بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم دریایی
گروه زیست شناسی دریا

پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی دریا

عنوان

تأثیر آلودگی فاز محلول نفت خام بر بافتهای آبشش، کبد و کلیه بچه ماهی سفید دریای خزر

استاد راهنما
دکتر بهروز ابطحی
دکتر عیسی شریف پور

استاد مشاور
دکتر سید جعفر سیف آبادی

نگارش
فاطمه حیدری جامع بزرگی

خرداد۱۳۸۸

شماره:.....
تاریخ:.....
پیوست:.....

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱) در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) های خود، مراتب را قبلاً به مرکز نشر دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲) در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

((کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته **زیست شناسی دریا-جانوران دریا** است که در سال **۱۳۸۸** در دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور به راهنمایی جناب آقای **دکتر بهروز ابطحی و** جناب آقای **دکتر عیسی شریف پور** و مشاوره استاد محترم آقای **دکتر سید جعفر سیف آبادی** از آن دفاع شده است.))

ماده ۳) به منظور جبران بخشی از هزینه های نشریات دانشگاه تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به مرکز نشر دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴) در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰ ٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه نماید.

ماده ۵) دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶) اینجانب **فاطمه حیدری جامع بزرگی** دانشجوی رشته **زیست شناسی دریا-جانوران دریا** در مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

تشکر و سپاس

سپاس پروردگار بی همتا را، ایزد دانا و توانا، او که به نور علم، تیرگی جهل را از دلم زدود و پرتوی بصیرت بر غفلت ذات بشری ام افکند .سپاس پروردگار را، او که نخستین و تنها راهنمایم در راه زندگی است .

از جناب آقای دکتر **بهروز ابطحی** که با دقت و ظرافت از نخستین قدم های این پژوهش تا نقطهٔ فرجام آن، راهنمایی کار را بر عهده گرفتند و با رهنمودهایشان مرا در انتخاب و ادامه ی راهم دل گرم ساختند، کمال تشکر را دارم.

از جناب آقای دکتر **عیسی شریف پور** که با دقت و ظرافت از نخستین قدم های این پژوهش تا نقطهٔ فرجام آن، راهنمایی کار را بر عهده گرفتند و با کمکهای ارزنده شان در طول تحقیق با من همراه بودند، کمال تشکر را دارم.

از استاد مشاور گرامی جناب آقای دکتر **سید جعفر سیف آبادی** که دلسوزانه از نخستین قدم های این پژوهش تا نقطهٔ فرجام آن، مشاورت کار را بر عهده گرفتند، سپاسگزارم.

از استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر **صابر خدابنده** که در طول انجام تحقیق از کمکهای ارزنده شان کمال استفاده رو بردم، سپاسگزارم.

از خانم مهندس زهرا تقی زاده رحمت آبادی که در تمامی مراحل انجام تحقیق مرا همراهی کرده و کمکهای بی شاعبه شان را بر من دریغ نکردند، سپاسگزارم.

از جناب اقای مهندس عبدالرضا بخشی و خواهر عزیزم خانم مهندس فریده حیدری که دلسوزانه در تمامی لحظات با من همراه بودند و با وجود پر مهرو محبتشان تحمل سختی ها را بر من هموار کردند، کمال تشکر و سپاس را دارم.

از جناب آقای مهندس حسن عسکری دایی عزیزم که بهترین دوست و راهنمای فکری من در زندگی هستند سپاسگزارم.

از کارشناس محترم آزمایشگاه بیولوژی دریا، آقای مهندس سید مصطفی حسینی بخاطر کمکهای ارزنده شان کمال تشکر را دارم.

از برادران و خواهرهای عزیزم عباس، فهیمه، عقیل، فریبا، فرزانه که هماره مشوق من بودند سپاسگزارم.

از دوستان خوبم خانمها هانیه همایونی، زهرا امینی، شیما معلمی، انسیه غنی زاده، آرزو وهاب نژاد، فیروزه حاتمی، مرضیه احمدی که لحظات شاد و زیبایی را برایم خلق و به یادگار گذاشتند کمال تشکر را دارم.

تقدیم به

به پدر و مادرم. دو وجود مقدسی که موهبتهای الهی بر من اند

آنان که آموزگاران تلاش و استقامت در تمامی لحظات زندگی ام هستند و وجود پر

مهرشان آرام بخش لحظه به لحظه های زندگی ام بوده و هست.

