

التأثيرات المرضية النسيجية في غلاصم وكبد اسماك الخشني *Liza abu* (Heckel, 1843) المعرضة لتراكيز تحت قاتلة من مبيد الميثوميل .

أزل ناصر بدر النصير*

سعد محمد صالح عبد الصمد**

*فرع الأنسجة والتشريح/ كلية الطب البيطري/ جامعة البصرة.

**قسم علوم الحياة/ كلية التربية/ جامعة البصرة.

الخلاصة

عرضت اسماك الخشني لتراكيز تحت قاتلين من مبيد الميثوميل (1ppm, 0.5ppm) لمدة ٩٦ ساعة حيث درست خلالها التغيرات المرضية النسيجية لغلاصم وكبد الأسماك المعاملة بهذا المبيد وقد تمثلت هذه التغيرات لكلا التراكيزين في الغلاصم بالتكس وانفصال النسيج الطلائي ونزف دموي ونخر في الخلايا واندماج الصفائح الثانوية مع بعضها و ظهور حالة الشكل الهروي أما تغيرات الكبد فظهر إن هناك انتفاخ في الخلايا الكبدية وفقدانها لشكلها الطبيعي، ظهور مناطق نزفية ونخر حويصلي ونخر النواة.

المقدمة

تعتبر المبيدات من المواد الكيميائية التي تستعمل لمنع أو السيطرة أو الحد من آفات النباتات والتي يتضرر منها الإنسان في النهاية (Sharma وآخرون ، ٢٠٠١). وأشار Pandey وآخرون (1999) إلى إن المبيدات بالإضافة إلى قتلها الآفات المستهدفة فإنها تدخل إلى النظام البيئي المائي aquatic ecosystem وتستهدف كافة الأحياء المائية . قدم الميثوميل Methomyle للعالم سنة 1966 كمبيد حشري Insecticide واسع الاستعمال (Laws و Hayes ، ١٩٩٠). يصنف هذا المبيد تحت صنف المبيدات الكيميائية المسممة كارباميت Carbamates والتي تعمل على تثبيط إنزيم Cholinesterase ويعتبر الإنزيم الأساسي للوظيفة في الجهاز العصبي (Mc-Ewen و Stephenson ، ١٩٧٩ ؛ Worthing ، ١٩٨٣).

كذلك يعتبر الميثوميل من أكثر المبيدات فتكا بالأسماك والكائنات البحرية فان مقدار التركيز المميت لنصف الحيوانات LC50 في ٩٦ ساعة لسلمة Rainbow trout هو ٣.٤ ملغم/لتر ولسلمة Bluegill sunfish هو 0.8 ملغم/لتر (Kidd و Hartley ، ١٩٨٣) ولان غلاصم الأسماك gills تبقى عرضة بصورة مباشرة للماء فهي تتأثر بمستوى عالي بالمبيدات و الملوثات وعليه فان التأثيرات المرضية النسيجية التي تظهر بالغلاصم تعتبر كدليل أو معيار لتحديد درجة التلوث المائي في تلك المنطقة (Dhanapakiam وآخرون ، 2004 ؛ Hughes و Perry ، ١٩٧٦) كذلك فان أنسجة الأسماك الأخرى تتأثر هي الأخرى فالكبد liver يعد من الأعضاء الحساسة جدا للسموم toxic والمواد الأيضية metabolic substances (Konar, 1970). وعليه تهدف الدراسة الحالية إلى تحديد تأثير مبيد الميثوميل بتركيز ٠.٥ و ١ جزء من المليون (ppm) على غلاصم وكبد اسماك الخشني *Liza abu*

تاريخ استلام البحث ٢٢ / ٣ / ٢٠١٠ .

تاريخ قبول النشر ٢ / ٥ / ٢٠١٠ .

