جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

علوم و تکنولوژی محیط زیست ، دوره یازدهم، شماره یک، بهار ۸۸

بررسی اثر سمیت آمونیاک بر بافت کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

طاهره ناجی [۱] (عهده دار مکاتبات)
tnaji2002@yahoo.com
حسین خارا [۲]
مینا رستمی [۳]
الناز نصیری پرمان [۴]

تاریخ دریافت:۸۵/۱۲/۱۴ تاریخ پذیرش:۸۶/۴/۷

چکیده

آمونیاک ماده ای سمی و خطرناک برای ماهی است که در آب به دو شکل یونیزه(NH_4^+) که غیر سمی و شکل مولکولی (NH_3) که برای ماهی سمی است،وجود دارد.

در این پژوهش اثر سمیت حاد آمونیاک بر گونه کپور معمولی (Cyprinus carpio) در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. ماهیان مورد استفاده در این آزمایش ماهیان انگشت قد ۱۰ تا ۲۰ گرمی بودند که ابتدا میزان LC_{50}آمونیاک در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲و ۹۶ ساعت به دست آمد که به ترتیب ۲۳/۴، ۲۰/۵، ۲۵/۲۵،۱۶/۱۴ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل که معادل ۲/۲۰، ۱/۸۵، ۱/۴۵، ۰/۹۹ میلی گرم در لیترآمونیاک مولکولی(NH_3) می باشد، محاسبه گردید.(میانگین نوبت اول و دوم)

سپس بافت کبد ماهی کپور معمولی در مجاورت با غلظت های مختلف آمونیاک که به ترتیب ۸،۱۴،۲۰،۲۵میلی گرم در لیتر آمونیاک کل که معادل۰/۳۱، ۰/۸۸، ۱/۷۳، ۲/۵۱میلی گرم در لیترآمونیاک مولکولی(NH_3) بودند قرار داده شد و از نظر ضایعات میکروسکوپی و هیستوپاتولوژیک مورد بررسی قرار گرفت.نتایج حاصل نشان دادکه در کبدپس ازقرار گیری در مجاورت با آمونیاک پدیده هایی نظیرادم داخل سلولی هپاتوسیت هاونکروز هپاتوسیت ها و در غلظت های بالاترپرخونی ،نکروز کانونی مزمن،نکروز بافتی،نفوذ

۱- استادیار، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
۲- استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی لاهیجان ، دانشگاه آزاد اسلامی
۳- استادیار، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۴- دانشجو، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

سلول های آماسی، آنمی، ترومبوزعروق و حضور ملانین و صفرا تا حد نسبتاً زیاد در غلظت های بسیار بالاتر حضور ملانین و صفرا در حدبسیارزیاد به همراه خونریزی مشاهده شد.

واژه های کلیدی: ماهی کپور معمولی،آمونیاک ،آسیب شناسی بافتی کبد،LC_{50}

مقدمه

امروزه یکی از مهم ترین نگرانی های بشر مسئله افزایش مواد آلاینده در محیط زیست به خصوص آب ها می باشد که به صورت فاضلاب، نشت نفت، پساب های مواد آلی و معدنی کارخانجات، مواد شیمیایی گوناگون اعم از فلزات و شبه فلزات بوده و می باشدکه موجب آلودگی آب های جهان به اشکال مختلف می شوند.این مواد سمی به طرق مختلف وارد آب شده و آن را آلوده می کنند، این در حالی است که منابع آب محدود ولی رشد جمعیت به طور تصاعدی در حال افزایش است و همین منابع محدود به وسیله آلوده کننده های مختلف فیزیکی شیمیایی و بیولوژیک آلوده می گردد.

گرچه عوامل آلوده کننده فیزیکی و میکروبی را می توان با صرف هزینه و بکار گرفتن تکنیک های ساده از میان برداشت ِولی برطرف ساختن آلودگی های شیمیایی در غالب مواردِ وقت گیر ِمشکل ِپرهزینه و گاه غیرممکن است.یک آلوده کننده به عنوان عاملی تعریف می شود که تغییرات غیر قابل قبول و پیش بینی نشده ای را در محیط اطراف ایجاد نموده و باعث اختلال در روند عادی گردد.

احتمالاً اثرات ایجاد شده اثری مستقیم یا غیر مستقیم بر حیات انسان،موجودات زنده،اجتماعات حیوانی واین گونه موارد دارد. اثرات آلودگی بر محیطی که انسان زندگی می کند دامنه تخریب بسیار محسوس و چشمگیری دارد و می تواند از نابود شدن خطوط ساحلی که تفریحگاه انسان به شمار می رود تا غیر قابل شرب شدن آب و خطرات بدنی بسیار شدید ادامه یابد.

یکی از مهم ترین آلاینده های محیط زیست ترکیبات نیتروژنی می باشد که از جمله مهم ترین و خطرناک ترین آن ها آمونیاک است. به طور کلی در تقسیم بندی آلاینده های آب وجود نیتریت، نیترات و آمونیاک دلالت بر وجود آلاینده های شیمیایی معدنی در داخل منابع آبی دارد.

مواد نیتروژن دار به طرق مختلف نظیر تماس منابع آب با فاضلاب و یا تخلیه آب های شستشوی زمین های کشاورزی در رودخانه و از همه مهم تر اکسیداسیون مواد آلی نیتروژن دار نظیرپروتئین ها که به کمک باکترهای خاص انجام می پذیرد، تولید می شود. افزایش آمونیاک آب یکی از مشکلات عمده در آب زی پروری است.این افزایش خصوصا در سیستم های تکثیر ماهی و میگو،سیستم های فوق متراکم پرورش ماهی یا گردش مجدد آب،آکواریوم ها و در هنگام انتقال ماهی همواره مطرح بوده است (۱).

معمولاً آمونیاک حاصل پس از مدتی به نیتریت اکسیده می شود و نیتریت حاصل نیز به نیترات تبدیل می شود. وجود آمونیاک در درجه اول و نیتریت در درجه دوم نشان دهنده آلودگی جدید آب است،در حالی که وجود نیترات نشانه آلودگی کهنه آب است.

آمونیاک در آب به دو شکل موجود است، شکل یونی که NH_4^+ است، به شکل یون بوده و برای ماهی خطرناک نمی باشدو شکل مولکولی که NH_3 بوده و به راحتی از طریق پدیده انتشار از آبشش ماهی جذب شده و از طریق خون خودرا به کلیه اندام ها می رساند و بسیار کشنده است.

بین یون آمونیوم و آمونیاک معادله ای برقرار است به طوری که درجه حرارت و pHنقش اصلی را در معادله ایفا می کنند. درpH بیش از ۷ تعادل به سمت افزایش آمونیاک مولکولی پیش می رودو در pHکمتر از ۷ یون آمونیوم غالب می شود (۲).

در این پژوهش با توجه به این که ماهیان کپور معمولی اغلب در هنگام نقل و انتقال از جایی به جای دیگر

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

می توانند در معرض مسمومیت با آمونیاک قرار گیرندویا کوددهی بیش از حددر استخرهای مزارع ویا وارد شدن فاضلاب های شهری و صنعتی در آب ها می تواند باعث افزایش آمونیاک آب شود، لذا با توجه به اهمیت نقش آمونیاک در آلودگی آب به اشکال مختلف و امکان ورود این ماده به منابع آبی به طرق مختلف، تحقیق حاضر در زمینه تعیین شدت کشنده بودن آمونیاک وتاثیرات حاد آن بر روی ماهیان کپور معمولی و همچنین تاثیر این ماده سمی بر روی بافت کبد ماهی کپور معمولی صورت گرفت که علت انتخاب این بافت بر این مبنا بودکه کبد در متابولیسم و دفع آمونیاک نقش اصلی را ایفا می کند.

هدف از این تحقیق، مشخص نمودن حداکثر غلظت مجاز آمونیاک است که به طرق مختلف وارد استخرها می شود تا جایی که اعداد به دست آمده در این تحقیق قابل به کارگیری در مزارع پرورش ماهی باشد

روش بررسی

این بررسی در تابستان ۱۳۸۵ در منطقه تمیسیان در جنوب دماوند صورت گرفت. برای انجام کار از۹ آکواریوم که هر کدام به گنجایش ۴۰ لیتر بودندودرهر کدام ۱۰ عدد ماهی کپور معمولی ریخته شد،استفاده گردید.در طول مدت آزمایش دمای آب آکواریوم ها در حد مناسبی یعنی۲۰ درجه سانتی گراد ثابت نگه داشته شد.

