



Acute toxicity and histopathological changes in gill and intestine of *Gambusia holbrooki* Girard, 1859 fish exposed to paraquat at different pH, hardness and temperatures

Mohammad Hossein Sayadi¹ | Javad Kharkan² | Hossein Shekari³ | Ayoob Rezaei⁴

1. Corresponding Author, Department of of Environmental Engineering, Faculty of Natural Resources and Environment, University of Birjand, Birjand, Iran. E-mail: mh_sayadi@birjand.ac.ir
2. Department of of Environmental Engineering, Faculty of Natural Resources and Environment, University of Birjand, Birjand, Iran. E-mail: javad.kh9191@birjand.ac.ir
3. Department of of Environmental Engineering, Faculty of Natural Resources and Environment, University of Birjand, Birjand, Iran. E-mail: hosseinshekari@birjand.ac.ir
4. Department of of Environmental Engineering, Faculty of Natural Resources and Environment, University of Birjand, Birjand, Iran. E-mail: a.rezaei_1985@birjand.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received 24 June 2022

Received in revised form 26

August 2022

Accepted 31 August 2022

Published online 5 May 2023

Keywords:*Higher number of goblet cells,**Physicochemical parameters,**Acute toxicity,**Lamellar synechia.*

ABSTRACT

Inevitably, less than 0.1% of pesticides used for pest control reach their target pests and the rest enter the environment and pollute water resources causing adverse effects on fish. This study aimed to investigate the acute toxicity and histopathological damage of paraquat at different pH, hardness and temperatures on *Gambusia holbrooki*. Acute toxicity of paraquat was performed for 96 h and the physicochemical parameters were adjusted *viz.* pH 5, 7 and 10, hardness 0, 200 and 400 mg/L and temperature 18, 25 and 30 °C. Then, the histopathological effects of paraquat on gill tissue and intestine of *Gambusia holbrooki* were then evaluated after 21 days. Acute toxicity of Paraquat herbicide on *Gambusia* fish at pH = 5, 7 and 10, equal to 13.80, 17.78 and 15.48 mg/L, hardness= 0, 200 and 400 mg/L, equal to 7.94, 19.49 and 36.30 mg/L and temperatures= 18, 25 and 30°C were 64.56, 51.28 and 25.70 mg/L, respectively. Histopathological lesions of paraquat toxin in the gills of *Gambusia holbrooki* at pH=5 mg/L included hyperplasia, curvature, a fusion of lamellae and lamellar synechia. Histopathological lesions of paraquat toxin in the intestine of *Gambusia holbrooki* demonstrated swelling and a higher number of goblet cells, necrosis and erosion. According to the present study results, it can be safely concluded that acute toxicity concentrations of paraquat herbicide can have adverse effects on gills and intestines of *Gambusia holbrooki*, the severity of which depends on the physicochemical properties of the aquatic environment.

Cite this article: Sayadi, M.H., Kharkan, J., Shekari, H., & Rezaei, A. (2023). Acute toxicity and histopathological changes in gill and intestine of *Gambusia holbrooki* Girard, 1859 fish exposed to paraquat at different pH, hardness and temperatures. *Journal of Natural Environment*, 76 (1), 133-147. DOI: <http://doi.org/10.22059/jne.2022.344944.2448>



بررسی سمیت حاد و آسیب‌های هیستوپاتولوژی علف‌کش پاراکوات در pH، سختی و دماهای مختلف در ماهی گامبوزیا *Gambusia holbrooki* Girard, 1859

محمد حسین صیادی^۱ | جواد خارکن^۲ | حسین شکری^۳ | ایوب رضایی^۴

- نویسنده مسئول، گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه بیرجند، ایران. رایانامه: mh_sayadi@birjand.ac.ir
- گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه بیرجند، ایران. رایانامه: javad.kh9191@birjand.ac.ir
- گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه بیرجند، ایران. رایانامه: hosseinshekari@birjand.ac.ir
- گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه بیرجند، ایران. رایانامه: a.rezaei_1985@birjand.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	کمتر از ۰/۱ درصد از میزان آفت‌کش‌های مصرفی به آفات می‌رسند و بقیه وارد محیط زیست شده و منابع آبی را آلوده کرده و تأثیرات نامطلوبی بر ماهیان می‌گذارند. این پژوهش با هدف بررسی سمیت حاد و آسیب‌شناسی بافتی پاراکوات در pH، سختی و دماهای مختلف بر روی ماهی گامبوزیا (<i>Gambusia holbrooki</i>) انجام شده است. سمیت حاد پاراکوات به مدت ۹۶ ساعت بر روی ماهی مورد مطالعه انجام شد و پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب از قبیل ۱۰ و ۰٫۷، pH= ۵، سختی= ۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر و دما= ۱۸، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و آسیب‌شناسی بافتی پاراکوات بر روی بافت آبشش و روده ماهی گامبوزیا بعد از ۲۱ روز بررسی شد. مقادیر سمیت کشنده میانگین (LC ₅₀) علف‌کش پاراکوات برای ۹۶ ساعت بر روی ماهی <i>G. holbrooki</i> در ۱۰ و ۰٫۷، pH= ۵ به ترتیب برابر ۱۳/۸۰، ۱۷/۷۸ و ۱۵/۴۸ میلی گرم بر لیتر، در سختی= ۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر به ترتیب برابر ۷/۹۴، ۱۹/۴۹ و ۳۶/۳۰ میلی گرم بر لیتر و در دما= ۱۸، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب برابر ۵۱/۲۸ و ۲۵/۷۰ میلی گرم بر لیتر می‌باشد. آسیب‌شناسی بافتی پاراکوات در pH= ۵ شامل هایپرپلازی، انحناء، همجوشی و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه می‌باشد و از آسیب‌شناسی بافتی پاراکوات در روده ماهی گامبوزیا در pH= ۵ شامل تورم سلول‌های گابلت، افزایش تعداد سلول‌های گابلت و نکروز و فرسایش می‌باشد. غلظت‌های تحت حاد علف‌کش پاراکوات می‌تواند اثرات نامطلوبی بر بافت آبشش و روده ماهی گامبوزیا داشته باشد که شدت آن بستگی به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی محیط آبی دارد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۳	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۶/۰۴	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۹	
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۲/۱۵	
کلیدواژه‌ها: افزایش تعداد سلول‌های گابلت، پارامترهای فیزیکوشیمیایی، سمیت حاد، کوتاه شدن لاملاهای ثانویه.	

استناد: صیادی، محمد حسین؛ خارکن، جواد؛ شکری، حسین و رضایی، ایوب (۱۴۰۲). بررسی سمیت حاد و آسیب‌های هیستوپاتولوژی علف‌کش پاراکوات در pH، سختی و دماهای مختلف در ماهی گامبوزیا *Gambusia holbrooki* Girard, 1859. *محیط زیست طبیعی*، ۷۶ (۱)، ۱۳۳-۱۴۷.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jne.2022.344944.2448>



مقدمه

گسترش فناوری در بخش کشاورزی و افزایش تولید در این بخش سبب افزایش بیماری‌ها و آفات گیاهی شده است (Sandstrom et al., 2017). علف‌کش‌ها دسته‌ای از آفت‌کش‌ها هستند که در جهان استفاده می‌شوند. ارزیابی‌ها نشان می‌دهند که کمتر از ۱/۰ درصد از میزان آفت‌کش‌های مصرفی به آفات می‌رسند و باقی‌مانده وارد محیط زیست شده و منابع خاک و آب را آلوده کرده و بر حسب میزان ماندگاری خود، اثرات نامطلوبی بر اکوسیستم و جانداران آن می‌گذارند (Banaee et al., 2011). علف‌کش پاراکوات (1,10-dimethyl-4,40-bipyridinium dichloride) یکی از پر مصرف‌ترین علف‌کش‌ها در مناطق گرمسیری می‌باشد که استفاده از آن به دلیل بازدهی بالا و آلودگی کم افزایش پیدا کرده است (Ren et al., 2014). مسمویت حاد پاراکوات در دو دهه گذشته در کشورهای در حال توسعه به‌طور چشم‌گیری افزایش یافته است (Konthonbut et al., 2018; Liu et al., 2018) و به‌صورت غیر انتخابی برای از بین بردن علف‌های هرز پهن‌برگ استفاده می‌شود (Guo et al., 2015). این علف‌کش در خاک غیر فعال است و از طریق واکنش بین یون‌های مثبت علف‌کش و یون‌های منفی مواد معدنی خاک رس در لایه‌های سطحی خاک جذب می‌شود بنابراین باعث افزایش غلظت این علف‌کش در خاک می‌شود و از طریق رواناب وارد اکوسیستم‌های آبی می‌شود و بر روی موجودات غیر هدفی که در محیط‌های طبیعی و نزدیک زمین‌های کشاورزی زندگی می‌کنند تأثیر مخربی می‌گذارد همچنین از این طریق وارد چرخه غذایی می‌گردند (Banaee et al., 2008; Ada et al., 2012). خصوصیات مختلف آب، مانند غلظت ماده آلی، غلظت کلسیم و منیزیم، شوری، دما و pH ممکن است روی سمیت آلاینده‌ها تأثیر بگذارد (Amirthalingam et al., 2013). پاراکوات هنگام ورود به آب دچار تجزیه زیستی و فتوشیمیایی می‌شود و به یون متیل‌آمین و ۴-کربوکسی-۱-متیل‌پیریدیم تبدیل می‌شود و تجمع زیستی این ترکیبات در ماهی‌ها، ماکروفیت‌ها و جلبک‌ها باعث بروز اثرات زیان‌آور می‌شود. تماس ماهی‌ها با پاراکوات می‌تواند باعث استرس اکسیداتیو، تغییر فاکتورهای خونی و آسیب‌های بافتی شود (Banaee Tejada et al., 2007; et al., 2013). در حقیقت تجزیه فتوشیمیایی و اکسیداسیون پاراکوات باعث تولید محصولات از قبیل پراکسید هیدروژن، رادیکال سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود که در ایجاد استرس اکسیداتیو و بروز آسیب‌های بافتی در موجودات نقش زیادی دارند (El-Boghdady et al., 2017). بافت‌شناسی قادر به ارائه اطلاعاتی در مورد سلامتی و عملکرد بافت آسیب‌دیده است و آسیب اندام می‌تواند به‌طور مستقیم بر بقا، رشد و موفقیت تولید مثل موجود تأثیرگذار باشد (Yamamoto et al., 2017) و یک شاخص زیستی مناسب برای کنترل آلودگی می‌باشد (Banaee, 2012). آبشش یکی از مهمترین ارگان‌هایی است که در تماس با آلاینده‌ها قرار دارد و هر نوع آسیب به بافت آبشش ماهی منجر به ایجاد اختلال در روند تبادل گاز و همچنین کاهش بازدهی تنظیم یون از طریق این اندام می‌شود (Farkas et al., 2011; Pirsaebe et al., 2019).

