

بررسی بالینی و آسیب شناسی بافت آبشش در مسمومیت تجربی با نفت سفید در ماهی حوض *Carassius auratus*

● داور شاهشونی، استادیار گروه علوم درمانگاهی - دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد
● احمد رضا موثقی، استادیار گروه پاتوبیولوژی - دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد
● شیوا فرجی، شبکه دامپزشکی شهرستان مشهد

تاریخ دریافت: مردادماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۸۱

مقدمه

سیستم‌های آبی پیوسته مواجه با مشکلاتی هستند که ناشی از آلاینده‌های مختلف می‌باشد. این موارد شامل فلزات سنگین، فرآورده‌های نفتی، سموم، شوینده‌ها و... می‌باشند که برای سیستم‌های زیست محیطی بیگانه و زیان آور بوده و اکثراً بدون هیچ توجهی به آنها رها می‌گردند. این سموم وارد زنجیره غذایی اکوسیستم آبی شده و در کنار آلودگی‌های ایجاد شده توسط سایر مواد مشکل آفرین هستند. نفت خام و فرآورده‌های آن از جمله آلودگی‌های اخیر منابع آبی زیر زمینی هستند به طوری که از سال ۱۹۷۰ تا سالهای اخیر نقش اصلی را در این زمینه داشته‌اند. این آلودگی‌ها عمدتاً حاصل نگهداری نامناسب، تصادفات نفت کشتی، حمل و نقل فرآورده‌های نفتی، اشکال در تجهیزات نفتی، تاسیس تعداد زیاد چاه‌های نفت و... می‌باشد، که در تمام موارد انسان نقش مستقیم و غیر مستقیم را ایفاء می‌کند همچنین نفت خام و فرآورده‌های آن از راه فاضلابها به محیط آبی وارد می‌شود که اکثر آن مربوط به منابع پتروشیمی است. گسترش فرآورده‌های نفتی روی سطح آبهای آزاد باعث کاهش تبادل اکسیژن از هوا به آب می‌شوند. به علاوه این که مواد که حاوی سموم بسیار خطرناک و محلول در آب هستند، ایجاد مسمومیت در ماهی می‌کنند. فرآورده‌های نفتی در میزان کم باعث ایجاد اختلال در فعالیتهای فیزیولوژیک و عملکرد سیستم عصبی، تنفسی و گوارشی می‌شوند، در صورتی که ماهی در دراز مدت در معرض فرآورده‌های نفتی قرار گیرد. باعث آسیب در بافتهای مختلف آن خواهد شد که در نهایت موجب مرگ و میر ماهیان را فراهم می‌آورد. (۵، ۳)

مواد و روش کار

در این تحقیق چون ماهی قرمز علاوه بر مقاوم بودن، از لحاظ بافت‌شناسی، آناتومیکی و فیزیولوژیکی بسیار شبیه دیگر کپور ماهیان می‌باشد لذا به‌عنوان

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 58 PP: 8-11

Clinical and histopathological study of experimental Kerosene poisoning in Gold fish (*Carassius auratus*)

By: Shahsavani.D. department of Clinical Science. Faculty of Veterinary Medicine. Ferdowsi University Mashhad. Madhad. Iran. Movassaghi.A.R. Department of pathobiology. Faculty of Veterinary Medicine. Ferdowsi University Mashhad. Mashhad-Iran. Faraji.SH. Veterinary Organization of Mashhad

The environmental pollution is a major problem for human kind. Water systems are usually confronting with the problems resulting from the different pollutants which kerosene and other oil products are very important material. The present study was under taken to study clinical and histopathological changes of experimental Kerosene poisoning in gold fish (*Carassius aurats*). In this study 136 healthy gold fish were selected and divided into a groups (One control and three experiment groups). Kerosene in amount of 10,100 and 250ppm was added in to the water of groups 1,2 and 3 respectively. Duration of the trial was 21 day. Clinical signs in experiment groups included. ataxia, anorexia. increased mucus secretion, skin ulcers and constipation. Fish of control showed no changes. Afetr necropsy and preparing the tissue sections, from the gills, histopathological examination revealed hypermia, Hemorrhage, Infiltration of mononuclear in flammatory cells, fibrinous exudate and necrosis of Lamella in experiment groups but there lesions were more severe in fish of group 3.