پدری که برایم اسوه ایستادگی، تلاش، صداقت و مهربانی است و مادری که برایم تندیس

عطوفت و پاکی است. بوسه بر دستان پرمهرشان می زنم و قدردان زحماتشان هستم تا

ابدیت، هرچند کلام یارای تشکر از زحماتشان نیست

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه ۲

۱-۱-۱ اهداف ۴

۱-۱-۲ ضرورت انجام تحقیق ۵

۱-۱-۳ فرضیه ها ۵

۱-۲ کلیات ۶

فصل دوم: سابقه تحقیق

۲-۱ تحقیقات صورت گرفته در ایران ۱۶

۲-۲ تحقیقات صورت گرفته در خارج از ایران ۱۷

فصل سوم: مواد و روش ها

۳- ۱: مواد و وسایل ۲۲

۳-۱-۱: مواد غیر مصرفی ۲۲

۳-۱-۲: مواد مصرفی ۲۲

۳-۱-۳: خواص فیزیکوشیمیایی نفت خام مورد استفاده: ۲۲

۳-۱-۴: شاخص ها کیفی آب ۲۳

۳-۲: روش انجام تحقیق ۲۴

۳-۲-۱: ماهی ها، سازگاری و تثبیت نمونه ها ۲۴

۳-۲-۲: روش تهیه فاز محلول نفت خام (WSF) ۲۴

۳-۲-۳: تعیین LC_{50} ۲۵

۳-۲-۴: تیمارها ۲۶

۳-۲-۵: بافت شناسی ۲۶

۳-۲-۶: فراساختار آبشش ۲۷

۳-۲-۷: شمارش تیغه های آبششی آسیب دیده ۲۷
۳-۲-۸: اندازه گیری قطر رشته و تیغه های آبششی ۲۷
۳-۲-۹: مطالعات آماری ۲۸

فصل چهارم: نتایج

۴-۱:مقدمه ۲۹
۴-۱-۱: تغییرات غلظت هیدروکربن های محلول در محیط آزمایش ۲۹
۴-۱-۲: میزان مرگ ومیر بچه ماهیان طی آزمایش تعیین LC_{50} ۳۰
۴-۱-۳: ماندگاری بچه ماهیان ۳۲
۴-۱-۴: نتایج مشاهدات رفتار ۳۲
۴-۲ : نتایج مطالعات بافت شناسی آبشش ۳۳
۴-۲-۱: ساختار بافت آبشش در بچه ماهیان گروه کنترل ۳۳
۴-۲-۲ ساختار آبشش در بچه ماهیان تیمار LC_{50} ۰/۱ پس از ۲۴ ساعت ۳۴
۴-۲-۳ ساختار آبشش در بچه ماهیان تیمار LC_{50} ۰/۱ پس از ۹۶ ساعت ۳۴
۴-۲-۴ ساختار آبشش در بچه ماهیان تیمار LC_{50} به مدت ۲۴ ساعت ۳۵
۴-۲-۵ : ساختار آبشش در بچه ماهیان تیمار LC_{50} به مدت ۹۶ ساعت ۳۶
۴-۳: نتایج مطالعات بافت شناسی کبد ۴۸
۴-۳-۱: ساختار کبد در بچه ماهیان گروه کنترل ۴۸
۴-۳-۲: ساختار کبد در بچه ماهیان تیمار LC_{50} ۰/۱ به مدت ۲۴ ساعت ۴۹
۴-۳-۳: ساختارکبد در بچه ماهیان تیمار LC_{50} ۰/۱ به مدت ۹۶ ساعت ۴۹
۴-۳-۴: ساختار کبد در بچه ماهیان تیمار LC_{50} به مدت ۲۴ ساعت ۴۹
۴-۳-۵: ساختارکبد در بچه ماهیان تیمار LC_{50} به مدت ۹۶ ساعت ۵۰
۴-۴: نتایج مطالعات بافت شناسی کلیه ۵۵
۴-۴-۱: ساختار کلیه در بچه ماهیان گروه کنترل ۵۵
۴-۴-۲: بافت شناسی کلیه در بچه ماهیان مواجه شده با غلظت ۰/۱LC_{50} به مدت ۲۴ ساعت ۵۶
۴-۴-۳: بافت شناسی کلیه در بچه ماهیان مواجه شده با غلظت ۰/۱LC_{50} به مدت ۹۶ ساعت ۵۶
۴-۴-۴: بافت شناسی کلیه در بچه ماهیان مواجه شده با غلظت LC_{50} به مدت ۲۴ ساعت ۵۷
۴-۴-۵: بافت شناسی کلیه در بچه ماهیان مواجه شده با غلظت LC_{50} به مدت ۹۶ ساعت ۵۷
۴-۵: نتایج مطالعات میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) ۶۷
۴-۵-۱: مطالعه فراساختار آبشش در بچه ماهیان سفید گروه شاهد ۶۷
۴-۵-۲: مطالعه فراساختار آبشش در بچه ماهیان سفید تیمار LC_{50} ۲۴h ۶۷

