

التأثيرات النسجية المرضية للطحلب السام *Lyngbya martensiana* Menegh. ex Gomont على كبد وامعاء وكلى سمكة سيفية الذنب *Xiphophorus helleri*

احمد محسن عذبي الجعفر يسرى طارق ياسين الرديني علي عبد اللطيف عبد الحسن العلي

قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة البصرة/ العراق

الخلاصة

تم في هذه الدراسة عزل الطحلب الاخضر المزرق *Lyngbya martensiana* من شط العرب في محافظة البصرة جنوب العراق وتحديد تأثيراته السمية على اسماك *Xiphophorus helleri* اذ تم فصل المركبات السامة وتشخيصها باستعمال تقنية كروماتوغرافيا الغاز - طيف الكتلة التي تمثلت بالمركب Cyclohexasilioxane, dodecamethyl والمركب الفلويدي Thioura trimethyl والحامض الدهني غير المشبع 7-Hexadecenoic acid. غذيت الاسماك على الطحلب ولفترات متعاقبة ابتداءً من خمسة أيام واستمرت الى 10 و15 و20 و25 و30 و40 و50 و60 و70 و80 يوماً وحددت التأثيرات السمية للطحلب على كبد وامعاء وكلى الأسماك لكل فترة على حدة من خلال المقاطع النسجية اذ بينت هذه المقاطع أن هذا الطحلب يسبب تغيرات مرضية نسجية واضحة في هذه الاعضاء تزداد شدتها وتنوعها مع طول مدة تناول الأسماك للطحلب .

تمثلت التغيرات في الكبد بحدوث تنكس فجوي Degeneration في سايتوبلازم الخلايا الكبدية وتجمع لمواد غير حية فيه وأرتشاح infiltration للخلايا الألتهايبية وبدت بعض الخلايا الكبدية متضخمة Hypertrophy و لوحظ توسع Aneurism وأحتقان Congestion معظم أشباه الجيوب الكبدية وأنحراف النوية باتجاه أحد أطراف النواة وفي الفترات المتأخرة من التجربة حدث تنخر Necrosis وتليف Fibrosis للخلايا . بينما تمثلت التغيرات في الامعاء بحدوث تنخر لمساحات واسعة من البطانة الظهارية ترافق مع تجمع لخلايا الكلورايد في جدار الأمعاء وتجمع لمواد غير حية في سايتوبلازم الخلايا الظهارية المبطنة كما عانى النسيج الضام في منطقة الصفيحة الأصلية من التحلل وأرتشاح الخلايا الألتهايبية كما ظهرت الوذمات في الطبقة العضلية الخارجية . اما في الكلى فقد تمثلت التغيرات المرضية النسجية بتنكس خلايا بطانة النسيج الطلائي للنبيبات الكلوية وأنتفاخ Swelling بعضها بينما تنخرت أعداد قليلة منها وظهرت زيادة في عدد الخلايا البدينة Mast cells في النسيج المكون للدم بالإضافة الى تحلله كما لوحظ ضمور الكبيبات وحدوث فرط تنسج Hyperplasia لخلاياها وعدم انتظام مساحة بومان.

الكلمات المفتاحية : الطحلب الاخضر المزرق *Lyngbya martensiana* والتأثيرات

المرضية النسجية و *Xiphophorus helleri* .

1. المقدمة

تعد الطحالب الخضراء المزرققة من أقدم المجموعات الحية الموجودة على الأرض إذ وجدت في متحجرات تعود الى قبل 3.5 بليون سنة (Falconer , 2005) فهي تستطيع العيش في بيئات مختلفة وتحمل مدى واسع من الظروف البيئية المختلفة (Castenholz, 2001) لذا تعد واحدة من الكائنات الحية التي لا يكاد يخلو منها مسطح مائي إذ انها تشكل نسبة تصل الى أكثر من 17% من مجموع الهائمات النباتية Phytoplankton الموجودة في بيئة المياه العذبة على مستوى العالم (Rohrlack *et al.*, 2005) , كما انها تشكل حوالي 42 % من مجموع الهائمات النباتية المعزولة من شط العرب في محافظة البصرة (Al-Mousawi *et al.*,1999).