Keywords. Kerosene. Gold fish. Pathollgy. Gill.

چکیده

آلودگی محیط زیست یکی از مسائلی پیچیده بشر امروزی است. سیستم‌های آبی پیوسته مواجه با مشکلاتی از قبیل آلودگی با آلاینده‌های مختلف می‌باشند که در بین آنها نفت و مشتقات آن نقش بسزایی در آلودگی دارند. مطالعه حاضر به منظور بررسی بالینی و هیستوپاتولوژیک مسمومیت تجربی با نفت سفید در ماهی حوض انجام شد. در این مطالعه ۱۳۶ عدد ماهی قرمز سالم انتخاب و به یک گروه شاهد و سه گروه (۳،۲،۱) آزمایشی تقسیم شدند در گروه‌های ۱ تا ۳ به ترتیب ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ PPM نفت سفید به آب اضافه شد. طول مدت آزمایش ۲۱ روز بود. علائم بالینی در گروه‌های آزمایشی شامل عدم تعادل، بی‌اشتهایی، افزایش ترشحات موکوسی، زخم‌های سطحی و یبوست بود. در ماهیان گروه شاهد هیچگونه تغییری مشاهده نشد. بعد از کالبد گشایی و تهیه مقاطع بافتی از آبشش، در بررسی هیستوپاتولوژیک ضایعاتی شامل پر خونی، خونریزی، نفوذ سلولهای آماسی تک هسته‌ای، اگزودای فیبرینی و نکروز تیغه‌های آبششی در ماهیان گروه‌های آزمایشی و عمدتاً گروه ۳ مشاهده گردید. کلمات کلیدی: نفت سفید، ماهی حوض، آسیب‌شناسی، آبشش

الگوی آزمایشی انتخاب شد. برای بررسی اثرات آسیب شناسی نفت سفید بر بافت آبشش، یک گروه به عنوان شاهد و ۳ گروه تحت آزمایش در نظر گرفته شده بود. تعداد ۱۳۶ عدد ماهی قرمز به طول ۲۰-۱۸ سانتی متر. انتخاب و با محلول نمک ۳٪ به مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی گردیدند. سپس ماهیان به ۴ گروه ۳۴ تایی تقسیم شدند. به محیط گروه اول ۱۰ ppm و به گروه دوم ppm ۲۵۰ و به گروه سوم ppm ۲۵۰ نفت سفید اضافه می گردید و گروه شاهد در محیط پاک و بدون آلودگی نگهداری می شدند. ماهیان به مدت ۲۱ روز تحت آزمایش قرار گرفتند دمای آب در دوره آزمایش ۲۰ درجه سانتیگراد و اکسیژن محلول ۶/۵-۶ میلیگرم در لیتر بود. هر ۳ روز یکبار آب آکواریوم تعویض و مجدداً برای هر گروه دوز نفت مورد نظر اضافه می گردید (حجم آب هر آکواریوم ۲۰۰ لیتر). بعد از پایان دوره آزمایش از هر گروه به طور تصادفی ۸ ماهی انتخاب شده و بعد از تهیه مقاطع بافتی، رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین - ائوزین انجام شد، هر یک از لامها با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی مختلف مورد بررسی قرار گرفتند (۱، ۴).

LC50 نفت سفید در این مطالعه برای ماهی قرمز ppm ۳۵۰-۳۰۰ در مدت ۲۴ ساعت ثبت گردید. در این تحقیق دوزهای کمتر از LC50 انتخاب شد تا بررسی بالینی و آسیب شناسی در ماهی حوض مورد بررسی قرار گیرد.