۴-۵-۳: مطالعه فراساختار آبشش در بچه ماهیان سفید تیمار LC_{50} ۹۶ h ۶۷

فصل پنجم: بحث ونتیجه گیری

۵-۱: بحث ۷۵

۵-۲: نتیجه گیری کلی ۸۸

۵-۳ پیشنهادات پژوهشی ۹۰

منابع ۹۱

فهرست نمودارها

نمودار ۴-۱: تغییرات غلظت هیدروکربن های محلول در شرایط آزمایش LC_{50} ۲۹

نمودرا ۴-۲: میزان مرگ و میر در غلظت های مختلف به روش نیمه پایدار ۳۱

نمودار ۴-۳: درصد آسیب های مشاهده شده در بچه ماهیان تیمار LC_{50} ۰/۱ به مدت ۲۴ ساعت ۳۴

نمودار ۴-۴: درصد آسیب های مشاهده شده در بچه ماهیان تیمار LC_{50} ۰/۱ به مدت ۹۶ ساعت ۳۵

نمودار ۴-۵: درصد آسیب های مشاهده شده در بچه ماهیان تیمار LC_{50} به مدت ۲۴ ساعت ۳۵

نمودار ۴-۶: درصد آسیب های مشاهده شده در بچه ماهیان تیمار LC_{50} به مدت ۹۶ ساعت..... ۳۶

نمودار ۴-۷: مقایسه قطر رشته آبششی در تیمارهای مختلف ۴۶

نمودار ۴-۸: مقایسه قطر تیغه آبششی در تیمارهای مختلف ۴۷

فهرست جداول

جدول۱-۱: رده بندی ماهی سفید ۶

جدول ۴-۱-۱: تعداد مرگ ومیر حاصل از WSF در روش نیمه پایدار ۳۰

جدول ۴-۱-۲: میزان LC_{50} و حدود بالا و پایین اطمینان بر حسب ppm..... ۳۱

جدول ۴-۱-۳: میزان مرگ و میر در آزمایشات LC_{50}..... ۳۲

فهرست اشکال

شکل ۱-۱: ماهی سفید بالغ ۶
شکل۱-۲: محدوده پراکنش ماهی سفید در دریای خزر ۷
شکل۱-۳: شمای نحوه چینش سلولهای هپاتوسیت ۱۲
شکل ۴-۱-۱: برشی عرضی ناحیه آبششی ۳۷
شکل ۴-۱-۲: نمای کلی از محفظه آبششی و حفره دهانی حلقی و نحوه قرار گرفتن کمانهای آبششی در بچه ماهی سفید دریای خزر . H&E, 4X ۳۷
شکل ۴-۲: آبشش گروه شاهد بچه ماهیان سفید دریای خزر (H&E). ۳۸
شکل ۴-۳: رشته ها و تیغه های آبششی در گروه شاهد بچه ماهیان سفید دریای خزر ۳۹
شکل ۴-۴: برش طولی از رشته و تیغه های آبششی در بچه ماهیان سفید تیمار شده با غلظت ۰/۱ LC_{50} فاز محلول نفت خام به مدت ۲۴ ساعت (H&E, X100). ۴۰
شکل ۴-۵: برش طولی از رشته و تیغه های آبششی در بچه ماهیان سفید تیمار شده با غلظت ۰/۱ LC_{50} فاز محلول نفت خام به مدت ۹۶ ساعت (H&E, X100). ۴۱
شکل ۴-۶: برش عرضی از رشته و تیغه های آبششی در بچه ماهیان سفید تیمار شده با غلظت LC_{50} فاز محلول نفت خام به مدت ۲۴ ساعت (H&E). ۴۲
شکل ۴-۷: برش طولی از رشته و تیغه های آبششی در بچه ماهیان سفید تیمار شده با غلظت LC_{50} فاز محلول نفت خام به مدت ۲۴ ساعت (H&E, X100). ۴۳
شکل ۴-۸: برش عرضی از رشته و تیغه های آبششی در بچه ماهیان سفید تیمار شده با غلظت LC_{50} فاز محلول نفت خام به مدت ۹۶ ساعت (H&E, X100). ۴۴
شکل ۴-۹: برش طولی از رشته و تیغه های آبششی در بچه ماهیان سفید تیمار شده با غلظت LC_{50} فاز محلول نفت خام به مدت ۹۶ ساعت (H&E). ۴۵
شکل ۴-۱۰: برش عرضی از بافت کبد در بچه ماهیان سفید دریای خزر ۵۰
شکل ۴-۱۱ : برش عرضی از بافت کبد در بچه ماهیان سفید تیمار شده با غلظت ۰/۱ LC_{50} فاز محلول نفت خام به مدت ۲۴ ساعت ۵۱
شکل ۴-۱۲: برش عرضی از بافت کبد در بچه ماهی سفید، تیمار شده با غلظت ۰/۱ LC_{50} فاز محلول نفت خام به مدت ۹۶ ساعت ۵۲
شکل ۴-۱۳ : برش عرضی از بافت کبد در بچه ماهیان سفید تیمار شده با غلظت LC_{50} فاز محلول نفت خام به مدت ۲۴ ساعت ۵۳

