

بررسی اثر باکتری آئروموناس هیدروفیلا بر ساختار بافتی کبد و اندام‌های ایمنی ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*)

• فاطمه آزادبخت (نویسنده مسئول)

گروه زیست‌شناسی دریا دانشکده علوم دریایی دانشگاه علوم و فنون

دریایی خرمشهر

• سولماز شیرعلی

عضو هیات علمی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

• محمدتقی رونق

عضو هیات علمی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

• اسحاق زمانی

عضو هیات علمی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

تاریخ دریافت: ۲۸-۰۷-۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: ۱۵-۰۲-۱۳۹۷

Email: f.azadbakht6776@gmail.com



چکیده

یکی از مشکلات عمده و قابل توجه در پرورش ماهیان و آبی‌پروری در کل دنیا، بیماری‌های باکتریایی است. باکتری آئروموناس هیدروفیلا یک عامل بیماری‌زای فرصت طلب است. این باکتری مسئول گستره وسیعی از بیماری‌های باکتریایی در ماهیان می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی ساختار بافتی کبد، طحال و راس کلیه در ماهی شانک زردباله تحت مواجهه با باکتری آئروموناس هیدروفیلا به روش غوطه‌وری بود. به همین منظور، ۹۰ ماهی شانک زردباله به مدت ۳ هفته تحت مواجهه با غلظت‌هایی شامل (10^6 Cfu/ml و 10^2 Cfu/ml) از آئروموناس هیدروفیلا قرار گرفتند. پس از تشریح ماهی نمونه‌های بافتی از کبد، طحال و راس کلیه اخذ و در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد جهت تثبیت شدن قرار داده شد. مقاطعی به ضخامت ۵-۶ میکرومتر از بافت‌ها تهیه گردیده و با هماتوکسیلین-ائوزین برای بررسی با میکروسکوپ نوری رنگ‌آمیزی شدند. بر طبق نتایج، تغییرات آسیب‌شناختی در اندام کبد شامل، هیپرتروفی هسته، هیپرتروفی یاخته‌ای، وجود یاخته‌هایی با اشکال نامنظم، واکوتله شدن یاخته‌های کبدی، قرار گرفتن هسته در موقعیت جانبی، اتساع سینوزوئیدی، اتساع فضای دیس، واکوتله شدن هسته، دژنره شدن سیتوپلاسم، تجمعات ملانوماکروفاژی، احتقان خون، بافت مردگی، دژنره شدن هسته و خونریزی بود. در اندام طحال تغییرات ساختار بافتی شامل افزایش تجمعات و تراکم ملانوماکروفاژی در تمامی نمونه‌ها بود. تغییرات آسیب‌شناختی مشاهده شده در راس کلیه شامل خونریزی، تجمعات ملانوماکروفاژی، کشیده شدن غشای پایه لوله‌های کلیوی بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عفونت ایجاد شده به وسیله آئروموناس هیدروفیلا باعث تغییر در ساختار بافتی کبد و اندام‌های ایمنی (طحال و راس کلیه) می‌شود.

کلمات کلیدی: کبد، طحال، راس کلیه، شانک زردباله، آئروموناس هیدروفیلا

- Veterinary Researches & Biological Products No 120 pp: 89-95

Effect of *Aeromonas hydrophila* in the tissue structure of liver and immune organs in *Acanthopagrus latus*

By: Azadbakht, F., (Corresponding Author) Department of Marine biology, Faculty of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr. Shirali, S., Assistant Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khoramshahr University of Marine Science and Technology, Khoramshahr, Iran. Ronagh, M.T., Assistant Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khoramshahr University of Marine Science and Technology, Khoramshahr, Iran. and Zamani, E., Assistant Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khoramshahr University of Marine Science and Technology, Khoramshahr, Iran.

Received: 2017-10-20

Accepted: 2018-05-05

Email: f.azadbakht6776@gmail.com

Bacterial diseases in cultured fish are considering the main problem with aquaculture system in world. *Aeromonas hydrophila* is an opportunist pathogen in fish and responsible for wide range of fish diseases. The aim of this study was to assess the structure of tissue liver, spleen and head kidney in Yellow fin Sea bream *Acanthopagrus latus*, under exposure to the *Aeromonas hydrophila* by immersion way. In this regard, 90 *A. latus* were exposed to sub lethal concentrations of *Aeromonas hydrophila* (103,106CFU/ml) for 3 weeks. The samples tissues were taken from the liver, spleen and head kidney after fish dissection and were fixed 10% neutral buffered formalin. Five-Six micrometer thick sections were obtained and were stained in hematoxylin-eosin for examination in light microscopy. According to the results, the pathological changes in the liver included vacuolation of hepatocytes, nuclear hypertrophy, focal necrosis, dilation of sinusoid and diss spaces, melanomacrophages aggregates and hemorrhage. According to the results, the pathological changes in the spleen included an increase in melano-macrophage aggregates in the all samples. The histopathological changes in the head kidney included an increase in melano-macrophage aggregates, hemorrhage, lifting of tubular basement membrane and Empty spaces between cells. The results of the present study showed that the alternations of liver and immune organs tissue structure and function in *Achantopagrus latus* caused by the *A. hydrophila* infection.