پس از نصب و راه اندازی آکواریوم ها ماهیان کپور معمولی با وزن۳/۳۲ ± ۱۵گرم و سن ۲ ماه از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی کپور معمولی واقع در آمل به کارگاه تکثیروپرورش ماهیان آکواریومی واقع در تمیسیان دماوندانتقال پیدا کردند.پس از انتقال به مدت ۱۲ روز در آب سالم نگه داری شدند تا با شرایط جدید سازگار شوند.در این مدت ماهیان با غذای دستی تغذیه شدند و آب آکواریوم ها تعویض می شد.۲ روز قبل از شروع آزمایش غذا دهی قطع گردید. در طول زمان سازگاری مرگ و میری مشاهده نشد. قبل از راه اندازی،آکواریوم ها به وسیله پرمنگنات پتاسیم و آب نمک غلیظ ۷۰ درصد کاملاً شسته شدندتا محیط عاری از هر گونه آلودگی و بیماری و برای ماهیان مناسب باشد. سپس آکواریوم ها با آبی که میزان سختی آن ۱۲۰ میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم بود پر شدند. میزان سختی آب آکواریوم ها با روش تیتراسیون EDTA[1] محاسبه گردیدکه معادل همان سختی آب شهرتهران بود. همچنین میزان اکسیژن آکواریوم ها از طریق پمپ های هواده کاملاً کنترل می گردید. ماهی های صید شده به گروه های ۹ تایی تقسیم گردیده،آکواریوم شماره یک به عنوان شاهد در نظر گرفته شد(غلظت آمونیاک برابر صفر) و بقیه آکواریوم هادر معرض دوز های مختلف آمونیاک به ترتیب غلظت های ۸،۱۱،۱۴،۱۷،۲۰،۲۳،۲۵،۳۰میلی گرم آمونیاک به ازا هر لیتر آب قرار گرفتند. مقدار غلظتی که ماهیان در تماس با آن قرار گرفتند به عنوان نمونه پس از چند سری آزمایش به دست آمد. به نحوی که ابتدا ماهیان تحت تاثیر غلظت کم آمونیاک (۸) تا زیاد(۳۰) قرار گرفتند و سپس با توجه به تلفات صد درصد ماهیان در ۳۰ میلی گرم در لیتر آمونیاک و ۸ میلی گرم در لیتر به عنوان غلظتی که هیچ تلفاتی در این غلظت مشاهده نشد انتخاب گردید.در هر ۲۴ ساعت ،آکواریوم ها مورد بررسی قرار گرفته و میزان مرگ و میر ثبت می گردید.این کار به مدت ۹۶ ساعت(۴ روز)و هر روز راس ساعت ۹صبح انجام گرفت. در تمام مدت آزمایش درجه حرارت pH و میزان اکسیژن بررسی شده و در صورت تغییر،آزمایش مجدداً تکرار می گردید.در طی مدت آزمایش هیچ گونه تغذیه ای در مورد آکواریوم ها انجام نمی شدو ماهیان مرده در طول این بررسی بلافاصله از آب خارج و وزن و طول آن ها اندازه گیری می شد.

لازم به ذکر است که آمونیاک مورد استفاده در طی این تحقیق به صورت محلول بوده است و حتماً باید برای رسیدن به غلظت های مورد نیاز با دقت کامل میزان حجم محلولی که باید به هر آکواریوم اضافه کنیم را به دست می آوردیم تا به غلظت های دلخواه برسیم.

پس از ۴ روز آب آکواریوم ها تخلیه شده،و پس از شستن کامل آن ها خشک کردن و آبگیری ، مجدداً و با ترتیب گفته شده برای تکرار آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. پس از

تکرار آزمایش و ثبت نتایج دور دوم و با توجه به غلظت آمونیاک مصرفی و درصد مرگ و میر و یا درصد ماهیان زنده نمودار تعیین LC_{50} رسم گردید،بدین ترتیب که از عدد ۵۰ بر روی محور عمودی خطی به موازات محور افقی رسم گردید تا نمودار را قطع کند، از این نقطه بر محور X ها عمود کرده و غلظت آمونیاکی که باعث مرگ و میر نیمی از جمعیت شده محاسبه گردید که همان LC_{50} است(۳).

این آزمایش ها برای تعیین سمیت حاد سموم بر ماهیان در کوتاه مدت(۴ روز یا ۹۶ ساعت) انجام می گیردو طبق روش متداول O.E.C.D صورت می پذیرد. در این روش آزمایش ها به صورت استاتیک(ثابت) انجام می شود. بدین معنی که محلول آزمایش در طی آزمایش تغییر نمی کندو کاملاً ثابت است و میزان مرگ و میر ماهی در طی ۴ روز به صورت هر ۲۴ ساعت یک بار (۲۴،۴۸،۷۲،۹۶ساعت) ثبت و رکورد گیری می گردد.

استفاده از آب قابل شرب کلر زدایی شده،ترجیحا باسختی بین ۵۰ تا۲۰۰ میلی گرم در لیتر بر حسب کربنات کلسیم، و نگه داری اکسیژن محلول در سراسر آزمایش حداقل به میزان ٪۶۰ و حداکثر ٪۸۰ اشباعی هوا،نوردهی به مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت،تنظیم درجه حرارت مناسب ماهیان (۲۰درجه سانتی گراد)و اندازه گیری روزانه pH،از جمله مواردی بود که در طول انجام آزمایش اعمال شد. پس از اضافه نمودن محلول آمونیاک،در زمان های ۲۴،۴۸، ۷۲ و۹۶ ساعت بافت کبد ماهیان مورد آزمایش خارج گردید و در ظروف حاوی فرمالین ۱۰ ٪ قرار داده شد.سپس نمونه های بافتی در آزمایشگاه پس از طی مراحل پاساژ بافت،آماده برش گیری و رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین شد و نهایتاً از لام های تهیه شده توسط میکروسکوپ دوربین دار عکسبرداری گردید.

نتایج

پس از انجام آزمایش تعیین LC_{50} تعداد ماهیان مرده در هر غلظت شمارش و در جدولی ثبت گردید(جدول۱و۲)بر این اساس میزانLC_{50} با استفاده از نمودارهای تعیین LC_{50} (نمودارهای ۱،۲،۳،۴)برای هر دوره زمانی به دست آمد(جدول۳). نتایج کار بافت شناسی کبد به شرح زیر می باشد:

نتایج بافت شناسی کبد ماهیان شاهد(شکل۱)و مقایسه آن با بافت کبد ماهیانی که تحت تاثیر غلظت های ۸،۱۴،۲۰،۲۵ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل قرار داشتند (شکل های۲،۳،۴،۵،۶) نشان دهنده ضایعات هیستوپاتولوژیک در کبد بود به طوری که در غلظت ۰/۳۱ میلی گرم در لیترآمونیاک مولکولی پدیده های ادم داخل سلولی هپاتوسیت ها و نکروز در آن ها مشاهده شدو در غلظت۰/۸۸ میلی گرم در لیترآمونیاک مولکولی علاوه بر دو مورد ذکر شده در غلظت ۰/۳۱ میلی گرم در لیتر،پرخونی،نکروز بافتی،ترومبوز عروق و حضور ملانین و صفرا مشاهده شد.

در غلظت۱/۷۳ میلی گرم در لیترآمونیاک مولکولی علاوه برموارد ذکر شده در غلظت ۰/۸۸ میلی گرم در لیتر، نکروز کانونی مزمن،نفوذ سلول های آماسی وآنمی بۀ دلیل وجود هموسیدرین مشاهده شد. در غلظت ۲/۵۱ میلی گرم در لیترآمونیاک مولکولی ادم داخل سلولی هپاتوسیت ها، پرخونی، نکروز هپاتوسیت ها،نکروز کانونی مزمن،نکروز بافتی (انهدام بافتی)، نفوذ سلول های آماسی،آنمی به دلیل وجود هموسیدرین، ترومبوز عروق،حضور ملانین و صفراو خونریزی مشاهده شد(شکل های ۴، ۵، ۶). همچنین در تصاویر حاصل از کبد ماهیان آلوده سیروز کبدی و ضخیم شدن مجاری صفراوی در هیچکدام از موارد دیده نشد.

از جمله تغییرات رفتاری ماهیان کپور معمولی مسموم شده این بود که سرعت تنفس به تدریج بیشتر شده و حالت غیر منظم پیدا کرده و حالت تشنجی به دنبال داشت.ماهی ها نسبت به تحریکات خارجی به شدت واکنش نشان داده و سعی می کردند از سطح آب بیرون بپرند.انقباضات و اسپاسم های عضلانی اتفاق افتاده و نهایتاً ماهی به پهلو افتاده و دهان و سرپوش های آبششی بدلیل اسپاسم شدید باز می ماندند. معمولاً ماهی ها یک حالت گذرا از بهبودی را دنبال آن نشان می دادندکه مدت زیادی به طول نمی انجامید و به دنبال آن

یکسری حرکات تشنجی شدید اتفاق افتاده که نهایتاً منجر به مرگ می می گردید. پوست ماهی رنگ پریده بوده و توسط مقادیر زیادی مخاط پوشیده می شد.گاهی خون ریزی های روی پوست مشاهده گردید.