شکل ۴-۱۴ : برش عرضی از بافت کبد در بچه ماهیان سفید تیمار شده با غلظت LC_{50} فاز محلول نفت خام به مدت ۹۶ ساعت ۵۴
شکل ۴-۱۵: برش عرضی از بافت کلیه شاهد در بچه ماهیان سفید (H&E, X4) ۵۸
شکل ۴-۱۶: بافت شناسی کلیه گروه شاهد در بچه ماهیان سفید دریای خزر (H&E, X40) ۵۹
شکل ۴-۱۷: بافت شناسی کلیه گروه شاهد در بچه ماهیان سفید دریای خزر (H&E, X100) ۶۰
شکل ۴-۱۸: بافت کلیه در بچه ماهیان سفید دریای خزر تیمار شده با غلظت LC_{50}۰/۱ به مدت ۲۴ ساعت (H&E, X100) ۶۱
شکل ۴-۱۹: بافت کلیه در بچه ماهیان سفید دریای خزر تیمار شده با غلظت LC_{50}۰/۱ به مدت ۹۶ ساعت (H&E, X 40). ۶۲
شکل ۴-۲۰: بافت کلیه در بچه ماهیان سفید دریای خزر تیمار شده با غلظت LC_{50}۰/۱ به مدت ۹۶ ساعت (H&E, X 100). ۶۳
شکل ۴-۲۱: بافت کلیه در بچه ماهیان سفید دریای خزر تیمار شده با غلظت LC_{50} به مدت ۲۴ ساعت (H&E, X100). ۶۴
شکل ۴-۲۲: بافت کلیه در بچه ماهیان سفید دریای خزر تیمار شده با غلظت LC_{50} به مدت ۹۶ ساعت (H&E, X100). ۶۵
شکل ۴-۲۳ : فراساختار آبشش در گروه شاهد بچه ماهی سفید دریای خزر ۶۸
شکل ۴-۲۴ : فراساختار آبشش در بچه ماهی سفید دریای خزر تیمار LC_{50} ۲۴h ۶۹
شکل ۴-۲۵ : فراساختار آبشش در بچه ماهی سفید دریای خزر تیمار LC_{50} ۹۶h ۷۰
شکل ۴ -۲۶: نمایی از رشته های آبششی بچه ماهی سفید تیمار LC_{50} ۹۶h ۷۱
شکل ۴-۲۷: این تصویر خیز و جدا شدن اپیتلیال از غشاء پایه (EL) و همچنین آنیوریسم در انتهای تیغه آبششی را به خوبی نشان میدهد ۷۲