المواد وطرائق البحث

جمعت عينات اسماك *Liza abu* من محطة استزراع الأسماك /جامعة البصرة بأطوال 9-12سم و أوزان 7-11.75غم نقلت للمختبر حيث وضعت بأحواض مائية سعة ٦ لتر مليئة بماء حنفية منزوع الكلور بدرجة حرارة 20 ± 0.2 م ودالة حموضة 7.8 ± 0.3 وتركيز أوكسجين مذاب 8.1 ± 0.4 ملغم/لتر، بدل الماء كل يومين لإزالة الفضلات، وغذيت بعليقه تجارية، تركت الأسماك لمدة أسبوع لأجل الأقلمة acclimation قطع الغذاء عن الأسماك قبل 24ساعة من بدء التجربة و كذلك خلال أيام التجربة. لأجل معرفة التراكيز القاتلة للمبيد تم تعريض الأسماك لتراكيز مختلفة من المادة ثم أجريت التجربة حيث قسمت الأسماك إلى ثلاث معاملات هي معاملة السيطرة ومعاملتين بواقع معاملة لكل من التركيزين تحت القاتلين ٠.٥ و ١ ppm وتكرارين لكل معاملة وضم كل تكرار أربع سمكات وبعد فترة 96 ساعة من التعريض قتلت الأسماك ثم شرحت لغرض عزل الغلاصم والأكباد غسلت بمحلول فسلجي ثم حفظت بمحلول بوين لمدة 24ساعة ثم مررت النماذج في عمليات سحب الماء dehydration تراكيز تصاعدية من الكحول والترويق clearing بالزايلين والطر embedding بشمع البارافين، قطعت العينات بسمك 5-7 مايكرون وصبغت بالهيماتوكسيلين - ايوسين (Luna، ١٩٦٨؛ Humason، ١٩٧٢) فحصت الشرائح باستعمال مجهر ضوئي وصورت بواسطة كاميرا رقمية واحتسبت قوة التكبير من حاصل ضرب قوتي العدستين العينية والشبئية .

النتائج والمناقشة

الغلاصم

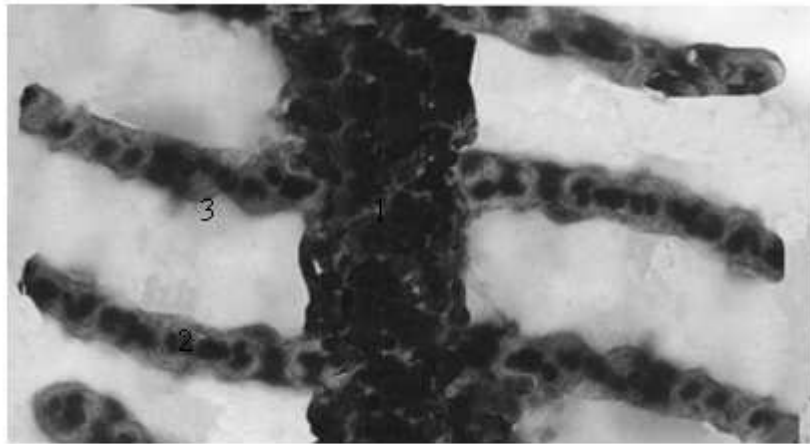
أظهرت غلاصم مجموعة السيطرة خيط غلصمي أولي primary filaments وصفائح ثانوية secondary lamellae (شكل ١) تكون الصفيحة الأولية مكسوة بنسيج طلائي يتميز بطبقتين من الخلايا الطلائية، على طول الخيط الأول وبالتحديد عند قاعدة الصفائح الثانوية تتواجد خلايا الكلوريد chloride cells أما الصفائح الثانوية فتتألف من طبقة مفردة من الخلايا الحرشفية المدعمة بما يعرف الخلايا الداعمة pillar cells وجيوب دموية blood sinuses. لوحظت بعض التغيرات في نسيج الغلاصم المعاملة بتركيزي 0.5ppm, 1ppm ففي التركيز الأول لوحظ ضمور atrophy في الصفائح الثانوية وعدم انتظامها، لوحظ نزف لكريات دم حمراء منتشرة بين الصفائح وبعض هذه الصفائح متكسر بسبب التناكس degeneration إفراز المواد المخاطية، الخلايا الحرشفية كبيرة ومنتفخة بسبب التناكس الاستسقاوي hydropic degeneration (شكل ٢). وجود الخلايا الالتهابية بكثرة مثل neutrophil بعدد كبير و monocyte و lymphocyte بعدد أقل (شكل ٣) انفصال النسيج الطلائي عن الغشاء القاعدي أما في التركيز العالي (1ppm) فوجد زيادة في النزف الدموي hemorrhage ما بين الصفائح كذلك تآكل erosion أو اختفاء بعض الصفائح الثانوية، ظهور ما يسمى الشكل الهروري clubbing form في أطراف بعض الصفائح (شكل ٤). والتحام شامل لها بسبب تكاثر الخلايا proliferation of cells (شكل ٥).

