دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی

پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی دریا

عنوان

تجمع پایرن و آسیب شناسی آن در برخی بافت‌های حیاتی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شرایط آزمایشگاهی

نگارش:

سیده رویا علیایی

استاد راهنما:

دکترعیسی شریف پور

استاد مشاور:

دکتر علیرضا ریاحی بختیاری

مهر ۹۲

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده منابع طبیعی

باسمه تعالی

تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه

بدین‌وسیله گواهی می‌شود خانم **رویا علیایی** در تاریخ **۹۲/۷/۱۷** از پایان نامه ۸ واحدی خود با **تجمع زیستی و اثرات آسیب شناسی در کبد و آبشش ماهی کپور معمولی (Cyprinus carpio) ناشی از در معرض قرارگیری به پایرن** ، دفاع کرده است. اعضای هیأت داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا بررسی کرده و پذیرش آنرا برای دریافت درجه کارشناسی ارشد تائید می‌نمایند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
استاد راهنمای اصلی	دکتر عیسی شریف پور	دانشیار	
استاد مشاور	دکتر علیرضا ریاحی	استادیار	
استاد ناظر (خارجی)	دکتر رضا پور غلام	استادیار	
استاد ناظر (داخلی)	دکتر صابر خدابنده	دانشیار	
نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر بهروز زارعی	استادیار	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم الاجرا است.

ماده۶- اینجانب **سیده رویا علیایی** دانشجوی رشته **زیست‌شناسی دریا** در مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی: سیده رویا علیایی

تاریخ و امضا : ۱۳۹۲/۰۷/۱۷

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (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 می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» 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/ رساله دکتری نگارنده دررشته **زیست‌شناسی گرایش جانوران دریا**است که در سال۱۳۹۲در دانشکده **منابع طبیعی و علوم دریایی** دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر**عیسی شریف پور**، مشاوره جناب آقای دکتر **علیرضا ریاحی بختیاری** از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

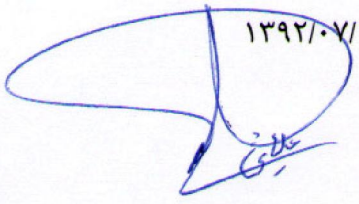
ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

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

ماده ۶: اینجانب **سیده رویا علیایی** دانشجوی رشته **زیست شناسی دریا گرایش جانوران دریا** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق وضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: سیده رویا علیایی

تاریخ و امضا : ۱۳۹۲/۰۷/۱۷



تقدیم به پدر و مادرم

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نصیبم ساخته تا در سایه درخت پربار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم. والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم؛ چراکه این دو وجود پس از پروردگار مایه هستی ام بوده اند، دستم را گرفتند و راه رفتن را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب به من آموختند.

تقدیم به برادران عزیزم که همراهان همیشگی ام در زندگی هستند

تقدیر و تشکر

منت خدای را عزوجل که طاعتش موجب قرب است و به شکر اندرش مزید نعمت.

سپاس از سخت کوش ترین استادم جناب آقای دکتر **عیسی شریف پور**، که مرا به افتخار شاگردی پذیرفتند ودلسوزیهایشان دلگرمی تلاش هایم در این مسیر شد دلخوشم به اینکه بزرگواریشان کوچکی سپاسم را به رویم نخواهد آورد.

از استاد مشاور گرامی جناب آقای دکتر **علیرضا ریاحی بختیاری** که دلسوزانه از نخستین قدمهای این پژوهش تا نقطه فرجام آن، مشاورت کار را بر عهده گرفتند، سپاسگذارم.

سپاس از بزرگواران گرانقدر، جناب آقای دکترصابر خدابنده و جناب آقای دکتر رضا پورغلام که زحمت داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند.

از جناب آقای **دکتر سیف آبادی** و جناب آقای **دکتر بهروز زارعی** که در طول این دو سال افتخار شاگردیشان را داشتم تقدیر و تشکر می کنم.