ماهی‌ها در ارزیابی‌های سم‌شناسی مدل‌های مناسبی هستند زیرا در بالای زنجیره غذایی آزمون قرار دارند، طیف تحمل گسترده‌ای دارند و شاخص‌های خوبی برای بررسی اثرات طولانی مدت آلاینده‌ها می‌باشند (Jaramillo-Villa and Caramaschi, 2008). ماهی گامبوزیا (*Gambusia holbrooki*) یک گونه غیر بومی معرفی شده، از خانواده Peocilidae می‌باشد (Cabral and Marques, 1999) که برای کنترل زیستی پشه مالاریا از آمریکای شمالی به سراسر جهان انتقال یافته است در تمام اقلیم‌ها به‌جز قطب حضور دارد (Abdoli, 2000). این گونه دارای قابلیت تحمل شوری تا ۱۰ درصد و دمای بین ۰/۵ تا ۴۲ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (Keivany et al., 2016). مهم‌ترین دلیل انتخاب این گونه ماهی در این تحقیق وجود این گونه مهاجم در تعداد زیادی از قنات‌های استان خراسان جنوبی که تقریباً می‌توان گفت که گونه غالب برخی قنات‌ها شده‌اند و به‌صورت تصاعدی در حال افزایش هستند. همچنین مقاومت آن نسبت به شرایط نامساعد محیطی می‌باشد و به‌راحتی در شرایط اسارت تکثیر می‌شوند. این گونه در قنات‌ها، دریاچه‌های کوچک و استخرهای خاکی زیست و تولیدمثل می‌نماید (Pyke, 2005)، که ممکن است یکی از دلایل غالب شدن این گونه در برخی قنات‌های استان خراسان جنوبی باشد. البته نکته حائز اهمیت این است که نبود اطلاعات در مورد شرایط زیستی این گونه محققان را بر آن می‌دارد که تحقیقات کامل‌تری خصوصاً در زمین بررسی پارامترهای محیطی (دما، pH و سختی) این موجود انجام دهند. تحقیقات زیادی در مورد سمیت علف‌کش‌ها روی موجودات غیر هدف انجام شده است چرا که این سموم برای مبارزه با گیاهان هرز در کشاورزی طراحی شده‌اند ولی دارای اثرات مخرب بر اکوسیستم‌های آبی به‌ویژه ماهیان می‌باشند. Talib و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند علف‌کش رانداپ باعث ایجاد استرس

اکسیداتیو و تغییرات رفتاری از قبیل از دست دادن تعادل، شنای نامنظم، باز و بسته کردن آبشش‌ها و برخورد با دیواره آکواریوم‌ها در ماهی گامبوزیا (*Gambusia affinis*) می‌شود (Talib et al., 2018). Al-Kawaz در سال (۲۰۱۹) گزارش داد که علف‌کش گلایفوسیت باعث افزایش تعداد تنفس، عدم تعادل و ایجاد تغییرات هیتوپاتولوژی از قبیل آنوریسم، هایپرپلازی و خون‌ریزی در بافت آبشش ماهی گامبوزیا (*Gambusia affinis*) می‌شود (Al-Kawaz et al., 2019). سمیت شدید علف‌کش پاراکوات بر بافت کبد گربه‌ماهی (*Clarias gariepinus*) توسط Lapido و همکاران (۲۰۱۱) بررسی شد. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که درجه آسیب به میزان مصرف سم بستگی دارد. نتایج تحقیقات Koohkan و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که پاراکوات باعث ایجاد آسیب‌شناسی بر کبد ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) انگشت قد می‌شود. بنابراین، بررسی سمیت علف‌کش‌ها بر روی ماهیان به‌عنوان یکی از گونه‌های غیر هدف برای نظارت و ارزیابی سلامت اکوسیستم‌های آبی ضروری می‌باشد. این تحقیق با هدف بررسی سمیت حاد و آسیب‌شناسی بافتی علف‌کش پاراکوات در pH، سختی و دماهای مختلف در ماهی گامبوزیا (*Gambusia holbrooki*) به‌اجرا درآمد.

روش‌شناسی پژوهش

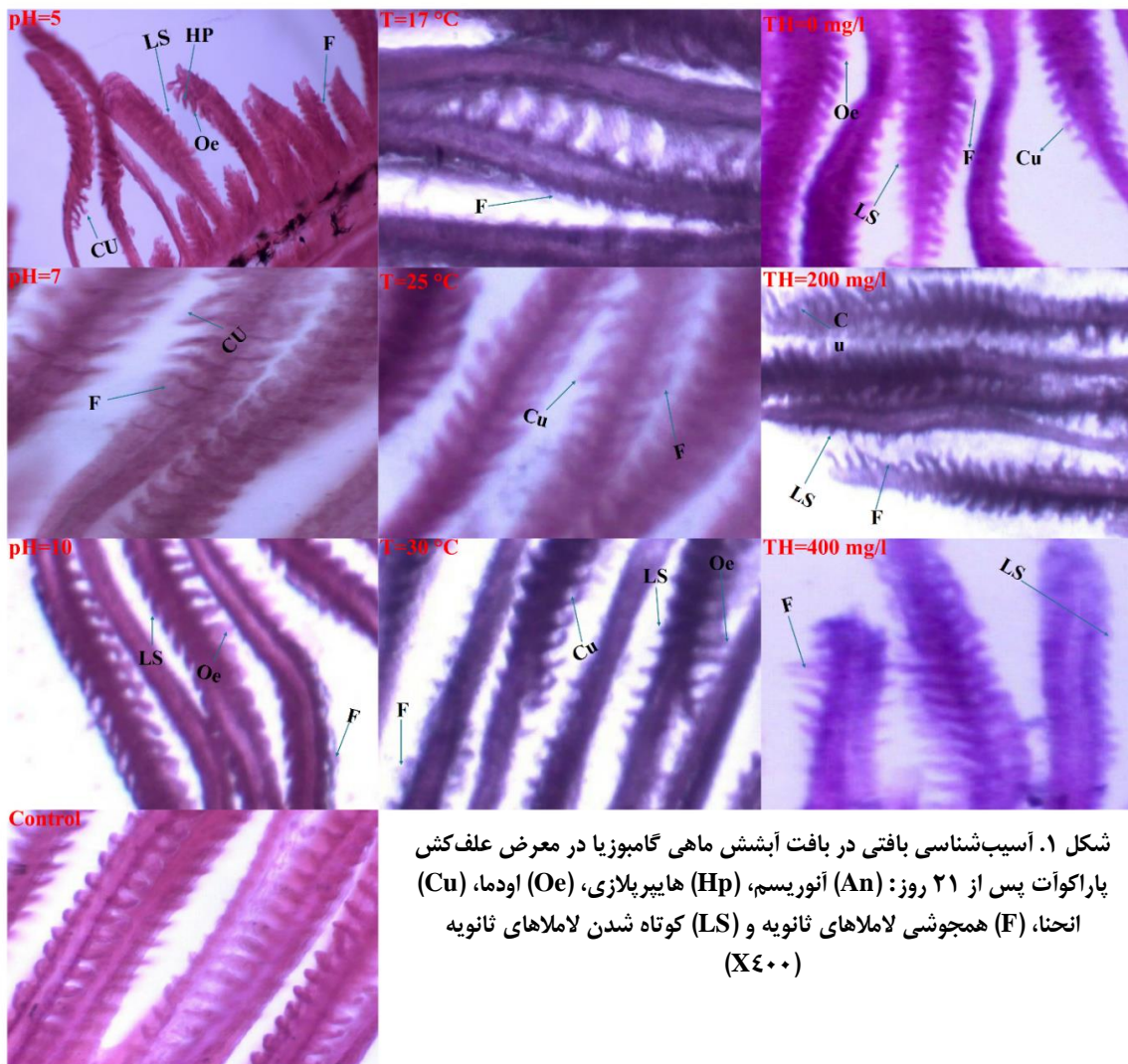
نمونه ماهی و آنالیز آن: در این پژوهش ماهی گامبوزیا از قنات‌های موجود در روستاهای خراسان جنوبی (شرق ایران) با استفاده از تور ساچوک با چشمه‌های ۲ میلی‌متری جمع‌آوری شد. ماهی گامبوزیا به‌همراه آب قنات به آزمایشگاه لیمنولوژی (گروه محیط زیست، دانشگاه بیرجند) منتقل شد. به‌منظور سازگاری ماهی با شرایط آکواریوم، ماهی‌ها به‌مدت ۴ هفته قبل از شروع آزمایش در آکواریوم‌ها قرار گرفتند در طی این دوره به اندازه ۲ درصد از وزن ماهی‌ها در روز با غذای تجاری، تغذیه شدند. سمیت حاد علف‌کش پاراکوات بر روی ماهی گامبوزیا مورد بررسی قرار گرفت و در طی سمیت حاد میزان LC₅₀ محاسبه شد. در طول آزمایش ماهیان تلف شده و پسماندهای ماهی از آکواریوم حذف شدند.