Keyword: Liver, Spleen, Head kidney, *Acanthopagrus latus*, *Aeromonas hydrophila*

پوستی و مرگ در بین ماهیان است (۳). کبد نقش مهمی در خنثی کردن، دفع سموم و تبادلات زیستی داشته و به همین دلیل مستعد ابتلا به بسیاری از آسیب‌ها بافتی و سوخت و سازی می‌باشد (۱۲). موقعیت کبد دلیل اصلی اهمیت آن در جذب، ذخیره سازی، سوخت و ساز، توزیع مجدد و دفع مواد سمی محیطی است و باعث می‌شود که کبد به عنوان یک اندام هدف، برای مواد سمی و آلودگی‌ها باشد (۵). الیوریا و همکاران در سال ۲۰۰۵ با مطالعه میکروسکوپی بافت‌ها، تغییرات شدیدی در ساختار بافتی کبد ماهیانی که در معرض آلاینده‌ها و ریزسازواره‌ها قرار گرفته بودند، گزارش نموده‌اند (۱۷). بنابراین به نظر می‌رسد که مطالعات آسیب شناختی این اندام ابزار مناسبی جهت بررسی اثر آلودگی‌ها بر ماهیان به عنوان سنجش سلامت این جانوران مناسب باشد. طحال به عنوان یکی از اندام‌های ایمنی در ماهیان استخوانی دارای وظایفی از قبیل خون سازی به دام انداختن پادگن‌ها، تسهیل تحریک و تکثیر لنف یاخته‌ها است. راس کلیه به عنوان یک اندام لنفاوی و خون ساز اصلی، در برداشت لنف یاخته‌ها و تولید پادتن‌ها دخالت دارد. بنابراین این دو اندام به عنوان اندام‌های ایمنی در برابر عفونت‌ها و تنش‌ها دچار تضعیف و تغییر می‌شوند (۱۹ و ۱۱). هدف از این مطالعه بررسی تغییرات آسیب شناختی کبد، طحال و راس کلیه به

مقدمه

ریزسازواره‌های ایجادکننده بیماری در آبزیان در طبقه‌بندی‌های مختلفی قرار دارند. در این بین باکتری‌ها و بیماری‌های ناشی از آن عمده‌ترین و شناخته‌ترین عوامل عفونی هستند که باعث بیماری در ماهیان و انتقال آن از آبزیان به انسان می‌شوند (۱). باکتری آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا در میان آبزیان است. این باکتری سبب ایجاد گستره وسیعی از بیماری‌های باکتریایی بین حیوانات دریایی، پستانداران و انسان می‌شود (۲). این باکتری به صورت طبیعی جزء فلور روده ماهیان و محیط‌های آبی محسوب می‌شود. در واقع این باکتری فرصت طلب است و چنانچه ماهی با شرایط غیرطبیعی مانند تغییر شرایط فیزیکی بدن، تنش، کمبود مواد غذایی، کمبود اکسیژن و یا آلودگی آب مواجهه شود، می‌تواند باعث بیماری‌زایی در ماهی شود. این باکتری در آب‌های شیرین و لب شور وجود دارد و در گونه‌های متعددی از ماهیان آب شیرین، لب شور و حتی شور ایجاد بیماری می‌کند و سبب بیماری گند خونی (سپتی سمی) خون ریزی دهنده می‌شود. علائم بالینی این بیماری به صورت خونریزی در پوست، پایه باله‌ها، مخرج، شکم، محوطه دهانی، آبشش، کبد، طحال و روده است. همچنین این باکتری عامل زخم‌های

مشخصی از باکتری جهت غوطه‌ور کردن در محیط نگهداری ماهی (تانک) از روش تهیه منحنی جذب نوری/ غلظت استفاده گردید. جهت تهیه یک سوسپانسیون پایه از باکتری تازه ۲-۳ لوپ برداشته و در محیط کشت آگار مغذی مایع کشت داده شد. در نهایت به منظور اینکه سوسپانسیون نهایی حاوی بیشترین باکتری زنده باشد در دوز 10^2 به مدت ۱۸ ساعت و در دوز 10^6 به مدت ۲۴ ساعت در آنکوباسیون در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از رشد باکتری محتویات لوله را در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و در نهایت با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد و در مرحله آخر برای اطمینان از رسیدن توده باکتریایی به تعداد باکتری مورد نظر در هر دو دوز مورد نظر با لوله‌های استاندارد مک فارلند مقایسه شد (۱۲).

تهیه مقاطع بافتی

جهت تهیه مقاطع بافتی در مطالعه حاضر، مراحل عمل‌آوری بافت با استفاده از دستگاه هیستوتکینت (RX-11B, tissue tek rotary, Japan) تحت برنامه زمان بندی شده در آزمایشگاه تحقیقات بافت‌شناسی در دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انجام گرفت. آب‌گیری بافت‌های تثبیت شده در فرمالین ۱۰ درصد در سری‌های افزایشی الکل (۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد) انجام و نمونه‌های بافتی پس از شفاف‌سازی توسط گزبلول، پارافینه شدند. سپس از نمونه‌ها مقاطعی با ضخامت ۵-۶ میکرومتر توسط دستگاه ریز بر (میکروتوم) مدل (LEICA- RM۲۲۴۵) تهیه و با استفاده از هماتوکسیلین-اوتوزین رنگ‌آمیزی انجام شد (۴). مطالعه آسیب‌شناختی مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی شده، با استفاده از بزرگ‌نمایی‌های مختلف میکروسکوپ نوری (Olympus)، انجام شد. تصاویر مناسب توسط دوربین نصب شده بر روی میکروسکوپ (Microscope Dinolite Digital)، مجهز به نرم افزار Dino Capture، تهیه، ذخیره و با گروه شاهد مقایسه و مورد ارزیابی و تحلیل قرار گرفت. به منظور ارزیابی نتایج آسیب‌شناختی کبد در ماهی شانک زردباله بر اساس رده‌بندی انجام شده توسط کامارگو و مارتینز (۸)، از درجه صفر تا سه دسته‌بندی شدند جدول (۱).

