

## بررسی میزان سمیت و اثرات آسیب شناسی فنل بر بافت های آبشش، کبد و کلیه جنین تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

علیرضا سلیمانی<sup>۱</sup>، عسگر کریم آبادی<sup>۲</sup>

۱- گروه زیست شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران. [asoleimani56@yahoo.com](mailto:asoleimani56@yahoo.com)

۲- بخش تکثیر مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی، اداره کل شیلات گلستان، گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱۰

### چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اهمیت بوم شناختی و اقتصادی گونه تاس ماهی ایرانی به عنوان یک گونه بومی در خطر انقراض ساکن دریای خزر، گستردگی مناطق پراکنش آن و افزایش آلودگی روز افزون آب های داخلی به مشتقات نفتی مانند ترکیباتی فنلی، بررسی سمیت حاد فنل در مرحله جنینی لاروهای ۳ روزه تاس ماهی ایرانی ضروری می باشد.

روش کار: ۷ تیمار با غلظت های ۱۴۰، ۱۱۵، ۹۰، ۶۵، ۴۰، ۲۵، ۱۰ میلی گرم بر لیتر فنل و یک شاهد (هریک ۳ تکرار) در نظر گرفته و آزمایشات مربوط به تعیین سمیت حاد براساس استاندارد O.E.C.D. به صورت ساکن انجام گرفت. در مرحله بعد از سه غلظت زیر کشنده فنل (۱۰، ۲۵، ۴۰ میلی گرم بر لیتر) و شاهد در سه تکرار و در شرایط نیمه پایدار برای بررسی اثرات سمی فنل روی آبشش، کبد و کلیه به عنوان نشان گره های سیتولوژیک در مدت تکامل لارو نوریس تا شروع تغذیه فعال استفاده شد. لاروهای ناهنجار و تلف شده به صورت روزانه جمع آوری و در محلول بوئن فیکس و مراحل آماده سازی بافتی و رنگ آمیزی نمونه ها انجام گردید.

یافته ها: مقدار LC<sub>50</sub> طی ۹۶ ساعت فنل ۹۰ میلی گرم بر لیتر و حداکثر غلظت مجاز فنل برای لاروهای نوریس تاس ماهی ایران ۹۵/۱ میلی گرم بر لیتر تعیین گردید. تغییرات بافتی در آبشش پر خونی و هیپرپلازیا در کبد دژنراسیون سلول ها و تجمع ملانین و در کلیه اتساع کپسول بومن، شبکه گلومرولی و تخریب توپول ها بودند.

نتیجه گیری: تحقیق حاضر نشان داد که آلاینده هایی مانند ترکیبات فنلی در اکوسیستم های آبی بر رشد و نمو لاروهای نوریس تاس ماهی ایرانی موثر هستند.

واژه های کلیدی: تاس ماهی ایرانی، فنل، سمیت حاد، هیپرپلازیا.

### مقدمه

رو شرکت های نفتی در این مناطق فعالیت زیادی داشته اند و استفاده از گل های حفاری سبب شده که این مناطق به شدت آلوده شوند. لذا آلاینده های خطرناک دریای خزر در وهله اول، نفت و محصولات نفتی و سپس مشتقات فنلی است (۱۱). از سوی دیگر، در بخش شمالی دریای خزر تنوع گونه ها از ۷۸ به ۴۶ گونه کاهش داشته و در بخش های جنوبی و مرکزی آن تعداد گونه ها تا یک سوم کاهش پیدا نمودند، در بین گونه های تجاری طی دهه های اخیر، جمعیت ماهیان خاویاری به شدت سیر نزولی داشته است و در بیست ساله گذشته

دریای خزر به عنوان یک اکوسیستم آبی و بسته می- باشد که به علت وضعیت جغرافیایی، سیاسی، فرهنگی، اقتصادی و صنعتی کشورهای حاشیه این دریا، دچار آلودگی های مختلف شده است. یکی از این آلاینده ها ترکیبات فنلی است که به صورت مشتقات بروموآندول و بروموفنل اخیراً به صورت طبیعی در پستانداران دریایی و دیگر ارگانیسم ها نیز شناسایی شده اند (۱۶). تا سال ۱۹۹۶ ذخایر نفتی بخش شمالی دریای خزر در منطقه روسیه در حدود ۱ میلیارد تن تخمین زده شده بود و در منطقه آذربایجان ۴ تا ۵ میلیارد تن برآورد گردید از این

نساجی، چرم، رزین و پتروشیمی می باشند، می توانند پس از نفوذ به بدن ماهی ها بر روی متابولیسم، رشد و نمو و بقای آن ها تاثیر بگذارند. علیرغم فعالیت متابولیکی و سم زدایی ترکیبات فنلی در ماهی ها، غلظت های زیر کشنده فنل می تواند با فعالیت های آنزیمی آن ها تداخل عمل داشته باشد و تغییرات ناخواسته و غیر قابل پیش بینی را در ماهی ها ایجاد کند (۲۰). در مطالعه ای که توسط Kammann و همکاران (۲۰۰۹) روی جنین گورخر ماهی انجام گردید، مشاهده شد که پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت که تخم ها در معرض غلظت های کشنده فنل قرار داشتند، از کار افتادن قلب، از دست رفتن سومیت ها و عدم تشکیل دم دیده و در غلظت های زیر کشنده ادم کیسه زرده، ناهنجاری ستون مهره، از بین رفتن رنگدانه ها و تکامل ناقص چشم رویت شد. یک گروه پست از ماهیان استخوانی، خانواده تاس ماهیان هستند که اخیراً به علت اهمیت اقتصادی زیاد و آسیب پذیر بودنشان بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند (۱۷). رشد و نمو و تمایز اندام ها، در طی دوره لاروی نارس در ماهیان خاویاری انجام می شود، از این رو در این دوره نه تنها الگوهای ساختاری جنین شکل می گیرد بلکه ناهنجاری های جنینی در اثر وجود شرایط نامطلوب بروز می نماید. فاکتورهای محیطی می توانند طی این دوره اثرات تراژیک روی جنین بگذارند و یا سبب مرگ آن ها شوند. در برخی از تحقیقات ثابت شده است که ترکیباتی مانند فنل و ۱- نفتول علاوه بر این که در غلظت های معینی باعث مرگ آبزیان می شوند، در غلظت های پایین تر نیز اثرات سوء بر جا می گذارند. چنان چه جذب فنل از طریق سطح بدن یا پوست و آبشش و یا تغذیه صورت گیرد، باعث بروز طعم فنلی در گوشت ماهیان می شود و همین طور قرار گرفتن در معرض ۰/۲ میلی گرم در لیتر از انواع فنل ها موجب مهاجرت ماهی به خارج از آب های آلوده می گردد (۶).