سمیت حاد: تأثیر سمیت حاد علف‌کش پاراکوات روی ماهی گامبوزیا (طول کل بدن به‌طور متوسط $3 \pm 0.3/6$ سانتی‌متر و وزن متوسط بدن $1 \pm 0.1/4$ گرم) بر اساس دستورالعمل OECD شماره ۲۰۳ مورد بررسی قرار گرفت تا غلظت کشنده میانه (LC₅₀) مشخص شود (OECD 2019; LC₅₀). برای آماده‌سازی علف‌کش پاراکوات مورد استفاده، ۴ سی‌سی از علف‌کش پاراکوات را توسط آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر رسانده شد تا یک محلول ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از علف‌کش پاراکوات تهیه شود. برای سنجش سمیت حاد و در نهایت پیدا کردن LC₅₀ پیش‌تستی انجام شد که در آن غلظت‌های متفاوتی از علف‌کش پاراکوات شامل ۱، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۹۶ ساعت در معرض ۱۰ ماهی قرار گرفتند. در طول دوره سنجش میزان مرگ و میر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در هر غلظت ثبت شد و بلافاصله ماهیان تلف شده از محیط آکواریوم خارج شدند و آزمایش با سه تکرار انجام شد. در طول آزمایش، به‌منظور حفظ مواد شیمیایی و کیفیت آب آکواریوم‌ها ۵۰ درصد آب آکواریوم‌ها به‌طور روزانه عوض شد و در نهایت براساس داده‌های به‌دست آمده میزان غلظت کشنده میانه (LC₅₀) محاسبه شد.

مطالعات آسیب‌شناسی بافتی: به‌منظور بررسی آسیب‌شناسی بافتی علف‌کش پاراکوات، ماهی گامبوزیا به ۱۰ گروه ۱۵ قطعه‌ای (یک گروه کنترل) تقسیم شدند به‌گونه‌ای که پارامترهای کیفی آب آکواریوم‌های ۳۰ لیتری از قبیل pH (۵، ۷ و ۱۰)، سختی (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و دما (۱۸، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) متغیر می‌باشد. با توجه به شرایط محیطی و اقلیمی منطقه و همچنین مقاوم بودن و میزان سازگاری بالای این گونه ماهی، بنابراین در این تحقیق دامنه فاکتورهای محیطی بر اساس مطالعات انجام شده بر روی سایر گونه‌های بومی منطقه مثل سیاه‌ماهی (*Capoeta fusca*) انتخاب شد (Sayadi et al., 2020, 2021). برای انجام مطالعات آسیب‌شناسی بافتی، براساس مقدار LC₅₀ محاسبه شده در دوره سمیت حاد معادل یک‌دهم مقدار LC₅₀ برای هر کدام از pH (۵، ۷ و ۱۰)، سختی (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و دما (۱۸، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) به‌عنوان غلظت زیرکشدگی انتخاب شد (۱۰، ۷، ۵، pH=۵ به‌ترتیب برابر ۱/۳۸، ۱/۵۴ و ۱/۷۷ میلی‌گرم بر لیتر، سختی= ۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌ترتیب برابر ۰/۷۹، ۱/۹۴ و ۳/۶۳ میلی‌گرم بر لیتر و برای دما= ۱۸، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب برابر ۶/۴۵، ۵/۱۲ و ۲/۵۷ میلی‌گرم بر لیتر). در طی دوره مطالعات آسیب‌شناسی بافتی، ماهی گامبوزیا در یک دوره ۲۱ روز در گروه‌های مختلف (۱۰

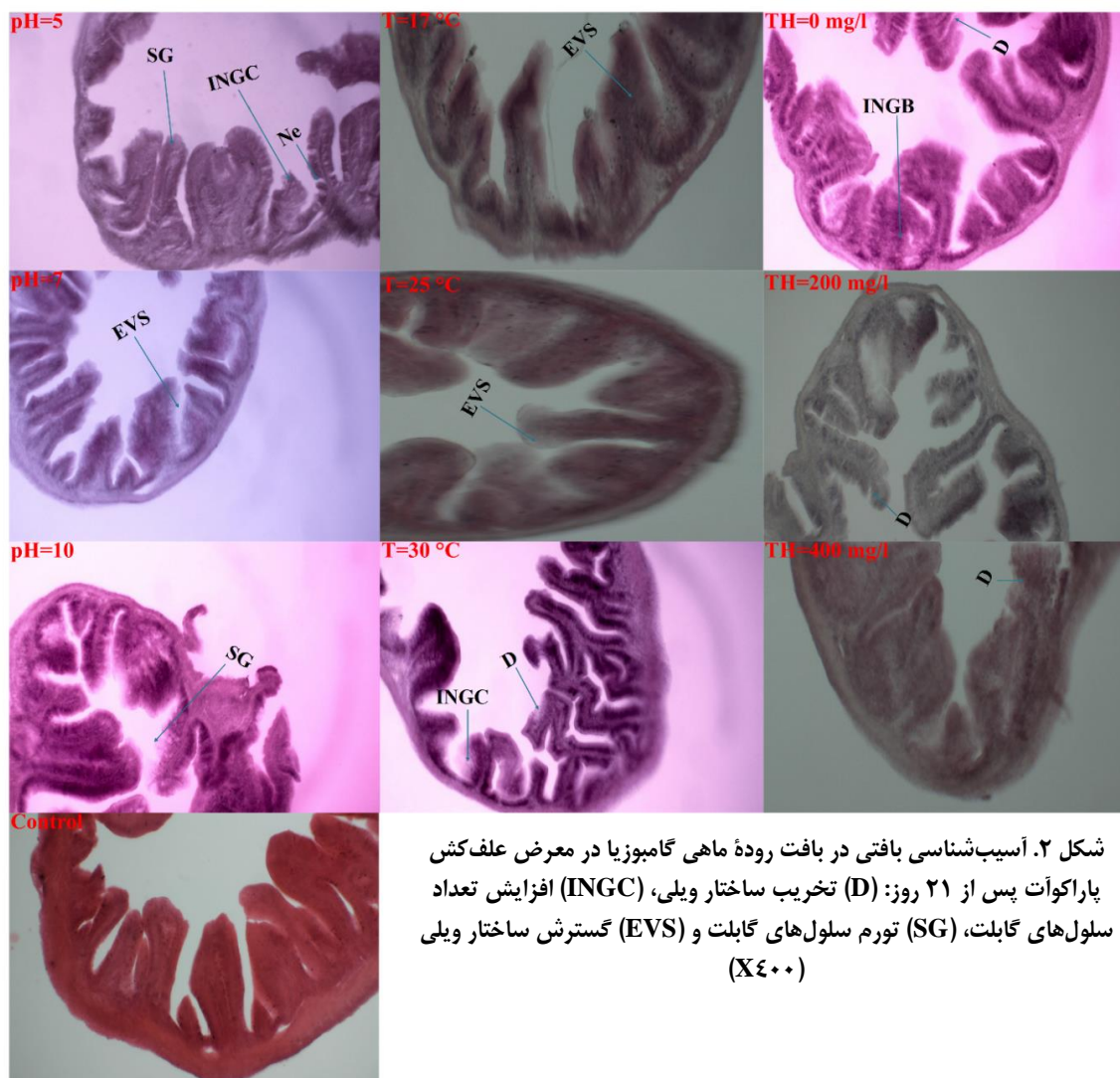
جدول ۱. غلظت کشنده میانه (Lethal concentration 50) علف کش پاراکوات بر روی ماهی گامبوزیا در pH، سختی و دماهای مختلف