نتایج

تغییرات آسیب‌شناختی کبد

بافت کبد جدا شده از ماهیان در گروه شاهد فاقد ضایعات بافتی بود. در لوبول‌های کبدی هیپاتوسیت‌ها (یاخته‌های کبدی) به شکل صفحاتی با آرایش شعاعی در اطراف یک ورید مرکزی دیده شد و سینوزوئیدهای کبدی در فاصله میان صفحات یاخته‌های کبدی قرار داشتند. یاخته‌های کبد به شکل یاخته‌هایی چند وجهی دارای هسته بزرگ روشن با هستک مشخص و ستوپلاسم کاملاً اسیدوفیلی قابل مشاهده بودند، شکل (۱). نتایج مشاهده شده در ساختار بافتی کبد در ماهیان تیمار شده با آئروموناس هیدروفیلا شامل هیپرتروفی هسته، هیپرتروفی یاخته، یاخته‌هایی با اشکال نامنظم، واکوئل شدن یاخته‌های کبدی، قرار گرفتن هسته در موقعیت جانبی، نفوذ لوکوسیتی، اتساع سینوزوئیدی، اتساع فضای دیس، واکوئل شدن هسته، دژنره شدن سیتوپلاسم، تجمع‌ات ملائوماکروفاژی، احتقان خون، بافت مردگی، دژنره شدن هسته و خونریزی بود، شکل (۱).

عنوان شاخص سلامت ماهی در مواجهه با عفونت ناشی از باکتری بود. ماهی شانک زرد باله با نام علمی (*Acanthopagrus latus*) و نام انگلیسی یلو فین سی بریم از خانواده اسپاریده می‌باشد و از گونه‌های مهم و تجاری خلیج فارس محسوب می‌شود. این ماهی در کشورهای حاشیه خلیج فارس از بازار بسیار خوبی برخوردار می‌باشد و دارای میزان صید بالایی است. همچنین این گونه گزینه‌ی بسیار خوبی جهت پرورش محسوب می‌شود، زیرا علاوه بر ارزش اقتصادی و شیلاتی بالا، قابلیت سازگاری در شوری‌های مختلف را نیز دارد (۹). باکتری آئروموناس هیدروفیلا یکی از مهم‌ترین و جدی‌ترین ریزسازواره‌های موجود در مزارع پرورش ماهی و به طور کلی در آبی‌پروری است. با توجه به اینکه تا کنون دست کم در ایران به روش غوطه‌وری (روش به کار برده شده در انجام پژوهش حاضر) مطالعه‌ای در این خصوص انجام پذیرفته و اکثر مطالعات به روش تزریقی بوده است، بنابراین انجام پژوهش حاضر ضرورت پیدا کرد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش و تیمار بندی ماهیان

در این مطالعه به تعداد ۹۰ ماهی شانک زرد باله به طور تصادفی، توسط تور پرتابی از تالاب نیشکر واقع در حوزه شهرستان خرمشهر استان خوزستان صید شد. ماهیان صید شده با تانک‌های مخصوص حمل ماهی مجهز به پمپ هوا به دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی منتقل شدند. ماهیان تا قبل از زمان آزمایش اصلی در تانک‌های ۳۰۰ لیتری که به طور کامل با آب تالاب (محل صید ماهیان) هوادهی و فیلتر شده بود نگهداری شدند. دوره سازش هفت روز در نظر گرفته شد. در طول دوره سازش ماهیان جهت دیدن علائم غیرطبیعی بررسی می‌شدند و ماهیانی که دارای نشانه‌های بارزی از بیماری، بی حال و شنای ناهماهنگ بودند، از آزمایش حذف می‌شدند. میانگین دما ۲۲/۵ درجه سانتی‌گراد، شوری ۱۴ گرم بر لیتر و pH اندازه‌گیری شده ۷/۸ بود که هر کدام به طور روزانه بررسی می‌شدند. همچنین ماهیان در طول دوره تحت چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند. با شروع آزمایش اصلی، جهت طراحی و تیمار بندی ماهیان نه تانک در نظر گرفته شد، به طوری که در هر تانک ۱۰ عدد ماهی (با در نظر گرفتن تلفات) قرار داده شد. تقسیم بندی تانک‌ها به صورتی انجام گرفت که سه تانک اول به عنوان گروه شاهد و شش تانک دیگر به عنوان دو گروه تیمار در نظر گرفته شد. ماهیان در قالب سه گروه مجزا تقسیم‌بندی شدند. ماهیان گروه اول هیچ دوزی از باکتری را دریافت نکردند و به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. گروه دوم (تیمار اول با دوتکرار) و گروه سوم (تیمار دوم با دو تکرار) به ترتیب مقدار 10^2 Cfu/ml و 10^6 Cfu/ml از باکتری آئروموناس هیدروفیلا را به روش غوطه‌وری دریافت کردند.