جدول۱- نتایج مربوط به تعیین LC_{50} نوبت اول

(اعداد درون جدول تعداد ماهیان مرده را نشان می دهد).

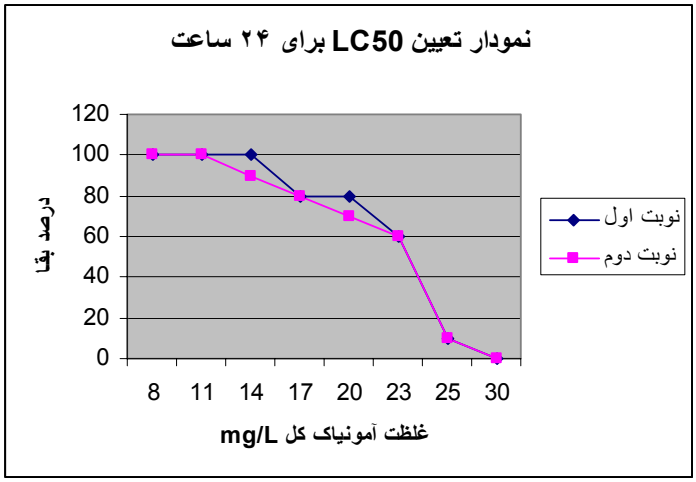
غلظت آمونیاک کل mg/L / زمان برحسب ساعت	۸	۱۱	۱۴	۱۷	۲۰	۲۳	۲۵	۳۰
۲۴	۰	۰	۱	۲	۳	۴	۹	۱۰
۴۸	۰	۰	۱	۲	۲	۴	۱	-
۷۲	۰	۱	۲	۲	۲	۲	-	-
۹۶	۱	۲	۲	۲	۱	-	-	-

جدول ۲- نتایج مربوط به تعیین LC_{50} نوبت دوم

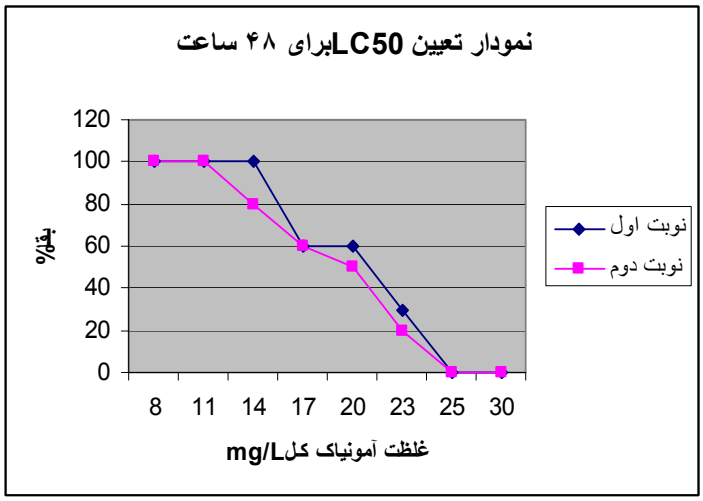
(اعداد درون جدول تعداد ماهیان مرده را نشان می دهد).

غلظت آمونیاک کل mg/L / زمان برحسب ساعت	۸	۱۱	۱۴	۱۷	۲۰	۲۳	۲۵	۳۰
۲۴	۰	۰	۱	۲	۳	۴	۹	۱۰
۴۸	۰	۰	۱	۲	۲	۴	۱	-
۷۲	۰	۱	۲	۲	۲	۲	-	-
۹۶	۱	۲	۲	۲	۱	-	-	-

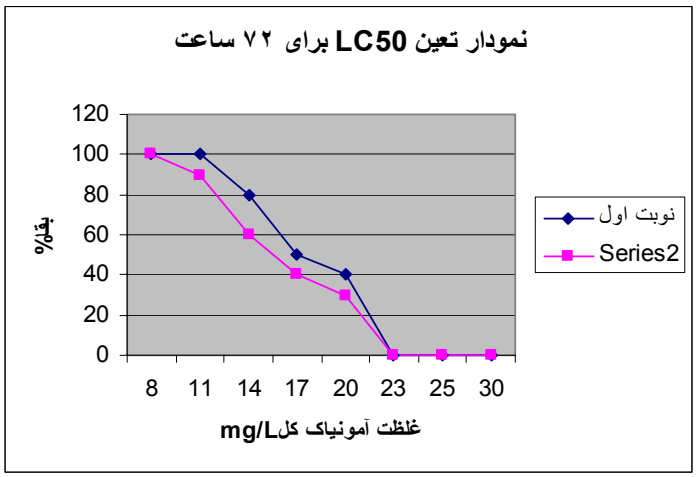
نمودار های تعیین LC_{50} در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت طبق روش رسم منحنی های دوز پاسخ:



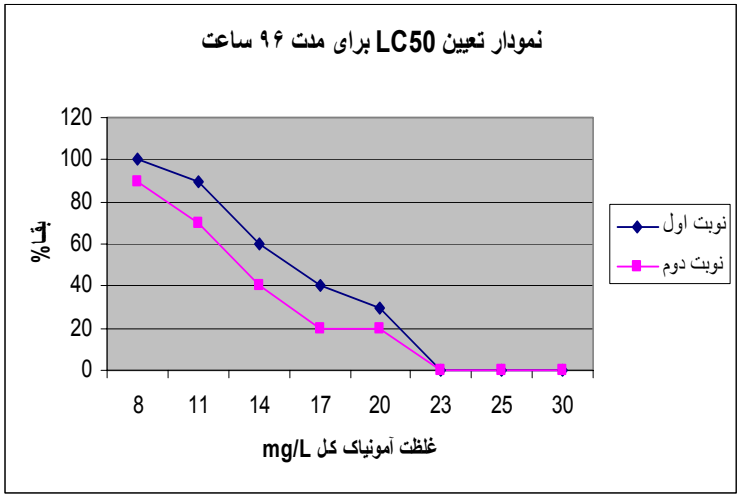
نمودار۱ - میزان LC_{50} در غلظت های مختلف آمونیاک در مدت ۲۴ ساعت



نمودار۲ - میزان LC_{50} در غلظت های مختلف آمونیاک در مدت زمان ۴۸ ساعت



نمودار۳ - میزان LC_{50} در غلظت های مختلف آمونیاک در مدت زمان ۷۲ ساعت



نمودار۴ - میزان LC_{50} در غلظت های مختلف آمونیاک در مدت زمان ۹۶ساعت

جدول ۳ - میزان LC_{50}

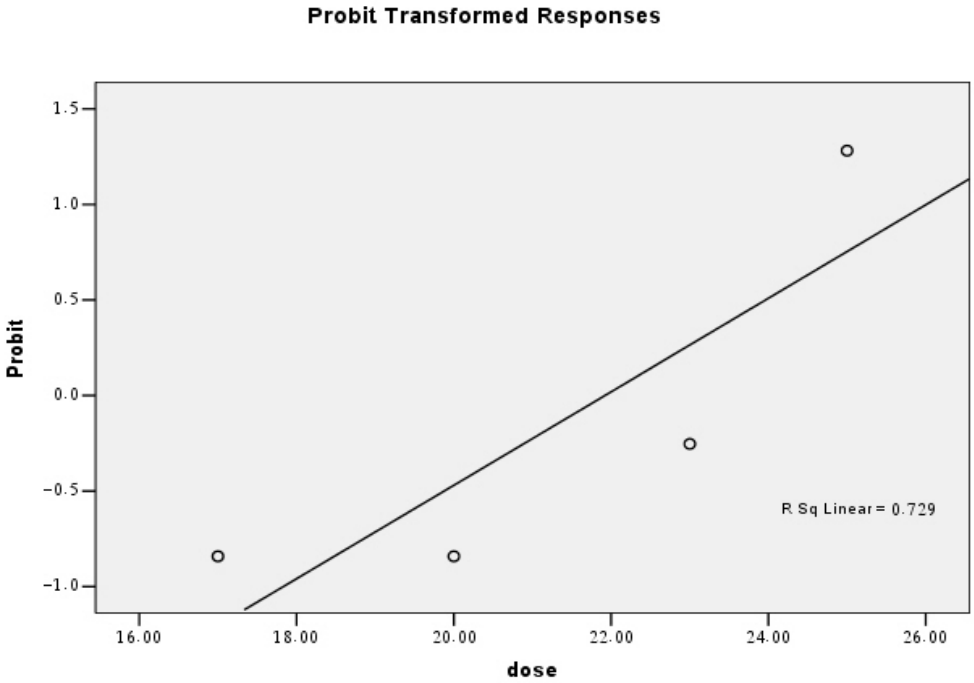
مقدار LC_{50} (ppm) آمونیاک مولکولی	زمان ساعت
۲۳/۴۰	**۲۴**
۲۰/۵۰	**۴۸**
۱۶/۲۵	**۷۲**
۱۴/۲۴	**۹۶**

