسیله میکروسکوپ نوری و با عدسی ۴۰ مورد بررسی قرار گرفتند. در گروه کنترل (تغذیه با کمپوست مصرفی قارچ دکمه ای) توبول های ادراری وارد رأس کلیه شده اند. لنفوسیت ها با هسته تیره و فشرده قابل تشخیص هستند. در این فاز میزان بافت همبند در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته و بیشتر نمای سلولی دیده می شود چون سلول های خون ساز بیشترند (بیشتر این سلول ها را لنفوسیت ها تشکیل داده اند و بعد از آن هم گلبول های قرمز) اما در گروه شاهد (تغذیه با کود شیمیایی) بافت بینابینی در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بود و سلول های رده تولید گلبولی کمتری را دیدیم. گلبول های سفید زیاد بوده و غیر قابل تفکیک بودند.

در این مطالعه نتایج مشترکی در هر گروهی که با کمپوست تغذیه شده بودند (گروه کنترل) در مقایسه با گروهی که با کود شیمیایی تغذیه شده بود (گروه شاهد)، به دست آمد که عبارتند از ورود توبول های ادراری در قسمت رأس کلیه بود. لنفوسیت ها با هسته تیره و فشرده قابل تشخیص بوده در گروه کنترل میزان بافت همبند در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته و بیشتر نمای سلولی دیده می شود چون سلول های خون ساز بیشتر مشاهده گردیدند. بیشتر این سلول ها را لنفوسیت ها تشکیل داده اند و بعد از آن هم گلبول های قرمز اما در گروه شاهد بافت بینابینی در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بود و سلول های رده تولید گلبولی کمتری مشاهده شد. گلبول های سفید زیاد و غیر قابل تفکیک و هیچ ضایعه بافتی در هر دو گروه تشخیص داده نشد. با بررسی تغییرات هیستوپاتولوژی رأس کلیه *punctatus Channa* تیمار شده با سوخت های فسیلی بیان گردید که افزایش

تراکم مراکز ملانوماکروفاژی احتمالا دلالت بر اختلالات متابولیسمی و فقدان تغذیه ای در پاسخ به آلاینده ها دارد. آن ها همچنین خونریزی در بافت را نتیجه اختلال عروق خونی و نشانه ای از آسیب فیزیکی شدید حاصل از آلاینده معرفی نمودند. در مطالعه هیستوپاتولوژی *Rainbow trout* تیمار شده با اندوسولفان گزارش نمودند که افزایش غلظت های تحت کشنده تعداد مراکز ملانوماکروفاژی را در سراسر کلیه و رأس کلیه را افزایش می دهد که به دلیل تحریک سیستم ایمنی و افزایش ماکروفاژها جهت هضم و حذف سموم است. با توجه به نتایج تحقیق حاضر و نتایج مطالعات صورت گرفته می توان گفت کود شیمیایی نوعی آلاینده محسوب می شود، در حالی که در کنترل نتایج حاصله عکس نتایج گروه شاهد بود که این موید ارجحیت کمپوست مصرفی قارچ دکمه ای بر کود شیمیایی می باشد [۴-۱۰].



شکل ۱: تصویری از ماهی کپور نقره ای (برگرفته از سایت Fish base.org)



شکل ۲: تصاویر میکروسکوپ نوری ساختار بافتی رأس کلیه ی ماهی کپور نقره ای، تصویر A مربوط به ماهی تغذیه شده با کود شیمیایی (گروه شاهد) و تصویر B مربوط به ماهی تغذیه شده با کمپوست قارچ دکمه ای (گروه کنترل) می باشد. (حرف S نشان دهنده بافت بینا بینی، ستاره سیاه نشان دهنده گلبول های سفید و لنفوسیت ها می باشد و ستاره سفید نشان دهنده گلبول های قرمز و خون ساز می باشد).

مراجع

- [1] Altinok L. and Capkin E (2008). Histopathology of Rainbow Trout b to Sulethal Concentrations of Methiocarb or Endosulfan. Review Aquatic Science 4:210-223.
- [2] Bhattacharya H, Xiao Q, Lun L (2008). Toxicity studies of nonylphenol on rosybarb (*Puntius conchoniou*): A Biochemical and Histopathological Evaluation. Tissue and Cell 40, 243-249.
- [3] Moradkhani A, Abdi R, Salari-Aliabadi MA, Nabavi SMB, Basir Z (2020). Quantification and description of gut-associated lymphoid tissue in Shabbat, *Arabibarbus grypus*



- (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae), in the warm and cold seasons. Acta Ichthyologica et Piscatoria 50(4): 423-432.
- [4] Movahedinia A, Salehpour H, Ardeshir RA, Abdi R, Salamat N (2022). Ecomorphological comparison of the brain in different species of fish from the Persian Gulf. Journal of Fisheries and Environment 46 (3): 147–156.
- [5] Nochalabadi A, Morovvati H, Abdi R (2023). Histomorphometry of Liver and some Blood Factors of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, Exposed to Different Ammonia Concentrations. Pollution 9 (3): 1225-35.
- [6] Rahmati M, Morovvati H, Abdi R (2022). Histomorphometric Analysis of Skin and Stress Indices of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Exposed to Different Ammonia Concentrations. Iranian Journal of Veterinary Medicine 16 (3): 288–297.
- [7] Savari S, Safahieh A, Archangi B, Savari A, Abdi R (2020). The histopathological effect of methylmercury on the brain in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) in Zangi Creek and the laboratory. Iranian Journal of Fisheries Sciences 19(1): 457-70.
- [8] Mohaddasi M, Salari- Aliabadi MA, Abdi R, Momtazi F, Ranjbar MS, da Rocha RM (2019). First record, description and distribution of the colonial ascidian *Didemnum psammatoedes* (Sluiter, 1895) in the Eastern Persian Gulf. BioInvasions Record 8(3): 582–589.
- [9] Koohkan O, Abdi R, Zorriehzahra SJ, Movahedinia A, Sharifpoor I (2014). Acute mortality of *Liza klunzingeri* in the Persian Gulf and Oman Sea associated with nervous necrosis. Comparative Clinical Pathology 23: 347-370.
- [10] Ghasemi, M, Doustshenas B, Abdi R, Torfi Mozanzadeh M, Kavousi J (2022). Growth performance and energy budget of the yellowfin seabream, *Acanthopagrus arabicus* (Iwatsuki, 2013), affected by the combined effects of water temperature and salinity. Iranian Journal of Fisheries Sciences 21(3): 650-670.