نتایج

علائم بالینی و کالبدگشایی

در ماهیان گروه شاهد و ۱ علائم بالینی خاصی مشاهده نشد، اما در ماهیان گروه ۲ و ۳ افزایش ترشحات موکوسی، زخم های در سطح بدن، کدورت قرینه، سستی و بیخالی، بیبوست، عدم تعادل، جمع شدن ماهیان در سطح آب، بی اشتها، افزایش تعداد تنفس و کاهش عمق تنفس، سستی فلسها و ریزش آنها مشاهده شد هم چنین در بررسی های بافت شناسی تعدادی از ضایعات بافتی در گروه ۲ و عمدتاً در گروه ۳ آزمایشی مشاهده گردید (تصاویر ۵-۱). در کالبد گشایی پر خونی و خونریزی در بافت های آبشش، کبد و کلیه مشهود بود.

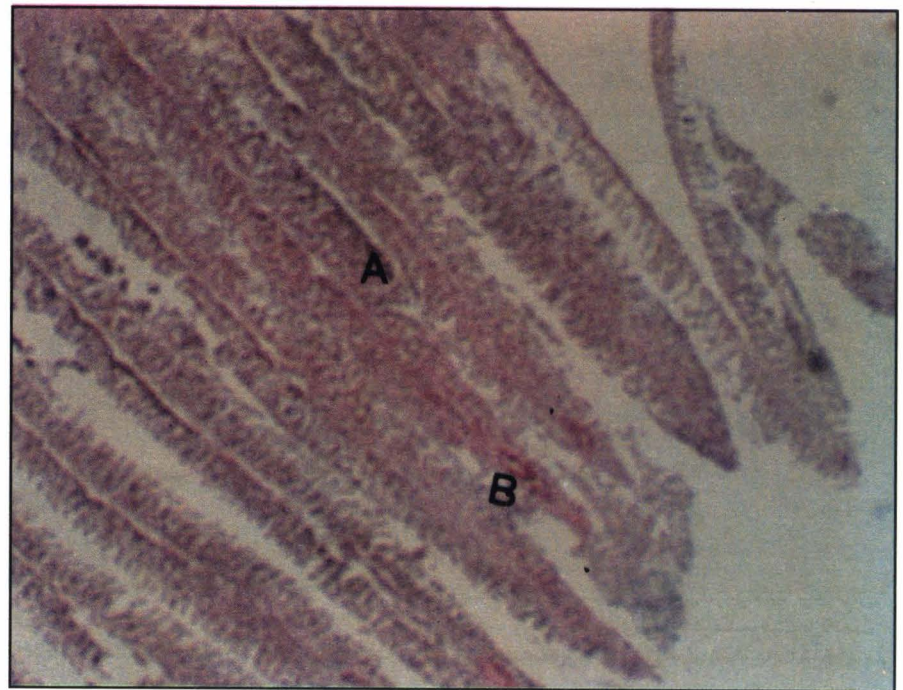
بحث

تحقیقاتی توسط برخی از محققین بر روی اثر یا اثرات نفت خام یا مواد نفتی بر برخی از آبزیان انجام شده است. Ben David و همکاران (۶) تعدادی سمور را در معرض آب آلوده با نفت خام قرار دادند و مشاهده نمودند که این سمورها علاوه بر لاغری خصوصیات رفتاری متفاوتی نیز در آنها غالب گردید و مدت بیشتری را در خانه خود می ماندند و غذای خود را که از طریق شکار به دست می آوردند کمتر می خوردند، همینطور میل به شنا و شکار در آنها شدیداً کاهش می یابد. Sved و همکاران (۱۲) اثرات کربوزوت را که ترکیبی از هیدرو کربنهای آروماتیک چند حلقه ای است بر روی ماهی *Leiootomus xanthurus* بررسی کردند، در این تحقیق بر روی ماهیان در روزهای ۲، ۴ و ۱۰ آزمایش به عمل آمد و دیده شد آنها بی که در معرض قسمتی از

