عوارض هیستوپاتولوژیک کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhychus mykiss*) در مواجهه با غلظت‌های تحت حاد اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA)

شیوا قرشی[1*]، هومن شجیعی[1]، غلامحسن واعظی[1]، مجید محمدنژاد شموشکی[2]

۱ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی، دامغان، ایران

۲ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندر گز، گروه زیست‌شناسی، بندر گز، ایران

مسئول مکاتبات: shiva.ghorayshi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱/۲۶

چکیده

در این تحقیق سمیت حاد ماده شیمیایی EDTA روی بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات به روش استاندارد O.E.C.D در طی ۹۶ ساعت انجام پذیرفت. ماهیان با میانگین طولی و وزنی، ۱۸ سانتی‌متر و ۵۰ گرم بطور تصادفی به ۸ گروه ۹ تایی تقسیم شدند. یک گروه به عنوان شاهد و ۷ گروه تیمار و ۳ تکرار در معرض غلظت‌های ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۱۲۰۰، ۲۰۰۰، ۲۲۰۰، ۲۵۰۰ و ۳۳۰۰ ppm قرار گرفتند. کلیه پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب نظیر pH، اکسیژن محلول، سختی و درجه حرارت اندازه‌گیری شدند. داده‌ها با استفاده از برنامه نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج بررسی سمیت حاد مشخص کرد مقدار LC_{50} ۹۶ ساعته، EDTA برای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان برابر ppm ۲۲۳۱ می‌باشد. همچنین نتایج آسیب‌شناسی بافت کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان نشان داد که ماده شیمیایی EDTA منجر به ایجاد تغییراتی مانند افزایش سلول‌های التهابی در فضای پروتال کبد، متامورفوز چربی در بافت کبد، پرخونی، باز شدن مجاری صفراوی، رسوب هموسیدرین در اطراف عروق خونی کبد و مجاری صفراوی و در دوزهای بالاتر باعث ایجاد التهاب زیاد و متامورفوز، که بافت کبد را تبدیل به بافت چربی کرده است، نکروز و دژنرسانس چربی در بافت کبد می‌گردد. بر اساس نتایج این تحقیق EDTA باعث ایجاد تغییرات بافتی شدید و جبران‌ناپذیری در بافت کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌گردد.

کلمات کلیدی: EDTA، سمیت حاد، بافت کبد، قزل‌آلای رنگین‌کمان

مقدمه

انسان تولیدکننده آلاینده‌های متعدد و متنوعی است که بخش اعظم این مواد بطور مستقیم و غیرمستقیم به محیط-های آبی وارد می‌گردد. بخشی از آلاینده مانند اغلب مواد آلی طی فرآیندهای زیستی تجزیه می‌گردد ولی بعضی مواد در مقابل تجزیه مقاوم بوده و مدت زیادی در محیط-های آبی باقی می‌مانند. بطور کلی سمیت یک آلاینده از طریق سنجش زیستی ارزیابی می‌گردد که بوسیله آن غلظت لازم جهت ایجاد تلفات نیمی از موجودات مورد آزمایش در یک دوره زمانی مشخص (کوتاه‌مدت و بلندمدت) معلوم می‌شود. این آزمایشات شاخه‌ای از علم Ecotoxicology بوده و وظیفه آن قضاوت درباره توان بالقوه مواد آلاینده و بررسی تأثیرات زیان‌بخش این مواد بر اکوسیستم و موجود زنده می‌باشد [۱۳].

سیستم‌های آبی پیوسته مواجه با مشکلات ناشی از آلاینده‌ها هستند که از منابع مختلف صنعتی، پساب‌های کشاورزی و فاضلاب‌های شهری اکثراً بدون هیچ تصفیه-ای وارد آب می گردند. شوینده‌ها یکی از آلاینده‌های مهم بوده و توسط فاضلاب‌ها به آب‌های ساحلی، رودخانه‌ها و سایر منابع آبی بطور مستقیم و غیرمستقیم وارد می‌شوند. شوینده‌ها در تبادل اکسیژن لایه‌های سطحی آب مانع ایجاد می‌کنند که نتیجه آن اختلال در اکوسیستم‌های آبی است [۳]. امروزه شوینده‌های مصنوعی به دلیل مصرف

زیادشان بسیار مهم بوده و موجودات آبزی را با خطر آلایندگی مواجه می‌سازند. این شوینده‌ها ممکن است توسط باکتری‌ها تجزیه شوند اما در غلظت‌های بالا ممکن است باکتری نتواند نقش خود را ایفا کند زیرا غلظت‌های زیاد شوینده‌ها مانع عمل آنزیم‌های باکتری می شود. آنزیم‌ها برای تجزیه یا کاهش اثر شوینده‌ها ضروری هستند. از طرفی مواد شوینده بیشتر اوقات سبب تشدید سمیت ناشی از آلودگی‌های نفتی می‌گردند [٥]. دترجنت-ها از آلاینده‌های زیست محیطی محسوب می‌شوند که در مفهوم کلی به هر ماده شیمیایی اطلاق می‌گردد که قدرت نفوذ، پخش‌کنندگی، امولسیون‌کنندگی، کاهش کشش سطحی و بالاخره خاصیت پاک کنندگی به درجات را دارا باشد [٦] .