چکیده

هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) گروهی از ترکیبات موجود در نفت خام هستند که غیر قطبی و چربی‌دوست می‌باشند و در هر دو محیط آب شور و شیرین یافت می‌شوند. در دهه‌های اخیر، ارزیابی خطرات اکولوژیک ترکیبات PAH با توجه به سمیت این ترکیبات، جهش‌های ژنتیکی، سرطان‌زایی، اختلال در فعالیت غدد درون ریز و همچنین پراکنش گسترده، پایداری محیطی بالا و تجمع زیستی در اکوسیستم‌های آبی، بسیار مهم و حیاتی می‌باشد. در تحقیق حاضر اثرات تجمعی ترکیب نفتی پایرن روی بافت‌های عضله، آبشش و کبد و همچنین میزان آسیب وارده به اندام‌های حیاتی آبشش، کلیه و کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۵۰ عدد ماهی کپور معمولی را در معرض غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرو گرم بر لیتر پایرن به شیوه غوطه‌وری قرار داده شد. در انتهای دوره آزمایشی ۳۵ روزه به منظور بررسی تجمع پایرن در بافت‌های مختلف از ماهیان نمونه برداری شد. بیشترین میزان تجمع پایرن به ترتیب در بافت‌های کبد و آبشش و کمترین میزان در بافت عضله اندازه گیری شد. آسیب‌های بافتی عمده در آبشش از جمله، پرخونی، هایپرپلازی، S شکل شدن و چماقی شدن و در غلظت‌های بالاتر پایرن همجوشی و نکروز تیغه‌های آبششی مشاهده گردید. در بافت کبد واکوئولاسیون هپاتوسیت‌ها، پرخونی سینوزوئیدها، حضور ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین و در غلظت‌های بالاتر پایرن هپاتوسیت‌های حاوی هسته‌های پیکنوزه، کاریولیز شده و نکروزه مشاهده شدند. در بافت کلیه در غلظت پایین پایرن کست‌های ادراری، پرخونی، دژنره شدن توبول‌ها و در غلظت‌های بالاتر پایرن ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین، دژنره شدن توبول‌ها با شدت بیشتر و نکروز در بخش‌های مختلف مشاهده گردید. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که پایرن در کوتاه مدت آثار منفی بر هموئوستازی، سلامت ماهی و فعالیت اندام‌های حیاتی بواسطه تغییرات بافت شناسی ایجاد نماید و در بلند مدت اثرات شدیدتری را ایجاد می‌نماید.

کلمات کلیدی: هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای، پایرن، ماهی کپور معمولی، تجمع، آسیب شناسی‌بافتی

فهرست مطالب

فصل اول مقدمه و کلیات

۱-۱مقدمه ۱
۱-۱-۱اهداف ۳
۱-۱-۲ ضرورت انجام تحقیق ۴
۱-۱-۳ فرضیه‌های تحقیق ۴
۱-۲ کلیات ۴
۱-۲-۱ دریای خزر و آلودگی نفتی ۴
۱-۲-۲ آلاینده‌های آلی پایدار ۵
۱-۲-۳ هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقوی (PAHs) ۶
۱-۲-۴ منابع ورودی ترکیب PAH به محیط زیست آبی ۷
۱-۲-۵ اثر ترکیبات PAH و پایرن بر سلامت آبزیان ۸
۱-۲-۶ پایرن ۸
۱-۲-۷ متابولیسم پایرن ۹
۱-۲-۸ ماهی کپور معمولی ۱۰
۱-۲-۹ مفاهیم سم شناسی و اکوتوکسیکولوژی ۱۱
۱-۲-۹ نشانگرها ۱۳
۱-۲-۹-۱ نشانگرهای آسیب شناسی ۱۴
۱-۲-۱۰ مطالعات بافت‌شناسی ۱۵
۱-۲-۱۰-۱ بافت شناسی آبشش ۱۶
۱-۲-۱۰-۲ بافت شناسی کبد ۱۷
۱-۲-۱۰-۳ بافت شناسی کلیه ۱۷

فصل دوم سابقه تحقیق

۲-۱ مطالعات صورت گرفته در زمینه تجمع مواد آلاینده آلی در آبزیان ۱۹
۲-۲ بررسی‌های آسیب شناسی متأثر از آلاینده‌های آلی ۲۴

فصل سوم مواد و روش‌ها

۳-۱ تهیه ماهی و شرایط نگهداری ۲۷
۳-۲ آماده سازی نمونه‌های بافت کبد، آبشش و عضله جهت بررسی میزان تجمع پایرن ۲۸
۳-۳ آنالیز دستگاهی ترکیبات PAH ۳۲
۳-۴ آنالیز کنترل کیفی ۳۳
۳-۵ روش کار بافت شناسی ۳۳
۳-۶ آنالیز آماری ۳۶

فصل چهارم نتایج
۴-۱ نتایج تجمع پایرن در بافت‌های عضله، آبشش و کبد ماهی کپور معمولی شاهد و تیمار ۳۷
۴-۱-۱ کنترل شاهد وحلال ۳۷
۴-۱-۲ گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرو گرم در لیتر پایرن ۳۷
۴-۲ نتایج مطالعات آسیب شناسی آبشش ماهی کپور ۴۰
۴-۲-۱ نتایج بافت شناسی آبشش ماهی کپور در گروه شاهد و حلال ۴۰
۴-۲-۲ نتایج آسیب بافتی آبشش، تیمار ۱۰ µg/l پایرن ۴۱
۴-۲-۳ نتایج آسیب بافتی آبشش، تیمار ۵۰ µg/l پایرن ۴۳
۴-۲-۴ نتایج آسیب بافتی آبشش، تیمار ۱۰۰ µg/l پایرن ۴۴
۴-۳ نتایج مطالعات آسیب شناسی کبد ماهی کپور ۴۶
۴-۳-۱ نتایج بافت شناسی کبد ماهی کپور در گروه شاهد و حلال ۴۶
۴-۳-۲ نتایج آسیب بافتی کبد، تیمار ۱۰ µg/l پایرن ۴۷
۴-۳-۳ نتایج آسیب بافتی کبد، تیمار ۵۰ µg/l پایرن ۴۹
۴-۳-۴ نتایج آسیب بافتی کبد، تیمار ۱۰۰ µg/l پایرن ۵۰
۴-۴ نتایج مطالعات آسیب شناسی کلیه ماهی کپور ۵۲
۴-۴-۱ نتایج بافت شناسی کلیه ماهی کپور در گروه شاهد و حلال ۵۲
۴-۴-۲ نتایج آسیب بافتی کلیه، تیمار ۱۰ µg/l پایرن ۵۴
۴-۴-۳ نتایج آسیب بافتی کلیه، تیمار ۵۰ µg/l پایرن ۵۵
۴-۴-۴ نتایج آسیب بافتی کلیه، تیمار ۱۰۰ µg/l پایرن ۵۶