صید خاویار تا ۹۰ درصد کاهش پیدا کرده است؛ یکی از دلایل این روند نزولی، آلودگی آب ها می باشد (۱۵). در حوزه ی جنوبی دریای خزر که شامل استان های گیلان، مازندران و گلستان از کشور جمهوری اسلامی ایران هستند، علاوه بر فاضلاب های خانگی، صنایع چوب، نساجی، مواد شیمیایی، تولیدات غذایی و الکترونیکی از عوامل عمده ی آلوده کننده دریای خزر هستند (۱۵). در منطقه باکو با انجام طرح بزرگ هدایت فاضلاب ها از غلظت این آلاینده ها تا حد زیادی کاسته شده و به حدود ۸۰۰ میلیون مترمکعب در سال رسیده است با بررسی رسوباتی که از این فاضلاب ها برجا مانده، مشخص شده که مقادیر زیادی هیدرات های کربن، انواع فنل، فلزات سنگین، اسیدها، بازها و دیگر ترکیبات با سمیت بالا وجود دارد. در ارزیابی های مقدماتی مشخص گردید که غلظت این ترکیبات بیش از حد مجاز است، به طوری که این مواد صد بار بیشتر در آب دریاها و رودخانه ها تجمع پیدا کرده اند (۱۵). در تحقیق دیگری که طی سال های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۷ در منطقه آبشوران در حاشیه دریای خزر به عمل آمد، ثابت شده که مقادیر نترات آمونیوم و فنل به ترتیب ۱۸۰ تا ۲۲۰ بار نسبت به محدوده آسیب رسان آن ها بیشتر می باشد. بر طبق گزارش سالانه ی بانک جهانی بیش از یک میلیون متر مکعب از فاضلاب های صنعتی تنها از رودخانه ی ولگا به دریای خزر می ریزد، ضمناً آب های آلوده به عوامل عفونت زا از مکان هایی که ۳۵۰۰ کیلومتر از دریای خزر فاصله دارند به این دریا وارد می شوند (۱۸). بنابر این صنعتی شدن و گسترش شهرنشینی می تواند دو عامل عمده در ارتباط با گسترش آلودگی در محیط زیست باشند (۱۳). وجود فنل در اکوسیستم های آبی می تواند سبب کاهش وزن و درصد لقاخ در ماهی ها شود (۷). گاهی دیده شده است که ترکیبات فنلی که از پسماندهای شیمیایی مختلف نظیر پالایشگاه ها، صنایع

ضایعات بافتی ایجاد شده در بافت های آبشش، کبد و کلیه در غلظت های زیر کشنده در لاروهای نورس تاس ماهی ایرانی انجام شد.

### مواد و روش ها

برای مشخص نمودن میزان LC ۵۰ طی ۹۶ ساعت ترکیب فنل روی لاروهای نورس تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، تعداد ۲۱۰ عدد لارو نورس سالم ۳ روزه پس از تفریخ به صورت تصادفی از وان های فایبرگلاس مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید رجایی استان گلستان در سال ۱۳۹۰ جمع آوری، سپس برای آزمایشات تشخیص سمیت، لاروهای نورس ۳ روزه درون بشرهایی به حجم ۱ لیتر به تعداد ۱۰ عدد در هر ظرف رهاسازی شده و در شرایط ساکن و هواد دهی مستمر و براساس استاندارد (Organization Economic Cooperation Development) O.E.C.D. (سازمان توسعه و همکاری اقتصادی اروپا) در ۷ تیمار و ۳ تکرار، به همراه ۳۰ عدد شاهد به منظور اندازه گیری توان زیستی و تعیین وضعیت بقا، استفاده شدند و میزان تلفات طبیعی در نمونه های شاهد هم زمان با سایر تیمارها بررسی گردید (۱). هوادهی شدید صورت گرفت و دوره نوری به صورت طبیعی ۱۲ تا ۱۶ ساعت در روز استفاده شد. مرگ و میر لاروها هر ۲۴ ساعت ثبت می گردید. اگر مرگ و میر موجودات پس از ۸ روز کمتر از ۱۰ عدد باشد، شرایط آزمایش مورد قبول تلقی می شود اما اگر بیش از ۱۰ درصد باشد، بهتر است که شرایط آزمایش را تا حدی که به آزمایش اصلی لطمه ای وارد نشود تغییر داد (۵، ۴). برای تعیین محدوده کشندگی، دو غلظت از فنل در نظر گرفته شد. یکی بیشترین غلظتی که تقریباً هیچ گونه مرگ و میری وجود ندارد و دیگری کمترین غلظتی است که بیشترین تلفات را داشته باشد. در محدوده دمایی ۱۳-۱۴ درجه سانتی گراد ۷ غلظت همراه با ۳ شاهد مورد آزمایش قرار گرفتند. بیشترین غلظت فنل که در آزمایشات مشابه به