جدول ۱: شدت ضایعات در آبشش ماهیان ۳ گروه تحت آزمایش

گروه ماهیان ضایعات	گروه شاهد	گروه ۱ ۱۰ ppm	گروه ۲ ۱۰۰ ppm	گروه ۳ ۲۵۰ ppm
پر خونی	-	+	++	+++
هیپر پلازی بافت آبششی	-	+	+	-
هیپر پلازی سلول های ترشعی	-	-	+	++
نکروز بافت آبششی	-	-	+	++
یکی شدن تیغه های آبششی	-	-	-	+
خونریزی شدید	-	-	-	+++
نفوذ سلول های آماسی	-	-	-	+++
آماس فیبرینی	-	-	-	+++

* عدم وجود ضایعه (-)، ضایعه خفیف (+)، ضایعه متوسط (++)، ضایعه شدید (+++)



تصویر شماره ۱- یکی شدن تیغه های آبشش (A) و پر خونی (B) گروه ۳ (H&E x64)

کرنوزوت با وزن مولکولی بالا بودند، ضایعاتی از قبیل تخریش باله‌ای، ضایعات اپیدرمی و حتی مرگ و میر را نشان دادند. اما آن‌هایی که در معرض قسمتی از کرنوزوت با وزن مولکولی پائین بودند به جز ضایعات مختصری در اطراف دهان و بینی و سرپوش آبششی ضایعات دیگری نشان ندادند.

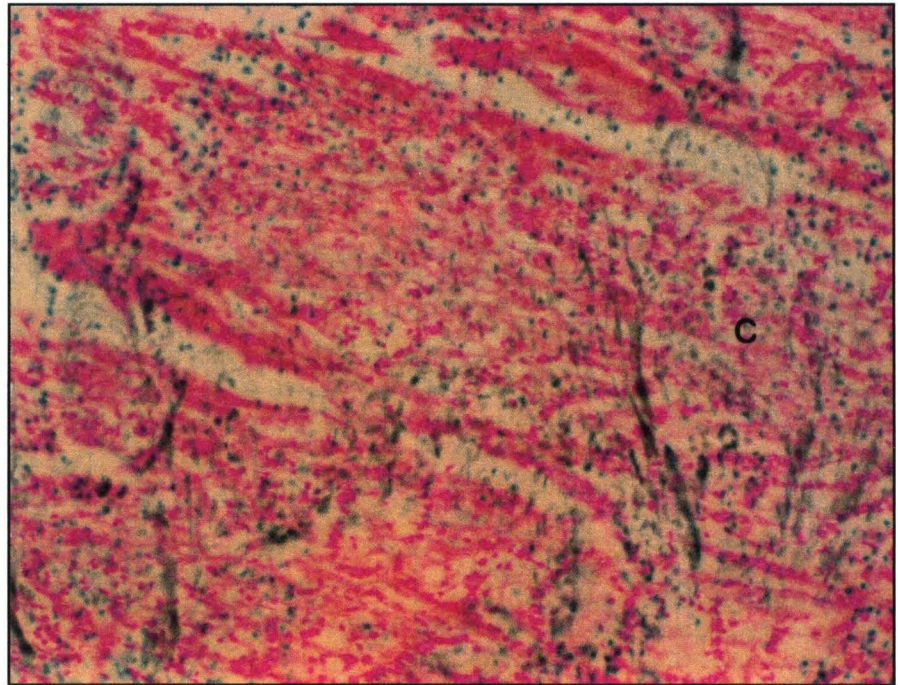
Khan (۱۰) در باره اثرات رسوبهای نفتی بر روی ماهی *Winter flounder* نتایج خود را چنین اعلام نمود که این ماهیان دچار کاهش اخذ غذا، تغییرات رفتاری فیزیولوژیکی و تولید مثلی شدند. او هم چنین ادعا داشت ماهیان که برای تغذیه از کف بستر دریا استفاده می‌کنند احتمال متاثر شدن آنها نسبت به ماهیانی که در سطوح بالاتر آب زندگی می‌کنند بیشتر است. Ghatak و همکارانش (۹) عکس العمل ماهی *Diaptomus forbesi* را در برابر کادمیم و پارانول جی بررسی کردند و مشاهده نمودند ماهی به‌طور مکرر به سطح آب آمده و سرپوش آبششی حرکت نامنظم داشته و خونریزی آبشش و ترشح زیاد موکوس از بدن به خوبی مشهود بود.