ماهی یکی از مهمترین موجودات آبزی می‌باشد که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند، به همین دلیل جهت انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی در بُعد وسیعی از آنها استفاده می‌گردد. حساسیت گونه‌های مختلف ماهی‌ها به مواد سمی متفاوت است از این رو ضروری است تا آزمایش‌های سم‌شناسی برای ماهیان مختلف صورت گیرد [٧].

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با نام علمی ***Oncorhynchus mykiss*** یکی از مهمترین ماهیان پرورشی است که بطور گسترده در تمام دنیا پراکنده شده و اصولا سازگار به آب شیرین است. این گونه شبیه جنس سالمون اقیانوس آرام و از خانواده آزاد ماهیان است که بومی مناطق اطراف اقیانوس آرام شمالی و غربی است.

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در بین سایر آزاد ماهیان قادر است محدوده وسیع‌تری از دمای آب و متغیرهای محیطی از جمله کیفیت آب را تحمل کند ولی به مقدار زیادی اکسیژن محلول در آب نیاز دارد.

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در سراسر جهان منتشر گردیده و بدون شک بعد از ماهی کپور عمده‌ترین و قدیمی‌ترین ماهی پرورش محسوب می‌گردد و همچنین این ماهی یکی از مهمترین ماهیان برای صید ورزشی قلمداد می-گردد [٤].

اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) یک ماده شیمیایی است که در ساختار شوینده‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده در ساختمان خود دارای شش موضع برای ایجاد پیوند است و به نظر می‌رسد این ترکیب بتواند با برخی از ذرات رسوب کرده و کمپلکس تشکیل دهد. از آنجایی که این ماده در شوینده‌ها مورد استفاده قرار می-گیرد می‌تواند وارد آب و محیط زیست شود و اثرت مخربی بر جانوران آبزی از جمله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان که نوعی ماهی سرد آبی است و در رود خانه زندگی می‌کند بگذارد [١١]. EDTA در انسان می‌تواند چشم‌ها و پوست و دستگاه تنفسی را تحریک کرده و باعث سرفه و گلودرد و اسهال و سوزش شود. مواد شوینده در غلظت‌های زیاد موجب آسیب‌های بافتی شدید در موجودات آبزی به خصوص ماهیان می‌شود و از این رو نباید وارد محیط زیست گردد و یقیناً برای موجودات آبزی مضر است.

با توجه به اینکه برخی اکوسیستم‌های آبی ایران در معرض ورود آلاینده‌ها و شوینده‌های خانگی و صنعتی هستند نیاز مبرم به بررسی تأثیر این آلاینده‌ها بر روی موجودات آبزی احساس می‌گردد.

در این تحقیق میزان سمیت حاد (Acute toxicity)، EDTA بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با هدف تعیین غلظت زیرکشنده و کشنده آن برای٥٠٪ در ٩٦ ساعت و مشخص نمودن محدوده کشندگی و تعیین مقدار حداقل غلظت مؤثر (LOEC) و مقدار غلظت غیرمؤثر (NOEC)، که همان حداکثر غلظت مجاز (MAC value) است، و نیز اثرات آن بر بافت کبد ماهی قزل‌آلا مطالعه گردید.

مواد و روش کار

این تحقیق در پاییز ١٣٩٠ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرگز انجام پذیرفت. ماده مورد آزمایش EDTA (اتیلن

دی‌آمین تترا استیک‌اسید) از کمپانی مرک آلمان (Merck) تهیه شد. ماهیان مورد آزمایش با متوسط وزن ۵۰ گرم و طول ۱۸ سانتی‌متر از مزارع پرورش ماهی واقع در گرگان تهیه و در کوتاه‌ترین زمان ممکن در مخزن مجهز به کپسول اکسیژن به آزمایشگاه منتقل شد. ماهیان پس از ورود به آزمایشگاه برای سازگاری با شرایط جدید به مدت ۵ روز در تانک پرورشی نگهداری شدند و سپس به آکواریوم‌های آماده شده برای انجام آزمایش وارد گردیدند. در آکواریوم‌های تعیین شده ۲٤ ساعت قبل از آزمایش تا حجم ۳۰ لیتر آبگیری شده و با نصب هواده که شاخه اصلی آن به پمپ مرکزی هوا متصل بود به مدت چند ساعت هوادهی گردیده تا گازهای مضر از آب خارج شده و مواد مضر رسوب نماید.

میزان مرگ و میر ماهی‌ها و رفتار ماهی‌های مورد آزمایش در ساعات ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۲٤، ۷۲ و ۹٦ ساعت به ثبت رسید. ماهی‌ها به گروه‌های هفت‌تایی در ۳۰ لیتر آب تقسیم و در معرض غلظت‌های مختلف EDTA قرار گرفتند. یک آکواریوم بدون هیچ غلظتی از سم بعنوان شاهد (Blank) فقط جهت اطمینان از سلامت ماهیان قزل‌آلای مورد آزمایش در نظر گرفته شد. در بقیه آکواریوم‌ها به ترتیب غلظت های ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۱۲۰۰، ۲۰۰۰، ۲۲۰۰، ۲۵۰۰ و ۳۳۰۰ EDTA ppm اضافه گردید. جهت بدست آوردن غلظت های اصلی و کشنده برای آزمایشات نهائی ابتدا مبادرت به انجام یکسری آزمایشات اولیه طی چند مرحله و در غلظت‌های با دامنه زیاد گردید تا این که محدوده غلظت کشنده مورد آزمایش (حداقل و حداکثر) برای آزمایشات نهائی حاصل گردید. سپس جهت انجام آزمایشات اصلی غلظت‌های نهائی در محدوده غلظتی بدست آمده است.