فصل پنجم بحث و نتیجه‌گیری
۵ بحث ۵۹
۵-۱ بررسی نتایج پایرن در بافت‌های عضله، آبشش و کبد ۵۹

۵-۱-۱ مسیر جذب پایرن و ترکیبات مشابه در اندام‌های مختلف ۶۰
۵-۱-۲ بیوترانسفورماسیون پایرن و ترکیبات مشابه در اندام‌های مختلف ۶۱
۵-۱-۳ روند تجمع پایرن و ترکیبات PAH در اندام‌های مختلف ۶۳
۵-۲ اثرات پایرن بر آسیب شناسی بافت آبشش، کبد و کلیه ماهی کپور معمولی ۶۵
۵-۲-۱ اثرات پایرن بر بافت آبشش ۶۵
۵-۲-۲ اثرات پایرن بر بافت کبد ۶۸
۵-۲-۳ اثرات پایرن بر بافت کلیه ۷۲
۵-۴ نتیجه‌گیری کلی ۷۵
۵-۵ آزمون فرضیات ۷۶
۵-۶ پیشنهادات پژوهشی ۷۷
منابع ۷۸

فهرست اشکال

شکل ۱-۱ متابولیسم پایرن ۱۰
شکل ۱-۲ ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) ۱۱
شکل ۱-۳ ارائه شماتیک از نظم ترتیبی پاسخ به استرس آلودگی در یک سیستم بیولوژیکی ۱۳
شکل ۱-۴ شماتیک آبشش ماهی استخوانی ۱۶
شکل ۱-۵ شمای نحوه چینش هپاتوسیت‌ها ۱۷
شکل ۱-۲: طرح شماتیک محفظه استفاده شده جهت تعیین مسیرهای جذب پایرن در قزل‌آلا ۲۰
شکل ۳-۱ سوله سرپوشیده اختصاص یافته برای دوره آزمایشی ۲۸
شکل ۳-۲ (A) قیف جداکننده برای جداسازی حلال از بافت ۲۹
شکل ۳-۲ (B) دستگاه حلال پران چرخشی برای تغلیظ نمونه‌ها ۲۹
شکل ۳-۳ کروماتوگرافی ستون اول ۳۰
شکل ۳-۴ کروماتوگرافی ستون دوم ۳۰
شکل۳-۵ مراحل آنالیز نمونه های ماهی کپور معمولی قرار گرفته در معرض پایرن ۳۱
شکل ۳-۶ کروماتوگرام دستگاه GC-MS و نشان دادن ۳ ترکیب بکار رفته در آزمایش ۳۲
شکل ۳-۷ (A) دستگاه میکروتوم مدل ۴۰۵۵ (B) ست رنگ آمیزی ۳۵
شکل۴-۱ نمایی از بخش‌های آبشش ماهی کپور شاهد ۴۱
شکل۴-۲ برش بخشی از فیلامنت و لاملاهای متصل به آن، سلول های مختلف روی لاملاها ۴۱
شکل۴-۳ S شکل شدن تیغه‌های ثانویه در تیمار ۱۰ µg/l ۴۲