Brauner و همکاران (۷) ماهی *Hoplosternum littorale* را در معرض غلظت‌های ۱۲/۵٪، ۲۰٪ و ۳۷/۵٪ نفت خام قرار دادند که علائم سریع تنفس هوایی در ماهیان مشاهده شد. Rice و همکارانش (۱۱) در تحقیق بر روی برخی از ماهیان به این نتیجه رسیدند که ترکیبات مختلف نفتی مانند کروزل، تولون، و فنل محلول در آب برکبد و آبشش ماهیان اثر سوئی داشته و باعث آسیب‌های شدید بافتی می‌گردد.

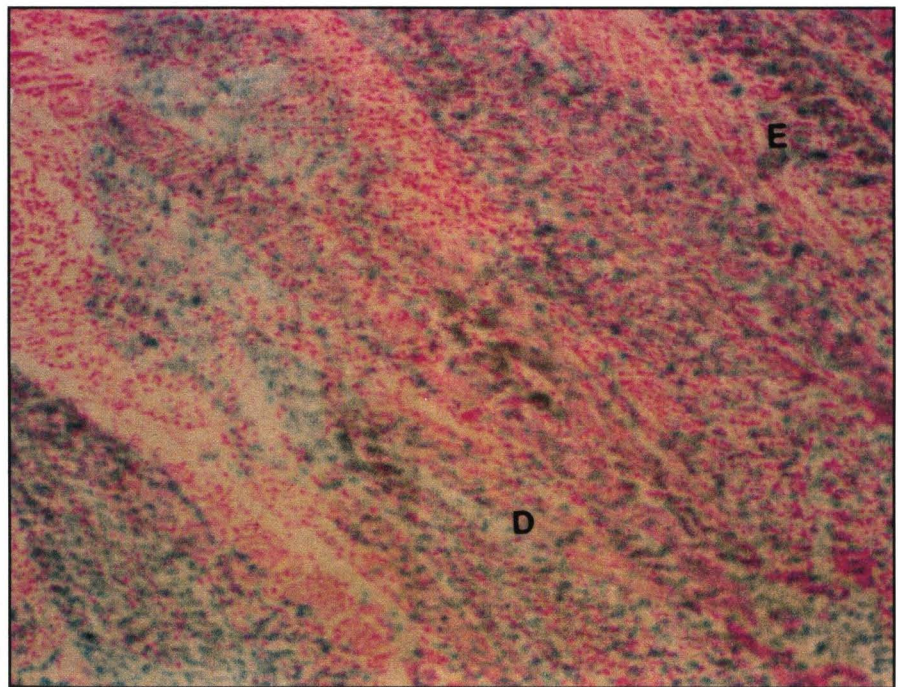
Chang و همکاران (۸) مشاهده کردند ماهیانی که تحت تاثیر مشتقات سبک نفت قرار می‌گیرند، ضایعات شدید کبدی و آبششی در آنها ایجاد میشود نتایج حاصله از این تحقیق مشابه نتایج دیگر محققین بود که ماهیان تحت آزمایش در گروه ۲ و ۳ افزایش ترشح موکوسی در سطح آبشش، افزایش تعدادی تنفس و کاهش عمق تنفس، تجمع ماهیان در سطح آب، بی‌اشتهایی، سستی و بی‌حالی را نشان می‌دادند که نمایانگر آسیب شدید بافت آبشش در ماهیان تحت آزمایش می‌باشد. بیشترین شیوع ضایعات در زمان آلودگی شیمیایی که در محیط اتفاق می‌افتد موجب پرخونی، خونریزی در سطح آبشش، افزایش تولید موکوس، هیپرپلازی یا نکروز بافت آبششی، نفوذ سلولهای آماسی و ادم دیده می‌شود که در بررسی میکروسکوپی، وجود ضایعات هیستوپاتولوژیک در بافت آبششی مورد تایید قرار گرفت و هم چنین رابطه‌ای مستقیم بین افزایش غلظت نفت و شدت ضایعات در بافت آبشش مشاهده می‌شود. ساختمان ظریف آبششها به روشهای مختلفی به جراحات پاسخ می‌دهند که به نوع و شدت عامل و مدت زمان تماس بستگی دارد. در اکثر موارد ضایعات در میان کمانهای آبششی انتشار پیدا می‌کند، هر چند که عوامل اختصاصی روی سلولهای خاصی اثر می‌کنند. برای مثال تخریب و نکروز سلولهای کلراید در مسمومیت با کادمیم و نیتريت دیده می‌شود. (۲، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۲۲).