ان الطحالب الخضراء المزرققة لها القدرة على ان تنمو وتتكاثر بغزارة مكونة كتلة كبيرة في الجسم المائي وهذا ما يدعى بالازدهار Blooming (Stanley, 2004) اذ يحدث نتيجة توفر عوامل بيئية ملائمة من درجة حرارة وشدة إضاءة وأس هيدروجيني مناسب (Soil and Water, 2005) مع وفرة المغذيات ومن أهمها النتروجين والفسفور (Carmichael, 1994) التي تضاف بشكل طبيعي أو بتدخل الإنسان الى البيئة المائية مثل إضافة المخصبات أو طرح مياه المجاري فيها (Falconer, 2005) . إن الأعداد الطبيعية للطحالب الخضراء المزرققة لا تشكل خطراً على البيئة التي تتواجد فيها ولكن أزدهارها بإعداد كبيرة يسبب مشاكل كثيرة وأحياناً خطيرة (Shaw and Lam, 2007). فعلى الرغم من الأهمية الكبيرة لها كونها تعد مصدراً غذائياً للأحياء المائية وجد إن بعض أنواعها ذات تأثير سمي عالٍ إذ تنتج سموم تؤثر على نمو الأحياء التي تتغذى عليها وخاصة الأسماك (Teneva *et al.*, 2005) لذا توجه الاهتمام في السنوات الأخيرة إليها بسبب ما تطلقه بعض أنواعها من سموم وخاصة للبيئة المائية يطلق عليها السموم الطحلبية Cyanotoxins (Van Dolah, 2000) . تعد معظم هذه السموم نواتج أيضية ثانوية Secondary metabolites لعملية الأيض Metabolism الطبيعي للطحالب (Rastogi and Sinha, 2009) .

لقد شخصت سموم الطحالب الخضراء المزرققة منذ زمن بعيد على أنها المسببة للأمراض المرتبطة بالمياه التي تؤدي في بعض الاحيان الى موت الكائنات الحية (Falconer, 1998) تتمثل هذه السموم بالسموم الكبدية Hepatotoxin والعصبية Neurotoxins والجلدية Dermatotoxins والخلوية Cytotoxins والمهيجة Irritant toxins (Pearson *et al.*, 2007 ; Tan, 2010) . تنتج مثل هذه السموم من بعض أنواع الاجناس الطحلبية مثل *Lyngbya* و *Microcystis* و *Oscillatoria* و *Nostoc* و *Cylindrospermopsis* (Cox *et al.*, 1999 ; Chorus and Bartram, 2005) . ينتج جنس *Lyngbya* وفرة من المركبات الأيضية الثانوية إذ تم عزل أكثر من 200 نوع من المركبات النشطة بيولوجياً من أنواع جمعت حول العالم (Blunt and Munro, 2008 ; Tan, 2007) , إن العديد من المركبات التي ينتجها هذا الجنس هي مصدر قلق كبير على صحة الإنسان والحيوان إذ تسبب التسمم Intoxication والألتهابات الجلدية (Osborne *et al.*, 2001) وتكوين الأورام (Arthur *et al.*, 2008a) وهذه المركبات قد تضيف ميزة تنافسية للطحلب لمنع الأحياء العاشبة والتنافس معها بيئياً (paul *et al.*, 2007) ولها تأثيرات إضافية تتمثل بأنها Allelochemical ضد الكائنات الأخرى (Berry *et al.*, 2008) .

2 . مواد العمل وطرائقه

1.2 . الطحالب

جمعت العينات المائية بصورة عشوائية من مناطق مختلفة من شط العرب في محافظة البصرة جنوب العراق وجلبت مباشرة إلى المختبر اذ فحصت باستخدام المجهر الضوئي لعزل الطحلب المراد التحري عنه ثم زرع على الوسط الزراعي الصلب Solid media باستعمال طريقة التخطيط Streaking وصولاً الى المزرعة وحيدة الطحلب Unialgal culture وحسب طريقة (Stein, 1975) , بعدها شخص الطحلب بالاعتماد على المصدر التصنيفي (Desikachary, 1959).