در ماهی خاویار ایرانی سن تولید مثل برای نرها بین ۸ تا ۱۵ سال و برای ماده ها ۱۲ تا ۱۸ سال است، دوران بلوغ در ماهی های بالغ ۶ تا ۴۰ سال طول می کشد و ۸۵ درصد آن ها در سن ۱۴ تا ۱۸ سالگی بالغ می شوند (۱۰)، بنابر این بررسی تاثیرات آلاینده ها روی مولدین ماهی-های خاویاری کاری دشوار بوده و از نظر اقتصادی نیز چندان مقرون به صرفه نمی باشد لذا در این تحقیق از لارو های نورس تاس ماهی ایرانی که هنوز در مرحله تکامل جنینی هستند، در محیط دارای غلظت های زیر کشنده فنل استفاده گردید. لاروهای نورس نسبتاً به اثرات سمی فنل مقاوم تر هستند اما با رشد و نمو آن ها، سمیت فنل به سرعت افزایش می یابد. غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر فنل که برای لاروها کشنده است و آن ها را ظرف چند دقیقه می کشد، برای لاروهای نورس غلظت زیر کشنده محسوب می شود. این مطلب نشان می دهد که فنل روی لاروها با شیوه ای متفاوت با لاروهای نورس عمل می کند و به خصوص به عنوان یک ترکیب سمی بر سیستم عصبی مرکزی اثر می گذارد (۳). در اکثر مطالعات انجام شده در ارتباط با تاثیرات آلاینده ها بر روی ماهی ها غالباً از بافت های آبشش و کبد به عنوان نشان گر هیستولوژیک مناسب استفاده شده است (عبتاتی و همکاران، ۱۳۸۸؛ camargo و Martinez، ۲۰۰۷). البته بافت های دیگری نیز مانند کلیه، عضله و اپی تلیوم معده-روده ای نیز از بافت هایی هستند که تحت تاثیر آلاینده ها دژنره می شوند (Chronic toxicity summery phenol:Registry number 108-95-20:cas,1999). سمیت یک آلاینده از طریق آزمایش سنجش زیستی ارزیابی می شود و به کمک آن غلظت لازم جهت بروز تلفات در نیمی از موجودات زنده در یک دوره زمانی کوتاه مدت یا بلند مدت معلوم می شود (۴). از این رو در این تحقیق تعیین غلظت نیمه کشنده ی فنل برای لارو نورس تاس ماهی ایرانی، مشخص نمودن محدوده ی کشندگی و هم چنین بررسی

سپس به کمک دستگاه میکروتوم (مدل DS 40SS ساخت ایران) برش هایی با ضخامت  $5 \mu\text{m}$  از قالب ها تهیه و با تکنیک رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین رنگ آمیزی گردیدند، سپس تغییرات بافتی آبخش، کبد و کلیه در لاروهای نارس بین تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت و عکس برداری از نمونه ها انجام شد.

### نتایج

طی انجام آزمایش های مختلف، عوامل فیزیکی و شیمیایی آب ظروف به طور روزانه کنترل و ثبت گردید که نتایج آن در جدول ۱ آمده است. تلفات طی ۹۶ ساعت نیز در جدول ۲ بر اساس درصد ثبت گردیده است. نتایج به دست آمده برای  $LC_{50}$  در مدت ۹۶ ساعت مطابق جدول ۲، ۹۰ میلی گرم برلیتر بوده و بر اساس آنالیز پرویت بیشترین غلظت قابل قبول فنل برای لاروهای نارس تاس ماهی ایرانی  $1/95$  میلی گرم برلیتر محاسبه شد. لاروهای نوری که در معرض غلظت های زیر کشنده فنل قرار داشتند تغییرات بافتی قابل توجهی را در بافت های آبخش، کبد و کلیه نشان دادند. در آبخش، تجمع گلبول های قرمز و هیپرپلازی (Hyperplasia) اپی تلیوم رویت شد (شکل ۱). تغییرات عمده در کبد، دژنراسیون بافتی و تجمع ملانین بوده است (شکل ۲). در بافت کلیه، تخریب توبول ها و فضاهای بینابینی و انبساط شبکه گلو مریولی و کپسول بومن دیده شد (شکل ۳).

### بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، طی مدت ۹۶ ساعت آزمایش سمیت حاد هیچ گونه تلفاتی در ماهیان گروه شاهد مشاهده نشد و کلیه فاکتورها در شرایط مناسب و دلخواه بودند و نتایج به دست آمده برای فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب با تحقیقات مشابه تفاوت زیادی نداشت. با توجه به مقدار به دست آمده در ارتباط با سمیت حاد برای لاروهای نارس  $1/95 \text{ (mg/l)}$ ، چون حداکثر غلظت مجاز (Maximum Allowable Toxicant Concentration) فنل ۸-۲ میلی گرم در لیتر در آب های