تعتبر الغلاصم جزء حيوي للسمة لأهميتها في عملية التبادل الغازي و عملية التنظيم الازموزي osmoregulation والتوازن الحامضي القاعدي وإفراز المواد النيتروجينية لذا فان وجود أي مادة كيميائية في الماء تؤثر على الغلاصم (Machado و Fanta، ٢٠٠٣) لوحظ ظهور بعض التأثيرات النسيجية المرضية على الغلاصم في أسماك الخشني المعرضة للمبيد كظهور الصفائح بشكل غير منتظم وانفصال النسيج الطلائي، أشار Mallatt (1985) إن هذه التغيرات هي نتيجة لوجود بعض المواد الكيميائية في الماء. كذلك لوحظ ظهور التناخر necrosis وإفراز المواد المخاطية واحتقان دموي حاد وارتشاح الخلايا الالتهابية المؤدي إلى ملئ الفراغات بين الصفائح وهذه النتائج مشابهة لما ذكره كل من (Dalela وآخرون، ١٩٧٩؛ Pandey، ١٩٩٤؛ Paul و Banerjee، ١٩٩٦). أشار Kumaraguru وآخرون (١٩٨٢) إلى إن فرط التنسج hyperplasia يحدث في بعض الحالات كنتيجة لتكيف السمكة وحماية النسيج الداخلي من أي ضرر. لوحظ في الغلاصم المعاملة بالميثوميل حصول حالات نزف دموي يكون حاداً جداً في التركيز الثاني وهذه النتيجة مشابهة لما ذكره

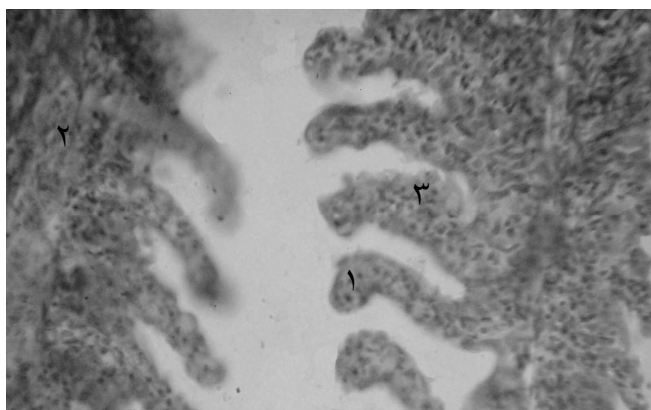
Neskovic وآخرون ١٩٩٦ في اسماك الكارب الشائع المعرضة لمبيد Glyphosate وذكر إن الاندماج الكامل للصفائح مع بعضها يؤدي إلى التقليل من المساحة السطحية الكلية للتبادل الغازي وجعل من الصعوبة حدوث ذلك (Machado و Fanta؛ Ortiz وآخرون، ٢٠٠٣) وأشار (Mallatt ١٩٨٥) إن انفصال النسيج الطلائي هو أكثر شيوع في اسماك الماء العذب منه في المالحة. اظهر تركيز 1ppm في غلاصم الأسماك وجود ما يسمى بالشكل الهروري ولقد أشار Jiraungkoorskul وآخرون (٢٠٠٢) إلى وجود نفس التأثير في اسماك Nile tilapia. *Oreochromis niloticus* المعرضة لتركيز عالي من المبيد العشبي Roundup.