تهیه سوسپانسیون باکتریایی

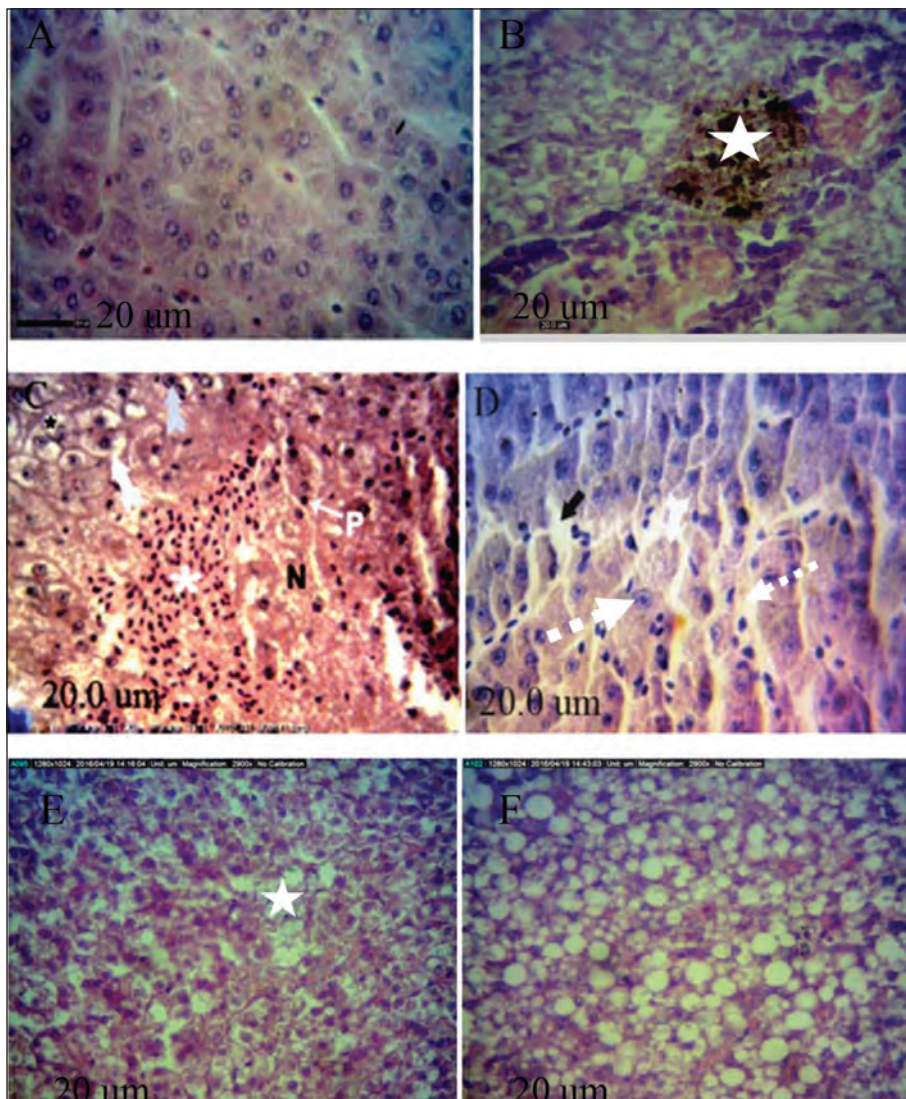
در این پژوهش جهت تهیه سوسپانسیون باکتریایی، ابتدا باکتری آئروموناس هیدروفیلا با شماره استاندارد ATCC۷۹۶۶ از بانک اطلاعات میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد. از باکتری تهیه شده در محیط کشت آگار مغذی مایع کشت داده شد و به منظور تهیه رقت

تغییرات آسیب شناختی طحال

در نمونه‌های بافتی طحال اخذ شده در گروه ماهیان شاهد هیچ ضایعه آسیب‌شناختی مشاهده نشد و طحال دارای ساختار طبیعی بود. در این نمونه‌ها پولپ قرمز، پولپ سفید و رگ‌های خونی قابل مشاهده بود، شکل (۲). در تمام نمونه‌های طحال تیمار شده با باکتری آئروموناس هیدروفیلا تجمعات ملانوماکروفاژی مشاهده شده، تراکم و تعداد تجمعات در نمونه‌های مختلف متفاوت بود، شکل (۲).

تغییرات آسیب شناختی راس کلیه

در نمونه‌های بافتی اخذ شده از راس کلیه در ماهیان گروه شاهد ضایعه بافتی مشاهده نشد و این بافت دارای ساختار طبیعی بود. ساختار طبیعی راس کلیه متشکل از بافت لنفاوی و یاخته‌های خونی بالغ و نابالغ بود، شکل (۳). طبق نتایج حاصل از مطالعه ساختار بافتی راس کلیه در ماهی شانگ زرد باله مشاهده شد که ساختار بافتی این اندام در مواجهه با عفونت ناشی از آئروموناس هیدروفیلا دچار تغییراتی از قبیل خونریزی،



شکل ۱. تصاویر میکروسکوپی نوری از بافت کبد ماهی شانگ زرد باله در گروه شاهد و گروه‌های تیمار شده به عفونت آئروموناس هیدروفیلا. (H&E; $\times 2900$).

A: ساختار بافتی کبد در گروه شاهد. هپاتوسیت‌ها با هسته کروماتین و مشخص (پیکان سیاه)، سینوزوئیدها (پیکان سفید منقطع).