چکیده

اثر سمیت فاز محلول در آب نفت خام (Water soluble fraction of crude oil) بر بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*)، در یک دوره آزمایشی حاد مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور تعداد ۸۰۰ عدد بچه ماهی سفید در تیرماه ۱۳۸۷ از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی کلمه گرگان تهیه و به آزمایشگاه تحقیقات آبزیان دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی منتقل شدند. بچه ماهیان با وزن ۲-۱ گرم برای سازگاری با شرایط آزمایشگاهی به مدت ۸ روز در تانکهای ۳۰۰ لیتری نگهداری شدند. سپس برای بدست آوردن LC_{50}^{96h}، ۶ غلظت از WSF (۲۷، ۲۹/۲۵، ۳۱/۵، ۳۳/۷۵، ۳۶، ۳۸/۲۵ قسمت در میلیون) در آکواریوم های ۲۰ لیتری آماده سازی شد و به هر آکواریوم ۱۰ عدد بچه ماهی به مدت ۹۶ ساعت معرفی گردید. با توجه به میزان مرگ و میر بچه ماهیان در ۹۶ ساعت و با استفاده از آنالیز آماری Probit value، LC_{50}^{96h}، ۳۳/۹۵ ppm محاسبه گردید. سپس در ۳ آکواریوم LC_{50}^{96h} و در ۳ آکواریوم LC_{50}^{96h} ۰/۱ غلظت سازی شدند. ۳ آکواریوم هم آب شهری هوادهی شده به عنوان گروه شاهد انتخاب شد. بعد از ۲۴ و ۹۶ ساعت از هر آکواریوم جهت انجام آزمایشات بافت شناسی ۳ ماهی و برای SEM بافت آبشش هم ۳ عدد ماهی برداشت و فیکس شدند. از بافتهای آبشش، کبد و کلیه برشهای ۳ میکرونی تهیه، با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی و بوسیله میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. آسیب های عمومی مشاهده شده شامل جدا شدن اپیتلیال از غشاء پایه تیغه های آبششی، پرخونی در رشته و تیغه های آبششی، آنیوریسم، چماقی شدن انتهای تیغه‌ها، هایپرتروفی سلولهای اپیتلیالی تیغه‌ها، هایپرپلازی بین تیغه‌ها و همجوشی تیغه‌های آبششی در آبشش؛ تغییر شکل هپاتوسیت ها، دژنره شدن سلول‌ها، انبساط و پرخونی سینوزوئیدها، واکوئوله شدن سیتوپلاسم و پرخونی رگها در کبد؛ اتساع گلومرول‌ها، کاهش فضای بومن، انسداد لومن توبول‌های ادراری، تورم ابری و دژنره شدن قطرات هیالین در کلیه، بود. مشاهدات SEM آبشش نتایج بافت شناسی را تأیید کرده و تورم و جدا شدن اپیتلیال از غشاء پایه و آنیوریسم را در تیغه های آبششی نشان داد. طبق نتایج این تحقیق هیستوپاتولوژی شاخص زیستی مناسبی در ارزیابی اثر آلاینده‌های نفتی بر بافت‌های حیاتی ماهی می‌باشد. همچنین فاز محلول در آب نفت خام سبب بروز

آسیب‌های جدی در بافت‌های آبشش، کبد و کلیه بچه ماهیان سفید شده و با اختلال در عملکرد این اندامها سبب برهم خوردن هموستازی بدن ماهی می شود. آسیب‌های مشاهده شده در این تحقیق در آبشش نسبت به کبد و کلیه شدیدتر بود که این امر می‌تواند به دلیل قرار گرفتن در معرض مستقیم آلاینده باشد.

کلمات کلیدی: ماهی سفید، فاز محلول نفت خام، LC_{50}^{96h}،آبشش، کبد، کلیه، آسیب شناسی بافتی، *Rutilus frisii kutum*

فصل اول:

مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه

موجودات آبزی به ویژه ماهی‌ها یکی از منابع مهم تأمین غذای جوامع بشری و سایر موجودات وابسته به زنجیره-های غذایی دریا هستند از این رو پاک و سالم بودن این منابع، حائز اهمیت می باشد. افزایش جمعیت مناطق شهری در نواحی ساحلی و توسعه بخشهای مختلف صنایع، موجب آلودگی پهنه‌های آبی شده که نتیجه آن به مخاطره انداختن حیات موجودات از جمله ماهیان می‌باشد. آلاینده‌ها کیفیت آب را تغییر می‌دهند و سبب بروز مشکلات بسیاری مانند انواع بیماریها و تغییرات ساختاری در ماهیان می‌شوند (Chang و همکاران، ۱۹۹۸). از میان انواع مختلف آلودگی‌ها، مشتقات نفتی (هیدروکربونها) یکی از مهمترین آلاینده های محیطهای آبی محسوب می‌شوند (Pacheco و Santos، ۲۰۰۱)، که می توانند به دلیل سمیت و تجمع در بافتهای بدن آبزیان، مشکلات عمده ای ایجاد کنند. سالانه تقریباً ۵ میلیون تن نفت خام از منابع مختلف وارد محیطهای دریایی‌می شود (Kennedy و Farrell، ۲۰۰۵). ۳۵٪ از کل نفت تخلیه شده به محیطهای آب شیرین ناشی از تخلیه نفت و مشتقاتش در هنگام حمل و نقل، در اکوسیستم‌های آب شیرین می‌باشد. در حوزه آبی بسته خزر نیز مقدار قابل توجهی از آلاینده‌های هیدروکربونی یافت می شود. طبق محاسبات انجام شده تا سال ۲۰۰۰ کل نفت ورودی به دریای خزر ۱۲۲۳۵۰ تن در سال می‌باشد (CEP، ۲۰۰۱). سالانه مقدار زیادی نفت در اثر تردد رو به افزایش نفت‌کش ها و گسترش حمل و نقل دریایی، توسعه روزافزون فعالیتهای اکتشاف و حفاری توسط کشورهای حاشیهٔ دریای خزر خصوصاً آذربایجان و قزاقستان و امکان نشت و پراکنش مواد نفتی در مناطق بهره برداری،

استقرار پالایشگاههای نفت، گاز و پتروشیمی در پیرامون دریای خزر، روان آب رودخانه‌ها، نشت طبیعی، ریزش جوی، فاضلاب شهری و پسابهای صنعتی کارخانه‌ها و تاسیسات همجوار با دریای خزر و رودخانه‌های مهم آن و تصادفات و حوادث، وارد دریا می گردد.