Division: Cynophyta

Class: Cynophyceae

Order: Oscillatoriales

Family: Oscillatoraceae

Genus: *Lyngbya*

Species : *Lyngbya martensiana* Menegh. ex Gomont

للحصول على مزرعة نقية Axenic culture أستعملت طريقة Weidman *et al.*, (1984) بعدها تم إكثار العزلات النقية بوساطة الوسط الزراعي السائل المحور Chu-10 (AL-) (Aarajy, 1996) بأستخدام مزارع الوجبات Batch cultures إذ تم تلقيح الوسط الزراعي بوساطة العزلات النقية ووضعت في كابينة النمو تحت درجة حرارة (25 ± 2) م وإضاءة تراوحت بين 130-150 مايكرواينشتاين / م² / ثا ولمدة 16:8 ساعة إضاءة : ظلام رجت المزارع بأستمرار وحصدت في منتصف الطور المستقر Stationary phase (Epply, 1977) بعد تم تحديد معدل النمو Growth rate بدلالة الوزن الجاف Dry weight الذي قدر بطريقة (Fogg, 1975).

تم استخلاص المواد السامة حسب طريقة (Yin *et al.*, 1997) أذ تم اخذ وزن قدره واحد غرام من المادة الطحلبية المجفدة ووضع في دورق زجاجي يحتوي على 50 ملليلتر من الكحول الأثيلي تركيز 80 % والمضاف اليه حامض الخليك لتصبح درجة حامضيته 3.5 مزجت العينات جيداً بأستعمال جهاز magnetic stirrer لمدة 1-3 ساعة في درجة حرارة الغرفة (30 م°) ثم نقلت عملية الأستخلاص الى الثلاجة بدرجة حرارة 4 م لمدة 12 ساعة لغرض التشبع الكامل بعدها تم فصل الراسب عن الراشح بعملية الفلترة وحفظ الراشح بعد تركيزه تحت درجة حرارة - 18 م لحين الأستعمال . تم فصل وتشخيص بعض المركبات السامة المعزولة من الطحلب بأستعمال تقنية كروماتوغرافيا الغاز - طيف الكتلة GC- Mass .

2.2 . تربية الأسماك وتغذيتها

تم جلب أسماك زينة ناضجة من نوع *Xiphophorus helleri* بأوزان تراوحت بين (3 - 2) غرام من محلات تربية أسماك الزينة ونقلت الى المختبر ثم وزعت الى ثلاثة مجاميع ضمت كل مجموعة 25 سمكة وضعت كل مجموعة في حوض زجاجي سعة 60 لتراً , عرضت

جميع الأحواض للظروف المختبرية المحيطة نفسها . غذيت المجاميع الثلاث يوميا لحد الإشباع (العلي , 2009) إذ استعملت مزرعة طحلبية نقية للطحلب *Lyngbya martensiana* كغذاء لأسماك المجموعة الأولى (المجموعة A) بينما أستعمل خليط من المزرعة الطحلبية والعليقة التجارية المكونة من (38 % بروتين خام و 3 % دهن خام و 5 % الياف خام) بنسبة 1:1 كغذاء لأسماك المجموعة الثانية (المجموعة B) وأستعملت العليقة التجارية كغذاء لأسماك المجموعة الثالثة (المجموعة C) و عدت كمجموعة سيطرة . تركت الأسماك تحت ظروف التجربة المختبرية أعلاه مع المحافظة على تركيز الاوكسجين المذاب باستخدام مضخات هواء.