در این تحقیق دستورالعمل‌های ذکر شده (Finney, 1971 و TRC, 1984) اعمال گردید.

در تمام مدت آزمایش فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مورد بررسی قرار گرفتند، بطوری که در ۹٦ ساعت دمای آب ۱۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول در حد اشباع، سختی آب ۲۷۳ میلی‌گرم در لیتر، PH برابر ۸ و دوره روشنایی ۱٤ ساعت و تاریکی ۱۰ ساعت بود. ضمن این که در طول دوره آزمایش غذادهی قطع گردید.

بعد از پایان دوره آزمایش بلافاصله بافت کبد از ماهیان جدا گردیده و در ظرف حاوی فرمالین ۱۰٪ قرار گرفته و نمونه‌های بافتی در آزمایشگاه پس از طی مراحل پاساژ بافت، آماده برش گیری و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (H & E) شد. سپس لام‌های ۵ میکرونی تهیه شده در آزمایشگاه پاتولوژی مورد بررسی قرار گرفته و توسط میکروسکوپ مجهز به دوربین عکس‌برداری انجام پذیرفت. نتایج بدست آمده با استفاده از روش پروبیت در نرم‌افزار آماری spss آنالیز و نمودار LC_{50} با استفاده از نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج

بر اساس آزمایشات انجام گرفته مقادیر LC_{10}, LC_{50}, LC_{90} در ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت EDTA بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان محاسبه شد (جدول۱). LC_{50} در ۹٦ ساعت ماده شیمیایی EDTA برای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان برابر ۲۲۳۱ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد. بر اساس میزان LC_{50} با استفاده از نمودارهای تعیین LC_{50} (نمودارهای ۱، ۲، ۳، ٤) برای هر دوره زمانی بدست امد. بر اساس نتایج مقدار حداقل غلظت مؤثر این ماده (LOEC) ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و غلظت غیرمؤثر (NOEC) ۱۲۰۰ میلی‌گرم در لیترمحاسبه شد(جدول ۲) (نمودار ۵).

نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که میزان LC_{50} با افزایش ساعات آزمایش کاهش یافته است، به عبارت دیگر هر چقدر ساعات آزمایش افزایش می یابد غلظت کمتری از EDTA لازم است تا ۵۰٪ از جمعیت گونه مورد مطالعه تلف شوند.

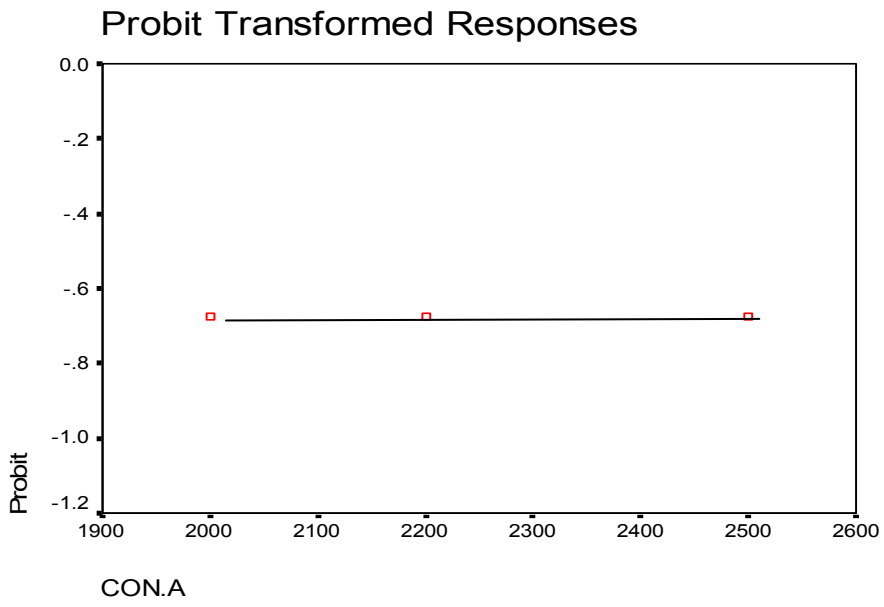
مشاهده حالات و رفتار ماهیان بعد از اضافه کردن EDTA به محیط ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان: در

ساعات اولیه آزمایشات ماهیان در تمامی غلظت‌ها حرکات سریع داشتند، پس از گذشت چند ساعت در غلظت‌های پایین تر به حالت اولیه بازگشتند و در نهایت فعالیت کاهش یافته و در کف آکواریوم قرار می‌گرفتند. پرخونی در انتهای باله های سینه ای و شکمی، سیاه شدن رنگ بدن، انحراف ستون فقرات، اگزوفتالمی از علائم مشاهده شده بود.