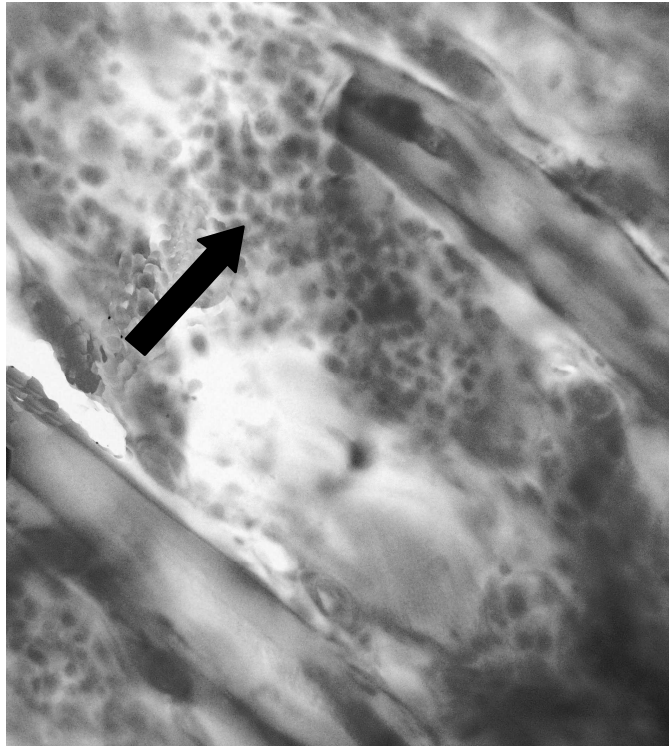
الكبد

يبدو الكبد الطبيعي مجهريا متكون من خلايا كبدية hepatocytes مرتبة بشكل شعاعي منتظم حول الوريد المركزي central vein ما بين هذه الخلايا الكبدية تتواجد الجيبانيات sinuses (شكل ٦) لوحظ بعض التغيرات المرضية النسيجية للنسيج المعرض للمبيد ففي تركيز 0.5ppm وجدت الخلايا الكبدية منتفخة swelling cells بسبب وجود تنكس حويصلي vacoulation وnecrosis وفارقة لشكلها المضلع المعروف، نزف دموي بسيط توسع قليل الوريد المركزي واحتقان الجيبانيات (شكل ٨ و ٧) . يزداد ورود الدم بكثرة hyperemia واحتقان عالي بالتركيز الثاني وأيضا زيادة في توسع الوريد المركزي، ظهور المرحلة الثالثة لنخر النواة karyolysis necrosis حيث تظهر الخلايا كمناطق باهتة اللون فاقدة النواة (شكل ٩). يعتبر الكبد العضو الأولي المسؤول عن إزالة السموم Detoxification للكثير من المبيدات الحشرية المتجمعة داخله، حيث يعاني بسببها الكثير من الأضرار Metelev وآخرون (١٩٧٠)، هنالك مجموعة من التغيرات النسيجية التي تظهر في كبد اسماك الخشني المعرضة للميثوميل منها انتفاخ الخلايا الكبدية وفقدانها للشكل المضلع ووجود مناطق نزفية تزداد في التركيز الثاني وتتشابه هذه التغيرات مع ما أورد من دراسات كثيرة لتأثير المبيدات على الكبد (Konar، ١٩٧٠؛ Dubale و Shah، ١٩٧٩؛ Pandey وآخرون، ١٩٩٧). أشار Gingerich (1982) إلى أن حصول انتفاخ الخلايا يأتي كدليل لعدم التوازن ما بين معدل تصنيع المواد في خلايا الكبد ومعدل تحررها إلى جهاز الدوران. في الدراسة الحالية ظهرت حالات تتخر في الكبد وهذا كنتيجة العمل الواسع المطلوب من السمكة للتخلص من المبيد الحشري خلال عملية إزالة السموم (Omorieg و Ufodika، ١٩٩١).