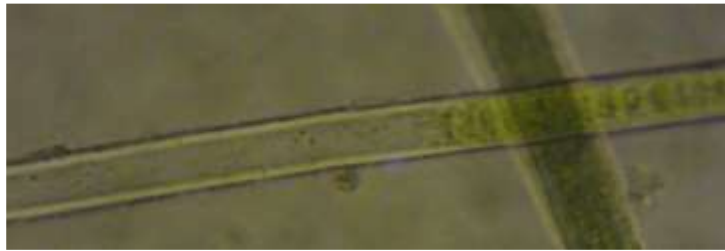
3.2 . التحضير النسيجي

تم تشريح ثلاث عينات من الأسماك على فترات زمنية متتالية بدأت من خمسة أيام بعد أول يوم تغذية واستمرت الى 10 و 15 و 20 و 25 و 30 و 40 و 50 و 60 و 70 و 80 يوماً وذلك للحصول على الكبد والامعاء والكلية ولغرض تحضير المقاطع النسجية فقد اعتمدت طريقة Humason (1972) إذ اجريت عملية التثبيت Fixation بعد التشريح مباشرة باستخدام مثبت بوين Bouin's fixative لمدة 24 ساعة ثم غسلت لعدة مرات بالكحول الايثيلي تركيز 50 % بعدها اجريت عملية الأنكاز Dehydration بإمرار العينات في تراكيز تصاعديّة من الكحول الايثيلي 80 % و 90 % و 100 % بعدها تم الترويق Clearing باستعمال الزايلين وتم التشريب Infiltration والطرر Embedding بشمع البرافين درجة انصهاره 58 م. قطعت Sectioning قوالب العينات باستخدام المشراح الدوار Rotary microscope للحصول على مقاطع نسجية بسماك سبعة مايكروميتر, تم وضع المقاطع على شرائح زجاجية نظيفة بعد طليها بطبقة خفيفة من مادة زلال ماير وصبغت Staining بأستعمال صبغة الهارس هيماتوكسولين والأيوسين . تم تغطية الشرائح الزجاجية بأغطية زجاجية بعد إضافة مادة التحميل كندا بلسم وفحصت باستخدام المجهر الضوئي.

3 . النتائج

3.1 . وصف الطحلب

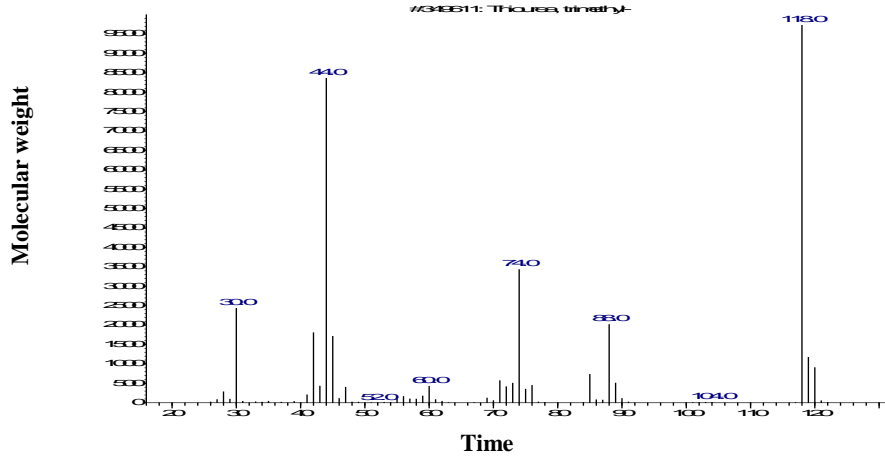
طحلب خيطي لونه اخضر مزرق تكون خيوطه طويلة مستقيمة تنمو في خصلات كثيفة caespitose تحاط بغلاف جيلاتيني sheath عديم اللون مكون من طبقتين وممتد الى الأمام بشكل واضح جداً , يتراوح عرض الخلية بين 9 – 10.5 مايكروميتر وطولها 2.5 – 3 مايكروميتر والخلايا القمية مستديرة بدون قطنسوة يتواجد الطحلب في بيئة المياه العذبة ملتصقاً على الأسطح المغمورة وعلى الصخور الرطبة (الشكل 1).



(الشكل 1) الطحلب الاخضر المزرق *Lyngbya martensiana*

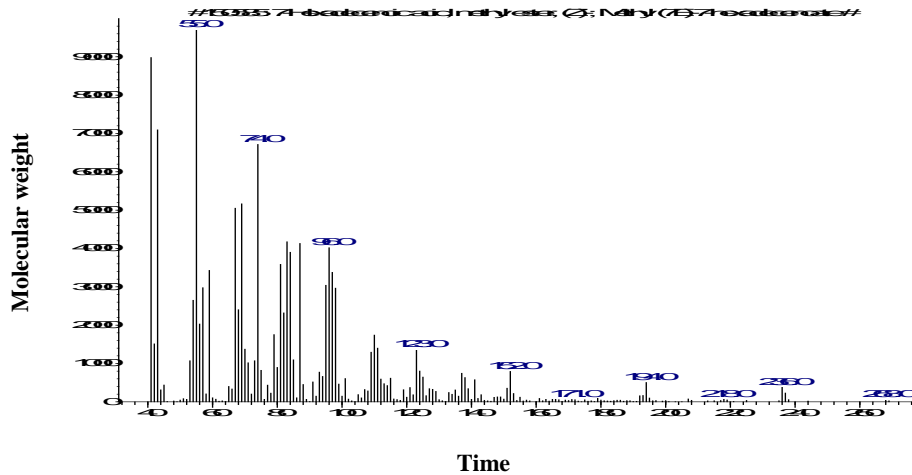
2.3. طيف الكتلة للمركبات السامة المفصولة بتقنية كروماتوغرافيا الغاز

3. 2. 1. المركب القلويدي Thiourea trimethyl وصيغته الكيميائية $C_4H_{10}N_2S$ الذي بلغ وزنه الجزيئي 118 دالتون ويشغل مساحة قدرها 3.44% من المجموع الكلي لمساحة المركبات المشخصة (الشكل 2) .