عنوان غلظت کشنده محسوب می شد، بین ۱۳۰ تا ۱۴۰ میلی گرم در لیتر بوده است (۶، ۱). براساس مطالعه ی امینی راد (۱۳۷۶)؛ ابطیحی و برازنده (۱۳۸۲) غلظت ۱۴۰ میلی گرم تا هفت مرحله براساس تصاعد هندسی کاهش یافت، یعنی غلظت های ۱۴۰، ۱۱۵، ۹۰، ۶۵، ۴۰، ۲۵، ۱۰ میلی گرم بر لیتر فنل استفاده شدند (۲، ۱). در ظرف شاهد نیز هیچ غلظتی از فنل اضافه نگردید. پس از افزودن لاروها به غلظت های تهیه شده ی فنل، تلفات آن ها هر ۲۴ ساعت به مدت ۹۶ ساعت بررسی و مطابق جدول ۲ ثبت شد. سپس برای تعیین  $LC_{50}$  در محدوده اطمینان ۹۵ (confidence limits) از مدل رگرسیون خطی و روش Probit Analysis استفاده (۱۵) و در مرحله بعدی آزمایش، چهار غلظت زیر کشنده برای لاروهای نارس در نظر گرفته شد. تعداد ۳۶۰ عدد لارو نارس ۳ روزه در ۱۲ وان پلاستیکی با حجم ۳ لیتر در ۴ تیمار و ۳ تکرار (هر ظرف ۳۰ عدد) رهاسازی گردیدند. آزمایش در شرایط نیمه پایدار تا زمان تغذیه فعال ادامه پیدا کرد. ۹۰ درصد آب ظروف حاوی نمونه ها هر ۴۸ ساعت یک بار تعویض و مجدداً همان غلظت های قبلی از فنل به آن ها اضافه می گردید. با توجه به تحقیقات دتلاف و همکاران (۱۹۹۳) چون غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر فنل برای لاروهای نارس در گونه های مشابه زیر کشنده است، لذا غلظت های ۴۰، ۲۵، ۱۰، ۰ میلی گرم برلیتر فنل به عنوان غلظت های زیر کشنده در این مطالعه انتخاب شدند (۳). فاکتورهای فیزیکی شیمیایی آب شامل pH، اکسیژن محلول، سختی کل و دمای آب در طی این تحقیق به صورت روزانه اندازه گیری شدند. دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. نمونه های تلف شده و ناهنجار تا آغاز تغذیه فعال روزانه جمع آوری شده و در محلول فیکساتور بوئن به مدت ۲۴ ساعت تثبیت گردید و سپس به الکل ۷۰ درجه انتقال پیدا کردند تا مراحل آب گیری و قالب گیری از نمونه ها انجام شود.

مهمی مانند: تنفس، تنظیم اسمزی و دفع ادرار در ماهی ها سهم زیادی دارند. چون آبشش ها مستقیماً در معرض تماس با محیط خارجی هستند لذا اولین عضوی می باشند که در معرض آلاینده ها قرار می گیرند و از طرفی نسبت به تغییرات کیفی آب بسیار حساس هستند، از این رو تغییراتی مانند هیپرپلازی اپی تیلیال و هیپرتروفی آن ها، چسبیدن تیغه های ثانویه آبششی به یک دیگر به عنوان نوعی مکانیسم دفاعی در برابر آلاینده ها در آن ها رویت می شود(۸). این تغییرات سبب می شود که فاصله بین محیط و جریان خون افزایش پیدا کند و بنابر این به عنوان سدی در برابر نفوذ آلاینده ها عمل کند(۹). در این تحقیق تغییرات شدیدی در ساختار بافتی آبشش ها بین غلظت های شاهد، ۱۰، ۲۵ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر دیده نشد که این احتمالاً می تواند به علت مدت زمان دوره ی این تحقیق (۱۰ روز) یا مقاومت لاروهای نوری تاس ماهی ایرانی به غلظت های به کار رفته باشد. تغییری که در بافت آبشش به خوبی رویت می شود هیپرپلازی لاملاهای آبششی در غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر می باشد(شکل ۱-د). یکی دیگر از اثرات فنل، تاثیرات آن روی بافت کبد می باشد(۱۹) که در این تحقیق شامل: نکروز و دژنراسیون سلول های هیپاتوسیتی و تجمع ملانین می باشد(شکل ۲-د).