منابع مورد استفاده

- ۱- پوستی، ایرج، صدیق مروستی، عبدالحمید، ۱۳۷۸. اطلس بافت‌شناسی ماهی، تهران، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران
- ۲- شاهسونی، داور، موثقی، احمد رضا. ۱۳۸۱. آسیب‌شناسی



تصویر شماره ۲- هیپرپلازی سلولهای کلراید آبشش (C) گروه ۲ (H&Ex320)



تصویر شماره ۳- نکروز (D) و خونریزی در آبشش (E) گروه ۳ (H&Ex160)

سیستمیک ماهی، مشهد. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه فردوسی.

۳- شریف روحانی، مصطفی. ۱۳۷۴. تشخیص و درمان بیماریها و مسمومیت‌های ماهی. تهران. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان.

۴- وثوقی، غلامحسین. مستحیر، بهزاد. ۱۳۷۲. ماهیان آب شیرین. تهران. مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

5- Alkindi. A. Y. Brown. J. A. Waring. C. P. 1996; Endocrine. Osmoregulatory. Respiratory and haematological parameters in flounder exposed to the water soluble fraction of crude oil. Jour- fosh Biol-49:1291-1305

6- Ben- David. M, Williams. T. M. Ormseth. O. A. 2000. Effects of oiling on exercise physiology and diving of river otters: A captive study. Canadian Journal of Zoology. 78:1380-1390

7- Brauner. C. J. Ballanyan. Vijayan. M. M. 1999. Crud oil expouser affects air-breathing frequency. blood phosphate levels and ion regulation in an air breathing teleost fish. *Hoplosterum littorale*. Comparative. Biochemistry. 123C. 2: 127-134.

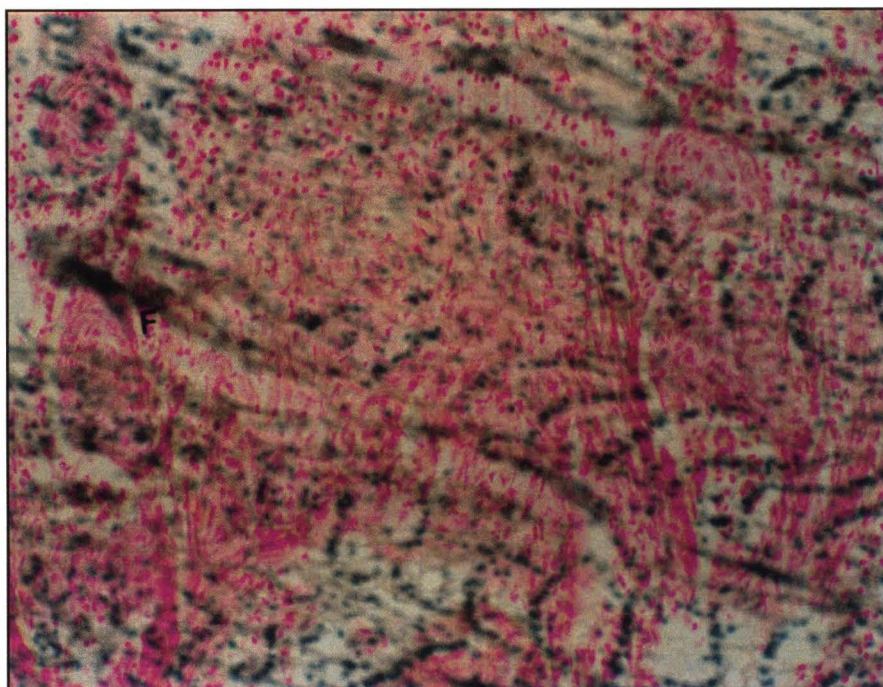
8- Chang. S. Zdanowicz. V. S. Murchelno. R. A. 1998. Associations between gill and liver lesions in Winter flounder (*Pleuronectes americanus*) and sedimical contaminants from north - east united states estuaries. ICSE- Journal of marine Scienc. 55. 5.954.969.