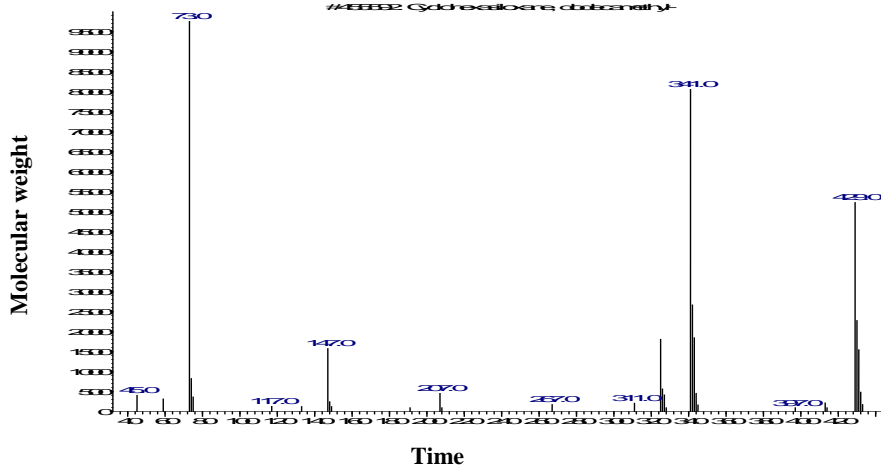
(الشكل 2) طيف الكتلة للمركب Thiourea trimethyl

3. 2. 2. المركب 7- Hexadecenoic acid وصيغته الكيميائية $C_{17}H_{32}O_2$ الذي بلغ وزنه الجزيئي 236 دالتون ويشغل مساحة قدرها 13.46% من المجموع الكلي لمساحة المركبات المشخصة (الشكل 3) .



(الشكل 3) طيف الكتلة للمركب 7- Hexadecenoic acid

3. 2. 2. المركب Cyclohexasiloxane, dodecamethyl الذي بلغ وزنه الجزيئي 429 دالتون ويشغل مساحة قدرها 79.87% من المجموع الكلي لمساحة المركبات المشخصة (الشكل 4) .



(الشكل 4) طيف الكتلة للمركب Cyclohexasiloxane, dodecamethyl

3.3. الدراسة النسجية للأسماك

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان تغذية الاسماك على الطحلب *L. martensiana* فقط (المجموعة A) وعلى خليط الطحلب والعليقة (المجموعة B) قد سبب تغيرات نسجية مرضية واضحة على كبد وامعاء وكلى سمكة *Xiphophorus helleri* ولوحظ أن شدة التغيرات تزداد مع طول المدة الزمنية للتجربة ، هذه التغيرات تختلف تبعا لانواع الانسجة لهذه الاعضاء :

1. بعد خمسة أيام من بدء التجربة: أظهرت نتائج الدراسة الحالية خلال هذه الفترة عدم تأثر تركيب كل من الكبد والامعاء والكلى وللمجموعتين A و B وكانت مشابهة في التركيب لأسماك مجموعة السيطرة C (الاشكال 5 و6 و7) :

1.1. الكبد : تكوّن كبد أسماك المجاميع الثلاث A و B و C من مجموعة من الفصيصات ظهر في مركز الفصيص الوريد المركزي الذي تتشعب منه الأشرطة الكبدية ويفصل الأخيرة عن بعضها البعض مسافات صغيرة جداً تمثل أشباه الجيوب الكبدية . ويتكون كل من تلك الأشرطة من عدد من الخلايا الكبدية المضلعة الشكل أو المكعبة وتتميز هذه الخلايا بأمتلاكها نواة كروية واحدة مركزية واضحة ذات نوية مركزية الموقع (الشكل 8).