شکل ۴-۴ هایپرپلازی سلولهای فیلامنت، پرخونی لاملاها و S شکل شدن لاملاها در تیمار ۱۰ µg/l ۴۲
شکل ۴-۵ چماقی شدن انتهای لاملاها در تیمار ۱۰ µg/l ۴۲
شکل۴-۶ چماقی شدن انتهای لاملاها در تیمار ۵۰ µg/l ۴۴
شکل ۴-۷ هایپرپلازی فیلامنت‌ها، پرخونی در تیمار ۵۰ µg/l ۴۴
شکل۴-۸ چماقی شدن انتهای لاملاها، هایپرپلازی سلول های لاملا و فیلامنت، همجوشی در تیمار ۵۰ µg/l ۴۴
شکل ۴-۹ s شکل شدن لاملاها و پر خونی لاملاها در تیمار ۵۰ µg/l ۴۴
شکل ۴-۱۰ پرخونی، چماقی شدن، حضور سلول‌های موکوسی و هایپرپلازی در تیمار ۱۰۰ µg/l ۴۵
شکل ۴-۱۱کوتاه شدن طول لاملاها تیمار ۱۰۰ µg/l ۴۵
شکل ۴-۱۲ هایپرپلازی فیلامنت‌ها و لاملاها (همجوشی لاملاها) و حضور سلول‌های موکوسی تیمار ۱۰۰ µg/l ۴۵
شکل ۴-۱۳چماقی شدن، پرخونی، S شکل شدن لاملاها، هایپرپلازی، همجوشی و نکروز لاملا در تیمار ۱۰۰ µg/l .. ۴۵
شکل۴-۱۴ نمایی از هپاتوسیت‌ها و سینوزوئیدها در تیمار حلال ۴۷
شکل۴-۱۵ بافت پارانشیمی کبد متشکل از هپاتوسیت‌ها و سینوزوئیدها در تیمار شاهد ۴۷
شکل۴-۱۶ واکوئولاسیون هپاتوسیتها و ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین در تیمار ۱۰ µg/l ۴۸
شکل ۴-۱۷ ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین، واکوئولاسیون و پرخونی سینوزوئیدها در تیمار ۱۰ µg/l ۴۸
شکل ۴-۱۸ ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین و پرخونی سینوزوئیدها در تیمار ۱۰ µg/l ۴۸
شکل۴-۱۹ حضور ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین در تیمار ۵۰ µg/l ۵۰
شکل ۴-۲۰ واکوئولاسیون شدید سلول‌های کبدی، حضور ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین در تیمار ۵۰ µg/l ۵۰
شکل ۴-۲۱ واکوئولاسیون شدید، حضور هسته‌های پیکنوزه و نکروز در تیمار ۵۰ µg/l ۵۰
شکل ۴-۲۲ واکوئولاسیون شدید و پیکنوزه شدن هپاتوسیت‌ها در تیمار ۱۰۰ µg/l ۵۱
شکل ۴-۲۳ ازهم گسیختگی بافت‌ها و نکروز شدید بافت در تیمار ۱۰۰ µg/l ۵۱
شکل ۴-۲۴ واکوئولاسیون و دژنراسیون هپاتوسیتها، پیکنوزه شدن و کاریولیز و نکروز شدید در تیمار ۱۰۰ µg/l ۵۱
شکل ۴-۲۵ نمایی از بخش‌های مختلف کلیه در تیمار شاهد ۵۳
شکل ۴-۲۶ لوله‌های پروگزیمال، دیستال و بافت خون‌ساز کلیه در تیمار شاهد ۵۳
شکل۴-۲۷ توبول کلیوی، گلومرول و کپسول بومن در تیمار حلال ۵۳
شکل ۴-۲۸ پراکندگی ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین در تیمار ۱۰ µg/l ۵۴
شکل ۴-۲۹ پراکندگی ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین و دژنراسیون لوله‌های کلیوی در تیمار ۱۰ µg/l ۵۴
شکل ۴-۳۰ کست‌های ادراری، پراکندگی ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین در تیمار ۱۰ µg/l ۵۴
شکل ۴-۳۱ پراکندگی ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین و پرخونی در تیمار ۱۰ µg/l ۵۴
شکل ۴-۳۲ پرخونی گلومرول‌ها ، اتساع فضای بومن، ملانوماکروفاژهای حاوی هموسیدرین در تیمار ۵۰ µg/l ۵۶
شکل ۴-۳۳ پرخونی شدید در رگ‌های کلیه در تیمار ۵۰ µg/l ۵۶

شکل۴-۳۴ دژنره شدن لوله‌های کلیه در تیمار ۵۰ µg/l ۵۶
شکل۴-۳۵ نکروزه شدن بافت کلیه در تیمار ۵۰µg/l ۵۶
شکل۴-۳۶ خونریزی شدید، دژنره شدن لوله‌های کلیوی و اتساع فضای بومن در تیمار ۱۰۰ µg/l ۵۷
شکل۴-۳۷ دژنره شدن لوله‌های کلیوی و نکروز در تیمار ۱۰۰ µg/l ۵۷
شکل ۴-۳۸ دژنره شدن لوله‌های کلیوی و نکروز بافت بینابینی در تیمار ۱۰۰ µg/l ۵۷
شکل ۴-۳۹ ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین، دژنره شدن لوله‌های کلیوی و نکروز کانونی در تیمار ۱۰۰ µg/l ۵۷

فهرست جدول‌ها

جدول ۱-۱ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پایرن ۹
جدول ۳-۱ دستو العمل رنگ آمیزی بافت ۳۶
جدول ۴-۱ مقدار تجمع پایرن در ماهی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*) در معرض دوز ۱۰ µg/l ۳۷
جدول ۴-۲ مقدار تجمع پایرن در ماهی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*) در معرض دوز ۵۰ µg/l ۳۷
جدول ۴-۳ مقدار تجمع پایرن در ماهی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*) در معرض دوز ۱۰۰ µg/l ۳۸
جدول ۴-۴ خلاصه اثرات آسیب شناسی بافتی پایرن در بافت آبشش ماهی کپور معمولی ۴۶
جدول ۴-۵ خلاصه اثرات آسیب شناسی بافتی پایرن در بافت کبد ماهی کپور معمولی ۵۲
جدول ۴-۶ خلاصه اثرات آسیب شناسی بافتی پایرن در بافت کلیه ماهی کپور معمولی ۵۸