					(Gambusia holbrooki)	
غلظت (میلی گرم بر لیتر)					فاکتورهای محیطی	
۹۶ ساعت	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت	LC ₅₀		
۱۳/۸۰	۲۰/۸۹	۳۶/۳۰	۵۴/۹۵	LC ₅₀	۵	pH
۱۷/۷۸	۳۳/۸۸	۳۶/۳۰	۱۴۴/۵۴	LC ₅₀	۷	
۱۵/۴۸	۱۵/۴۸	۴۰/۷۳	۱۲۸/۸۲	LC ₅₀	۱۰	
۷/۹۴	۱۸/۱۹	۱۹/۰۵	۲۹/۵۱	LC ₅₀	۰	سختی (میلی گرم بر لیتر)
۱۹/۴۹	۲۰/۴۱	۲۹/۵۱	۳۳/۸۸	LC ₅₀	۲۰۰	
۳۶/۳۰	۳۶/۳۰	۳۸/۰۱	۸۱/۲۸	LC ₅₀	۴۰۰	
۶۴/۵۶	۷۰/۷۹	۱۶۵/۹۵	۱۹۴/۹۸	LC ₅₀	۱۸	دما (درجه سانتی گراد)
۵۱/۲۸	۶۴/۵۶	۷۰/۷۹	۷۹/۴۳	LC ₅₀	۲۵	
۲۵/۷۰	۳۴/۶۷	۳۸/۹۰	۴۵/۷۰	LC ₅₀	۳۰	



شکل ۱. آسیب‌شناسی بافتی در بافت آبشش ماهی گامبوزیا در معرض علف کش پاراکوات پس از ۲۱ روز: آنوریسم، (An) هایپرپلازی، (Hp) اودما، (Cu) انحنای، (F) همجوشی لاملاهای ثانویه و (LS) کوتاه شدن لاملاهای ثانویه (X۴۰۰)

مطالعات آسیب‌شناسی بافتی: مجموعه‌ای از تغییرات آسیب‌های بافتی در بافت‌های آبشش و روده ماهی گامبوزیا مشاهده شد. این تغییرات نوعی مکانیسم دفاعی بافت‌ها در مقابل علف کش پاراکوات است که مانع ورود پاراکوات به بافت‌های ماهی گامبوزیا می‌شود. شدت این آسیب‌های بافتی در محیط (pH= ۵) و قلیایی (pH= ۱۰)، سختی = ۰ میلی‌گرم بر لیتر و دما = ۳۰ درجه



شکل ۲. آسیب‌شناسی بافتی در بافت روده ماهی گامبوزیا در معرض علف‌کش پاراکوات پس از ۲۱ روز: (D) تخریب ساختار ویلی، (INGC) افزایش تعداد سلول‌های گابلت، (SG) تورم سلول‌های گابلت و (EVS) گسترش ساختار ویلی (X۴۰۰)

سانتی‌گراد بیشتر می‌باشد و با گذشت زمان بر شدت این آسیب‌ها افزوده می‌شود. برخی از آسیب‌ها در بافت آبشش ماهی گامبوزیا پس از ۲۱ روز قرارگرفتن در معرض علف‌کش پاراکوات در شکل ۱ نشان داده شده است این آسیب‌ها در محیط اسیدی (pH= ۵) شامل هایپرپلازی، انحناء، همجوشی و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه و در محیط قلیایی (pH= ۱۰) شامل اودما، همجوشی و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه می‌باشد. شدت این آسیب‌ها در محیط خنثی (pH= ۷) کمتر می‌باشد. آسیب‌های بافتی در سختی = ۰ میلی‌گرم بر لیتر و دما = ۳۰ درجه سانتی‌گراد شامل اودما، انحناء، همجوشی و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه را نشان دادند. نتایج نشان داد که شدت آسیب‌های بافتی هرچه میزان سختی (از ۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) افزایش پیدا کند کمتر می‌شود و همچنین شدت آسیب‌ها در ماهی گامبوزیا در دمای بالاتر (از ۱۸ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد)، بیشتر می‌باشد. برخی از آسیب‌ها در بافت روده ماهی گامبوزیا در معرض علف‌کش پاراکوات در شکل ۲ ارائه شده است. در بافت روده، برخی از آسیب‌های بافتی به دلیل قرار گرفتن در معرض علف‌کش پاراکوات در محیط اسیدی (pH= ۵) شامل تورم سلول‌های گابلت، افزایش تعداد سلول‌های گابلت، نکروز و فرسایش می‌باشد و آسیب‌های بافتی سختی = ۰ میلی‌گرم بر لیتر و دما = ۳۰ درجه سانتی‌گراد شامل تخریب ساختار ویلی‌ها و افزایش تعداد سلول‌های گابلت می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

کاربرد گسترده از علف‌کش‌های مختلف در بخش کشاورزی سبب انتشار آن در محیط‌های آبی می‌شود و در نهایت سلامت موجودات آبی را به‌خطر می‌اندازد و موجودات آبی با تغییر در فیزیولوژی مولکولی و رفتارشان به این سمیت پاسخ می‌دهند

جدول ۲. دسته‌بندی سطوح سمیت علف‌کش‌ها (United Nations, 2009)

درجه سمیت	LC _{50-96h} (Mg/l)
نسبتاً سمی	>۱۰۰
سمیت کم	۱۰-۱۰۰
سمیت متوسط	۱-۱۰
خیلی سمی	۰/۱-۱
شدیداً سمی	<۰/۱

(Forouzangohar *et al.*, 2005). میزان سمیت اغلب علف‌کش‌ها در محیط‌های آبی براساس شرایط محیطی تغییر می‌کند به گونه‌ای که علف‌کش‌ها پس از اینکه به منابع آبی وارد می‌شوند میزان سمیت آن‌ها کمتر یا بیشتر از ترکیب اصلی خود می‌شود (Hodgson, 2004). سمیت‌حاد یک واکنش‌کننده می‌باشد که در اثر قرار گرفتن در معرض یک آلاینده ایجاد می‌شود. هدف از انجام تست سمیت حاد، تعیین غلظت‌کننده میانه یا به عبارتی LC₅₀ می‌باشد که غلظتی از یک آلاینده می‌باشد که باعث مرگ ۵۰ درصد از جمعیت موجودات می‌شود پارامترهای متفاوتی در نتایج آزمایش‌های سمیت بر روی آبزیان تأثیر می‌گذارند که می‌توان به شرایط فیزیکی و شیمیایی آب و ویژگی‌های زیستی گونه مورد بررسی اشاره کرد (Abel and Axiak., 1990). نتایج نشان داد که مقدار غلظت‌کننده میانه علف‌کش پاراکوات برای ماهی گامبوزیا در ۹۶ ساعت برای ۱۰ و ۷، pH=۵ به ترتیب برابر ۱۳/۸۰، ۱۷/۷۸ و ۱۵/۴۸ میلی‌گرم بر لیتر، سختی=۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب برابر ۷/۹۴، ۱۹/۴۹ و ۳۶/۳۰ میلی‌گرم بر لیتر و برای دما=۱۸، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب برابر ۶۴/۵۶، ۵۱/۲۸ و ۲۵/۷۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. با توجه به این که درجه‌بندی سمیت علف‌کش‌های گوناگون براساس میزان غلظت‌کننده میانه علف‌کش‌ها در ۹۶ ساعت مشخص می‌شود، بنابراین علف‌کش پاراکوات به لحاظ سمیت برای ماهی گامبوزیا در سختی=۰ میلی‌گرم بر لیتر دارای سمیت متوسط و در ۱۰ و ۷، pH=۵، سختی=۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و دما=۱۸، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد دارای سمیت کم می‌باشد (جدول ۲) (United Nations, 2009).