1.2. الأمعاء : تكون الأمعاء طويلة وملتفة ويتألف جدارها من ثلاث طبقات هي طبقة الغشاء المخاطي وطبقة العضلات الدائرية والطولية يليها الى الخارج الطبقة المصلية . ويتكون الغشاء المخاطي من ثلاث طبقات ثانوية هي من الداخل الى الخارج النسيج العمودي البسيط يليه طبقة الصفيحة الأصلية ثم الطبقة العضلية المخاطية وتشكل هذه الطبقات الثلاث معاً تراكيب أصبعية هي الزغابات التي تمتد باتجاه التجويف. ومن الملاحظ أن السطح الحر للخلايا الظهارية العمودية تكون مزودة بحافة فرشائية واضحة المعالم (الشكل 9) .

1.3. الكلى : أظهرت المقاطع النسجية للكلى أنها مكونة من عدد من النبيبات الكلوية المبطنة بنسيج ظهاري ولوحظت الكبيبات عادة في المناطق القريبة من محفظة الكلى وتميزت بوجود

محفظة الكلية وقلة مساحة Bowman's space وأنتشر النسيج المكون للدم بين مكونات الكلية من النبيبات والكبيبات (الشكل 10).

2 . بعد 10 أيام من بدء التجربة :

2 . 1 . الكبد : كانت التغيرات النسجية المرضية في كبد أسماك المجموعتين A و B خلال هذه الفترة طفيفة إذ أقتصرت على احتقان congestion أشباه الجيوب الكبدية في مناطقها البعيدة من الوريد المركزي (الشكل 11).

2 . 2 . الأمعاء والكلى : أظهرت نتائج الدراسة الحالية خلال هذه الفترة عدم تأثر تركيب كل من الأمعاء (الشكل 12) والكلى (الشكل 13) وللمجموعتين A و B وكانت مشابهة في التركيب لأسماك مجموعة السيطرة .

3 . بعد 15 و 20 و 25 يوماً من بدء التجربة :

3 . 1 . الكبد : بين الفحص المجهرى لنسيج أكباد أسماك المجموعتين A و B خلال هذه الفترة زيادة في شدة التغيرات النسجية المرضية وتنوعها ، اذ تمثلت التغيرات في النواة بانحراف نويتها وإزاحتها من مركزها باتجاه أحد أطراف النواة (الأشكال 14 و 15 و 16) كما عانت بعض الأنوية من تكثف المادة الكروماتينية وتركزها في محيط النواة (الأشكال 14 و 16) وبين الفحص النسجي إن بعض الخلايا الكبدية تبدو متضخمة Hypertrophy (الشكل 14) , بينما تعاني خلايا أخرى من تنكس فجوي Degeneration للساييتوبلازم (الأشكال 15 و 16) شمل مساحات واسعة من الكبد , وكان هناك تنخر Necrosis في بعض الخلايا فضلاً عن احتقان أشباه الجيوب الكبدية (الشكل 15).

3 . 2 . الأمعاء : أظهرت نتائج الدراسة الحالية تغيرات نسجية مرضية في الأمعاء لأسماك المجموعتين A و B ، أذ بينت المقاطع النسجية ظهور تجمع لخلايا الكلورايد في النسيج الظهاري والطبقة المصلية لجدار الأمعاء كذلك فإن بعض خلايا بطانة النسيج الظهاري أحتوت على مواد غير حية تجمعت في ساييتوبلازمها القمي بشكل كتلة مختلفة الاشكال (الشكل 17) كما لوحظ تنكس بعض خلايا النسيج الظهاري لبطانة الأمعاء (الشكل 18) وتميزت خلايا قمع الطرف الحر للزغابات بلونها الباهت جداً ومع مرور الوقت وصولاً للفترة 25 يوماً من بدء التجربة لوحظ ظهور بداية تنخر خلايا تلك القمم (الشكل 19). كما وأحدثت الخيوط الطحلبية بعض الأضرار الميكانيكية في النسيج الظهاري لبطانة الأمعاء (الشكل 20).

3 . 3 . الكلى : أظهرت المقاطع النسجية لأسماك المجموعتين A و B وجود الخلايا البدينة Mast cells في النسيج المكون للدم (الشكل 21) . عانت بعض خلايا النسيج الظهاري في النبيبات الكلوية من التنكس الفجوي للساييتوبلازم (الشكل 22) بينما عانت الخلايا اخرى من التنخر (الشكل 23) . كما لوحظ حدوث أنتفاخ Swelling لبعض خلايا النبيبات الكلوية (الشكل 23) ، وعانت بعض الخلايا من تغيرات على مستوى النواة فقط أذ ظهر أنحراف للأنوية باتجاه الغلاف النووي بالإضافة الى ضمور بعضها (الشكل 22).