B: تجمعات ملانوماکروفاژی (ستاره سفید)

C: خونریزی (ستاره سفید)، P پیکنوز هسته (پیکان سفید)، N نکروز کانونی، هیپرتروفی سلول کبدی (پیکان سفید)، هیپرتروفی هسته هپاتوسیت (پیکان خاکستری)، واکنش شدن هپاتوسیت (ستاره سیاه).

D: اتساع سینوزوئیدی (پیکان سیاه)، دژنراسیون سلول کبدی (پیکان سفید)، هیپرتروفی هپاتوسیت (پیکان سیاه منقطع)، جابه جایی هسته هپاتوسیت به یک طرف (پیکان سفید منقطع).

E: دژنراسیون سلول کبدی (ستاره سفید)

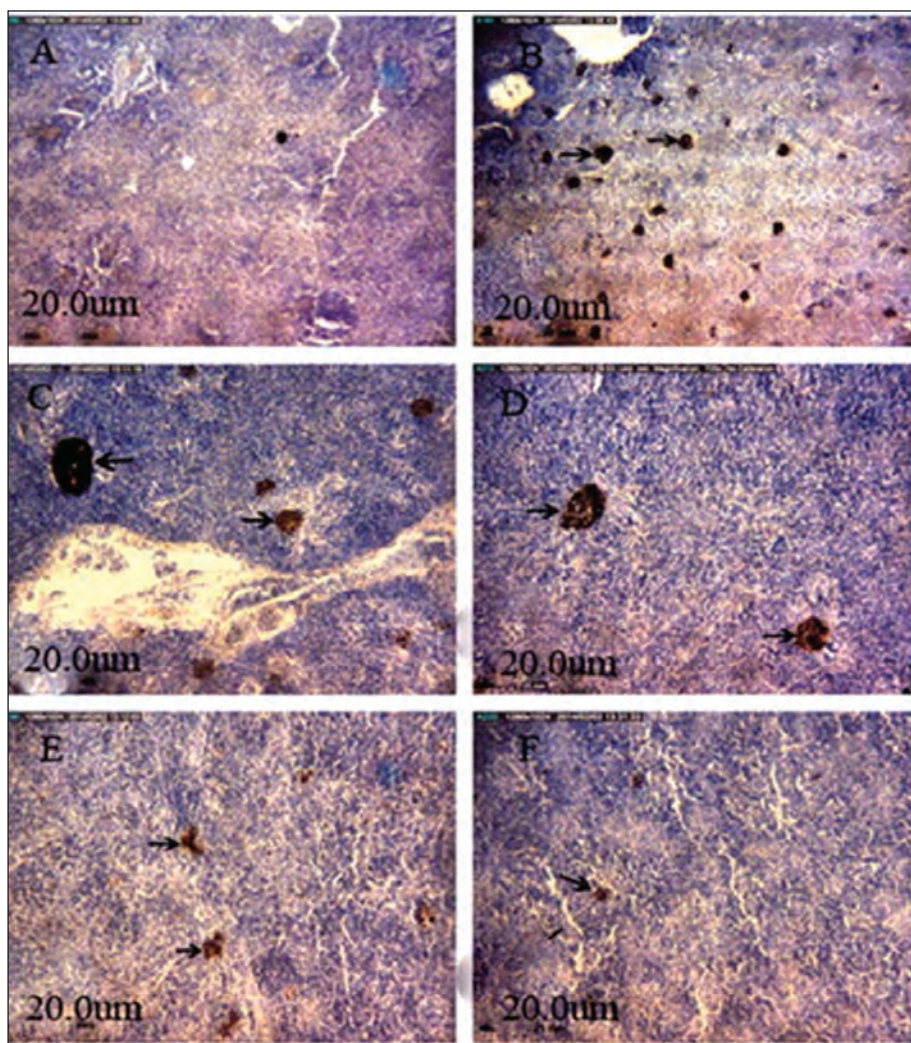
F: واکنش شدن شدید در هپاتوسیتها

مختلف و همچنین دیگر ریزسازواره‌ها بر روی بافت‌های مختلف نظیر کبد، طحال، راس کلیه و آبشش در ماهیانی که در معرض آب‌های آلوده قرار داشتند توسط محققین مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته است (۲۰). در مطالعه صورت گرفته توسط کومار و همکاران در سال ۲۰۱۶ اثر باکتری آئروموناس هیدروفیلا بر کبد ماهی قزل آلی رنگین کمان، تغییرات بافتی مانند تخریب سلول‌های کبدی، اتساع سینوزوئیدها و پر خونی در رگ‌های کبدی مشاهده شد. اسپلنک و بنسون در سال ۲۰۰۱ با بررسی اثر آئروموناس هیدروفیلا به مدت ۱۴ روز در دوزی به اندازه ۱۰^۵ و ۱۰^۶ بر کبد، طحال و راس کلیه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغییراتی شامل حفره دار شدن یاخته‌های کبدی، بزرگ شدن هسته در یاخته‌های کبدی، تجمع‌های ملانوماکروفاژی را در طحال و کشیده شدن غشای پایه در توبول‌های راس کلیه را گزارش نمودند. از آنجایی که کبد ماهی مکانی جهت سمیت زدایی انواع سموم و مواد شیمیایی است لذا