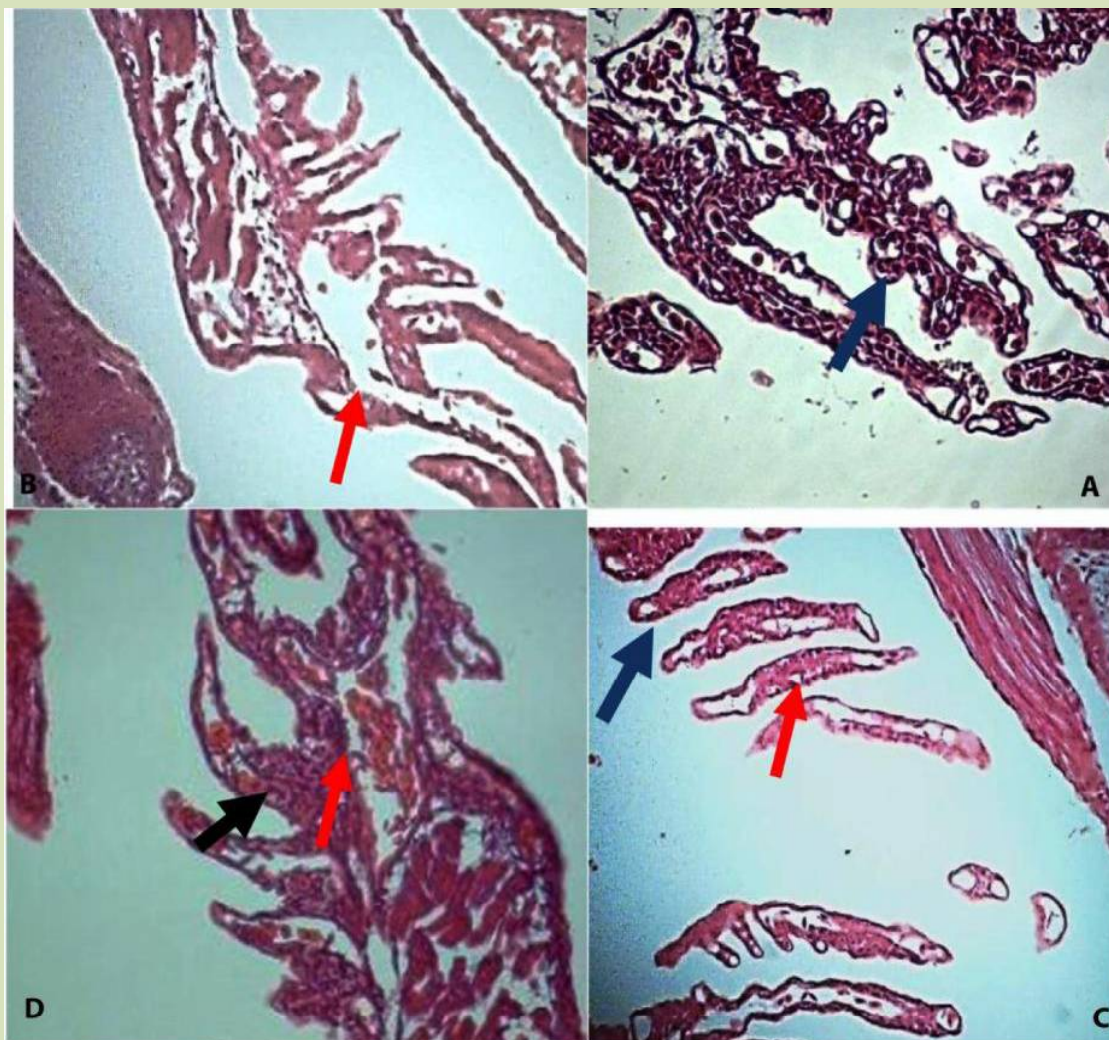
شمال دریای خزر معرفی شده است(۱۱) و با توجه به این که سمیت فنل به دمای آب نیز بستگی دارد؛ یعنی هر چه دمای آب افزایش یابد میزان سمیت آن افزایش خواهد یافت(۱۷)؛ بنابراین چون دمای آب در مدت این تحقیق در محدوده ۱۳ الی ۱۵ درجه سانتی گراد بوده است، این محدوده از غلظت فنل محدوده ی خطرناکی برای لاروهای نوری تاس ماهی ایرانی محسوب نمی شود. بنابراین در دماهای بیشتر از این محدوده امکان افزایش سمیت فنل و کشندگی آن بیشتر خواهد شد(۱۲). در مطالعات مشابه که توسط نظامی و همکاران(۱۳۸۳) بر روی بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی انجام شد، حداکثر غلظت مجاز فنل ۳/۶۶mg/l گزارش گردید(۶). در مطالعه دیگری که توسط Dwyer و همکاران بر روی گونه های تاس ماهی پارو پوزه (*Scaphirhynchus platorhynchus*) و تاس ماهی آتلانتیک (*Acipenser oxyrhynchus*) صورت گرفته است، برای دو نوع از ترکیبات فنلی در دمای ۱۷ درجه سانتی گراد، محدوده ی فنلی ۰/۰۴ تا ۰/۱۳ میلی گرم بر لیتر محاسبه شده بود(۱۲). البته به غیر از فاکتور دما مدت زمانی که جنین ها در معرض فنل قرار دارند نیز دارای اهمیت زیادی است و از این رو الگوهای اثرات ترکیبات فنلی به نوع و غلظت آن ماده ی فنلی نیز بستگی دارد(۱۶). افزایش فزاینده غلظت فنل اثرات آشکاری را روی آبشش ها می گذارد؛ این اثرات شامل پرخونی و هیپرپلازی سلول های اپی تیلیالی است. آبشش ها در رابطه با عملکردهای

جدول ۱- مقادیر برخی از فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مورد استفاده در مدت آزمایش

مقادیر	نام فاکتور
۱۳ تا ۱۵ درجه سانتی گراد	درجه حرارت
۶/۵ ± ۰/۱ میلی گرم بر لیتر	اکسیژن محلول
۵/۸ ± ۰/۹	pH
۳۵۸ میلی گرم بر لیتر	سختی کل

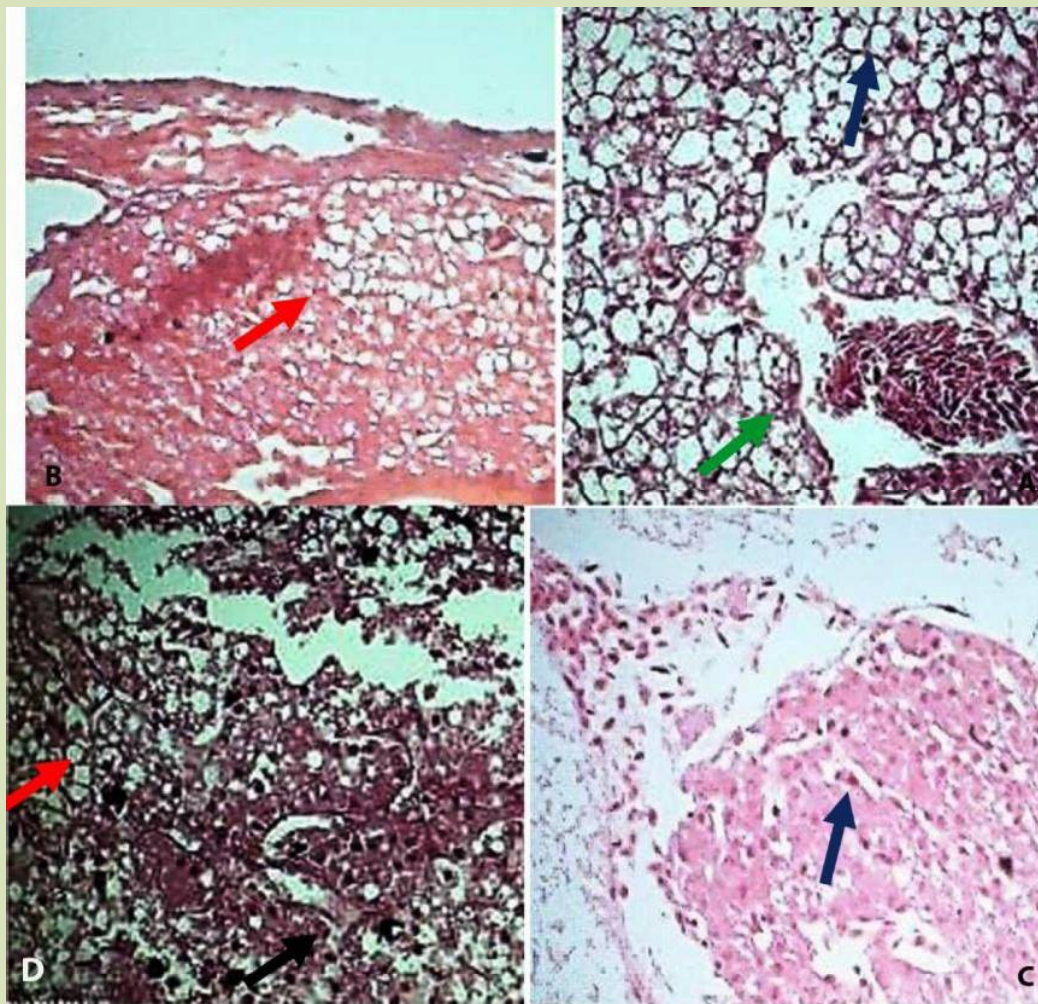
جدول ۲- تعداد تلفات لاروها بعد از ۹۶ ساعت در غلظت های مختلف فنل