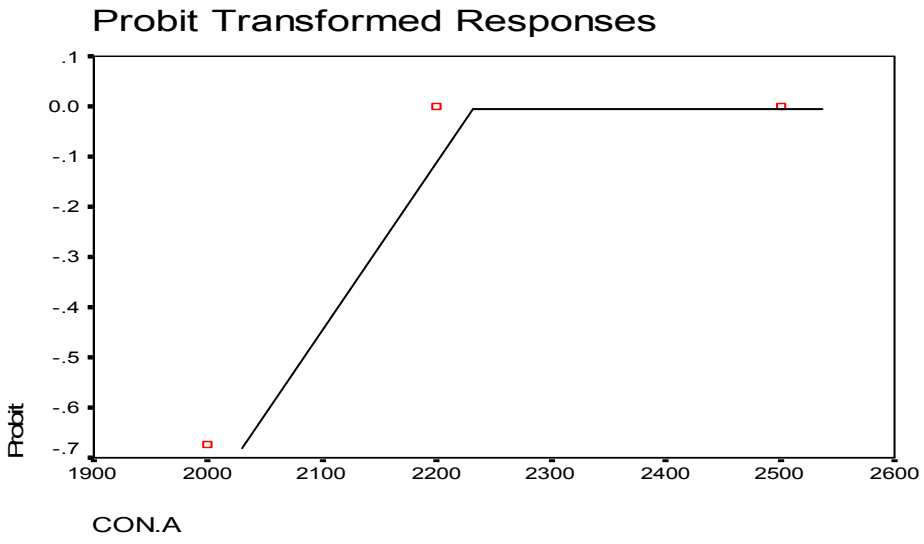
نتایج بافت‌شناسی کبد در ماهیان شاهد (شکل ۱) و مقایسه آن با بافت کبد ماهیانی که تحت تأثیر EDTA قرار داشتند نشان دهنده آسیب‌های بافتی در کبد مانند: افزایش سلول‌های التهابی در فضای پروتال کبد (شکل۲)، متامورفوز چربی (شکل۳)، پرخونی در بافت (Congestion) (شکل٤)، باز شدن مجاری صفراوی (شکل۵)، رسوب هموسیدرین در اطراف عروق خونی کبد و مجاری صفراوی و در دوزهای بالاتر متامورفوز شدید که بافت کبد را کاملا به بافت چربی تبدیل کرده است و همچنین در دوزهای بالا مشاهده تغییرات هیالن که بسیار حائز اهمیت است (شکل ٦)، نکروز و دژنرسانس چربی(شکل ۷) مشاهده گردید.

جدول ۱ـ نتایج (LC_{1-90}) برای مدت زمان (٢٤-٩٦) برای EDTA بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

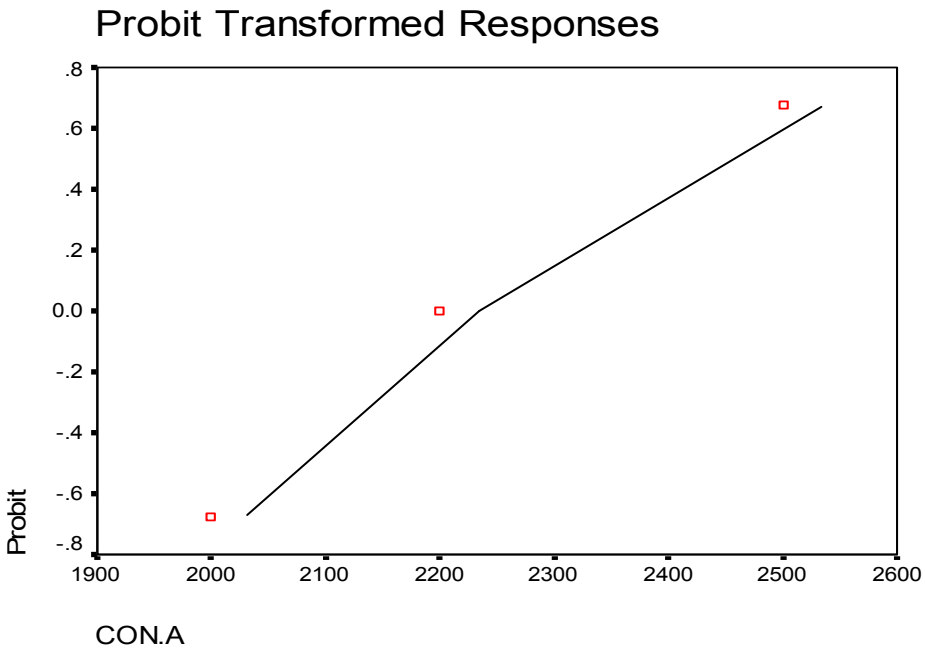
Point	Concentration (ppm) (95 % of confidence limits)			
	24h	48h	72h	96h
LC_1	1414 ± 2.10	1269 ± 2.22	1409 ± 3.45	1409 ± 3.45
LC_{10}	1920 ± 2.10	1747 ± 2.22	1778 ± 3.45	1778 ± 3.45
LC_{20}	2132 ± 2.10	1948 ± 2.22	1934 ± 3.45	1934 ± 3.45
LC_{30}	2286 ± 2.10	2093 ± 2.22	2046 ± 3.45	2046 ± 3.45
LC_{40}	2417 ± 2.10	2217 ± 2.22	2142 ± 3.45	2142 ± 3.45
LC_{50}	2539 ± 2.10	2333 ± 2.22	2231 ± 3.45	2231 ± 3.45
LC_{60}	2726 ± 2.10	2448 ± 2.22	2321 ± 3.45	2331 ± 3.45
LC_{70}	2793 ± 2.10	2573 ± 2.22	2417 ± 3.45	2417 ± 3.45
LC_{80}	2947 ± 2.10	2717 ± 2.22	2529 ± 3.45	2529 ± 3.45
LC_{90}	3159 ± 2.10	2919 ± 2.22	2684 ± 3.45	2684 ± 3.45