مطالعات آسیب‌شناسی بافتی[1] ماهیان قرارگرفته در معرض آلودگی، یکی از روش‌های کاربردی و معمول تعیین اثرات آلاینده بر موجود زنده می باشد که به درک واکنشهای بیولوژیک رخ داده کمک می کند (Heath، ۱۹۸۷؛ Cormeir و همکاران، ۱۹۹۵؛ Schwaiger و همکاران، ۱۹۹۷؛ Silva و Martinez، ۲۰۰۷). این تکنیک مطالعاتی، به عنوان شاخص زیستی برای تعیین سلامتی ماهی در معرض آلاینده، هم در مطالعات آزمایشگاهی (Thophon و همکاران، ۲۰۰۳؛ Akaishi و همکاران، ۲۰۰۴؛ Gabriel و همکاران، ۲۰۰۷؛ Simonato و همکاران، ۲۰۰۸) و هم میدانی (Teh و همکاران، ۱۹۹۷؛ Schwaiger، ۱۹۹۷؛ Khan، ۱۹۹۸؛ Camargo و Martinez، ۲۰۰۷) استفاده شده است. هدف تحقیقات آسیب شناسی بافتی، علاوه بر تخمین اثرات سمیت، شناخت تغییرات و آسیب‌های ناشی از استرس‌های محیطی و آلودگیها می باشد (Teh و همکاران، ۱۹۹۷) و یکی از مزایای استفاده از شاخص های آن، مطالعه و بررسی اختصاصی اثرات آلاینده بر روی اندامهای هدف خاص مثل آبشش، کلیه و کبد می‌باشد که مسئول اعمال حیاتی مثل تنفس، دفع، تجمع و نقل و انتقال ترکیبات ضد حیات[2] در ماهی می‌باشند (Gernhofer و همکاران، ۲۰۰۱) و در اثر مواجه با آلاینده های محیطی دچار آسیب‌های حاد و اغلب جبران ناپذیر می‌شوند.

ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*)، از خانواده کپور ماهیان، از جمله مهمترین ماهیان استخوانی اقتصادی سواحل و رودخانه‌های حاشیه جنوبی دریای خزر می‌باشد که ذخایر آن بدلیل صید بیش از حد مجاز در معرض خطر قرار گرفته است. به منظور بازسازی ذخایر این ماهی سالانه بیش از ۲۰۰ میلیون قطعه بچه ماهی ۱-۲ گرمی توسط سازمان شیلات ایران در کارگاههای تکثیر تولید و به رودخانه ها رهاسازی می شوند (Heyrati و

1 Histopathology
2 Xenobiotic

همکارن، ۲۰۰۷). با وجود انجام تحقیقاتی در خصوص تأثیر آلودگی فاز محلول نفت خام بر ماهیان (Prasad، ۱۹۹۱; Stephens و همکاران،۲۰۰۰; Dede و Kaglo، ۲۰۰۱; Rudolph و همکاران، ۲۰۰۱; Akaishi و همکاران، ۲۰۰۴; Kennedy و Farrell، ۲۰۰۵; Simonato و همکاران، ۲۰۰۸)، تحقیقی روی اثر این آلودگی بر ماهی سفید دریای خزر انجام نگرفته است. با توجه به آنکه در بررسی اثر آلاینده‌های مختلف، از میان بافتهای بدن ماهی معمولا آبشش‌ها، پوست، کبد، طحال و کلیه‌ها مورد بررسی قرار می گیرند (Prasad، ۱۹۹۱; Myers و همکاران، ۱۹۹۸; Stephens و همکاران، ۲۰۰۰; Dede و Kaglo، ۲۰۰۱; Rudolph و همکاران، ۲۰۰۱; Khan، ۲۰۰۳; Martinez و همکاران، ۲۰۰۴; Akaishi و همکاران، ۲۰۰۴; Nero و همکاران، ۲۰۰۶; Gabriel و همکاران، ۲۰۰۷; Simonato و همکاران، ۲۰۰۸; Bhattacharya و همکاران، ۲۰۰۸)، در این تحقیق، علاوه بر تعیین محدوده کشندگی فاز محلول نفت خام بر بچه ماهی سفید دریای خزر با وزن تقریبی ۱-۲ گرم و میزان بقاء آنها در شرایط آزمایشگاهی، آسیب های احتمالی ناشی از مواجه شدن این بچه ماهیان با آب شیرین آلوده به درجات مشخصی از فاز محلول نفت خام، در دوره زمانی ۹۶ ساعته، در اندامهای آبشش، کبد و کلیه با استفاده از تکنیک بافت شناسی مورد بررسی قرار گرفته است. بررسی نوع و شدت آسیب های وارده به اندامهای حیاتی این ماهی و تعیین میزان بقای این موجود در مواجهه با آلاینده‌های خاص، می تواند در اندیشیدن تمهیداتی برای افزایش بقای این بچه ماهیان در هنگام رهاسازی به محیط طبیعی، مورد توجه قرار گیرد.