۰	۱۰	۲۵	۴۰	۶۵	۹۰	۱۱۵	۱۴۰	غلظت فنل (mg/l)
۲	۳۰	۲۰	۳۰	۴۰	۵۰	۶۰	۷۰	درصد تلفات (پس از ۹۶ ساعت)



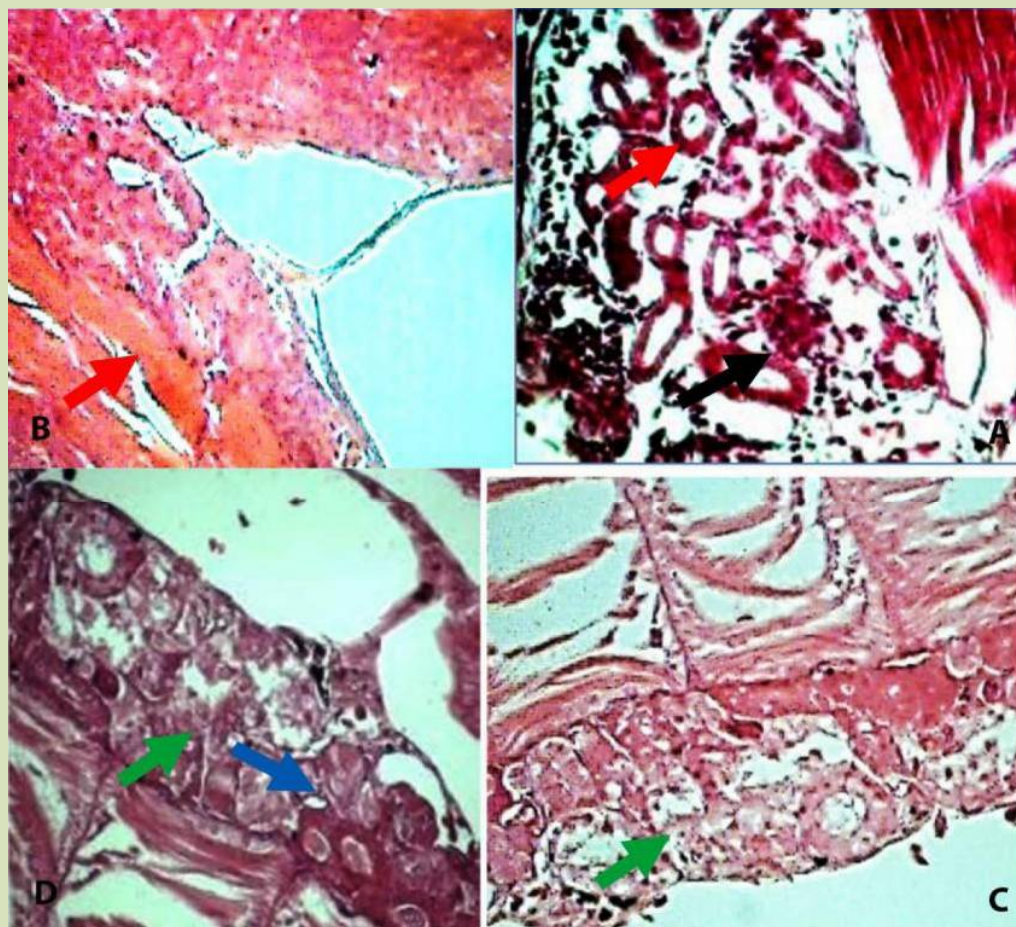
شکل ۱- اثرات آسیب شناسی فتل برش بافت آبشش

نمونه ی شاهد (A): نمونه در معرض فتل با غلظت ۰ mg/l، (B): نمونه در معرض فتل با غلظت ۱۰ mg/l، (C): نمونه در معرض فتل با غلظت ۲۵ mg/l، (D): پیکان آبی سلول های اپی تلیالی لاملاهای آبششی را نشان می دهد. پیکان قرمز حالت پرخونی در فضای بین لاملاهای آبششی و پیکان مشکی هیپرپلازی تیغه های آبششی را نشان می دهد (رنگ آمیزی H&E، 100X).