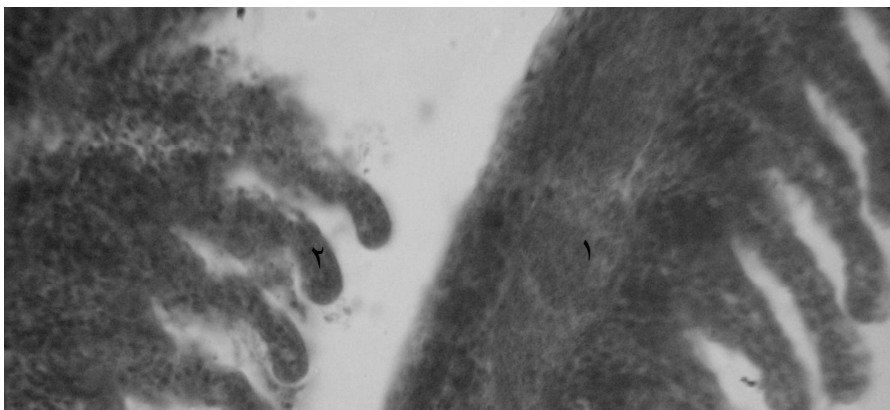


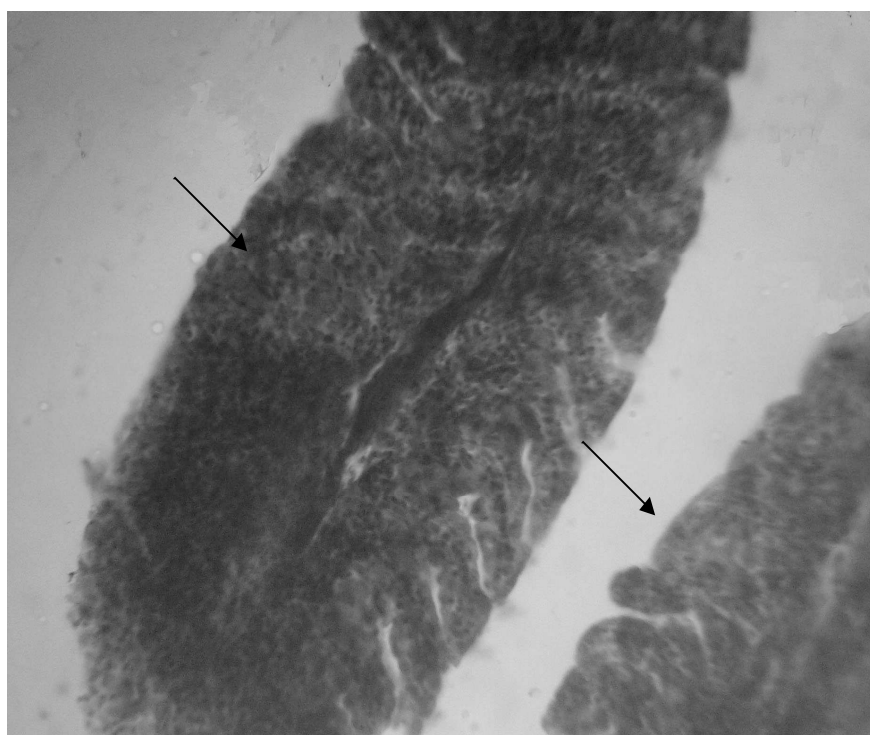
شكل 1. مقطع طولي في نسيج الغلاصم من مجموعة السيطرة بين 1. الصفحة الأولى 2. الصفحة 3. النانوية 400X (H&E)