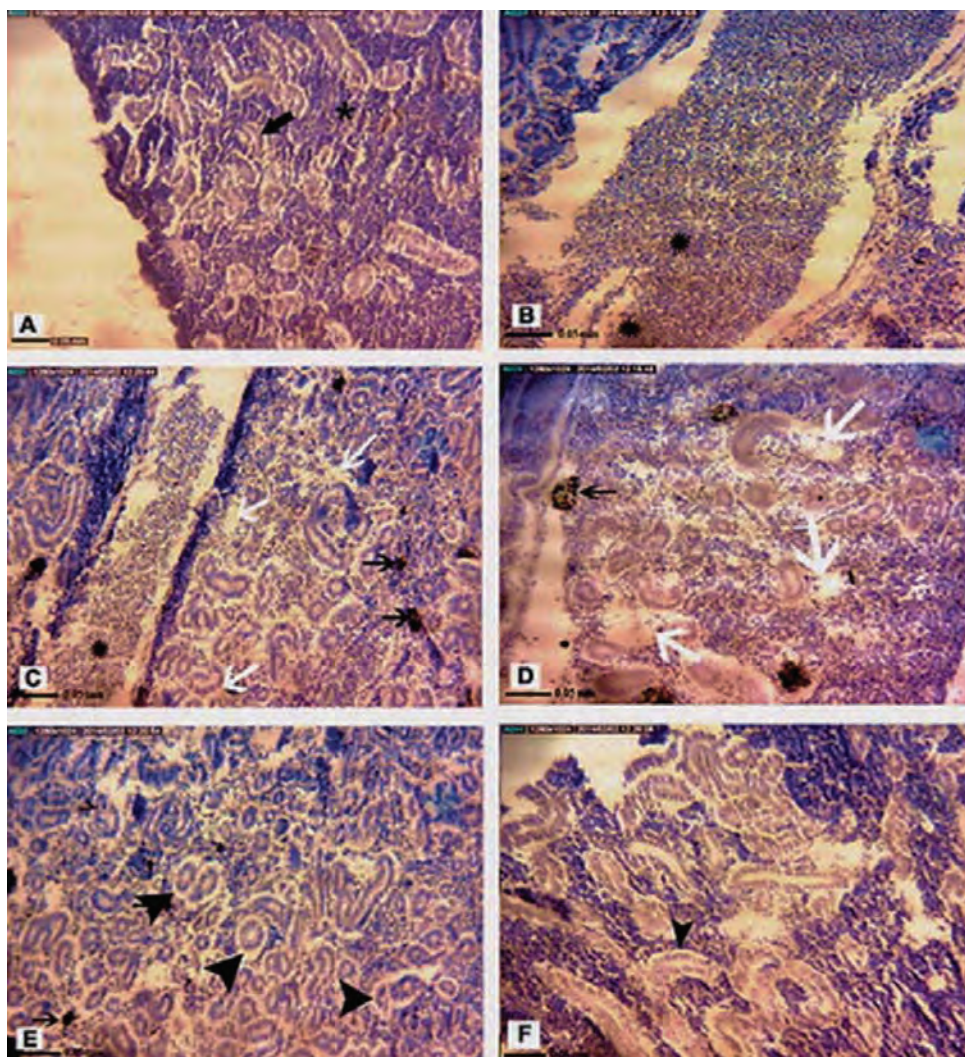
تجمع‌های ملانوماکروفاژی، کشیده شدن غشای پایه لوله‌های کلیوی و خالی شدن فضای بین یاخته‌ها شده است، شکل (۳).

بحث

تغییرات آسیب‌شناختی اندام‌های ماهی به عنوان شاخصی ارزشمند در پایش زیستی محیط‌های دریایی و ارزیابی اثرات عوامل بیماری‌زا مورد مطالعه قرار گرفته است. اندام‌های ایمنی مانند طحال، راس کلیه و همچنین کبد از مهم‌ترین بافت‌های هدف عوامل عفونی و آلاینده‌ها هستند. این اندام‌ها در نتیجه مواجهه با سموم عفونی و غیرعفونی دچار تغییراتی در ساختار بافتی و عملکردیشان می‌شوند (۱۳ و ۱۵). در این پژوهش، اثر باکتری آئروموناس هیدروفیلا به عنوان یکی از خطرناک‌ترین عوامل بیماری‌زا در محیط‌های آبی بر روی بافت‌های کبد، طحال و راس کلیه در ماهی شانک زرد باله مورد بررسی قرار گرفت. تاثیرات باکتری‌های



شکل ۲. تصاویر میکروسکوپ نوری از ساختار بافتی طحال ماهی شانک زرد باله در گروه شاهد و گروه های تیمار شده به عفونت آئروموناس هیدروفیلا (H&E; x2900). افزایش مراکز ملانوماکروفاژی به صورت انفرادی و تجمع در نمونه‌های مختلف تیمار شده (فلش سیاه).



شکل ۳. A, B, C, D, E, F. تصاویر میکروسکوپ نوری از ساختار بافتی راس کلیه ماهی شانگ زرد باله در گروه شاهد و گروه های تیمار شده به عفونت آئروموناس هیدروفیلا (H&E; ×2900).

A: ساختار بافتی راس کلیه در گروه شاهد. توپولهای کلیوی (فلش سیاه)، بافت لنفوییدی (ستاره سیاه). B: خونریزی (ستاره سیاه). C, D: مراکز ملانوماکروفاژ (فلش سیاه)، خونریزی (ستاره سیاه)، خالی شدن فضاهای بین سلولی (فلش سفید) مراکز ملانوماکروفاژی (ستاره سیاه)، خالی شدن فضاهای بین سلولی (فلش سفید). E: کشیده شدن غشای پایه توپولها (سر پیکان سیاه). F: E

جدول ۱- شدت تغییرات آسیب شناختی کبد. مرحله I: تغییرات بافتی اندک، مرحله II: تغییرات بافتی متوسط، III: تغییرات بافتی شدید.