شکل ۲- اثرات آسیب شناسی فنل برش بافت کبد

نمونه ی شاهد (A): نمونه در معرض فنل با غلظت ۱۰ mg/l (B): نمونه در معرض فنل با غلظت ۲۵ (mg/l) (C): نمونه در معرض فنل با غلظت ۴۰ (mg/l)، (D): پیکان آبی هیپاتوسیت های نرمال را نشان می دهد. پیکان سبز مقطع یک ورید کبدی می باشد. پیکان قرمز نشان دهنده ی واکوئولیزه شدن و تخریب هیپاتوسیت



شکل ۳- اثرات آسیب شناسی فتل برش بافت کلیه.

نمونه ی شاهد (A): نمونه در معرض فتل با غلظت ۱۰ mg/l (B): نمونه در معرض فتل با غلظت ۲۵ (mg/l) (C): نمونه در معرض فتل با غلظت ۴۰ (mg/l)، (D): پیکان مشکی کپسول بومن نرمال و پیکان قرمز توپول های نرمال را نشان می دهد. پیکان آبی نشان دهنده ی اتساع کپسول بومن و شبکه گلومرولی بوده و پیکان سبز نشان دهنده ی تخریب توپول ها و بافت بینابینی است. (رنگ آمیزی H&E، 100X).

میلی گرم بر لیتر اتفاق افتاد. کلیه در ماهیان استخوانی یکی دیگر از اندامهایی است که از همان ابتدا در معرض آلاینده ها قرار می گیرد و غالباً دژنراسیون بافت های بینابینی، توپول ها و اتساع کپسول بومن و شبکه گلومرولی مشاهده می شود. این تغییرات در اکثر ماهی هایی که در معرض آلاینده های مختلف قرار می گیرند نیز دیده می شود (۲۱). در بافت کلیه تفاوت زیادی بین غلظت های شاهد و ۱۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده نشد ولی در غلظت های ۲۵ و به خصوص ۴۰ میلی گرم بر لیتر از فتل آسیب های شدیدی مانند تخریب توپول ها و اتساع شبکه گلومرولی و کپسول بومن مشهود است (شکل

مشابه این تغییرات که تحت تاثیر فتل در بافت کبد بروز می کند، کاهش ذخایر گلیکوژن است، زیرا به خصوص در شرایط استرس زا کربوهیدرات ها به عنوان اولین ذخایر انرژی به شدت مصرف می شوند، ضمناً تجمع ملانین به صورت پراکنده در بافت کبد نشان از حضور ملانوما کروماتوزها دارد. این سلول ها عموماً به صورت دسته جاتی از ملانین به نظر می رسند که در واقع سلول های فاگوسیتیه محسوب می شوند (۸، ۱۹). در تحقیق حاضر تفاوت چندانی بین بافت های کبدی در نمونه شاهد و غلظت های ۱۰ و ۲۵ میلی گرم بر لیتر دیده نشد اما بیشترین آسیب های بافتی کبد در غلظت ۴۰



گردد است، چون در مدت این تحقیق دمای آب بین ۱۵-۱۳ درجه سانتی گراد بوده است (۱۲). بنابراین بروز تلفات و ناهنجاری های جنینی نمی تواند در اثر تغییرات دمای آب باشد. از این تحقیق نتیجه می گیریم که ترکیبات فنلی به عنوان یکی از آلاینده های اکوسیستم های آبی می توانند اثرات منفی زیادی به محیط وارد کنند. بنابراین مطالعه آسیب شناسی بافتی آبشش، کلیه و کبد به عنوان نشانگرهای زیستی در جنین تاس ماهی ایرانی نشان می دهد که جنین این گونه به اثرات مستقیم آلاینده های فنلی به شدت پاسخ می دهد. بنابر این گرچه ممکن است که فاکتورهای دیگری نیز در بروز ناهنجاری ها و تلفات تاس ماهی ایرانی در طبیعت دخیل باشند، اما نقش ترکیبات فنلی نیز باید مورد توجه بیشتری قرار گیرد.

#### تقدیر و تشکر

از آقای مهندس قمصری مدیریت محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی و همکاران ایشان، که از هیچ گونه کمکی طی انجام این تحقیق دریغ نکردند و قدردانی از معاونت محترم حوزه پژوهش و فن آوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان که در تامین اعتبار لازم برای انجام هرچه بهتر این طرح و تهیه امکانات آزمایشگاهی لازم همواره ما را حمایت نمودند.

#### منابع

- ۱- ابطیحی، ب.، برازنده م. ۱۳۸۲. اثر دما بر حساسیت گاماروس (*Pontogammarus maoticus*) نسبت به سولفات کادمیوم با محاسبه  $LC_{50}$  ۹۶ ساعته. مجله علوم دریایی ایران، دوره دوم، شماره ۴، ص ۹ تا ۱۷.
- ۲- امینی راد، ا. ۱۳۷۶. تعیین غلظت کشندگی ( $LC_{50}$ ) سم دیازنون در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmotrutta caspica*). پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، صفحه ۴۵.
- ۳- دتلاف، ت. آ.، گینس برگ، آ. اس.، اشمال هوزن، او. ال. ۱۹۹۳. تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری. مترجمان: محمد