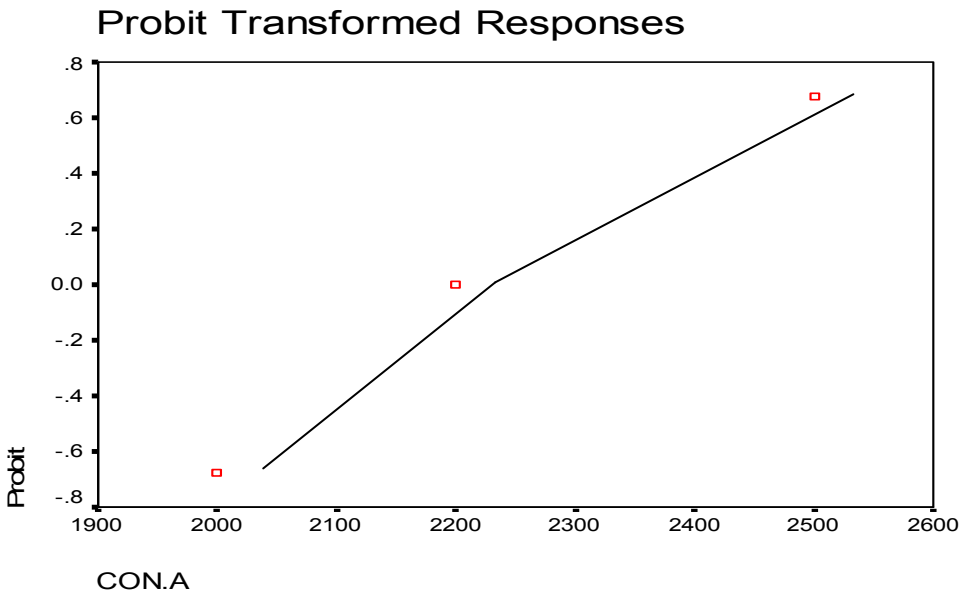
نمودار پروبیت ۱ـ میزان LC_{50} در غلظت های مختلف EDTA(ppm) در مدت زمان ۲٤ ساعت



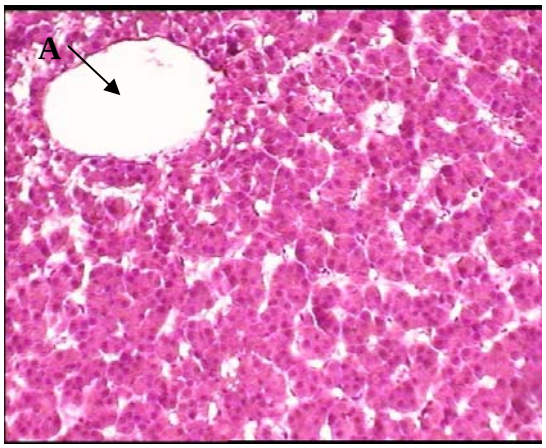
نمودار پروبیت ۲ـ میزان LC_{50} در غلظت های مختلف EDTA(ppm) در مدت زمان ٤٨ ساعت



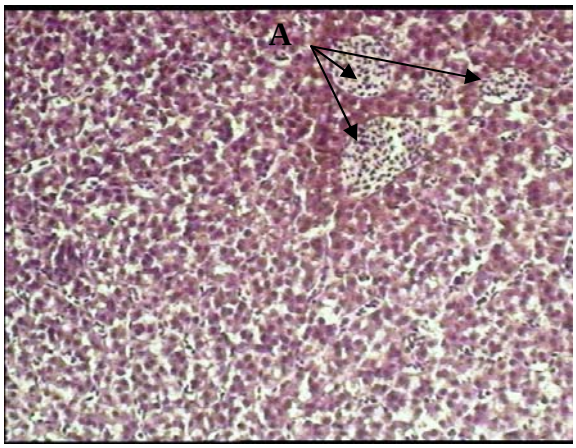
نمودار پروبیت ۳ـ میزان LC_{50} در غلظت های مختلف EDTA(ppm) در مدت زمان ۷۲ ساعت