مقدار LC_{50} (ppm) آمونیاک مولکولی	زمان ساعت
۲/۲۰	۲۴
۱/۸۵	۴۸
۱/۴۵	۷۲
۰/۹۹	۹۶

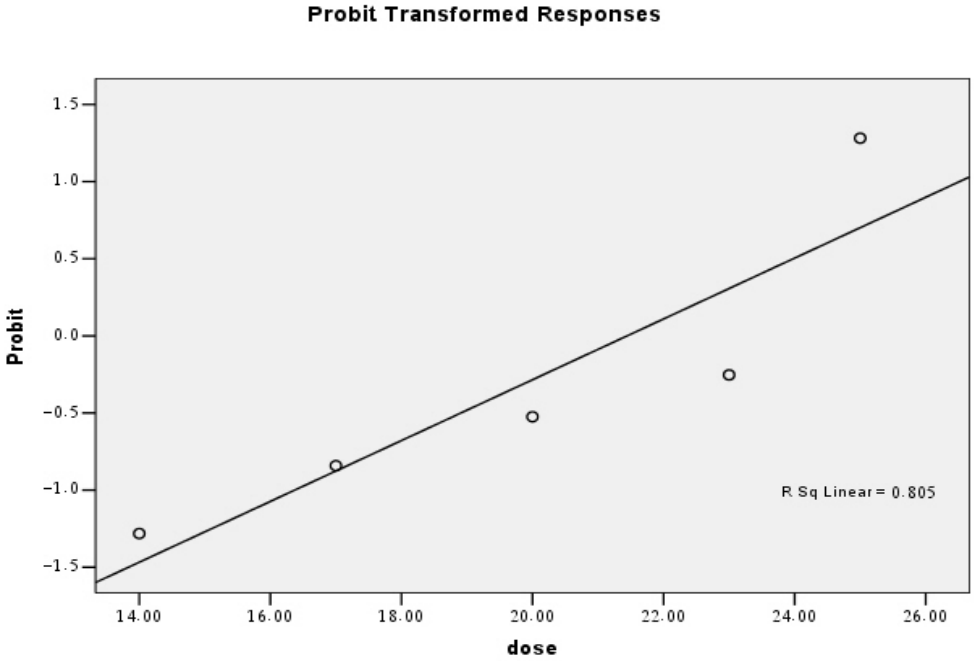
لازم به ذکر است که با توجه بـه آزمـایش هـا انجـام شده، نمودار های تعیین LC_{50} با استفاده از برنامه نرم افـزاری SPSS وروش تحلیل آماری Probit Analysis رسم گردیـد و مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت.

همچنین حداکثر غلظت مجاز (MATC)[1] با توجـه به مقدارLC_{50}، ۸ میلی گرم درلیتر تعیین شد.حـداکثر غلظـت مجاز سم غلظتی است که در طول مدت آزمایش هیچ اثر سوئی بر ماهی مورد آزمایش نگـذارد و سـلامتی ماهیـان را بـه خطـر نیندازد. مقدار(NOEC)[2] و(LOEC)[3] در این تحقیق با توجه به مقدار LC_{50} به دست آمده به ترتیب ۵ و ۱۱ میلـی گـرم در لیتر است.

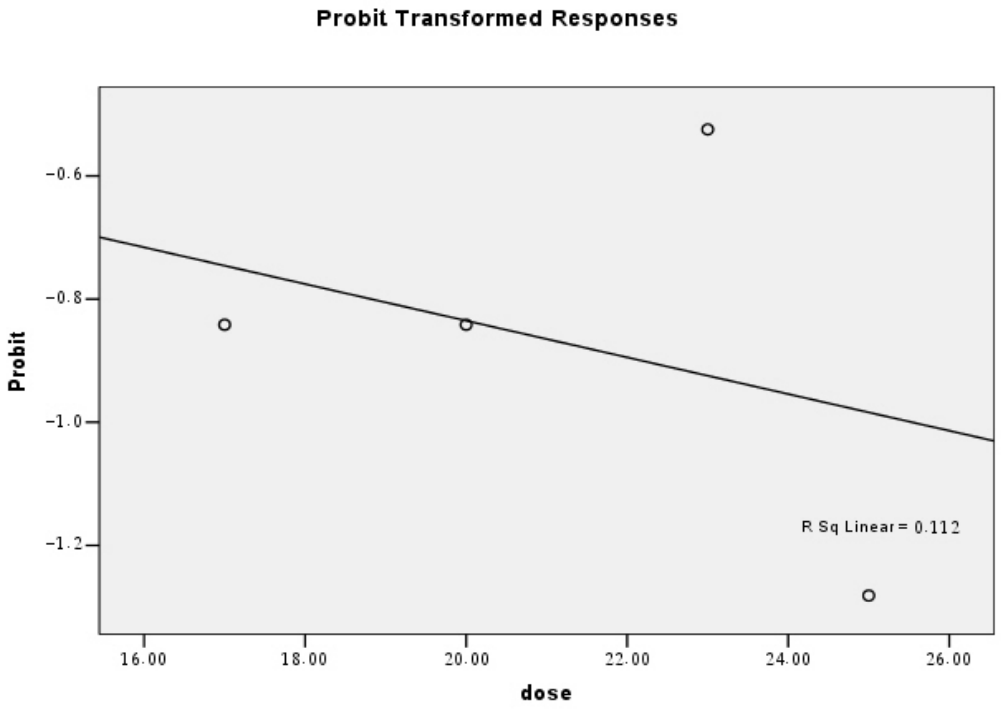
1-Maximum Allowable Toxicant Concentration
2- No Observed Effect Concentration
3- Lowest Observed Effect Concentration



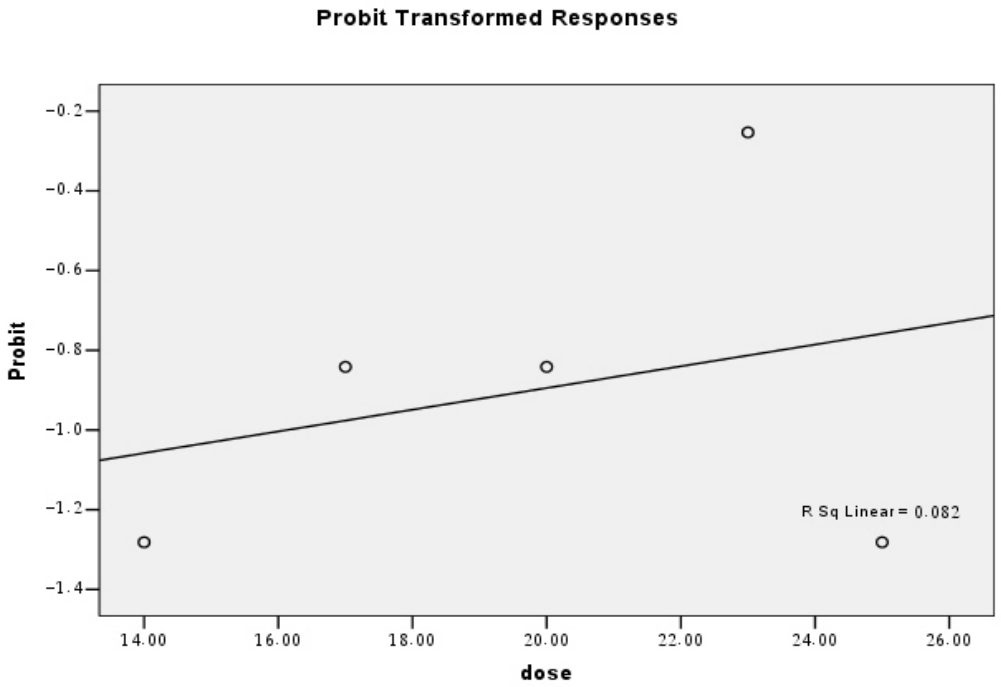
نمودار پرو بیت ۲۴ ساعت (نوبت اول)