تغییرات آسیب شناختی کبد	مرحله آسیب
هیپرتروفی هسته، هیپرتروفی یاخته، هسته‌هایی با اشکال نامنظم، واکوئله شدن سلول‌های کبدی، قرارگرفتن هسته، در موقعیت جانبی، اتساع سینوزوئیدی، اتساع فضای دیس	مرحله I
واکوئله شدن هسته، دژنره شدن سیتوپلاسم، تجمعات ملانوماکروفاژی، احتقان خون	مرحله II
بافت مردگی، تخریب شدن هسته و خونریزی	مرحله II

خود یکی از بهترین نوع گونه‌های ماهی جهت پرورش است (۱۰ و ۱۸).

نتیجه گیری

طبق نتایج به دست آمده از پژوهش، می‌توان نتیجه گرفت که ریزسازواره‌های موجود در محیط آبی چه در غلظت‌های کم و چه در غلظت‌های بالا، منجر به ایجاد تغییرات قابل توجهی در عملکرد و ساختار بافتی ماهیان ساکن در این محیط‌ها از جمله ماهی شانک زردباله یا دیگر گونه‌های ماهی شوند. بنابراین با استفاده از مطالعه و شناخت آسیب‌های بافتی ایجاد شده در کبد و اندام‌های ایمنی (طحال و راس کلیه)، به عنوان شاخص‌های زیستی در سلامت می‌توان به شناخت هر چه بهتر وضعیت و سلامت آبزیان از جمله ماهیان پی برد.

سیاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از مسئولین محترم دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به پاس حمایت مالی در این پژوهش، سپاسگزاری کنند.

منابع مورد استفاده

1. Abdelhamed, H., Ibrahim, I., Iman, Ibrahim., Won Nho, S., Banes, M.M., Wills, R.W., Karsi, A., Lawence, M.L., 2017. Evaluation of three recombinant outer membrane proteins, OmpA1, Tdr, and TbpA, as potential vaccine antigens against virulent *Aeromonas hydrophila* infection in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 66, 480-486.
2. Arunkumar, R.; Rajasekaran, P., Michael R., 2000. Differential effect of chromium immune response of the African mouth breeder compounds on the (*Oreochromis mossambicus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 10, 667-676.
3. Austin, B., 2006. The bacterial microflora of fish revised. *Sci. World J*, 6, 931-945.
4. Bancroft, J.D., Layton, C., Suvama, S.K., 2013. Bancroft's theory and practice of histological techniques. Churchill Livingstone Elsevier, Edinburgh UK, 69-156.
5. Boas, M., Feldt-Rasmussen, U., Skakkebaek, N., Main, K., 2006: Environmental chemicals and thyroid function. *European Journal of Endocrinology*, 154, 599-611
6. Brown, S., 2009., Contamination effected on the teleost fish gill. *Environmental Toxicology Chemical*, 23, 1680-1701.
7. Brown, S., Adams, B., Cyr, D., Eales, J., 2004. Contaminant effects on the teleost fish gill. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23, 1680- 1701.
8. Camargo G, Martinez A. 2011. Effects of environmental synthetic chemicals on Spleen and liver function. *European Journal of Endocrinology*, 76, 827-856.
9. Carletta, M., Weis, P., Weis, J., 2002. Development of gill ab-