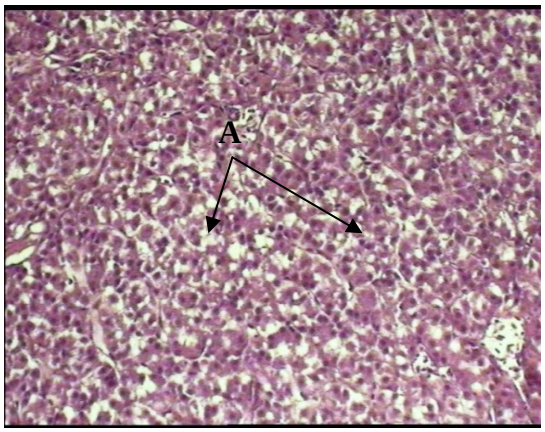
نمودار پروبیت ٤ـ میزان LC_{50} در غلظت های مختلف EDTA(ppm) در مدت زمان ۹٦ ساعت



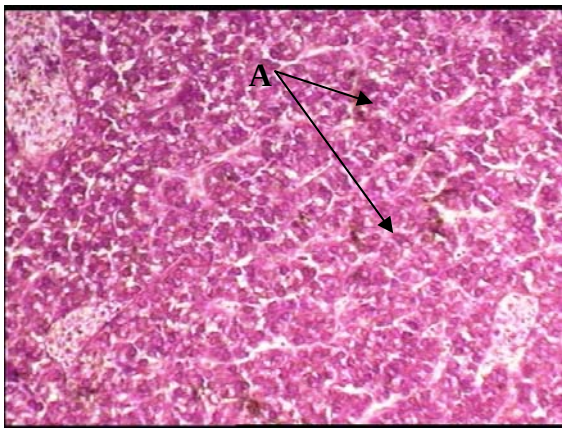
شکل ۱ـ بزرگنمایی 40x. A: سینوزوئید کبد. بافت سالم در ماهیان شاهد



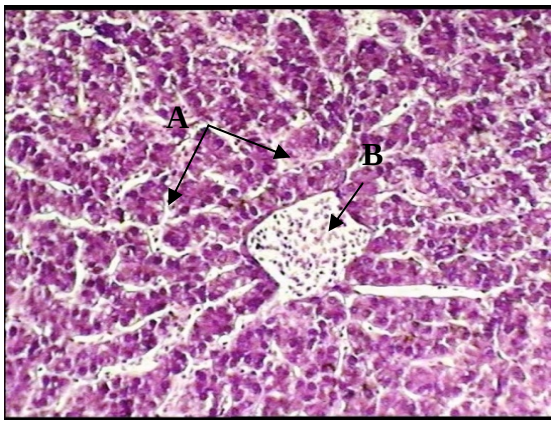
شکل ۲ـ بزرگنمایی 40x. A: افزایش سلول‌های التهابی در فضای پروتال کبد



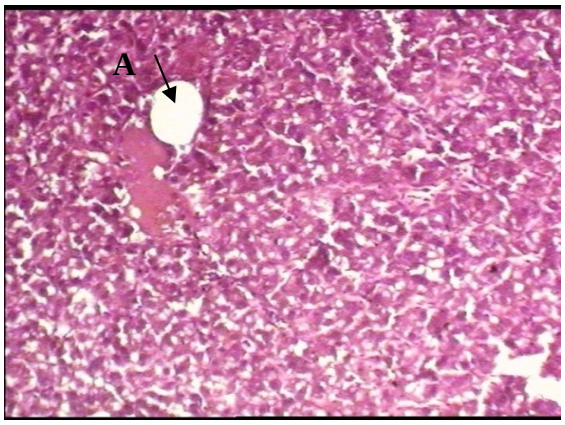
شکل۳ـ بزرگنمایی 40X. A: متامورفوز چربی



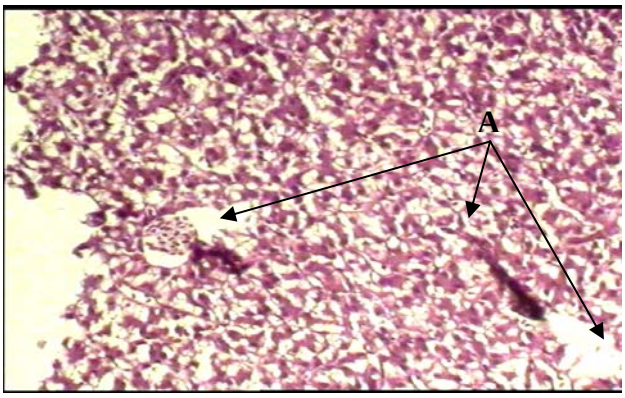
شکل ٤ـ بزرگنمایی 40 x . A: پرخونی در بافت



شکل۵ـ A: باز شدن مجاری صفراوی B: التهاب کانونی (40x)



شکل٦ـ A: باز شدن مجاری صفراوی B: التهاب کانونی (40x)



شکل ۷ـ بزرگنمایی A. 40 x: نکروز کامل بافت کبد

بحث

مطالعات هیستوپاتولوژی روش ارزشمندی برای ارزیابی آثار محیطی بسیاری از آلاینده‌ها بر روی ماهی‌ها می‌باشد. در شرایط آزمایشگاهی آلاینده‌های مختلف باعث ایجاد آسیب بافتی در اندام‌های ماهیان می‌شوند که با تعیین این نوع آسیب‌ها از آنها می‌توان بعنوان نشانگر زیستی به منظور بررسی وجود آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های طبیعی استفاده کرد [٦].