9- Ghatak. D. B. Koar. S. K. 1990. Acute toxicity of mixture of heavy metal cadmium . pesticide DDVP . detergent parnolj 2 and petroleum product n- heptan on fish. plankton and worm. Environment and Ecology. 8:1239-1248.

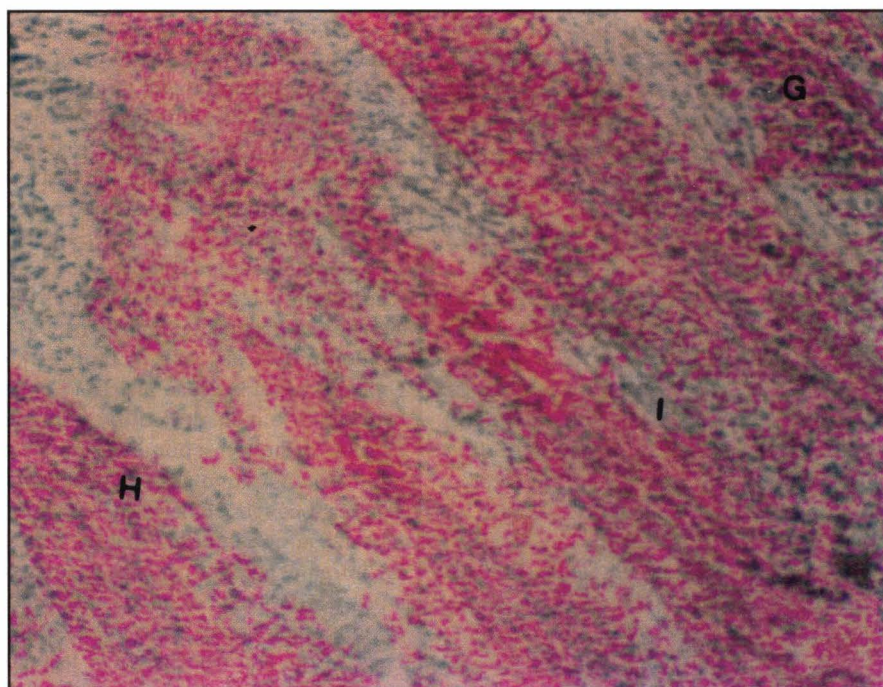
10- Khan. R. A. 1995. Histopathology in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) followong chronic exposure to crude oil . Bull- Environ- Cantam- Toxicol. 54:297-301.

11- Rice. S. D. Short. J. F. 1997. Comparative oil toxicity and compararive animal sensitivity in fate and effects of petroleum hydrocarbons in marine ecosystems and organisms. Wolfe. D. A. Ed. Pergamon press. New york. 6: 546-578.

12- Sved. D. W. Roberts. M. H. Vanveld. P. A. 1997. Toxicity of sediments contaminated with fraction of creosote. Bull- Environ - Cantam- Toxicol. 294-300.



تصویر شماره ۴- اگزودای فیبرینی در آبشش (F) گروه ۳ (H&Ex320)



تصویر شماره ۵- نفوذ سلولهای آماسی (G) و تزايد سلولهای کلراید در آبشش (H) و یکی شدن تیغه‌ها (I) گروه ۳ (H&Ex160)