نتایج نشان می‌دهد که میزان سمیت علف‌کش پاراکوات در ۱۰ و pH=۵ بیشتر از pH=۷ می‌باشد بنابراین سمیت پاراکوات در شرایط اسیدی و قلیایی بیش‌تر می‌باشد. میزان سمیت پاراکوات در سختی=۰ میلی‌گرم بر لیتر بیش‌تر از سختی=۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد همچنین بیش‌ترین میزان سمیت پاراکوات در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (جدول ۱). مطالعات مختلف نشان می‌دهند که خصوصیات مختلف آب از قبیل pH، سختی و دما می‌توانند بر روی سمیت آلاینده‌ها تأثیر بگذارند (Al-Bairuty *et al.*, 2016; Amirthalingam *et al.*, 2013). نتایج این مطالعه نشان داد که علف‌کش پاراکوات در ۱۰ و pH=۵، سختی=۰ میلی‌گرم بر لیتر و دما=۳۰ درجه سانتی‌گراد بیش‌ترین سمیت را دارند. در محیط‌های اسیدی حلالیت آلاینده‌ها افزایش پیدا می‌کند بنابراین سمیت آن‌ها تشدید می‌شود و در محیط‌های قلیایی به دلیل رسوب آلاینده‌ها در محیط و تجمع در بدن موجودات سبب آسیب‌های جدی در موجودات آبی به‌ویژه ماهیان می‌شود (Schlenk *et al.*, 2001). افزایش سختی آب باعث کاهش سمیت آلاینده‌ها برای موجودات زنده به‌ویژه ماهیان می‌گردد چراکه با کاهش سختی، حلالیت آلاینده‌ها در آب بیش‌تر و سمیت آن‌ها افزایش می‌یابد (Weiner, 2010) و افزایش دما نیز سمیت ناشی از پاراکوات را تشدید می‌کند (Salazar-Lugo *et al.*, 2011). در مطالعات مشابه Martins و همکاران (۲۰۰۴)، نشان دادند که با کاهش pH میزان سمیت و جذب کادمیم افزایش پیدا می‌کند. Laporte و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که سمیت و جذب جیوه در سختی پایین در خرچنگ ساحلی (*Carcinus maenas*) افزایش می‌یابد. Vutukuru و همکاران (۲۰۰۵)، میزان غلظت‌کننده میانه کلرید مس را در ماهی *Esomus danricus* برای ۹۶ ساعت در سختی ۲۲۰ میلی‌گرم بر لیتر را ۵/۵ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه کردند. Mubiana and Blust در سال (۲۰۰۷) بیان کرد که با افزایش دما میزان سمیت و جذب دو فلز کادمیوم و سرب افزایش پیدا می‌کند. Graney و همکاران (۱۹۸۴) بیان کردند که بین سمیت و جذب آلاینده‌ها و افزایش دما همبستگی مثبت وجود دارد. Singh و همکاران (۲۰۰۸) غلظت‌کننده میانه کلرید مس در ماهی (*Chana punctatus*) برای ۹۶ ساعت در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و سختی آب ۱۱۰ میلی‌گرم بر لیتر به میزان ۳/۶ میلی‌گرم بر لیتر بیان کردند. Ladipo و همکاران (۲۰۱۱) میزان غلظت‌کننده میانه

پاراکوات در گربه ماهی *Clarias gariepinus* در ۹۶ ساعت را برابر ۱/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر برآورد کردند. Ma و همکاران (۲۰۱۴) میزان غلظت کشنده میانه پاراکوات در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در ۹۶ ساعت را برابر ۱۵/۹۶۲ میلی‌گرم بر لیتر بیان کردند. Hassan و همکاران (۲۰۱۵) میزان سمیت حاد پاراکوات در ماهی کپور معمولی در ۹۶ ساعت برابر ۲۶/۰۷ میلی‌گرم بر لیتر بیان کردند. Ogunwole و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که میزان غلظت کشنده میانه پاراکوات در گربه ماهی *Clarias gariepinus* در ۹۶ ساعت برابر ۱۲۸/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. در مطالعات مشابه Sayadi و همکاران (۲۰۲۰) مقادیر غلظت کشنده میانه نانوذرات اکسید آهن و یون‌های نیترات آهن، کلرید آهن و سولفات آهن بر روی سیاه‌ماهی قنات (*Capoeta fusca*) را به ترتیب برابر ۳۲/۳، ۱/۶، ۲/۳ و ۵/۲ میلی‌گرم بر لیتر گزارش کردند.

مطالعات بافت‌شناسی در بررسی آسیب‌های وارد شده توسط آلاینده‌ها بسیار مؤثر می‌باشد (Patel et al., 2010). بافت آبشش وظیفه تبادل گازها و تنظیم اسمزی را برعهده دارد و در تماس مستقیم با محیط‌های آبی می‌باشد بنابراین مکان مناسبی برای جذب پاراکوات می‌باشد (Capaldo et al., 2019) پاراکوات از طریق انتقال‌دهنده‌های پلی‌آمین موجود در غشای سلولی اپیتلیوم وارد سلول‌ها می‌شود علاوه بر این، پاراکوات باعث آسیب‌های اکسیداتیو و مرگ سلولی از طریق آپوپتوز و همچنین تداخل در برخی از عملکردهای آبشش مانند تنفس می‌شود (Boetslerli, 2002). در این تحقیق مشاهده شد که آسیب‌های بافتی ناشی از پاراکوات در بافت‌های آبشش و روده ماهی گامبوزیا در ۱۰ و pH=۵، سختی=۰ میلی‌گرم بر لیتر و دما=۳۰ درجه سانتی‌گراد شدت بیش‌تری دارند. طبق گزارش Al-Bairuty و همکاران (۲۰۱۶) و Tao و همکاران (۲۰۰۲) pH، سختی و دما عوامل اصلی مؤثر بر فراهمی زیستی آلاینده‌ها در محیط‌های آبی هستند. میزان اسیدیته آب به صورت مستقیم بر روی تنظیم یون، تنظیم مایعات بدن، جذب اکسیژن و همچنین فیزیولوژی ماهی تأثیرگذار است و کاهش pH آب سبب بروز آسیب به بافت‌های مختلف ماهی می‌شود (Das Mokhayer, 2010; et al., 2004). سختی آب با اشباع کردن سطح آبشش ماهی با کاتیون کلسیم، میزان سمیت آلاینده‌ها را کاهش می‌دهد (Weiner, 2010). مطالعات نشان می‌دهد که آبشش به عنوان یک شاخص محرک در مقابل دمای آب می‌باشد و اولین بافت هدف در آسیب‌های گرمایی است و همچنین، دما بالا باعث واکنش‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Flores-Lopes et al., 2011) افزایش دما نیز آسیب‌های بافتی ناشی از پاراکوات را بر بافت‌های مختلف ماهیان افزایش می‌دهد (Salazar-Lugo et al., 2011) در مطالعه حاضر، مجموعه‌ای از آسیب‌های شدید بافتی در آبشش ماهیان مواجه شده با پاراکوات در pH=۵، سختی=۰ میلی‌گرم بر لیتر و دما=۳۰ درجه سانتی‌گراد شامل هایپرپلازی، انحناء، همجوشی لاملاهای ثانویه، کوتاه شدن لاملاهای ثانویه و اودما دیده شد. به طور کلی انحناء در اپیتلیوم لاملا معمولاً نشان‌دهنده تأثیرات آسیب‌شناسی بافتی اولیه سموم بر روی موجودات آبی می‌باشند (Mansouri et al., 2016). اودما در آبشش ماهیان زمانی اتفاق می‌افتد که لایه اپیتلیوم از سطح لاملاهای ثانویه جدا می‌شود در این حالت بین اپیتلیوم و عروق خونی فاصله می‌افتد در حقیقت این واکنش یک عمل دفاعی بوده و به این طریق ماهی سعی می‌کند تا از مسمومیت بیشتر در امان بماند (Arellano et al., 1999) و هایپرپلازی نیز مانند اودما در آبشش ماهیان یکی از واکنش‌های دفاعی بدن در پاسخ به مسمومیت‌ها و آلاینده‌های مضر است (Van et al., 2004). هنگامی که ماهیان در معرض استرس شدیدی قرار می‌گیرند در آبشش ماهیان خون جمع می‌شود که باعث تغییراتی در رگ‌های خونی می‌شود در این حالت، سلول‌های پیلار آسیب‌دیده می‌توانند باعث ایجاد یک جریان خونی زیاد در داخل تیغه‌ها شوند که باعث اتساع کانال حاشیه‌ای و به همجوشی لاملاهای ثانویه می‌شود (Martinez et al., 2004).

آسیب‌های شدید در آبشش ماهی گامبوزیا در معرض پاراکوات دیده شد که ممکن است مربوط به وضعیت شبیه به هیپوکسی باشد. وضعیت هیپوکسی باعث تشکیل و ترشح بیش‌تر گردش خون از بافت خون‌ریزی شده از طریق تحریک آدرنژیک می‌شود و باعث ایجاد اختلالات تنفسی در ماهی می‌شود (Beegam et al., 2020). در مطالعات مشابه Banaee و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که پاراکوات باعث هایپرپلازی، همجوشی لاملاهای ثانویه، کوتاه شدن لاملاهای ثانویه و نکروز در بافت آبشش ماهی *Trichogaster trichopterus* می‌شود و بیان کردند که شدت این آسیب‌ها با افزایش غلظت پاراکوات، بیش‌تر می‌شود و اظهار کردند که آسیب‌های وارد شده به آبشش ماهیان در معرض پاراکوات ممکن است به دلیل آسیب‌های اکسیداتیو به سلول‌های بافت آبشش باشد که منجر به ایجاد اختلال در فعالیت این بافت نظیر اختلال در تبادل گاز و تنظیم یون می‌شود. Saber و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تغییرات دمایی روی بافت آبشش ماهی کپور وجود هایپرپلازی، فیوژن لاملا و کوتاه شدن لاملاهای ثانویه را