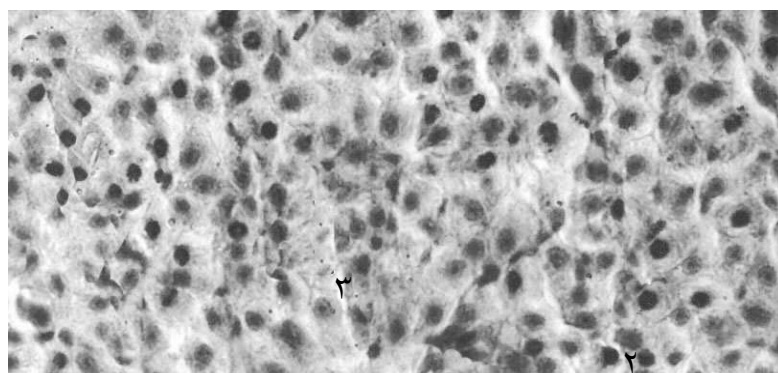


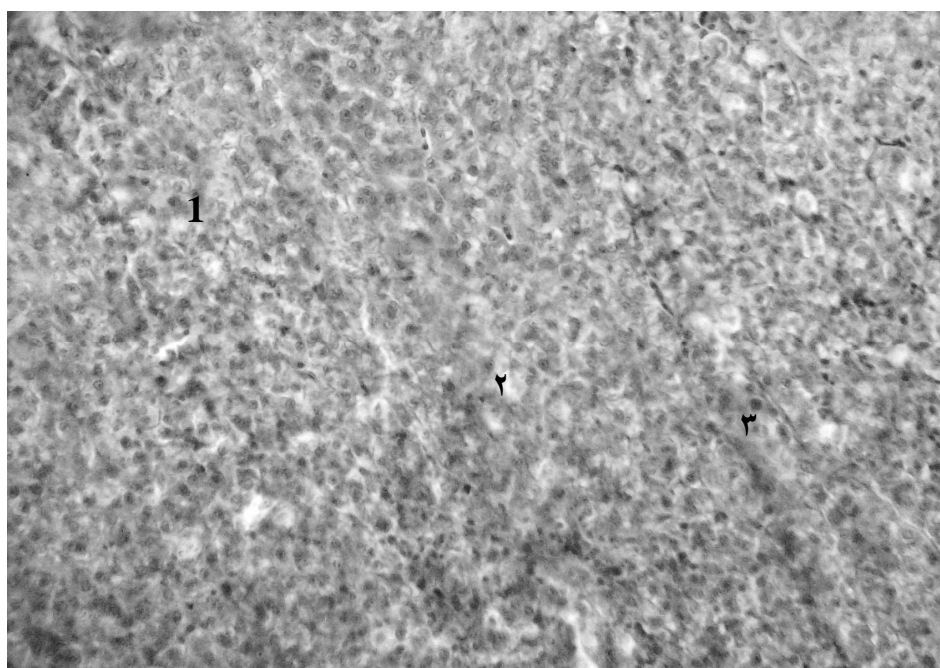
شكل ٣. مقطع طولي في نسيج الغلاصم للأسماك المعرضة لتركيز 0.5 ppm من مبيد الميثوميل لمدة ٩٦ ساعة الجزء المؤشر يوضح ارتشاح الخلايا الالتهابية (←) (H&E) 400X