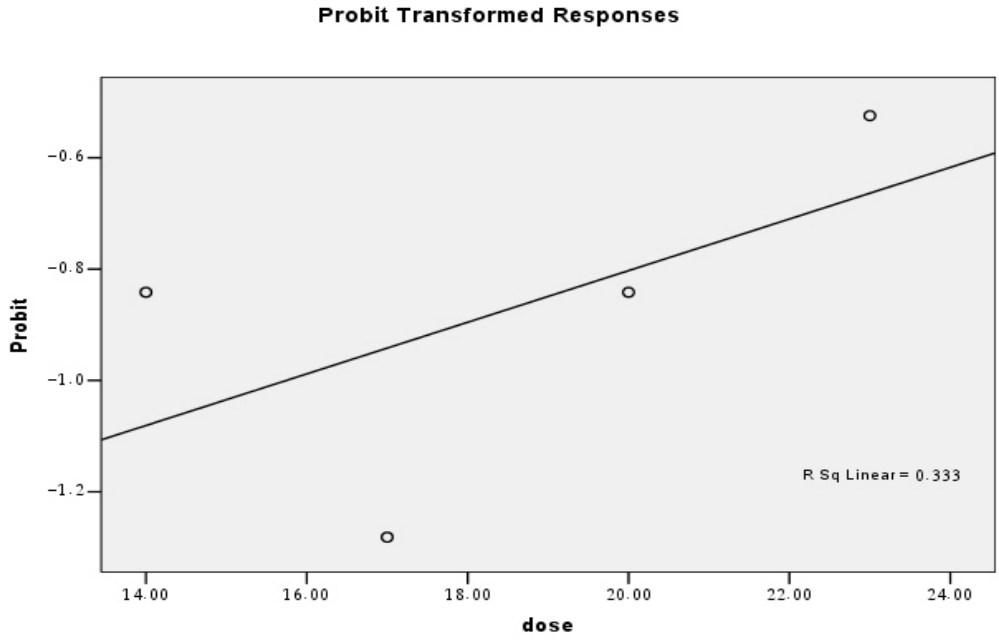
نمودار پرو بیت ۲۴ ساعت (نوبت دوم)



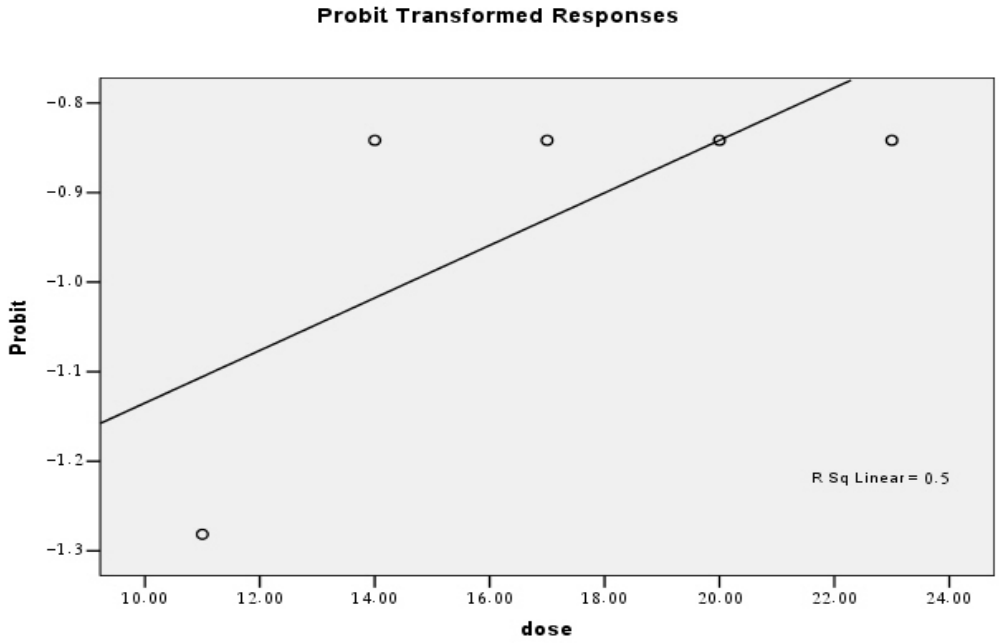
نمودار پرو بیت ۴۸ ساعت (نوبت اول)



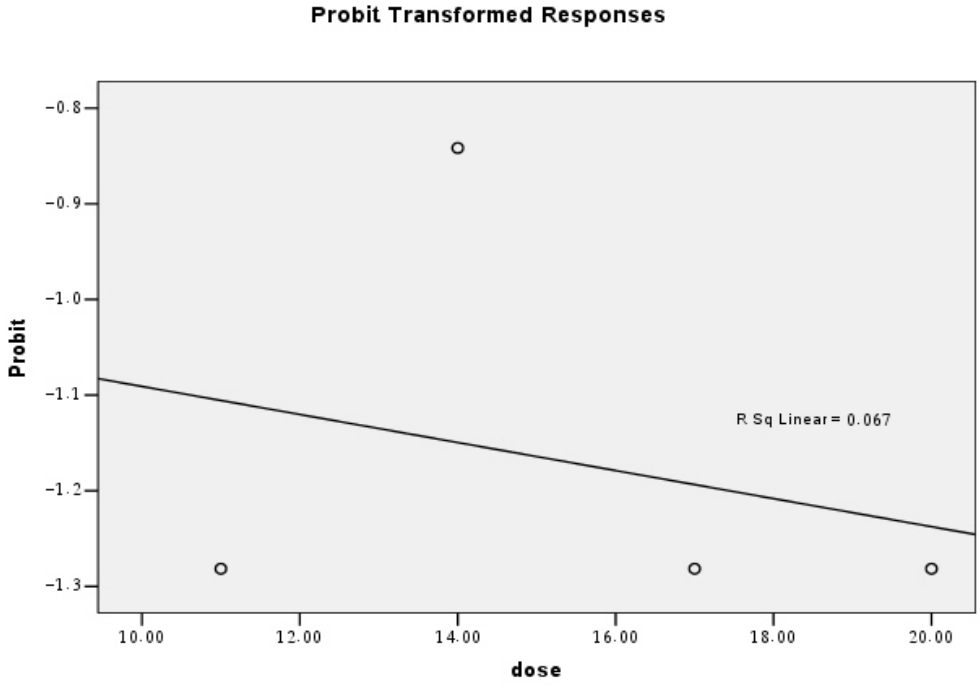
نمودار پرو بیت ۴۸ ساعت (نوبت دوم)



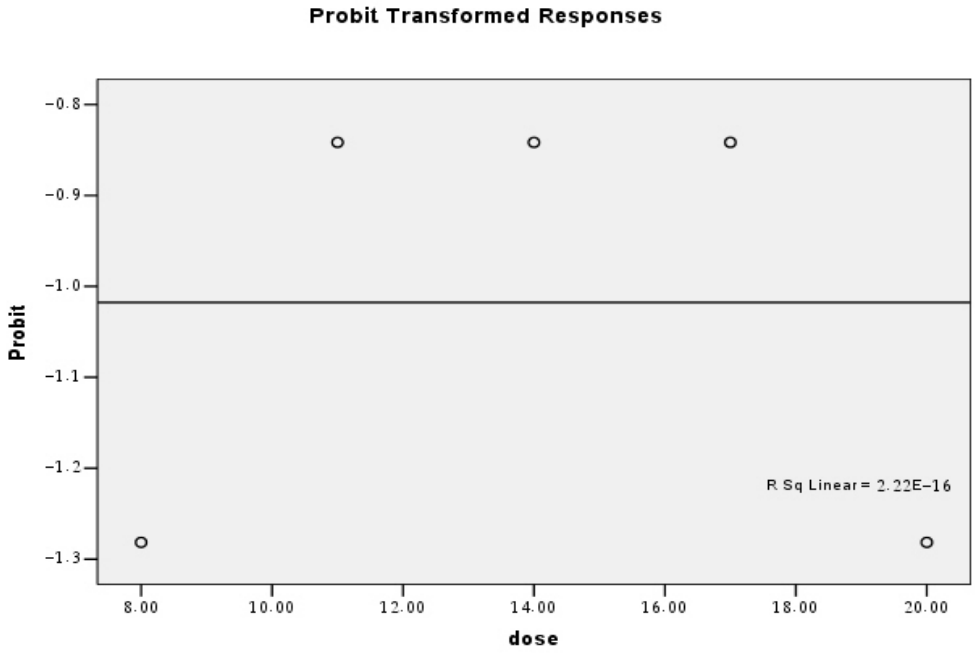
نمودار پرو بیت ۷۲ ساعت (نوبت اول)