فهرست نمودارها

نمودار ۴-۱ میزان تجمع پایرن در بافت‌های عضله، آبشش و کبد در تیمار ۱۰ µg/l پایرن ۳۸
نمودار ۴-۲ میزان تجمع پایرن در بافت‌های عضله، آبشش و کبد در تیمار ۵۰ µg/l پایرن ۳۹
نمودار ۴-۳ میزان تجمع پایرن در بافت‌های عضله، آبشش و کبد در تیمار ۱۰۰ µg/l پایرن ۳۹
پیوست‌ها
الف تغییر عنوان پایان نامه

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه

محیط زیست به طور مداوم دست‌خوش مواد شیمیایی آلی و معدنی (زنوبیوتیک‌ها) ناشی از فعالیت‌های انسانی و صنایع می‌باشد. در قرن بیستم بسیاری از آلاینده‌های کمیاب آلی مانند بی‌فنیل‌های پلی‌کلرینه (PCBs)[۱]، سموم ارگانوکلره (OCPs)[۲]، هیدروکربن‌های‌آروماتیک‌چندحلقوی (PAHs)[۳]، دی بنزوفوران‌های پلی‌کلرینه (PCDFs)[۴] و دی بنزودیوکسین (PCDDs)[۵] تولید شده و در محیط زیست منتشر گردید. مخزن نهایی بسیاری از این آلاینده‌ها محیط آبی است که یا به طور مستقیم و یا توسط ریزش‌های جوی در اکوسیستم‌های آبی تجمع می‌یابند (Van der Oost و همکاران، ۲۰۰۳). طی چند دهه‌ی اخیر ورود آلاینده‌ها بخصوص آلاینده‌های آلی به اکوسیستم‌های طبیعی از قبیل دریاچه‌ها و آب‌های آزاد خطرات زیست محیطی بالقوه‌ای را برای جانداران آبزی ایجاد نموده است. این آلاینده‌ها به علت پایداری بالای آن‌ها در محیط، در انواع آبزیان تجمع یافته و ویژگی‌های اکوتوکسیکولوژیکی این مواد در موجودات، سبب کاهش رشد، اختلالات فیزیولوژیک، جهش‌زایی، سرطان‌زایی و مرگ‌ومیر می‌شود (Fent، ۲۰۰۳). از آلاینده‌های شیمیایی مهم، ترکیبات PAH بوده که از عوامل آلاینده و خطرناک محیط زیست به شمار می‌روند. عمدتاً این ترکیبات بر اثر سوخت ناقص ترکیبات فسیلی یا پیرولیز ترکیبات آلی در مراحل مختلف پالایش تولید می‌شوند. ترکیبات PAH به دلیل پتانسیل بالای سمی و سرطان‌زایی در انسان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Coccheri و همکاران، ۱۹۹۰؛ Ravindra و همکاران، ۲۰۰۸). ترکیبات PAH پس از ورود به محیط آبی به علت خصوصیت آبگریزی، معمولاً از ستون آب خارج شده و جذب رسوبات می‌شوند. بنابراین، آلاینده‌ها در رسوبات حتی کمتر از ستون آب تحت تأثیر فرایندهای بیولوژیک تجزیه می‌شوند. درنتیجه برای مدتهای طولانی و در غلظت‌های بالا در رسوبات ذخیره می‌شوند (Christensen و همکاران، ۲۰۰۲). جذب ترکیبات PAH از آب بوسیله آبشش‌ها در طی تنفس، از طریق روده (جذب از طریق غذا یا رسوب)، و جذب مستقیم از طریق جذب پوستی، محتمل ترین راه‌های تجمع ترکیبات PAH در بافت‌های ماهیان بوده و میزان تجمع زیستی آن عمدتاً به نوع تغذیه، رفتارهای مهاجرتی و موقعیت ماهی در زنجیره غذایی بستگی دارد (Cheung و همکاران ۲۰۰۷؛ Logan، ۲۰۰۷). موجودات آبزی و ماهی‌ها، که در محیط‌های آلوده به ترکیبات PAH زندگی می‌کنند، این ترکیبات را

[1] Polychlorinated biphenyl
[2] Organochlorine Pesticides
[3] Polycyclic aromatic hydrocarbon
[4] Polychlorinated dibenzofurans
[5] Polychlorinated dibenzodioxins

عمدتاً از آب، ازطریق آبشش و با مصرف رسوبات آلوده یا مواد غذایی جذب بدن خود می‌کنند (Varanasi و همکاران، ۱۹۸۹). براساس تحقیقات انجام شده در نرمتنان دریایی، پرتاران و ماهیان مشخص شده است که این موجودات توانایی سوخت و ساز برخی از ترکیبات PAH را دارا بوده و می‌توانند آنها را به ترکیبات دیگر و گاهی ترکیبات کم خطرتر تجزیه کنند (Billiard و همکاران، ۲۰۰۲). از طرفی ترکیبات PAH با وزن مولکولی بالاتر به دلیل افزایش میزان آبگریزی و تمایل به چربی دوستی، نسبت به ترکیبات با وزن مولکولی پایین‌تر قابلیت تجمع بیشتری در بافت‌های بدن دارند، در نتیجه آثار بافت شناسی آنها بارزتر از ترکیبات با وزن مولکولی پایین‌تر است (Aas و همکاران، ۲۰۰۰). این ترکیبات طی درمعرض قرارگیری موجود، اغلب در بافت‌های چرب بدن تجمع می‌یابند. ماهی‌های با محتوای چربی بالاتر نسبت به ماهی‌های با محتوای چربی پایین‌تر، پتانسیل بیش‌تری برای تجمع این نوع ترکیبات دارند (Boonyatumanond و همکاران، ۲۰۰۶). از اینرو آژانس حفاظت محیطزیست آمریکا[۶](EPA) ۱۶ نوع از ترکیبات PAH را به دلیل سمیت بالا برای پستانداران و موجودات آبزی نسبت به بقیه مهم‌تر اعلام کرده است. این ۱۶ ترکیب عبارتند از:

Naphthalene, Acenaphthylene, Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo[a]anthracene, Chrysene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[k]fluoranthene, Benzo[a]pyrene, Indeno[1,2,3-cd]pyrene, Dibenzo[ah]anthracene, benzo[ghi]perylene.

از آنجایی که دریای خزر محیطی بسته و فاقد هر نوع خروجی است، آلودگی‌هایی که از حوزه‌های ساحلی وارد دریا می‌شوند در آن تجمع پیدا می‌کنند. آلودگی‌های شیمیایی دریای خزر به طور عمده مربوط به تراوشات چاه‌های نفت و فاضلاب‌های ناشی از فعالیت‌های شهری است که به رودها و سپس به دریا ریخته می‌شود (Nasrollahzadeh، ۲۰۱۰). از این میان یکی از ترکیبات PAH که غیر قطبی و چربی دوست بوده و در همه محیط‌های آبی (شامل آب شیرین و شور) حضور گسترده دارد پایرن می‌باشد (Reynaud و همکاران، ۲۰۰۶) که میانگین غلظت آن در رسوبات مناطق جنوبی دریای خزر ۴ نانوگرم بر گرم وزن خشک تعیین گردیده است (Tolosa و همکاران، ۲۰۰۴). در موجودات دریایی مطالعه تغییرات شیمیایی زیستی پایرن روی مهره‌داران و بی‌مهرگان از جمله ماهی (Luthe و همکاران، ۲۰۰۲؛ Honkanen و همکاران، ۲۰۰۸)، حلزون‌ها (Beach و همکاران، ۲۰۰۹)، whelks (Beach و همکاران، ۲۰۱۰)، clams (Jorgensen و همکاران، ۲۰۰۸) و سخت‌پوستان (Ikenaka و همکاران، ۲۰۰۷) صورت گرفته است. اما

[5]Environmental Protection Agency

اطلاعات کافی در زمینه تاثیر پایرن بر موجودات زنده در آبهای داخلی وجود ندارد. در این میان ماهی کپور معمولی از خانواده Cyprinidae با نام علمی *Cyprinus carpio* از ماهیان مهم و اقتصادی حوزه دریای خزر می‌باشد که مصرف خوراکی بالایی دارد. این گونه بنتوپلاژیک و همه‌چیزخوار بوده و به طور عمده از رسوبات بستر تغذیه می‌کند، از اینرو این ماهیان در تماس نزدیک با رسوبات بستر بوده و می‌توانند آلاینده‌های آبگریز (ترکیبات PAH) را جذب کنند (عبدلی، ۱۳۷۸؛ Liang و همکاران، ۲۰۰۷) .نکته مهم در اکثر مطالعات آن است که پایرن مانند دیگر آلاینده‌های آلی دیگر می‌تواند خطری جدی بر سلامت انسان و آبزیان داشته باشد. به طور مثال این ترکیبات مختل‌کننده سیستم درون‌ریز بدن هستند (Costa و همکاران، ۲۰۱۱)، اثرات منفی روی سطوح زنجیره غذایی و شبکه‌های غذایی داشته (Navarro و همکاران، ۲۰۱۲) و تاثیرات مخربی بر بافت شناسی اندام‌های درگیر در فعالیت‌های حیاتی بدن ماهی از قبیل آبشش، کبد و کلیه می‌گذارند (Couillard و همکاران، ۲۰۰۹). علاوه بر این بسیاری از ترکیبات PAH از قبیل بنزوآپایرن و پایرن نقش ممانعت کنندگی بر فعالیت برخی از آنزیم‌های مهم بدن (مانند گلوتاتیون استرانسفراز و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) که در متابولیسم زنوبیوتیک‌ها دخیل هستند را دارند (Karami و همکاران، ۲۰۱۱). از اینرو برنامه‌های پایشگری برای اندازه‌گیری تجمع زیستی به عنوان نشانگر برای ماهی که در مکان‌های آلوده بسر می‌برند، اطلاعات با ارزشی در مورد شرایط زیست محیطی به دست می‌دهد (Van der Oost و همکاران، ۲۰۰۳). از طرفی تغییرات آسیب شناسی بافتی در اندام‌های حیاتی ماهیان زودتر رخ می‌دهد و بهداشت ماهی و اثرات آلودگی را نسبت به هر پارامتر بیوشیمیایی دیگر بهتر نشان می‌دهد (Marchand و همکاران، ۲۰۰۹). در مطالعه حاضر اهداف زیر مورد بررسی قرار خواهند گرفت:

۱-۱-۱ اهداف

۱. بررسی و مقایسه میزان تجمع پایرن در بافت آبشش و کبد ماهی کپور معمولی در دوزهای متفاوت.
۲. بررسی و مقایسه اثرات آسیب شناسی بافتی پایرن در آبشش، کبد و کلیه ماهی کپور معمولی.