ممکن است واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها نشان دهنده از بین رفتن تعادل میان سنتز مواد در هپاتوسیت‌ها و میزان آزاد کردن آنها در خون باشد. واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها همچنین می‌تواند سبب مهار سنتز پروتئین، و ادغام ریزلوله‌ها و رانده شدن هسته یاخته‌های کبدی به حاشیه یاخته شود (۱۴ و ۲۱). ضایعاتی نظیر نکروز یاخته‌های کبدی، دژنره شدن هسته، خونریزی در بافت کبد ماهیان در برخی از روزها مشاهده شد. ایوریا و همکاران، معتقدند که ایجاد چنین آسیب‌های بافتی با غلظت مواد آلوده یا آلاینده و مدت زمان قرارگیری ماهی در معرض عفونت ارتباط مستقیم داشته و این ضایعات در صورت وجود استرس‌هایی با شدت زیادتر ایجاد می‌شوند. اتساع عروق، همولیز درون عروقی، ترومبوس در رگ‌های خونی همراه با توقف جریان خون، نیز ممکن است باعث تخریب یاخته‌ای و بافت مردگی در کبد شوند. نتایج به دست آمده از راوتا و همکاران در سال ۲۰۱۷ روی آلودگی آب‌های شهری به آئروموناس هیدروفیلا و تاثیر آن در کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغییرات بافتی شامل بافت مردگی یاخته‌های پارانشیمی همراه با خونریزی را در بافت کبد نشان داد. علاوه بر این مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۷ توسط خلیل و منصور انجام گرفت، خونریزی، پرخونی و بافت مردگی یاخته‌ای به همراه نفوذ یاخته‌های تک هسته‌ای در کبد ماهی قزل آلی رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* که در معرض آب‌های آلوده به آئروموناس هیدروفیلا قرار گرفته بود، مشاهده شد. در این مطالعه تجمعات ملانوماکروفاژی هم در بافت کبد و هم در بافت طحال و همچنین در راس کلیه مشاهده شد. تغییرات در تجمعات ملانوماکروفاژی در اثر القای موجود در بافت‌ها می‌تواند به عنوان شاخص تنش القا شده توسط ریزسازواره‌ها در محیط‌های آبی مورد بررسی قرار گیرد. مراکز ملانوماکروفاژی به طور طبیعی در بافت‌های خون ساز کلیه و طحال وجود دارند، ولی گاهی در نتیجه عوامل و جراحات مزمن توسعه می‌یابند. به همین دلیل ملانوماکروفاژها به عنوان شاخصی برای کیفیت آب از سنجش تاثیر آلودگی‌های باکتریایی و یا کمبود اکسیژن مطرح هستند چرا که اندازه یا فراوانی ملانوماکروفاژی در شرایط محیطی تنش زا افزایش می‌یابد (۶ و ۷). لوگان و همکاران در سال ۲۰۰۶ به دنبال بررسی تغییرات ساختار بافتی در اندام کبد و طحال در ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در اثر مواجهه با باکتری آئروموناس هیدروفیلا به مدت ۱۶ روز، در دوزی به اندازه ۱۰^۳ و ۱۰^۵ اعلام کردند که عفونت ناشی از باکتری مذکور باعث افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی در طحال و واکوئله شدن، خونریزی و کشیده شدن هسته یاخته به یک طرف، در یاخته‌های کبدی می‌شود (۱۶).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بیشترین فراوانی تغییرات آسیب شناسی مشاهده شده در غلظت ۱۰^۶ در روزهای ۱۴ و ۲۱ بود. آئروموناس هیدروفیلا یکی از خطرناکترین عوامل عفونی فرصت طلب در میان آبزیان است، که قابل انتقال به انسان و سایر پستانداران نیز می‌باشد و بیشترین مکان قابل یافت آن در محیط‌های آبی است، به همین دلیل شناخت بیشتر این ریزسازواره و خطرات ناشی از آن در آبی پروری لازم و ضروری است (۲۱ و ۲۲). طبق نتایج حاصل از این تحقیق، این باکتری خطرناک حتی با غلظت کم نیز توانست عوارض بافتی قابل توجهی در ماهی بسیار مقاوم شانک زردباله، به جای گذارد. ماهی شانک زردباله از ماهیان خوراکی، خوشمزه، و بازار پسند برای مردم است و از نظر اقتصادی و تجاری به نوبه

- normalities in mummichogs, *Fundulus heteroclitus*, from a polluted site. *Marine Environmental Research*, 54, 601-614.
10. Hesp, S., Potter, N., 2004. Reproductive biology and protandrous hermaphroditism in (*Acanthopagrus latus*). *Environmental biology of fishes*, 70, 257-272.
11. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., 2005. Modern trends in *Aeromonas hydrophila* disease management with fish. *Rev. Fish. Sci*, 13, 281-320
12. Harikrishnan, R., Rani, M.N., Balasundaram, C., 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp (*Cyprinus carpio*) following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture*, 221, 41-50
13. Jiraungkoorskul, W., Upathama, E., Kruatrachuea, M., Saha-phongse, S., Vichasri, S., Pokethitiyooka P., 2002. Histopathological effects of roundup aglyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Science Asia*, 28, 121-127.
14. Kumar, R, Pande, V, Singh, L, Sharma, L, Saxena, N, Thakuria, D., Singh, A.K., Sahoo, P. K., 2016. Pathological Findings of Experimental *Aeromonas hydrophila* Infection in Golden Mahseer (*Tor putitora*). *Fish Aquac*, 7(1).
15. Khalil, A.H., Mansour, E.H., 1997. Toxicity of crude extracellular products of *Aeromonas hydrophila* in tilapia (*Oreochromis nilótica*). *Lett Appl Microbiol*. 25, 269-272.
16. Logan, D.W., Burn, S.F., Jackson, I.J., 2006. Regulation of pigmentation in zebrafish melanophores. *Pigment Cell*. 19: 206-213.
17. Oliveira, R., Fanta, N., Turcatti, R., Cardoso, C., Carvalho, G. 2005. Lethal effects of inorganic mercury on cells and tissues of *Trichomycterus brasiliensis*. *Journal of the world aquaculture society*, 78 (6), 171-178.
18. Rauta, P.R., Nayak, B., Monteiro, G.A., Mateus, M., 2017. Design and characterization of plasmids encoding antigenic peptides of Aha1 from *Aeromonas hydrophila* as prospective fish vaccines. *Journal of Biotechnology*, 241, 116-126.
19. Rodriguez, I., Novoa, B., Figueras, A., 2008. Immune response of zebrafish (*Danio rerio*) against a newly isolated bacterial pathogen *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immun*, 25, 239-249
20. Schlenk, D., Benson, H., 2001. Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts. *Journal of the world aquaculture society*, 67, 89-97.
21. Sahoo, P.K, Pillai, B.R., Mohanty, J., Kumari, J., Mohanty, S., Mishra, B.K., 2007. In vivo humoral and cellular reactions, and fate of injected bacteria *Aeromonas hydrophila* in freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish Shellfish Immun*, 23, 327-340
22. Sahoo, P.K, Mahapatra, K.D, Saha, J.N, Barat, A., Sahoo, M., Mohanty, B.R., Gjerde, B., Qdegard, J., Rye, M., Salte, R., 2008. Family association between immune parameters and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in the Indian major carp, *Labeo rohita*. *Fish Shellfish Immun*, 25, 163-169.