در یک آزمایش مشابه بررسی اثر اسید سدیم (NAT) Sodium nitrilotriacetic و NAT- containing detergents بر روی جانوران دریایی در سال ۲۰۰۳ انجام گرفت که در این آزمایش سم‌شناسی حاد در شرایط استاتیک بررسی اثر $(NTA)(CH_2COONa)_3N$- و H_2O و NAT که شامل داروهای پاک کننده و شوینده‌های خانگی (synyhetic detergents)است بر روی یازده نوع ماهی و بی‌مهرگان دریایی انجام شده است. غلظت مجاز برای ۵۰٪ گونه‌های آزمایشی در 168 h, TL_{50}= 1^{-1} mg 1800 برای میگوی علف‌خوار (*Palaemonetes vulgaris*) و برای خرچنگ (*Pagurus longicarpus*) 1^{-1} mg 1875، برای اسکاپ (ماهی)(*Stenotomus chrysops*) 2200 mgl^{-1}، ستاره دریایی (*Asterias forbesi*) 3000 $mg1^{-1}$، خرچنگ دریایی آمریکایی *Homarus americanus*) 1^{-1} mg 3150 ، صدف دوکفه‌ای خلیج (*Mytlus edulis*) 1^{-1} mg 3400، حلزون گل‌آلود شرقی (*Nassarius obsoletus*) 1^{-1} 5100mg، کرم شنی (*Nereis virens*) 1^{-1} mg 5500، ماهی مومی چاگ (*Fundulus heteroclitus*) 5500 mg 1^{-1} و ماهی خاردار دریایی (*Roccus saxatilis*) $mg1^{-1}$ 5500، دو شوینده آزمایش شده بطور قابل ملاحظه‌ای سمی‌تر از NTA در جانوران دریایی در شرایط برابر آزمایشی بودند. ماهی‌ها آخرین گروه مقاوم آزمایش شده برای درجنت‌ها بودند [۱۲]. در بحث هیستوپاتولوژی برای میگوی علف‌خوار، خرچنگ، کرم شنی، اسکاپ، ماهی خاردار و مومی چاگ تغییرات پاتولوژی به انحراف گوارشی و آسیب کلیه محدود می‌شود. نتیجه‌ای است که NAT می‌تواند در ماهیان دریایی و بی مهرگان پرخطر باشد هنگامی که بصورت جایگزین به جای sodium tripolyphosphate در درجنت‌های خانگی استفاده شود [۸]. تیزکار (۱۳۷۸) در تعیین حداقل میزان کشنده درجنت آنیونی خطی بر روی دو گونه ماهی استخوانی تالاب انزلی، سیم و سفید دریافتند که محدوده غلظت مؤثر درجنت آنیونی خطی در ماهی سیم بین ۱۰-۳ و در ماهی سفید بین ۲۵-۵ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. مطالعاتی که اختصاصاً به بررسی تأثیر EDTA بپردازد تا کنون بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام نشده است. EDTA بعنوان یک آلاینده پایدار پدید آمده است، و اثر آن بر روی ماهی و تعیین LC_{50} آن تا کنون انجام نگرفته است [۹].

بر اساس نتایج بدست آمده از آزمایشات تعیین سمیت حاد (LC_{50} 96h) اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشخص گردید که میزان غلظت کشنده در طی چهار روز متوالی (۹۶ ساعت) برای ۵۰ درصد از ماهیان ppm ۲۲۳۱ می‌باشد که بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که مقدار غلظت غیرمؤثر برابر با ppm ۱۲۰۰ و مقدار حداقل غلظت مؤثر این سم (LOEC) ppm۲۰۰۰ می‌باشد.

کبد نیز اندامی است که اعمال مختلفی را در ارتباط با متابولیسم انجام می‌دهد و از آنجایی که در فرآیندهایی نظیر نقل و انتقالات و آنالیز نقش دارد در ماهیان حائز اهمیت است و بدلیل حساسیت بالا بخاطر جذب مواد مستعد بروز صدمات ناشی از مواد شیمیایی بوده و اندام مناسبی برای بررسی محرک‌های محیطی در جانوران و بخصوص ماهیان می‌باشد [۱ و ۲]. ضایعاتی که پس از بررسی میکروسکوپی و پاتولوژی در کبد ماهیان مورد آزمایش قرار گرفته دیده شده بصورت زیر است: افزایش سلول‌های التهابی در فضای پروتال کبد، شروع متامورفوز چربی در کبد در اطراف پورت، پرخونی در بافت (Congestion)، شروع متامورفوز به صورت کانونی، باز شدن مجاری صفراوی، رسوب هموسیدرین در اطراف عروق خونی کبد و مجاری صفراوی و در دوزهای بالاتر التهاب زیاد و متامورفوز شدید که بافت کبد تبدیل به بافت چربی شده است و تغییرات هیالن که بسیار حائز اهمیت است، از هم‌گسیختگی سلول‌ها، نکروز، دژنراسیون چربی. در نهایت می‌توان بیان نمود که آسیب کبدی به صورت نکروتیک و خونریزی یا هموراژیک می‌باشد [۱۰]. کبد ماهیان نسبت به محرک های شیمیایی بسیار حساس می‌باشد زیرا جریان خون در کبد در مقایسه با بازده قلبی کند است و دفع سموم شیمیایی و متابولیک-های حاصل از کبد تدریجی است.