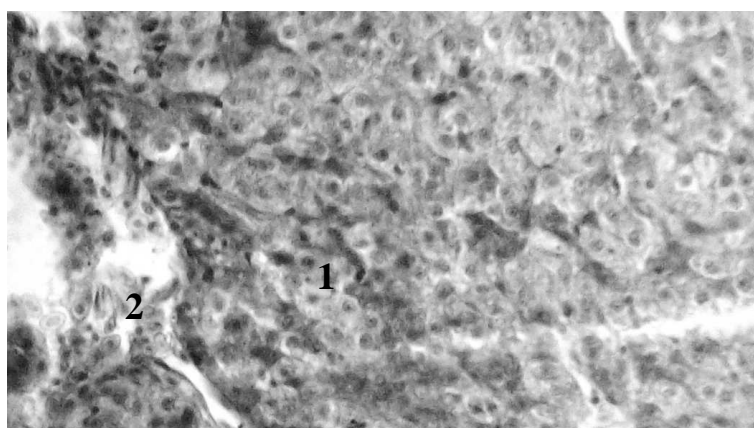


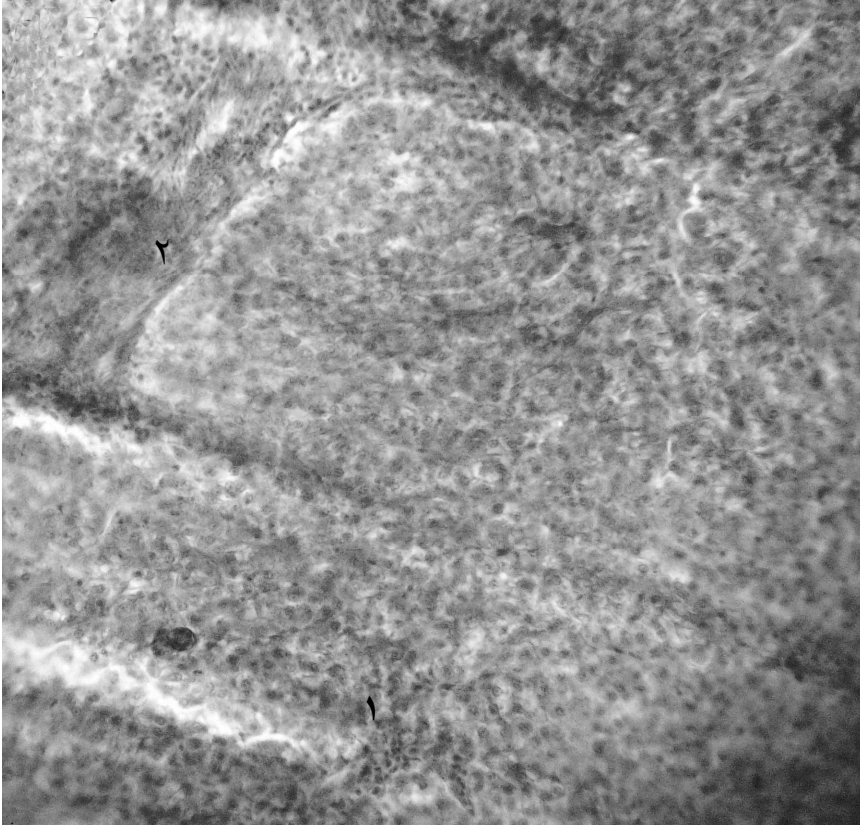
شكل ٥. مقطع طولي في نسيج الغلاصم للأسماك المعرضة لتركيز 1ppm من مييد الميثوميل لمدة ٩٦ ساعة يوضح اندماج الصفائح الثانوية المتجاورة بشكل كامل (←) 40X (H&E)





شكل ٧. مقطع عرضي في نسيج الكبد للأسماك المعرضة لتركيز 0.5ppm من مبيد الميثوميل لمدة ٩٦ ساعة
يوضح ١. تنكس الخلايا الكبدية ٢. تنخر الخلايا ٣. احتقان الجيبانيات (H&E) 100X





شكل ٩. مقطع عرضي في نسيج الكبد للأسماك المعرضة لتركيز 1 ppm من مبيد الميثوميل لمدة

٩٦ ساعة يوضح ١. نخر النواة ٢. نزف دموي حاد (H&E) 100X

Dalela, R.C., M.C. Bhattanager, A.K. Tyagi and S.R. Verna. 1979. Histological damage of gills in *Channa gachua* after acute and subacute exposure to endosulphan and roger. Microscopia (wien) 35:301-307.

- Dhanapakiam,P., V.K. Sampoomi, M. Kavitha, V.K. Ramasamy, A. Chandrakala and K.C. Aruna. 2004. Gill lesion in the major carp *Labeo rohita* exposed to lethal and sublethal concentration of tannery effluent .J.Environ.Biol., 25:333-336.
- Dubale, M.S. and P. Shah. 1979.Histopathological lesion induced by malathion in the liver of *Channa punctatus* ,Indian J. Exp.Biol. ,17:693-697.
- Gingerich,W.H. 1982. Hepatic toxicology of fish .in"Aquatic toxicology"LJ Weber Ed,Ravan press. Newyork pp.55- 105.
- Hartley,D.and H. Kidd eds. 1983.The agrochemicals handbook. Nottingham,England, Royal society of chemistry.
- Hayes, W.J. and E.R. Laws (ed). 1990.Handbook of pesticide toxicology.Vol.3 classes of pesticides. academic press,Inc,Ny.
- Hughes,G.M. and S.F. Perry 1976. Morphometric study of trout gill,alight microscopic method suitable for the evaluation of pollutant action .J.Exp.Biol.64:447-480.
- Humason,G.L. 1972. Animal tissue technique s.3ed.,W.H. Freeman and company ,Sanfrancisco,614 pp.
- Jiraungkoorskul,W., E.S. Upatham, M. Kruatrachu, S. Sahaphong, S. Vichasri-Grams and P. Pokethitiyook. 2002. Histopathological effects of Roundup aGlyphosate herbicide,on Nile tilapia *Oreochromis niloticus* .Science Asia ,28:121-127.
- Konar, S.K. 1970. Some effects of sublethal levels of heptachlor on roho *Labeo rohita* .J.Inland fish.Soc.India 2: 51-54.
- Kumaraguru,A.K., F.W. Beamish and H.W. Ferguson. 1982. Direct and circulatory path of permethrin (NRDC-143) causing histopathological changes in the gill of rainbow trout *Salmo gairdneri* ,Richard son .J.fish Boil.,20:87-91.
- Luna,L.G.1968. Manual of histology staining methods of armed forces institute of pathology .3rd edition.McGraw -Hill book company.
- Machado,M.R. and E. Fanta. 2003.Effectsof the organophosphorous methyl parathion on the bronchial epithelium of a fresh water fish *Metynnis roosevelti* . Brazilian Archives of Biology &Technology 46(3):361-372.
- Mc-Ewen,F.L and G.R. Stephenson. 1979. The use & significance of pesticide in the environment.NY:Jhon & Sons.Inc.
- Mallatt,J. 1985.Fish gill structure changes induced by toxicants &other irritants:astatistical review.Com.J.Fish.Aquat.Sci. , 42:630-648.
- Metelev,V.V, A.L. Konaev&N.G. Diasokhva. 1970. Water toxicology.Amernid publishing Co .Pvt.Ltd.NewDelhi.