مشاهده کردند و گزارش دادند که در دماهای بالا چماقی شدن لاملاهای ثانویه و اودما اتفاق می‌افتد به گونه‌ای که سلول‌ها در لبه اصلی لاملاهای ثانویه تجمع پیدا می‌کنند که به‌عنوان Clubbing لاملاها شناخته می‌شود. Lapido و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی سمیت‌حاد و تغییرات آسیب‌شناسی بافتی علف‌کش پاراکوات بر روی بافت‌های گربه ماهی *Clarias gariepinus*، گزارش کردند که پاراکوات سبب بروز نکروز، هایپرپلازی و همجوشی لاملاهای ثانویه در بافت آبشش می‌شود. Kumar و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی سمیت‌حاد و آسیب‌های بافتی اندوسولفان در آبشش ماهی *Chanos chanos*، بیان کردند که اندوسولفان باعث آسیب‌های هایپرپلازی اپیتلیوم، کوتاه‌شدن لاملاهای ثانویه، همجوشی لاملاهای ثانویه و آبشش می‌شود و گزارش دادند که سموم باعث آسیب به آبشش و کاهش مصرف اکسیژن و ایجاد اختلال در عملکرد این بافت می‌شود. Velmurugan و همکاران (۲۰۱۸) آسیب‌های هایپرپلازی اپیتلیوم و همجوشی لاملاهای ثانویه را در آبشش ماهی *Anabas testudineus* در معرض آفت‌کش کلرپیریفوس نشان دادند همچنین Akhtar و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که آبشش ماهی *Schizothorax esocinus* در معرض آترازین، سبب آسیب‌های کوتاه‌شدن لاملاهای ثانویه، همجوشی لاملاهای ثانویه و آتروفی می‌شود. در مطالعات دیگر Sayadi و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که نانوذرات اکسیدروی و گرافن سبب آنوریسم، هایپرپلازی، اودما، انحنا، همجوشی و کوتاه‌شدن لاملاهای ثانویه در آبشش سیاه‌ماهی قناتی *Capoeta fusca* می‌شود و گزارش کردند که به‌طور کلی انحنا و همجوشی لاملاهای ثانویه معمولاً نشان‌دهنده تأثیرات آسیب‌شناسی بافتی اولیه سموم بر روی ماهی می‌باشند و یک مکانیسم دفاعی بافت آبشش برای جلوگیری از ورود پاراکوات به بافت می‌باشد. Banaee و همکاران (۲۰۱۲b) بیان کردند که غلظت‌های تحت‌حاد علف‌کش دیازینون سبب آسیب‌های بافتی از قبیل هیپرتروفی سلول‌های کبدی، واکنش‌شدن سیتوپلاسم سلولی و تورم ابری در بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. Lotfi و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که سولفات مس سبب آنوریسم و بروز خون‌ریزی به‌خصوص در ورید مرکزی آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. همچنین Yarahmadi و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که نفتالین سبب آسیب‌های بافتی از قبیل هایپرپلازی در لاملاهای ثانویه، آنوریسم، هایپرتروفی لاملاهای ثانویه در بافت آبشش ماهی *Liza klunzingeri* می‌شود. نتایج این مطالعه با سایر مطالعات قبلی همخوانی دارد (Shahzad et al., 2019; Abdulkareem and Owolabi, 2019; Noureen et al., 2021; Sayed et al., 2020; Sayadi et al., 2022).

روده یک عضو بسیار حساس دستگاه گوارش و همچنین محل اصلی عبور مواد سمی گوناگون می‌باشد که از طریق آب یا مواد غذایی وارد بدن می‌شوند و به‌عبارتی نقش مهمی در جذب و متابولیسم آلاینده‌ها دارد (Yuen et al., 2007). آفت‌کش‌ها می‌توانند آسیب‌های جدی برای بافت‌های مختلف دستگاه گوارش از جمله روده ایجاد کنند بنابراین بررسی فعالیت بافت‌های دستگاه گوارش می‌تواند در مطالعات سم‌شناسی سودمند باشد (Güneş et al., 2011; Prabhu et al., 2012). در مطالعه حاضر در بافت روده، برخی از آسیب‌های بافتی به‌دلیل قرار گرفتن در معرض علف‌کش پاراکوات در محیط اسیدی شامل تورم سلول‌های گابلت، افزایش تعداد سلول‌های گابلت، نکروز و فرسایش می‌باشد و آسیب‌های بافتی در سختی ۰ میلی‌گرم بر لیتر و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد شامل تخریب ساختار ویلی‌ها و افزایش تعداد سول‌های گابلت می‌باشد همچنین گسترش در ساختار کرکی در بافت روده مشاهده شد. شدت این آسیب‌ها با افزایش زمان بیش‌تر می‌شود. یکی از پارامترهای اصلی تأثیرگذار در مسمومیت آبزیان، عامل زمان است هنگامی که ماهی در معرض غلظت ثابتی از سم باشد با گذشت زمان مقاومت ماهی در برابر سم کاهش پیدا می‌کند و از طرفی سم فرصت بیش‌تری دارد تا بر روی ماهی تأثیر بگذارد (Sharifpour et al., 2003). نکروز سلولی و تخریب ساختار ویلی‌ها از مهم‌ترین آسیب‌های بافت روده در مواجهه با آلاینده‌ها محسوب می‌شود از طرفی، افزایش تعداد سلول‌های گابلت، اولین واکنش محافظتی به مواد سمی محسوب می‌شود که به‌طور موقت اثرات سمی را کاهش می‌دهد (Ribeiro et al., 2006) در مطالعات مشابه، Rahbar و همکاران (۲۰۱۹)، آسیب‌های بافتی سم مالاتیون را در بافت روده در بچه تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) بررسی کردند. نتایج نشان داد که سم مالاتیون باعث نکروز، تخریب ساختار ویلی و تورم سلول‌های گابلت در روده می‌شود و بیان کردند که آسیب‌های بافت روده در غلظت‌های بالاتر با گذشت زمان شدیدتر می‌شود. همچنین اودما و تورم سلول‌های گابلت در بافت روده بچه ماهیان سفید در معرض با سم سوین به مدت ۹۶ ساعت مشاهده شد (Shamloufar et al., 2022).

Colossoma) (2014). Salazar-Lugo و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی اثرات ناشی از پاراکوات در بافت کبد ماهی *Colossoma macropomum* در دماهای مختلف بیان کردند که پاراکوات در دمای ۳۵ درجه باعث بروز نکروز در بافت کبد می‌شود و گزارش دادند که دمای بالا اثرات ناشی از علف‌کش پاراکوات را بر اندام‌های ماهی تشدید می‌کند.

Sayadi و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی اثرات نانوذرات اکسید آهن و یون‌های آهن بر روی سیاه ماهی قناتی (*Capoeta fusca*) بیان کردند که نانوذرات اکسید آهن و یون‌های آهن باعث تخریب ساختار ویلی، افزایش تعداد سلول‌های گابلت، تورم سلول‌های گابلت و گسترش ساختار ویلی در روده می‌گردد و بیان کردند که یون‌های آهن آسیب‌های بیش‌تری بر بافت روده ایجاد می‌کنند همچنین Mansouri و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که نانوذرات اکسید مس در حضور نانوذرات اکسیدتیتانیوم سبب تخریب ساختار ویلی، افزایش تعداد سلول‌های گابلت، تورم سلول‌های گابلت، هایپرپلازی و نکروز در بافت روده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌شود و بیان کردند که مخلوط نانوذرات اکسید مس و نانوذرات اکسیدتیتانیوم آسیب‌های شدیدتری بر بافت روده می‌گذارند. Liu و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی آسیب‌های بافتی فلز کادمیوم بر بافت روده ماهی *Carassius auratus gibelio* گزارش کردند که کادمیوم سبب نکروز، هایپرپلازی، تورم سلول‌های گابلت در بافت روده می‌شود. Rahmani و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که نانوذرات نقره و جیوه باعث افزایش تعداد سلول‌های گابلت و تورم سلول‌های گابلت در روده ماهی کپور معمولی می‌گردد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان بیان کرد که غلظت‌های تحت حاد علف‌کش پاراکوات می‌تواند اثرات نامطلوبی بر بافت آبشش و روده ماهی گامبوزیا داشته باشد که شدت آن بستگی به pH، سختی و دمای محیط دارد و این تغییرات به‌عنوان پاسخ مستقیم و غیر مستقیم این اندام‌ها به علف‌کش پاراکوات می‌باشد.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بیرجند به شماره ۲۵۸۷۶/د/۱۳۹۸ است. بدین وسیله از همکاری و مساعدت حامیان مالی و همکاران اجرایی این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

References

- Abdoli, A., 2000. The Inland Water Fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife, Tehran, Iran. 276 p. (In Persian)
- Abdulkareem, S.I., Owolabi, O.D., 2019. Acute toxicity of zinc oxide nanoparticles on blood cell morphology, haematology and histopathology of *Heterobranchus longifilis*. *Animal Research International* 16(1), 3174-3185.
- Abel, P., Axiak, V., 1990. *Ecotoxicology and the Marine Environment*. Old University Building Press. Malta Austria. pp. 250- 269.
- Ada, F.B., Ekpenyong, E., Ayotunde, E.O., 2012. Haematological, biological and behavioural changes in *Oreochromis niloticus* (Linne 1757) juveniles exposed to Paraquat herbicide. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology* 4(3), 64-74.
- Akhtar, N., Khan, M.F., Tabassum, S., 2019. Sub lethal effects of atrazine on hematology, histopathology and biochemistry of chirruh snowtrout (*Schizothorax esocinus*). *JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences* 29(5), 1447-1454.
- Al-Bairuty, G.A., Boyle, D., Henry, T.B., Handy, R.D., 2016. Sublethal effects of copper sulphate compared to copper nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at low pH: physiology and metal accumulation. *Aquatic Toxicology* 174, 188-198.
- Al-Kawaz, J.M., 2019. Pathological Study of Experimental Glyphosate Toxicity in Mosquito Fish *Gambusia affinis*. In *Journal of Physics: Conference Series* 1294(6), 062023.
- Amirthalingam, T., Velusamy, G., Pandian, R., 2013. Cadmium-induced changes in mitotic index and genotoxicity on *Vigna unguiculata* (Linn.) Walp. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology* 5(3), 57-62.