۱-۱-۲ ضرورت انجام تحقیق

به علت خطرات بالایی که هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای به ویژه ترکیبات با تعداد حلقه‌ی بالاتر مانند پایرن برای سلامت اکوسیستم دارد، به دست آوردن برآوردی از اثرات مخرب این ماده بر روی ماهیان نقش بسزایی دارد. از آنجایی که بررسی تجمع پایرن در بافت‌های مختلف از جمله بافت عضله بدلیل نقش مهم در تغذیه انسان و لزوم اطمینان از سلامت آن و همزمان میزان آسیب وارده بر اندام‌های حیاتی در ماهی کپور معمولی صورت نگرفته است، از اینرو سعی بر این است که بر اساس میزان غلظت پایرن در رسوبات، رودخانه‌ها و تالاب‌های حوزه دریای خزر، غلظت در معرض گذاری به ماهی تعیین گردد. از طرفی بررسی و تحقیق در ارتباط با آلاینده‌های نفتی در کشور ما بسیار محدود و ناچیز بوده، لذا این تحقیق می‌تواند گام کوچکی به سوی بررسی اثرات مضر این ترکیبات از لحاظ زیست محیطی باشد.

۱-۱-۳ فرضیه‌های تحقیق

۱. میزان تجمع بافتی پایرن با افزایش غلظت به طور معنی داری در بافت کبد نسبت به آبشش افزایش می‌یابد.
۲. قرار گرفتن ماهی کپور در معرض پایرن به ویژه در غلظت µg/l ۱۰۰ قادر به ایجاد تورم لایه پایه، هایپرپلازی، هایپرتروفی و نکروز تیغه‌های ثانویه آبششی نسبت به تیمار شاهد خواهد شد.
۳. قرار گرفتن ماهی کپور در معرض پایرن به ویژه در غلظت µg/l ۱۰۰ قادر به ایجاد دژنراسیون و نکروز بافت کبد نسبت به تیمار شاهد خواهد شد.
۴. قرار گرفتن ماهی کپور در معرض پایرن به ویژه در غلظت µg/l ۱۰۰ قادر به ایجاد دژنراسیون و نکروز توبولهای ادراری کلیه نسبت به تیمار شاهد خواهد شد.

۱- ۲ کلیات

۱-۲-۱ دریای خزر و آلودگی‌های نفتی

دریای خزر بزرگترین بدنه آبی داخلی دنیا می‌باشد که علاوه بر رشد بسیار بالای شیلاتی آن در کنار توسعه فعالیت‌های ساحلی و برون ساحلی حائز اهمیت می‌باشد. از عوامل ورودی آلاینده‌های نفتی در دریای خزر می‌توان به استخراج، پالایش و انتقال نفت، نشت از چاه‌ها، انفجار خطوط لوله و چاه‌های نفت، تصادفات احتمالی و آب توازن کشتی‌ها اشاره کرد. همچنین پسماندهای تأسیسات ساحلی و فراساحلی

استخراج نفت در کنار تخلیه مستقیم فاضلاب‌های شهری و صنعتی به دریا، یا رودخانه‌های منتهی به آن را می‌توان عمده‌ترین منابع ورود آلاینده‌های نفتی به دریای خزر دانست (Effimoff، ۲۰۰۰). طی مطالعات و نمونه برداری‌های متعدد از رسوبات نواحی مختلف این دریا، میزان کل آلاینده‌های نفتی که شامل دو گروه هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک (PAHs)[۷] و آلیفاتیک می‌باشند، بررسی و تعیین شده است. بیشترین میزان ترکیبات PAH موجود در رسوبات و متابولیت‌های آنها حدود (۲۱۴۶ نانوگرم بر گرم وزن خشک) و مربوط به رسوبات کشور جمهوری آذربایجان بوده است. در ایستگاه‌های ساحلی جمهوری اسلامی ایران میزان اندازه‌گیری شده این ترکیبات در حدود ۱۷۸۹-۹۴ نانوگرم بر گرم وزن خشک رسوبات تعیین گردیده است (Tolosa و همکاران، ۲۰۰۴). در مطالعات انجام شده توسط Zadeh Mohammadi و همکاران در سال‌های ۲۰۰۸ و ۲۰۰۹ در رسوبات دریای خزر در مناطق بهشهر، بابلسر و ساری، منشأ این رسوبات را پتروژنیک بیان کردند. ترکیباتی چون بنزوآپایرن، پایرن، کرایزن و فلورانتن عمده ترین ترکیبات موجود در رسوبات بودند (Mohammadi Zadeh و همکاران، ۲۰۱۰).