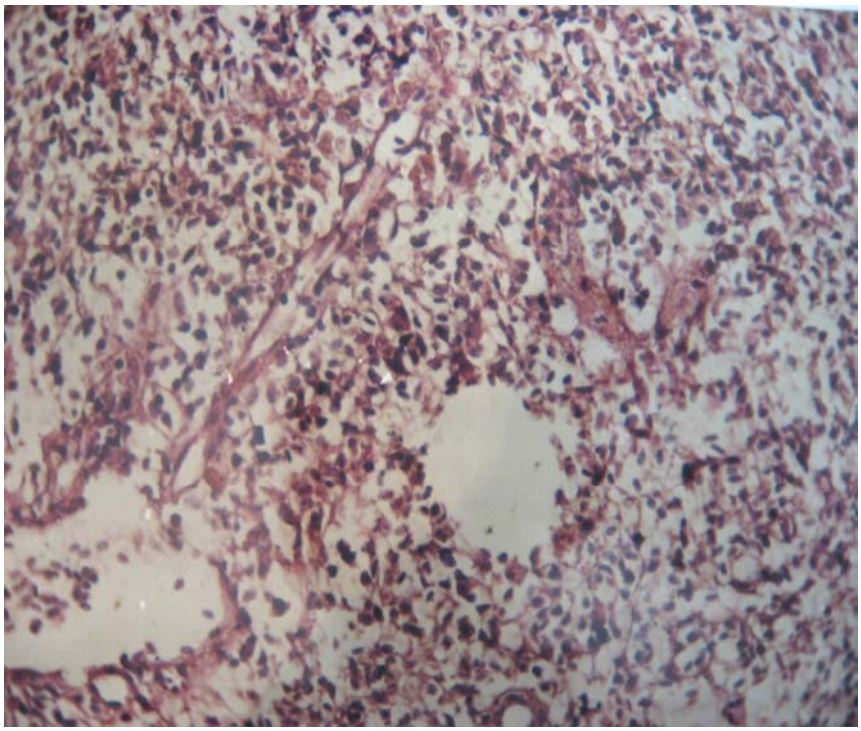
نمودار پرو بیت ۷۲ ساعت (نوبت دوم)



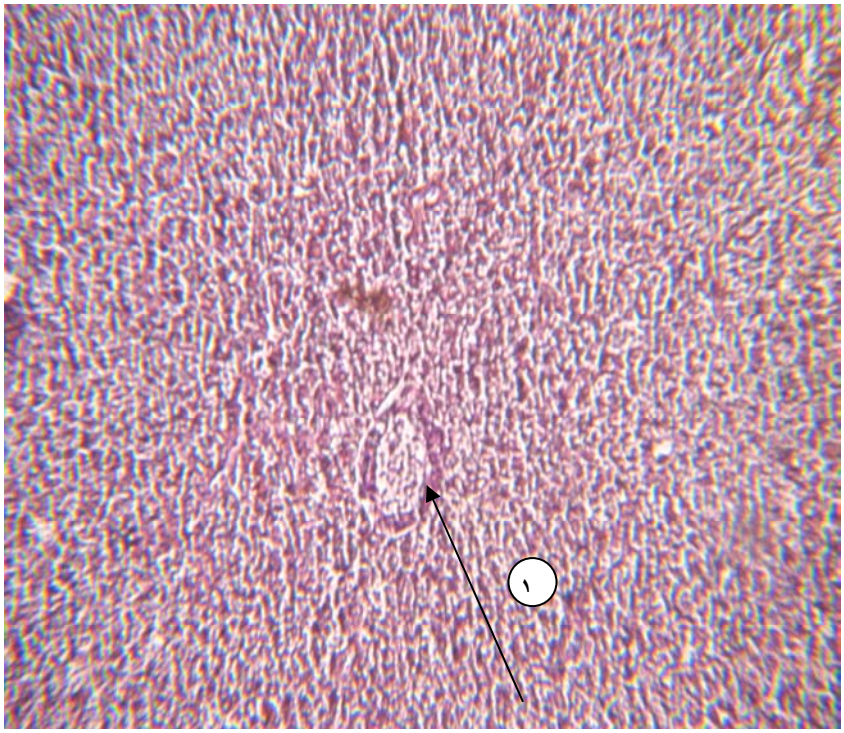
نمودار پرو بیت ۹۶ ساعت (نوبت اول)



نمودار پرو بیت ۹۶ ساعت (نوبت دوم)

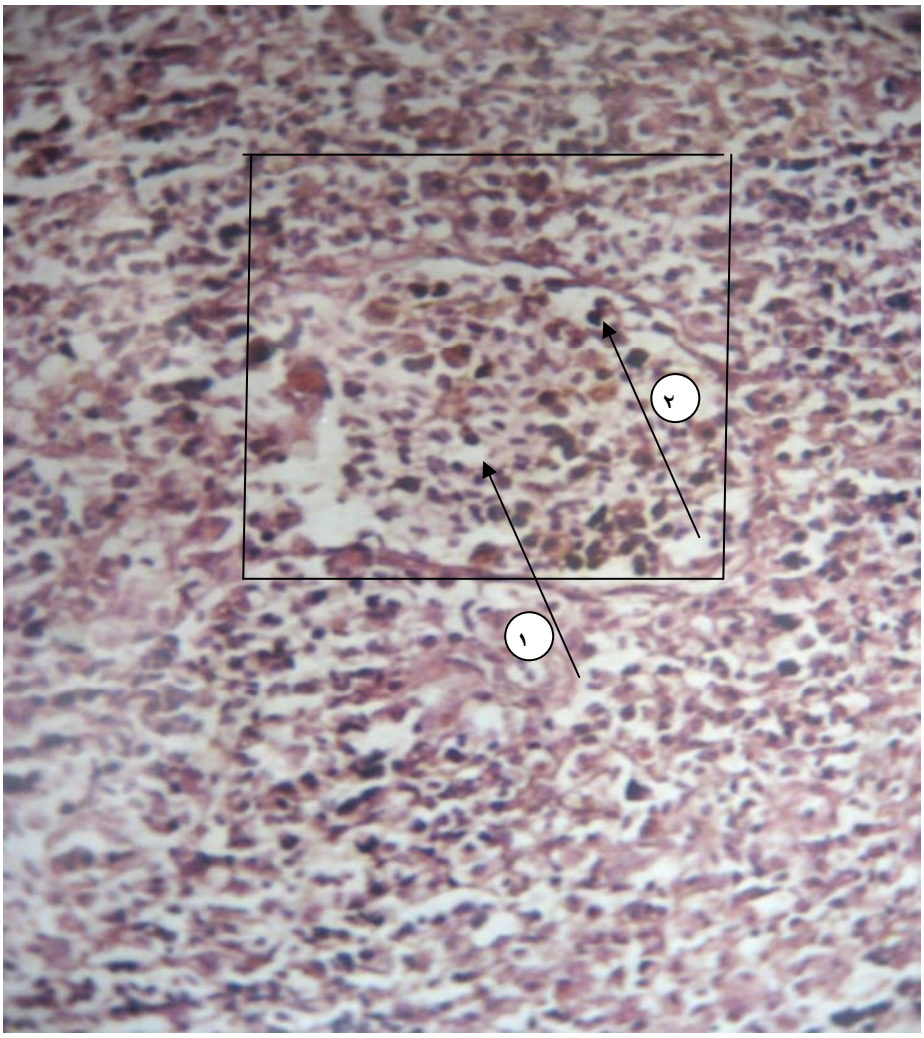


شکل ۱- بافت کبد در ماهیان کپور معمولی گروه شاهد (هماتوکسیلین، ائوزین بزرگنمایی ×۱۰)



شکل ۲-بافت کبد درماهیان کپور مورد آزمایش باغلظت ۸ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل (هماتوکسیلین-ائوزین بزرگنمایی ×۲۵)