- 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.
- Banaee, M., 2012. Adverse effect of insecticides on various aspects of fish's biology and physiology. *Insecticides Basic and other Applications* 6, 101-126.
- Banaee, M., Davoodi, M.H., Zoheiri, F., 2013. Histopathological changes induced by paraquat on some tissues of gourami fish (*Trichogaster trichopterus*). *Open Veterinary Journal* 3(1), 36-42.
- Banaee, M., Mirvagefei, R., Rafei, G., Majazi Amiri, B., 2008. Effect of sub-lethal Diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. *International Journal of Environmental Research* 2, 189-198.
- Banaee, M., Mirvaghefi, A.R., Sureda, A., Rafiee, G.R., Ahmadi. K., 2012. Blood Biochemical and Liver Histopathological Changes in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Following Exposure to Sub-Lethal Concentrations of Diazinon. *Journal of Natural Environment* 65(3), 297- 313. (In Persian)
- Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., Ahmadi, K., 2011. Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 99(1), 1-6.
- Beegam, A., Lopes, M., Fernandes, T., Jose, J., Barreto, A., Oliveira, M., Pereira, M.L., 2020. Multiorgan histopathological changes in the juvenile seabream *Sparus aurata* as a biomarker for zinc oxide particles toxicity. *Environmental Science and Pollution Research* 27, 30907-30917.
- Boelsterli, U.A., 2002. Cellular transport and selective accumulation of potentially toxic xenobiotics. In *Mechanistic Toxicology*, pp. 54-73.
- Cabral, J.A., Marques, J.C., 1999. Life history, population dynamics and production of eastern mosquitofish, *Gambusia holbrooki* (Pisces, Poeciliidae), in rice fields of the lower Mondego River Valley, western Portugal. *Acta Oecologica* 20(6), 607-620.
- Capaldo, A., Gay, F., Laforgia, V., 2019. Changes in the gills of the European eel (*Anguilla anguilla*) after chronic exposure to environmental cocaine concentration. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 169, 112-119.
- Das, P.C., Ayyappan, S., Das, B.K., Jena, J.K., 2004. Nitrite toxicity in Indian major carps: sublethal effect on selected enzymes in fingerlings of *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhinus mrigala*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 138(1), 3-10.
- El-Boghdady, N.A., Abdeltawab, N.F., Nooh, M.M., 2017. Resveratrol and montelukast alleviate paraquat-induced hepatic injury in mice: modulation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, pp. 1-10.
- 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.
- Farkas, J., Christian, P., Gallego-Urrea, J.A., Roos, N., Hassellöv, M., Tollefsen, K.E., Thomas, K.V., 2011. Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill cells. *Aquatic Toxicology* 101(1), 117-125.
- Flores-Lopes, F., Thomaz, A.T., 2011. Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. *Brazilian Journal of Biology* 71(1), 179-188.
- Forouzangohar, M., Haghnia, G.H., Koocheki, A., 2005. Organic amendments to enhance atrazine and metamitron degradation in two contaminated soils with contrasting textures. *Soil & Sediment Contamination* 14(4), 345-355.
- Graney Jr, R.L., Cherry, D.S., Cairns, J., 1984. The influence of substrate, pH, diet and temperature upon cadmium accumulation in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) in laboratory artificial streams. *Water Research* 18(7), 833-842.
- Güneş, E., Yerli, S.V., 2011. Effects of deltamethrin on lipase activity in Guppies (*Poecilia reticulata*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 11(3), 473-476.
- Guo, F., Sun, Y.B., Su, L., Li, S., Liu, Z.F., Li, J., Li, J., 2015. Losartan attenuates paraquat-induced pulmonary fibrosis in rats. *Human & Experimental Toxicology* 34(5), 497-505.

- Hassan, M., Shah Norhan, N.A., Mohd Daud, H., Chong, J.L., Abd Halim Shah, M.M., Karim, N.U., 2015. Behavioral and histopathological changes of common Carp (*Cyprinus carpio*) exposed to paraquat. *Journal of Fisheries and Livestock Production* 3(131), 2.
- Hodgson, H., 2004. *A Textbook of Modern Toxicology*. Wiley Interscience Publication, New Jersey, 557.
- Jaramillo-Villa, U., Caramaschi, É.P., 2008. Índices de integridade biótica usando peixes de água doce: uso nas regiões tropical e subtropical. *Oecologia Brasiliensis* 12(3), 442-462.
- Keivany, Y., Nasri, M., Abbasi, K., Abdoli, A., 2016. *Atlas of Inland Water Fishes of Iran*. Iran Department of Environment Press, Tehran, Iran. 234 p. (In Persian)
- Konthonbut, P., Kongtip, P., Nankongnab, N., Tipayamongkhogul, M., Yoosook, W., Woskie, S., 2018. Paraquat exposure of pregnant women and neonates in agricultural areas in Thailand. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15(6), 1163.
- Koohkan, A., Abdi, R., Saliqezadeh, R., Jadi, Y., 2014. Tissue pathology due to subacute paraquat poisoning in liver tissue (*Barbus sharpeyi*). *Comparative Pathology* 11(1), 1167-1172.
- Kumar, N., Ambasankar, K., Krishnani, K.K., Gupta, S.K., Bhushan, S., Minhas, P.S., 2016. Acute toxicity, biochemical and histopathological responses of endosulfan in *Chanos chanos*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 131, 79-88.
- Ladipo, M.K., Doherty, V.F., Oyebadejo, S.A., 2011. Acute toxicity, behavioural changes and histopathological effect of paraquat dichloride on tissues of catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of Biology* 3(2), 67.
- Laporte, J.M., Truchot, J.P., Ribeyre, F., Boudou, A., 1997. Combined effects of water pH and salinity on the bioaccumulation of inorganic mercury and methylmercury in the shore crab *Carcinus maenas*. *Marine Pollution Bulletin* 34(11), 880-893.
- Liu, H., Wu, Q., Chu, T., Mo, Y., Cai, S., Chen, M., Zhu, G., 2018. High-dose acute exposure of paraquat induces injuries of swim bladder, gastrointestinal tract and liver via neutrophil-mediated ROS in zebrafish and their relevance for human health risk assessment. *Chemosphere* 205, 662-673.
- Liu, J., Pang, J.J., Tu, Z.C., Wang, H., Sha, X.M., Shao, Y.H., Liu, G.X., 2019. The accumulation, histopathology, and intestinal microorganism effects of waterborne cadmium on *Carassius auratus gibelio*. *Fish Physiology and Biochemistry* 45(1), 231-243.
- Lotfi, Z., Borhani, S., Jamili, S., Kadkhodai, A., 2012. Toxic effect of copper sulfate on gill and liver tissue of *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Animal Environment* 5(4), 79-84. (In Persian)
- Ma, J., Li, Y., Niu, D., Li, Y., Li, X., 2014. Immunological effects of paraquat on common carp, *Cyprinus carpio* L. *Fish and Shellfish Immunology* 37(1), 166-172.
- Mansouri, B., Maleki, A., Davari, B., Johari, S.A., Shahmoradi, B., Mohammadi, E., Shahsavari, S., 2016. Histopathological effects following short-term coexposure of *Cyprinus carpio* to nanoparticles of TiO₂ and CuO. *Environmental Monitoring and Assessment* 188(10), 575.
- Mansouri, B., Maleki, A., Johari, S.A., Shahmoradi, B., Mohammadi, E., Davari, B., 2017. Histopathological effects of copper oxide nanoparticles on the gill and intestine of common carp (*Cyprinus carpio*) in the presence of titanium dioxide nanoparticles. *Chemistry and Ecology* 33(4), 295-308.
- Martinez, C.B.R., Nagae, M.Y., Zaia, C.T.B.V., Zaia, D.A.M., 2004. Acute morphological and physiological effects of lead in the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Brazilian Journal of Biology* 64(4), 797-807.
- Martins, R.J., Pardo, R., Boaventura, R.A., 2004. Cadmium (II) and zinc (II) adsorption by the aquatic moss *Fontinalis antipyretica*: effect of temperature, pH and water hardness. *Water Research* 38(3), 693-699.
- Mokhayer, B., 2010. *Diseases of Cultured Fishes*. University of Tehran. 638 p. (In Persian).
- Mubiana, V.K., Blust, R., 2007. Effects of temperature on scope for growth and accumulation of Cd, Co, Cu and Pb by the marine bivalve *Mytilus edulis*. *Marine Environmental Research* 63(3), 219-235.
- Noureen, A., Jabeen, F., Tabish, T.A., Ali, M., Iqbal, R., Yaqub, S., Shakoor Chaudhry, A., 2021. Histopathological changes and antioxidant responses in common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to copper nanoparticles. *Drug and Chemical Toxicology*, 44(4), 372-379.
- OECD., 2019. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems, Test guideline No. 203: Fish, Acute Toxicity Testing*. OECD Publishing.