- ۳- ج و د. امروزه تغییرات هیستوپاتولوژیک به عنوان نشانگرهای بافتی و سلولی جهت ارزیابی سلامت ماهی ها کاربرد گسترده پیدا کرده است (۲۳، ۲۲). یکی از بزرگترین مزایای استفاده از نشانگرهای هیستوپاتولوژیک جهت ارزیابی شرایط زیست محیطی این است که این نشانگرها اجازه آزمایش روی اندامهای خاص مانند: آبشش، کلیه و کبد را که مسئول عملکردهای حیاتی نظیر تنفس، دفع ادرار، تجمع و تغییر حالت زنبویوتیک ها (آلاینده های زیست محیطی) در ماهی ها هستند را به ما می دهند. به علاوه شناسایی تغییرات ایجاد شده در این اندام ها آسان تر از شناسایی عملکرد آن ها می باشد (۱۴). تشخیص محدوده ی غلظتی که در آن، آلاینده بر روی یک گونه ماهی و یا زیستگاه آن خطری نداشته باشد، به مدت زمان ماندگاری آن ماده سمی در محیط بستگی دارد. به طوری که بایستی حداقل ۹۰ روز از غلظت های زیر کشنده آن ماده سمی در شرایط آزمایشگاهی بگذرد تا تاثیرات آن بر روی رشد و نمو جنین ماهی ثابت گردد (۲۰). بنابراین با توجه به محدودیت زمانی برای تکامل لاروهای نورس تاس ماهی ایرانی و مشاهده تغییرات اندک بافتی در آبشش، کبد و کلیه نمی توان با قطعیت در این بازه زمانی (۱۰ الی ۱۵ روز) در خصوص اثرات سمی فنل بر جنین تاس ماهی ایرانی نظر داد. بر اساس مطالعه دتلاف و همکاران دمای ایده آل برای رشد و نمو جنین ماهی های خاویاری ۱۵-۱۱ درجه سانتی نظری، ر.، عبدالحی، ح.، مخدومی، ن. ۱۳۸۵. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان. انتشارات شبلات ایران. صفحه ۴۲۲.
- ۴- جواد، م. ۱۳۸۷. تعیین غلظت کشندگی  $LC_{50}$  و ضایعات ناشی از سم آندوسولفان در فیل ماهی (*Husohuso*) . پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس. صفحه ۶۷.
- ۵- زمینی، ع. ۱۳۷۵. تعیین غلظت کشنده  $LC_{50}$  فلزات سرب و کادمیوم بر روی دو گونه از کپور ماهیان چینی (آمور و فیتوفاگ)، پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد لاهیجان. صفحه ۵۷.
- ۶- نظامی، ش.، پزند، ز.، خارا، ه.، افسرده، آ. ۱۳۸۴. تعیین  $LC_{50}$  طی ۹۶ ساعت دو ترکیب نفتی فنل و ۱- نفتول بر

14. Finney, D.J. (1971). Probit Analysis. Cambridge University Press, London, U.K . p 333 .
15. Jafari, N. (2010). Review of pollution sources and controls in Caspian sea region .Journal Of Ecology And The Natural Environment, 2(2); 025 – 029 .
16. Kammann, U., Vobach, M., Wosniok, W. (2005). Toxic effects of Brominated and Phenols on zebra fish embryo. Journal of Springer, Bull . Environ. Contam .Toxical, 97 – 102.
17. Kammann, U., Vobach, M., Wosniok, W., Schäffer, A., Telscher, A. (2009). Acute toxicity of 353-nonylphenol and its metabolites for zebra fish embryos. Journal of Springer .Environ Sci. Pollut. Res., 16; 227–231.
18. Nasrollahzadeh, A. (2010). Caspian sea and its ecological challenges [report and opinion], Caspian Jou. Env. Sci., 8(1); 97-104.
19. Rodrigues, E.L., Fanta, F. (1998). Liver histopathology of the fish *Brachy daniorerio* after acute exposure to sublethal levels of the organophosphate Dimetoato 500. Revista. Brasileira. de Zoologia, 15; 441-450.
20. Saha, N.C., Bhunia, F., Kaviraj, A. (1999). Toxicity of phenol to fish and aquatic ecosystems. Journal of Springer. Bull. Environ. Contam. Toxicol, 63; 195 – 202.
21. Takashima, F., Hibya, T. (1995). An atlas of fish histology: Normal and Pathological Features. 2<sup>nd</sup> ed. Tokyo:Kodansha.
22. Thophon, S., Kruatrachue, M., Upatha, E.S., Pokethitiyook, P., Sahaphong, S., Jarikhuan, S. (2003). Histopathological alterations of white seabass, *Latescal carifer* in acute and subchronic cadmium exposure. Environmental Pollution, 121; 307-320.
23. Wester, P.W., Canton, J.H. (1991). The use fulness of histopathology in aquatic toxicity studies. Comparative Biochemistry and Physiology(C), 100; 115-117.
- بچه ماهی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله علمی شیلات ایران، سال چهاردهم، شماره ۱، صفحات ۱۴۸ تا ۱۵۹.
7. Abdel-Hameid, N.A.H. (2007). Physiological and histopathological alterations induced by phenol exposure in *Oreochromis aureus* juveniles. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 7; 131-138.
8. Camargo marina, M.P., Martinez Claudia, B.R. (2007). Histopathology of gills , kidney and liver of neotropical fish caged in an urban stream. Neotropical. Ichth, 5(3); 327-336.
9. Carmono, R., Garcia –Gallego, M., Sanza, A., Domezain, A., Ostos- Garrido, M.V. (2004). Chloride cells and pavement cells in gill epithelia of *Acipenserina ccarii*: ultrastructural modifications in *Acipenserina ccarii*: ultrastructural modifications in seawater-acclimated specimens. Journal of Fish Biology, 64; 553-566.
10. Chebanov, M. (2011). Sturgeon hatchery practices and management for release guidelines , FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) Fisheries and Aquaculture Technical Paper Ankara, p ; 124.
11. Chicherina, O.V., Leonov, D., Fashchuk, D.A. (2004). Geographical and ecological characteristics of the Caspian sea and modern tendencies in the evolution of its ecosystem. Water Resources, 31; 299-317.
12. Dwyer, V., Mayer, F.L., Sappington, L.C., Buckler, D.R., Bridages, C.M., Greer, I.E. (2005). Assessing contaminant sensitivity of endangered and threatened aquatic species: part 1. acute toxicity of five chemical , arch. Environ .contam. Toxicol, 143 -154.
13. Fanta, E., Rios, F.S. S., Vianna Romao , A.C.C., Freiberger, S. (2003). Histopathology of the fish *Corydora spaleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. Ecotoxicology and Environmental Safety, 54; 119-130.