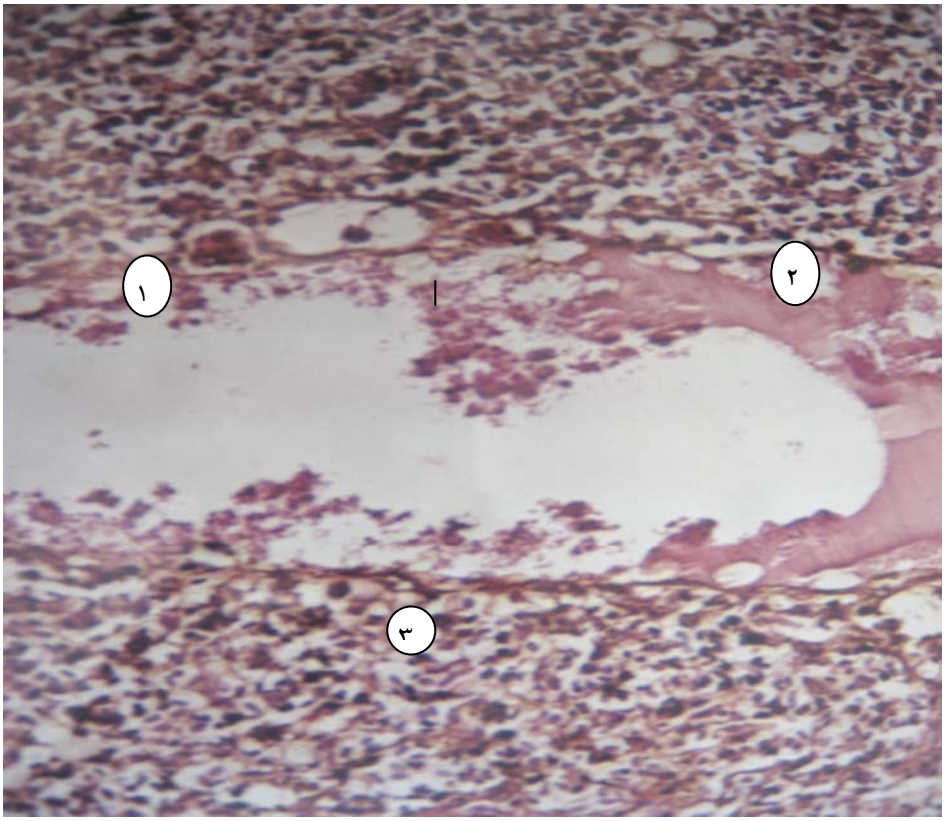
۱- وریدمرکزی



شکل ۳- بافت کبد در ماهیان کپورمورد آزمایش با غلظت ۱۴ میلی گرم در لیترآمونیاک کل (هماتوکسیلین ،ائوزین بزرگنمایی ×۴۰)

۱- ورید مرکزی(پرخونی و خونریزی شدید درداخل وریدمرکزی)

۲- حضور ملانین وصفرا در داخل ورید مرکزی

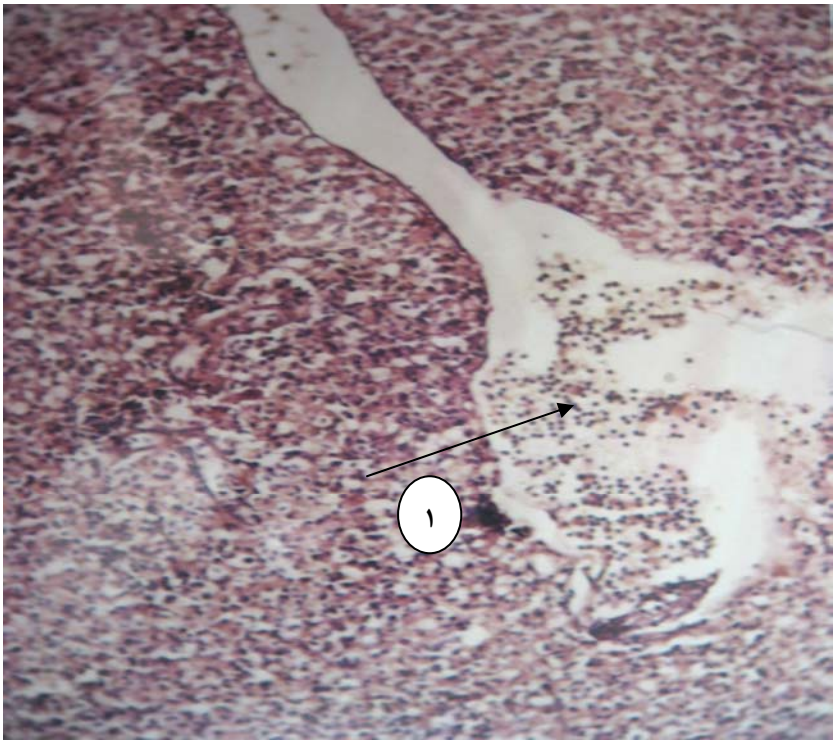


شکل۴- بافت کبد در ماهیان کپور مورد آزمایش با غلظت۲۰ میلی گرم در لیترآمونیاک کل (هماتوکسیلین ،ائوزین بزرگنمایی ×۴۰)

۱ – سلول های کاریولیز شده

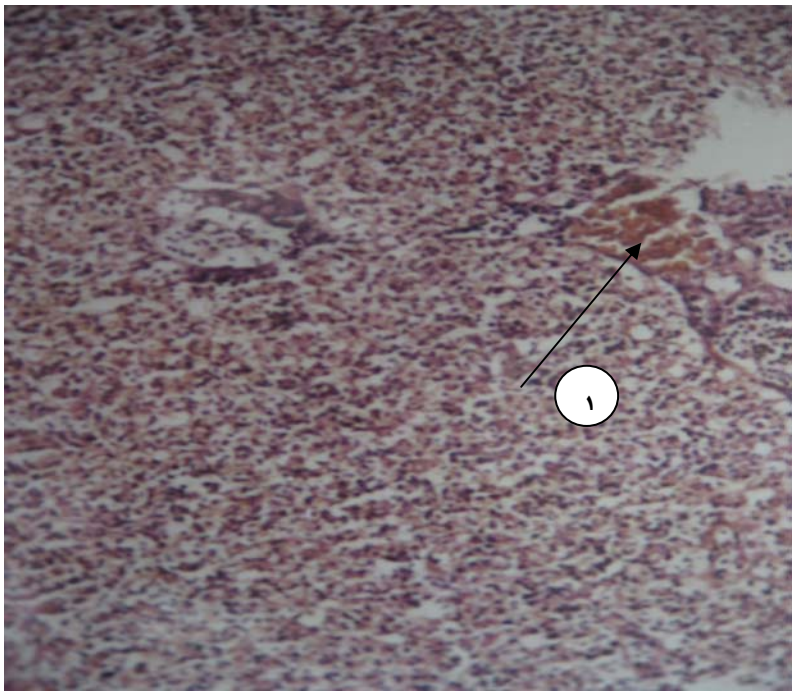
۲- سلول های پیکنوزه شده

۳- ملانوماکروفاژ



شکل ۵- بافت کبد در ماهیان کپور مورد آزمایش با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیترآمونیاک کل (هماتوکسیلین-ائوزین ×۴۰)

۱ –پرخونی و خون ریزی



شکل ۶- بافت کبد در ماهیان کپور مورد آزمایش با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیترآمونیاک کل (هماتوکسیلین -ائوزین بزرگنمایی ×۲۵)

۱ – رسوب هموسیدرین

تفسیر نتایج

یکی از مشکلات بنیادی،به دست آوردن غلظتی از آمونیاک است که برای آب زی خطرناک و زیانبار نباشد و همچنین ایجاد محیطی است که با وجود این سم در آب کمترین آسیب را به ماهیان وارد کند.تحقیقاتی که تا این زمان صورت گرفته غالبا به مطالعات درمورد تاثیر آمونیاک در مرگ و میر وتشدید خطر ابتلای ماهی به بیماری هایی باکتریایی در اثر حضور آمونیاک سمی در آب مربوط می شودو تنها موارد اندکی پژوهش راجع به تغییرات بافتی در حضور آمونیاک انجام شده است. ماهیان جوان حساسیت بالاتری نسبت به آمونیاک دارند،به همین دلیل در این تحقیق از ماهیان انگشت قداستفاده گردید.

در این پژوهش میزان LC_{50} برای مدت زمان ۲۴ ساعت۲۳/۴ میلی گرم در لیتر که معادل ۲/۲۰ میلی گرم در لیتر آمونیاک مولکولی می باشد محاسبه گردیدودر زمان های ۴۸، ۷۲ و۹۶ساعت به ترتیب۲۰/۵، ۱۶/۲۵ و ۱۴/۲۵ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل که معادل۱/۸۵، ۱/۴۵، و۰/۹۹ میلی گرم در لیتر آمونیاک مولکولی می باشد به دست آمد.در صورتی که در تحقیقی که در زمینه تعیین میزان LC_{50} در ۹۶ ساعت به دست آمد میزان آمونیاک مولکولی ۰/۹۳ میلی گرم در لیتر محاسبه شد(۵).

در این پژوهش میزانLC_{50}ماهیان انگشت قد در دمای ثابت و در pH های مختلف اندازه گیری شد وحاصل نتایج بیانگر آن بود که میزان حساسیت ماهیان کپور معمولی انگشت قد نسبت به آمونیاک مولکولی با افزایش pH کاهش یافت. بدین معنی که با افزایش pH علی رغم این که میزان آمونیاک مولکولی در آب بیشتر می شود اما میزان مقاومت ماهیان نسبت به این سم افزایش می یابد (۵).

بافت کبد برای بررسی پاتولوژی بسیار مناسب است زیرا ضایعات پاتولوژیک ناشی از مسمومیت با آمونیاک در ماهی های مختلف غالبا مختص به این بافت بوده است.(کبددر متابولیسم و دفع آمونیاک نقش اصلی را ایفا می کند).