۱-۱-۱: اهداف

۱) بررسی ساختار آبشش، کبد و کلیه در بچه ماهی سفید دریای خزر.

۲) مطالعه اثر آلودگی فاز محلول نفت خام بر مورفولوژی و عملکرد این ساختارها.

۱-۱-۲: ضرورت انجام تحقیق

اگر چه مطالعاتی، تأثیر آلودگی های نفتی بر آبزیان را مورد بررسی قرار داده‌اند تا کنون به طور اختصاصی مطالعهٔ اثرات آن بر ماهیان استخوانی دریای خزر صورت نگرفته است. با توجه به ارزش اقتصادی ماهی سفید و کاهش ذخایر آن از سویی و وجود صدها چاه نفت در کشورهای حاشیه دریای خزر و استحصال نفت با سیستمهای قدیمی و بدون بهره گیری از تکنولوژی جدید از سوی دیگر، انجام این تحقیق گامی در جهت مشخص کردن میزان تأثیر هیدروکربن‌های نفتی بر بقاء این آبزی با ارزش خواهد بود.

۱-۱-۳: فرضیه ها

۱. غلظتهای LC_{50} و ۰/۱LC_{50} فاز محلول نفت خام موجب، جدا شدن اپیتلیوم، هایپرپلازی (افزایش تعداد سلولها) و هایپرتروفی (حجیم شدن سلولها) روی اپیتلیوم تیغه‌ها در آبشش بچه ماهیان سفید می‌شود.

۲. غلظتهای LC_{50} و LC_{50} ۰/۱ فاز محلول نفت خام موجب، بزرگ شدن گلومرول، کاهش فضای بومن، انسداد مجاری توبولی و ضایعات نکروتیک در بافت کلیه بچه ماهیان سفید می‌شود.

۳. غلظتهای LC_{50} و ۰/۱LC_{50} فاز محلول نفت خام موجب، هایپرتروفی، دژنراسیون و نکروز در سلولهای کبد بچه ماهیان سفید می شود.

۴. میزان آسیبهای وارده بر بافت آبشش، نسبت به بافتهای کبد و کلیه ماهی سفید با افزایش غلظت فاز محلول نفت خام، بیشتر می باشد.

۲-۱ کلیات

ماهی سفید با توجه به ارزش غذایی بالا، کیفیت عالی گوشت و لذیذ بودن مورد توجه صیادان، ساحل نشینان و مردم کشور ما و حتی سایر کشورهای حاشیه دریای خزر می باشد. این ماهی رودکوچ (anadromous) است و بخش عمده زندگی خود را در دریا گذرانده و در فصل بهار و یا پاییز جهت تخم‌ریزی به رودخانه‌ها مهاجرت می‌کند.

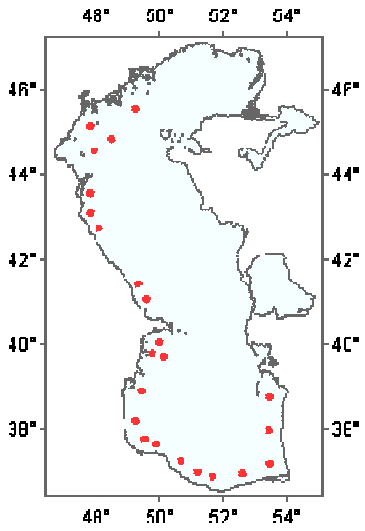
شکل ۱-۱: ماهی سفید بالغ (www.fishbase.org)

جدول۱-۱: رده بندی ماهی سفید:

راسته	**کپور ماهی شکلان**	**Cypriniformes**
خانواده	کپور ماهیان	***Cyprinidae***
جنس	ماهی سفید	***Rutilus***
گونه	ماهی سفید	***Rutilus frisii***
زیر گونه	ماهی سفید	***Rutilus frisii kutum***
نام انگلیسی		**Kutum**
نام روسی		**Kutuma**
نام فارسی	**ماهی سفید**	

ماهی سفید از نظر رژیم غذائی جزء ماهیان همه چیز خوار بوده ولی برخلاف سایر ماهیان همه چیز خوار به دلیل کوتاه بودن طول روده دارای طیف غذایی محدودی می باشد. این ماهی از انواع پلانکتون‌های گیاهی و جانوری و لارو حشرات به عنوان غذای آغازین استفاده نموده ولی پس از رسیدن به وزن بالاتر و در مراحل پس از مهاجرت به دریا عمدتاً از صدفهای دو کفه ای تغذیه می نماید (رضوی صیاد، ۱۳۷۴).