- Ogunwole, G.A., Uju, S., Saliu, J.K., 2018. Paraquat Toxicity on Selected Biomarkers in *Clarias gariepinus*. IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology 12(5), 66-75.
- Patel, J.M., Bahadur, A., 2010. Histopathological alternations in *Catla catla* induced by chronic exposure of copper ions. Journal of Cell and Tissue Research 10(3), 2365-2370.
- Pirsaheb, M., Azadi, N.A., Miglietta, M.L., Sayadi, M.H., Blahova, J., Fathi, M., Mansouri, B., 2019. Toxicological effects of transition metal-doped titanium dioxide nanoparticles on goldfish (*Carassius auratus*) and common carp (*Cyprinus carpio*). Chemosphere, 215, 904-915.
- Prabhu, S., Poulouse, E.K., 2012. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. International Nano Letters 2(1), 32.
- Pyke, G.H., 2005. A review of the biology of *Gambusia affinis* and *G. holbrooki*. Reviews in Fish Biology and Fisheries 15(4), 339-365.
- Rahbar, M., Sattari, M., Alaf Noirian, H., Ahmadinejad, M., Khara, H., Safari, R., 2019. The effect of Malathion on the activity of some digestive enzymes and intestinal tissue pathology in juvenile Iranian sturgeon *Acipenser persicus*. Aquatic Physiology and Biotechnology 7 (2), 107-129. (In Persian)
- Rahmani, R., Hamesadeghi, Y., Mansouri, A., 2019. Toxicity effects of mercury and silver nanoparticles on common carp (*Cyprinus carpio*). Comparative Clinical Pathology 28(3), 811-816.
- Ren, M., Wang, Y.M., Zhao, J., Zhao, J., Zhao, Z.M., Zhang, T.F., Peng, S.Q., 2014. Metallothioneins attenuate paraquat-induced acute lung injury in mice through the mechanisms of anti-oxidation and anti-apoptosis. Food and Chemical Toxicology 73, 140-147.
- Ribeiro, C.O., Neto, F.F., Mela, M., Silva, P.H., Randi, M.A.F., Rabitto, I.S., Pelletier, E., 2006. Hematological findings in Neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead, and tributyltin chloride. Environmental Research 101(1), 74-80.
- Saaristo, M., Lagesson, A., Bertram, M.G., Fick, J., Klaminder, J., Johnstone, C.P., Brodin, T., 2019. Behavioural effects of psychoactive pharmaceutical exposure on European perch (*Perca fluviatilis*) in a multi-stressor environment. Science of the Total Environment 655, 1311-1320.
- Saber, T., 2011. Histological adaptation to thermal changes in gills of common carp fishes *Cyprinus carpio* L. Rafidain Journal of Science 22(1), 46-55.
- Salazar-Lugo, R., Mata, C., Oliveros, A., Rojas, L.M., Lemus, M., Rojas-Villarroel, E., 2011. Histopathological changes in gill, liver and kidney of Neotropical fish *Colossoma macropomum* exposed to paraquat at different temperatures. Environmental Toxicology and Pharmacology 31(3), 490-495.
- Sandstrom, J., Broyer, A., Zoia, D., Schilt, C., Greggio, C., Fournier, M., Monnet-Tschudi, F., 2017. Potential mechanisms of development-dependent adverse effects of the herbicide paraquat in 3D rat brain cell cultures. Neurotoxicology 60, 116-124.
- Sayadi, M.H., Mansouri, B., Shahri, E., Tyler, C.R., Shekari, H., Kharkan, J., 2020. Exposure effects of iron oxide nanoparticles and iron salts in blackfish (*Capoeta fusca*): Acute toxicity, bioaccumulation, depuration, and tissue histopathology. Chemosphere 125900.
- Sayadi, M.H., Pavlaki, M.D., Loureiro, S., Martins, R., Tyler, C.R., Mansouri, B., Shekari, H., 2022. Co-exposure of zinc oxide nanoparticles and multi-layer graphenes in blackfish (*Capoeta fusca*): evaluation of lethal, behavioural, and histopathological effects. Ecotoxicology 31(3), 425-439.
- Sayadi, M.H., Pavlaki, M.D., Martins, R., Mansouri, B., Tyler, C.R., Kharkan, J., Shekari, H., 2021. Bioaccumulation and toxicokinetics of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) co-exposed with graphene nanosheets (GNs) in the blackfish (*Capoeta fusca*). Chemosphere 269, 128689.
- Sayed, A.E.D.H., Mekawy, I.A., Mahmoud, U.M., Nagiub, M., 2020. Histopathological and histochemical effects of silver nanoparticles on the gills and muscles of African catfish (*Clarias gariepinus*). Scientific African 7, e00230.
- Schlenk, D., Barson, W.H., 2001. Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts; University of California. Riverside, California. Taylor and Francis Press 1(1), 1-40.
- Shahzad, K., Khan, M.N., Jabeen, F., Kosour, N., Chaudhry, A.S., Sohail, M., Ahmad, N., 2019. Toxicity of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) in tilapia (*Oreochromis mossambicus*): tissue

- accumulation, oxidative stress, histopathology and genotoxicity. International Journal of Environmental Science and Technology 16(4), 1973-1984.
- Shamloufar, M., Jorjani, S., Qelichi, A., 2014. Determination of LC50 and evaluation of tissue lesions caused by Swine toxin in whitefish *Rutilus frisii kutum*, Journal of Aquaculture Development 9, 43-52. (In Persian)
- Sharifpour, A., Soltani, M., Javadi, M., 2003. Determination of LC50 and tissue lesions due to endosulfan toxin in *Huso huso*, Iranian Journal of Fisheries 12 (4), 69-84. (In Persian).
- Singh, D., Nath, K., Trivedi, S.P., Sharma, Y.K., 2008. Impact of copper on haematological profile of freshwater fish, *Channa punctatus*. Journal of Environmental Biology 29(2), 253.
- Talib, A.H., AL-Rudainy, A.J., Gathwan, M.A., Thakir, B.M., 2018. The acute toxicity of herbicide roundup ultra in mosquito fish *Gambusia affinis*. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences 13, 9-15.
- Tao, S., Long, A., Dawson, R.W., Xu, F., Li, B., Cao, J., Fang, J., 2002. Copper speciation and accumulation in the gill microenvironment of carp (*Cyprinus carpio*) in the presence of kaolin particles. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 42(3), 325-331.
- Tejada, S., Sureda, A., Roca, C., Gamundi, A., Esteban, S., 2007. Antioxidant response and oxidative damage in brain cortex after high dose of pilocarpine. Brain Research Bulletin 71(4), 372-375.
- United Nations, 2009. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). United Nations Publications.
- Van, H.D., Vosloo, A., Nikinmaa, M., 2004. Effects of short-term copper exposure on gill structure, methallothionein and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology 69, 271-280.
- Velmurugan, B., Cengiz, E.I., Yolcu, M., Uğurlu, P., Selvanayagam, M., 2018. Cytological and histological effects of pesticide chlorpyrifos in the gills of *Anabas testudineus*. Drug and Chemical Toxicology 1-6.
- Vutukuru, S.S., Suma, C.H., Madhavi, K.R., Juveria, J., Pauleena, J.S., Rao, J.V., Anjaneyulu, Y., 2005. Studies on the development of potential biomarkers for rapid assessment of copper toxicity to freshwater fish using *Esomus danricus* as model. International Journal of Environmental Research and Public Health 2(1), 63-73.
- Weiner, E.R., 2010. Applications of environmental chemistry: a practical guide for environmental professionals. CRC press, 288.
- Yamamoto, F.Y., Garcia, J.R.E., Kupsco, A., Ribeiro, C.O., 2017. Vitellogenin levels and others biomarkers show evidences of endocrine disruption in fish species from Iguaçú River-Southern Brazil. Chemosphere 186, 88-99.
- Yarahmadi, Z., Movahedinia, A.A., Rastegar, S., 2013. Gill histology and endocrine disruption in *Liza klunzingeri* exposed of Naphthalene stress. Journal of Animal Environment 5(1), 171- 177. (In Persian)
- Yuen, B.B., Wong, C.K., Woo, N. Y.S., Au, D.W., 2007. Induction and recovery of morphofunctional changes in the intestine of juvenile carnivorous fish (*Epinephelus coioides*) upon exposure to foodborne benzo [a] pyrene. Aquatic Toxicology 82(3), 181-194.