همچنین در تحقیقی که با قرار دادن ماهی کپور معمولی در معرض میزان ۱/۷۸ میلی گرم آمونیاک مولکولی انجام گرفت،کاهش شدید گلبول های سفید خون،کاهش معنی دار لنفوسیت ها و ائوزینوفیلی خفیف مشاهده گردید(۵).

در بررسی تجربی بیماری کلومناریس (Columnaris) دیده شده است که با افزایش آمونیاک آب تلفات نیز بیشتر می شود.یعنی وجود آمونیاک می تواند بیماری کلومناریس را تشدید کند.این حالت ممکن است بۀ دلیل کاهش ایمنی ماهی و ضایعات آبششی ناشی از مسمومیت با آمونیاک باشد(۶).

همچنین در تحقیقی با قرار دادن ماهی کپور معمولی در معرض غلظت های کشنده آمونیاک تغییرات آنزیم های کبدی مورد بررسی قرار گرفت و افزایش معنی داری در آنزیم های ALTوAST مشاهده شد(۶).

از جمله تغییرات بیوشیمیایی ایجاد شده در ماهیان افزایش pH خون ماهی بود که باعث اختلال در واکنش های آنزیمی غشا سلول های پوششی می شود که به دلیل حساسیت مغز به این تغییرات می تواند عامل ایجاد علایم عصبی باشد.همچنین آمونیاک باعث ایجاد استرس در ماهی می شودکه سبب افزایش آدرنالین، نور آدرنالین و کورتیکواستروئیدها می شود.به همین دلیل افزایش آمونیاک می تواند باعث کاهش ایمنی،کاهش تولید اینترفرون و کاهش تمایل ماهی به غذا شود که خود عاملی برای مستعد شدن ماهی به بیماری های مختلف است(۶).

تماس مزمن ماهی به آمونیاک،در بافت پوششی آبشش ها ازدیاد سلولی صورت می گیرد.در آبشش ماهیانی که در معرض ۲۰۰ میکروگرم در لیتر آمونیاک مولکولی قرار گرفته بودند تغییرات دژنراتیو در آبشش ها دیده شده است(۷).

در مسمومیت مزمن با آمونیاک (مقدار پایین تر از حد کشنده) معمولاً میزان رشد و درصد بقای ماهیان کاهش می یابد و ماهی ها نسبت به عوامل عفونی حساس تر می شوند. این حالات معمولاً با ضایعات آبششی، کبدی و کلیوی همراه است(۷).

از جمله تغییرات رفتاری که در اثر مواجه شدن ماهیان با این سم رخ داداین بود که سرعت تنفس به تدریج بیشتر شده و حالت غیر منظم پیدا کرده و به دنبال آن ماهی دچار تشنج گردید.ماهی ها نسبت به تحریکات خارجی به شدت واکنش نشان داده و سعی می کردند از سطح آب بیرون بپرند.انقباضات و اسپاسم های عضلانی اتفاق افتاده و نهایتاً ماهی به پهلو افتاده و دهان و سرپوش های آبششی به دلیل اسپاسم شدید باز می ماندند.معمولاً ماهی ها یک حالت گذرا از بهبودی را به دنبال آن نشان می دادندکه مدت زیادی به طول نمی انجامید و یک سری حرکات تشنجی شدید اتفاق می افتاد و نهایتاً منجر به مرگ می گردید.پوست ماهی رنگ پریده بوده و توسط مقادیر زیادی مخاط پوشیده می شد.گاهی خونریزی های روی پوست دیده می شد(۸).

حداکثر مقدار قابل قبول آمونیاک مولکولی برای کپور ماهیان ۰/۰۵ و آزاد ماهیان ۰/۰۱۲۵ میلی گرم در لیتر ذکر شده است(۸).

در ماهی آزاد اقیانوس اطلس و قزل آلای رنگین کمان Lc_{50} ۰/۵-۰/۸ میلی گرم در لیتر بوده است(۸).

با توجه به تحقیقات انجام شده در زمینه تعیین LC_{50} با قرار دادن ماهی کپورمعمولی در معرض غلظت های کشنده آمونیاک،افزایش فعالیت آنزیم های سرمی به وضوح دیده شده است که نسبت به گروه شاهد دارای تفاوت معنی داری بوده است (۸ و ۹).

حساسیت کمتر کپور معمولی به آمونیاک احتمالاً به دلیل وجود آنزیم گلوتامین سنتتاز است که در مغز کپور به میزان زیادی وجود دارد(۹).

به طور کلی در موردعلت مرگ ماهی ها در مسمومیت حاد با آمونیاک تاکنون ۴ دلیل ارائه شده است:

۱- بر هم خوردن تعادل اسمزی بدن ماهی در اثر آسیب های کلیوی و آبششی .یون آمونیوم در رقابت با سدیم جذب آن را کاهش می دهد.از طرفی نفوذ پذیری آبشش ها به آب افزایش می یابد.آسیب های کلیوی نیز به دلیل ضایعات گلومرول ها و لوله های کلیوی می باشد.

۲- کاهش قابلیت حمل اکسیژن توسط خون

۳- کاهش ورود اکسیژن به بدن ماهی در اثر آسیب های آبششی

۴- اختلال در متابولیسم سلول های مغزی(اختلالات عصبی)

این آسیب ها در اثر اختلال در خواص الکتروشیمیایی غشا سلول های عصبی و تاثیر آمونیاک بر نروترنسمیترها و فعالیت های بیوشیمیایی مغز است(۱۰)

با توجه به این که آمونیاک در کبد ماهی تبدیل به اوره می شود، افزایش اوره خون در مسمومیت با آمونیاک قابل پیش بینی است(۱۰).

توانایی ماهی در حذف آمونیاک و تبدیل آن به اوره در گونه های مختلف یکسان نیست.این موضوع می تواند به عنوان یکی از علل تفاوت گونه ای در حساسیت به آمونیاک باشد.احتمالاً یکی از دلایل این که کپور معمولی می تواند مقادیر بالای آمونیاک را تحمل کند،توانایی آن در تبدیل آمونیاک به اوره می باشد. با توجه به این که اندازه گیری آمونیاک خون مانند دیگر گازهای خونی احتیاج به دستگاه مخصوص دارد و امکان خطا در آن زیاد می باشد، می توان با اندازه گیری اوره به طور غیر مستقیم مسمومیت با آمونیاک را تشخیص داد.

سپاس گزاری

با سپاس فراوان از جناب آقای مهندس جاذبی زاده که در انجام این تحقیق کمک زیادی نمودند.

منابع

1. Wright, P.A. & Wood, C.M. (1985) An analysis of branchial ammonia excretion in the freshwater rainbow trout: effects ofenvironmental pH change and sodium uptake blockage. J. exp. Biol.,vol.11.No.4:pp. 329-353.

2. Broderius, S.J., Drummond, R.A., Fiandt, J.T., & Russom, C.L.(in press) Toxicity of ammonia to smallmouth bass, *Micropterus dolomieui,* as related to pH. Environ. Toxicol. Chem.. vol.9.No.4:pp228-234
3. Alabaster, J.S. & Herbert, D.W.M. (1954) Influence of carbon dioxide on the toxicity of ammonia. Nature (Lond.),vol17.No.4,(pp.44-26)
4. Abbas,H. (2006) Acute Toxicity of Ammonia to Common carp Fingerlings (*Ciprinus carpio*) at Different PH Levels. Water Res*.,* vol.13(No.2): pp.2215-2219.
5. Wlasow,T.&Dobrowska,H.&Ziomek,E ,(1990) Haematology of carp in acute intoxication with ammonia .pol.Arch.Hydrobiol.vol .37. No.3. pp.419-428.
6. Jeney,Z.S.&Nemcsok,J.&Jeney,G.&Ol ah,J.(1992) Acute effect of sublethal ammonia concentrations on common carp.1:effect of ammonia on adrenalin and and noradrenalin in levels in different organs. Aquaculture. vol.10. No.4.pp139-148.
7. Soderberg,G.R.W.(1985) Histopathology of rainbow trout,salmo gairdneri.pp.95-99.
8. Svobodova,Z.&Vykusova,B.(1991) Diagnostic,prevention and therapy of fish diseasesw and intoxications.Manual of international training course of fresh water diseases and intoxication.pp.167-203.
9. Evans,D.H.(1993) The physiology of fishes.CRC press lncpp.pp.379-425.
10. Colt,J&Tchobanoglous,G.(1979) Chronic exposure of channel catfish,Ictalurus punctatus,to ammonia :effect of growth and survival.Aquaculture.15.pp.353-372.