عمده پراکنش ماهی سفید در دریای خزر مربوط به مناطق جنوبی و جنوب غربی این دریا بوده و از رودخانه اترک واقع در منطقه قفقاز (ساحل غربی خزر میانی) تا سواحل جنوب تر کمنستان بعنوان یک ماهی اقتصادی ارزشمند توسط صیادان صید می گردد. حضور ماهی سفید در دیگر مناطق دریای خزر از جمله خزر شمالی و رود ولگا به ندرت و موردی بوده و تاکنون هیچ گزارش رسمی مبنی بر مهاجرت ماهی سفید به این مناطق ارائه نشده است.



شکل۱-۲: محدوده پراکنش ماهی سفید در دریای خزر (http://www.caspianenvironment.org)

دریاچه خزر به عنوان بزرگترین دریاچه داخلی در جهان است که بوسیله کشورهای آذربایجان، روسیه، جمهوری اسلامی ایران، قزاقستان و ترکمنستان احاطه شده است. این کشورها بدلیل داشتن ذخایر بزرگ نفت و گاز طبیعی، تمایل به شرکت در صنعت نفت و گاز جهانی، مخصوصاً از زمان فروپاشی اتحاد جماهیر شوروی در سال ۱۹۹۱ دارند. با وجود آنکه اغلب منابع نفتی آذربایجان و حدوداً ۳۰ تا ۴۰٪ کل منابع نفتی قزاقستان و ترکمنستان در مناطق دور از ساحل قرار دارند و کشور ایران تولید نفت و گاز طبیعی در دریای خزر ندارد اما این کشورها خصوصا ایران در مجموع نقش مهمی در انتقال نفت و گاز و صادرات آنها نسبت به سایر کشورهای حاشیه دریای خزر دارند (Tolosa و همکاران، ۲۰۰۴). سطح آب دریای خزر نیز در ۲۰ سال گذشته حدود ۲/۵ متر بالا آمده است که نتیجه آن به زیر آب رفتن بخشی از حوزه های نفتی و زمینهای کشاورزی و حتی مسکونی می باشد و به این ترتیب آلودگی های مهمی به دریای خزر وارد می شوند (Dumont، ۱۹۹۸). در شبه جزیره آبشوران آذربایجان بیش از یک قرن است که بواسطه تولیدات نفتی و احداث خط لوله انتقال نفت بیش از ۱۰۰۰۰ هکتار از زمینها به شدت آلوده شده است. علاوه بر آن شرکت صنعتی Sumgait و پالایشگاه نفت و پتروشیمی مستقر در باکو بزرگترین منابع ساحلی آلوده کننده دریای خزر می باشند (Tolosa و همکاران، ۲۰۰۴). این منابع آلاینده ساحلی به همراه حوزه های نفتی دور از ساحل، تردد نفت کش ها و انتقال نفت توسط خطوط لوله سبب تولید بیشترین مقدار سموم و نشت نفت به دریای خزر هستند (Dumont، ۱۹۹۸). رودخانه‌های حوزه جنوبی دریای خزر بواسطه تراکم جمعیت و بالا بودن فعالیتهای انسانی و صنعتی، تردد کشتی ها و قایق های صیادی و همچنین انتقال آلودگی‌های خشکی از طریق شسته شدن توسط باران و تخلیه آنها به رودخانه‌ها، دارای آلودگی بالایی می‌باشند. علاوه بر آنکه در نمونه های آب مناطق مختلف حوزه خزر، ترکیبات فنولی، تولیدات نفتی و دیگر آلاینده‌ها یافت شده است (Tolosa و همکاران، ۲۰۰۴)، طبق نتایج حاصل از گشت تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات شیلات ایران در پاییز ۱۳۸۲ ترکیبات PAHs در آب همه ایستگاههای حوضه جنوبی دریای خزر با غلظت‌های متفاوت مشاهده گردیده است دامنه تغییرات PAHs از ۲/۲۷۳ تا ۰/۰۱۲ میلیگرم بر لیتر بوده که حداقل آن در ایستگاه گمیشان و حداکثر آن در ایستگاه امیرآباد بوده