۱-۲-۲ آلاینده‌های آلی پایدار

آلاینده‌های آلی پایدار به اختصار (POPs)[۸] خوانده می‌شود، هیدروکربن‌های نفتی چه با منشاء فعالیت‌های بیولوژیکی، چه با منشاء فسیلی به محض ورود به دریا تحت تأثیر تغییرات فیزیکی (انحلال، انتقال، پخش، تبخیر و هوازدگی)، شیمیایی (اکسیداسیون و فتواکسیداسیون) و بیولوژیکی، سرنوشت‌های متنوعی در محیط خواهند داشت. این آلاینده‌های آلی پس از گذراندن محدودهٔ وسیعی از اتفاقات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی به دلیل خاصیت آبگریزی خود در نهایت جذب محیط‌های رسوبی می‌گردند (Tolosa و همکاران، ۲۰۰۴). انتقال آلاینده‌های آلی پایدار در زنجیره غذایی، تبدیل به یک نگرانی عمده در بهره‌برداران حیات وحش و حتی انسان‌ها، با توجه به عوارض جانبی آنها گردیده است. افزایش غلظت POPs در زنجیره غذایی (بزرگنمایی زیستی)[۹] با توجه به فاکتورهایی مانند در معرض قرار گرفتن، هضم، جذب، تغییرات شیمیایی زیستی و قابلیت دفع هم در شکار و هم در شکارچی ممکن است رخ دهد. بزرگنمایی زیستی بعضی از آلاینده‌های آلی پایدار می‌تواند بیش از چند سطوح تغذیه‌ای مختلف را در برگیرد (Hoekstra و همکاران، ۲۰۰۳). از اینرو موجودات مربوط به طبقات بالای زنجیره غذایی از جمله

[8] Persistent Organic Pollutants
[9] Biomagnification

انسان‌ها نیز می‌توانند متأثر از این ترکیبات باشند که دلیل آن ویژگی چربی دوستی این ترکیبات است که منجر به تجمع زیستی و بزرگنمایی زیستی آن‌ها می‌شود (Ibbotson و Ibhadon، ۲۰۱۰). در میان آلاینده‌های آلی، هیدروکربن‌های آلیفاتیک و آروماتیک چند حلقه‌ای توجه بسیاری را بدلیل توزیع گسترده‌شان در رسوبات آبی به خود معطوف کرده‌اند (Wang و همکاران، ۲۰۰۶). این ترکیبات به عنوان آلاینده‌های زیست محیطی بالقوه، شامل منشأهای متفاوت بیوژنیک، دیاژنیک، پتروژنیک و پایروژنیک می‌باشند.

فعالیت‌های انسانی سبب ایجاد دو منبع نفتی (پتروژنیک) و سوختی (پایروژنیک) از ترکیبات پلی آروماتیک‌های چند حلقوی در محیط زیست می‌شوند. فعالیت‌هایی از قبیل حمل و نقل تانکرهای نفتی، پالایشگاه‌ها و صنایع نفتی و گازی، تصادفات تانکرهای نفتکش و تخلیه آب توازن کشتی‌ها، از منابع پتروژنیک هیدروکربنهای حلقوی (PAHs) هستند و سوختن ناقص ترکیبات آلی ناشی از فعالیت‌های صنعتی از منابع پایروژنیک این ترکیبات به شمار می‌روند (Piccardo و همکاران، ۲۰۰۱). هیدروکربن‌های ایجاد شده بوسیله فرآیندهای دیاژنیک یا زیستی بطور طبیعی در مقادیر کم در رسوب حضور پیدا می‌کنند و منابع مرتبط با مواد نفتی (پتروژنیک و پایروژنیک) بعنوان ورودی‌های هیدروکربنی با اهمیت و گاهی اصلی مطرح هستند.

۱-۲-۳ هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای(PAHs)

هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای از ترکیبات خطرناک وآلاینده زیست محیطی به شمار می‌روند که اختصراً (PAHs) نامیده می‌شوند و گاهی نیز بعنوان هیدروکربن‌های آروماتیک چند هسته‌ای (PNAs) خوانده می‌شوند. ترکیبات PAH بدلیل نشأت گرفتن از هر دو منشا طبیعی و انسانی در همه محیط‌ها یافت می‌شوند (Li و همکاران، ۲۰۱۲). این ترکیبات عمدتا از قرارگرفتن مواد آلی در معرض دمای بالای ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد تولید می‌شوند. حلالیت آبی ترکیبات PAH کم و ماهیت آبگریزی‌شان (Log = ۸-۳ Kow) مناسب برای اتصال به ذرات معلق آلی و غیرآلی است (Leite و همکاران، ۲۰۱۱). ترکیبات PAH عمدتاً چربی دوست هستند و می‌توانند توسط موجودات زنده از جمله انسان جذب شده و ایجاد مسمومیت کنند که این سمیت می‌تواند حاد یا مزمن باشد، مخصوصاً برای تعدادی از ترکیبات PAH با وزن مولکولی زیاد مانند بنزوآپایرن که اکوتوکسیک و یکی از قوی‌ترین سرطان‌زاها در میان ترکیبات PAH است (Boitsov و همکاران، ۲۰۰۹).