- Neskovic, N.K., V. Poleksic, I. Elezovic, V. Karan, & M. Budimir. 1996. Biochemical & histopathological effects of Glyphosate on Carp *Cyprinus carpio* L., Bull. Environ. Contam. Toxicol. 56:295-302.
- Omorogie, E. and E.B. Ufodike. 1991. Histopathological of *Oreochromis niloticus* N. exposed to actellic 25 EC. J. of Aquatic science, 6:13-17.
- Ortiz, J.B., M.L. Gonzales de canales and C. Sarasquete. 2003. Histopathological changes induced by lindane in various organs of fish. Sci. Mar., 67(1): 53-61.
- Pandey, A.C., A.K. Pandey and P. Das 1999. Fish & fisheries in relation to aquatic pollution in Das, P., S.R. Verma and A.K. Gupta (eds.). Environmental issues and resource management Nature Conservators Muzaffar Nagar, pp:76-112.
- Pandey, A.K. 1994. Branchial & renal lesion of estuarine of mercuray. Proc. Nat. Acad. Sci., India 64B:283-287.
- Pandey, A.K., K.C. George and M.P. Mohamed. 1997. Branchial & hepatic lesion in an estuarine mullet *Liza parsia* induced by sublethal exposure to BHC. India J. Fish. 44: 279-286.
- Paul, V.I. and T.K. Banerjee. 1996. Ammonium sulphate induced stress related alternation in the opercular epidermis of the liver fish *Heteropneustes fossilis*. Curr. Sci. 70:1025-1029.
- Sharma, R.R., A.K. Pandey and G.R. Shukla. 2001. Histopathological alternation in fish tissues induced by pesticides toxicology. Aquacult., 2(1):31-43.
- Worthing, C.R. (ed.). 1983. Pesticide the manual: A world compendium Croydon, England: the British Crop Protection Council.

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN GILLS AND LIVER OF *Liza abu* (HECKEL, 1843) EXPOSED TO SUBLETHAL CONCENTRATIONS OF METHOMYL

Azal Naser Bader Al-nusear*

Saad Mohammed Saleh Abdul-Samad **

***Anatomy & histology Dept./ Coll. of veterinary medicine /Univ. of Basrah.**

****Biology Dept./Coll.of Education/ Univ. of Basrah.**

ABSTRACT

Liza abu fishes were exposed to two sublethal concentrations of methomyle pesticide(0.5&1ppm) for 96 hr., for study the histopathological changes in gills and liver in treated fishes with this insecticide . Histopathological examination for both concentrations in gills showed degeneration of cells, epithelial separation, hemorrhage, necrosis fusion of adjacent lamellae, clubbing cells ,while in liver the changes showed swelling in cells which lost its normal shape, hemorrhaged area, vaculation necrosis & finally karyolysis.