در کبد ماهیانی که تحت تأثیر غلظت‌های بالاتر قرار داشتند با افزایش غلظت ضریب تخریب و نکروز بافت نیز بیشتر بود. جریان آرام خونرسانی در کبد و فعالیت آنزیمی بویژه در هپاتوسیت‌های اطراف ورید مرکزی لوبولی می‌تواند یکی از دلایل توسعه ضایعه در هنگام تماس با مواد آلوده کننده در کبد باشد که در این تحقیق نکروز و خونریزی کاملاً مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده EDTA با وجود داشتن LC_{50} بالا در مدت زمان کوتاه آسیب بافتی حاد و برگشت‌ناپذیری را موجب شده است و غلظت‌ها و تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که با افزایش غلظت ضریب تخریب بافتی بیشتر می‌شود. در مسیر رودخانه هراز در فواصل کم تعداد زیادی مزارع پرورش ماهی وجود دارد و فاضلاب‌های خانگی وارد رودخانه‌ای می-شود که آب مزارع پرورش ماهی را تأمین می‌کند. فاضلاب‌های خانگی که حاوی مواد شوینده و آلاینده‌هایی هستند که برای سلامت و کیفیت ماهی مضر می‌باشد. لذا شناخت آلاینده‌ها و پیشگیری و مبارزه با آنها یکی از ضروریات بسیار مهم دانش امروز بشری می‌باشد و لازمه کنترل و مبارزه با آلودگی ها شناخت منابع آلوده کننده و اثرات زیست‌محیطی حاصل از آن و سپس روش‌های پیشگیری از این مواد آلوده کننده می‌باشد و به موازات آن تصفیه فاضلاب‌های صنعتی و خانگی جوامع بشری در حفاظت از محیط زیست و آگاهی به جامعه نقش مهم و اساسی آن است.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر نسیمی ریاست محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرگز، جناب آقای مهندس تجری معاونت محترم پژوهشی واحد بندرگز و نیز پرسنل محترم واحد که زمینه انجام این تحقیق را در آن دانشگاه فراهم نمودند و نیز از جناب آقایان مهندس رضا جهانشاهی، مهندس مهدی رحمتی و مهندس مهدی درخشان که در انجام

تحقیق یاری فرمودند، نهایت سپاسگزاری و تشکر را داریم.

منابع

۱- پوستی، ا. ادیب مرادی، م. ۱۳۸۷. بافت‌شناسی مقایسه‌ای و هیستوتکنیک، انتشارات دانشگاه تهران، ١٦٤ صفحه.

۲- تاکاشیما، ف. هیبایا، ت. .۱۹۹۵. اطلس بافت شناسی ماهی (اشکال طبیعی و اسیب شناسی) ترجمه ایرج پوستی. ۱۳۸۷. انتشارات دانشگاه تهران. ص۱۵۰.۱٤۹

۳- شاهسونی، د. موثقی، ا. ۱۳۸۲. بررسی آسیب شناسی کبدی- کلیوی ناشی از ماده شوینده آنیونی در ماهی قرمز. مجله پژوهش و سازندگی شماره ۵۹.

٤- فرگوسن، ه.، آسیب‌شناسی سیستماتیک ماهی. ۱۳۸۱. ترجمه شاهسونی، د. و موثقی، ا. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

۵- کردوانی، پ .۱۳۷۳. اکوسیستم‌های طبیعی (جلد دوم) اکوسیستم های آبی. انتشارات پالیز .ص ۱۵۵ – ۱۵۷

6- Adams, S.J., S.M. Hinton (1997), Histopatologic biomarkers in feral fresh water fish population exposed to different types of contaminant stress. Aquatic Toxicological, 37:51 – 70

7- Capkin, E., E. Terzi, H. Boran, I. Yandi, I. Altinok (2010), Effects of some pesticides on the vital organs of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Tissue and Cell, 42: 376–382.

8- Eisler, R.G.R., R.J. Gardner, G. Hennekey, F. LaRoche, P.P. Wash, U.S. Yevich (1989), Environmental Protection Agency, National Marine Water Quality Laboratory, West Kingaton Rhode Island 02892, U.S.A.

9- Hart, R.J. (2005), Ethylene di amine tetra acetic Acid and Related Chelating Agents" in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim, doi: 10.1002/14356007. a10_095

10- Lee K.A. (2009), Anthracycline chemotherapy inhibits HIF-1 transcriptional activity and tumor-induced mobilization of circulating angiogenic cells. PMID 19168635.

11- Raad, I., H. Hanna, T. Dvorak, G. Chaiban, R. Hachem (2007), Optimal antimicrobial catheter lock solution, using different combinations of minocycline, EDTA, and 25-percent ethanol, rapidly eradicates organisms embedded in biofilm. *Journal of Clinical Microbiology*, 51: 78-83.

12- T.R.C. (1984), O.E.C.D. Guidelines for testing of chemicals. Section 2, Effects on biotic systems, pp: 1 – 39.

13- Winter, R. (1999), A consumer's Dictionary of Food Additives. Three Rivers Press, NY.