4. بعد 30 و 40 يوماً من بدء التجربة :

4. 1. الكبد : مع استمرار تناول أسماك المجموعتين A و B لطحلب *L. martensiana* تزداد شدة التغيرات النسجية المرضية في أكبادها فتزداد مساحة المناطق التي تعاني فيها الخلايا من التنكس الفجوي للسايتوبلازم (الأشكال 24 و 25) . وأظهرت دراسة المقاطع النسجية تنخر بعض الخلايا وتبدو بعض أنويتها في مناطق التنخر ضامرة وخالية من النويات تنتهي هذه التغيرات بتحلل كامل وموت للخلايا (الشكل 25) . كما لوحظ ازدياد أعداد الخلايا التي تزاح فيها النوية باتجاه أحد أطراف النواة (الأشكال 24 و 25 و 26) وعانت بعض الانوية من تغير في شكلها إذ ظهرت بشكل هلال في محيط النواة (الشكل 26) كما ظهر تجمع لمواد بنية اللون بين الخلايا الكبدية (الشكل 24) , وبين الفحص المجهرى لنسيج الكبد تجمع للسوائل على شكل وذمات بين النسيج البرنكيمي له (الشكل 27) كما لوحظ احتقان أشباه الجيوب الكبدية في بعض مناطق الكبد (الشكل 26) .

4. 2. الأمعاء : بين الفحص المجهرى لنسيج أمعاء اسماك المجموعتين A و B خلال هذه الفترة زيادة أعداد خلايا النسيج الظهاري المتخررة في بطانة الأمعاء (الأشكال 28 و 29) ولوحظ تجمع مواد غير حية في خلايا بطانة النسيج الظهاري للأمعاء وغالباً تبدو بلون أصفر (الشكل 29) وكذلك ظهر تحلل واضح للنسيج الضام في منطقة الصفيحة الأصلية (الشكل 30) .

4. 3. الكلى : باستمرار تناول السمكة للطحلب تزداد مساحة المناطق التي تعاني فيها خلايا النبيبات الكلوية من التنكس الفجوي (الأشكال 31 و 32 و 33) وأظهر الفحص النسجي إن بعض الخلايا المتنكسة في بطانة بعض النبيبات الكلوية يكون مصيرها الموت والتحلل إذ تعاني تلك الخلايا من التنخر الذي تنتهي أحداثه بتحلل النواة والغشاء البلازمي (الشكل 32) . وعانت بعض الخلايا من انحراف النوية باتجاه الغلاف النووي (الشكل 31) كما ظهرت تغيرات واضحة على النسيج المكون للدم تمثلت بزيادة أعداد الخلايا البدينة (الشكل 32) بينما ظهر في مناطق أخرى من الكلية مفكك وقليل الخلايا (الشكل 33) .

5. بعد 50 و 60 يوماً من بدء التجربة :

5. 1. الكبد : أظهرت نتائج الفحص المجهرى لأكباد أسماك المجموعتين A و B حدوث زيادة في أعداد خلايا كوبر و تجمع لأعداد من الملتهمات في مناطق محدودة من الكبد (الشكل 34) كذلك لوحظ إزاحة النوية باتجاه أحد اطراف النواة (الأشكال 34 و 35) وتكتل المادة الكروماتينية في محيطها وظهورها بشكل هلال (الشكل 35) . أستمر تنكس الخلايا الكبدية ليشمل مساحات أوسع من الكبد (الأشكال 34 و 36) وترافق ذلك مع تنخر الخلايا المتنكسة الذي أمتد لمناطق جديدة أيضاً (الأشكال 35 و 36 و 37 و 38) . وأظهرت دراسة المقاطع النسجية أشارات لحدوث بداية التليف في بعض أجزاء الكبد (الشكل 36) كما لوحظ احتقان الأوعية الدموية الكبيرة وتوسع أشباه الجيوب الكبدية (الأشكال 37) .

5. 2. الأمعاء : تنوعت التغيرات النسجية المرضية خلال هذه الفترة إذ لوحظ ارتشاح للخلايا الألتهاابية في النسيج الضام للصفحة الأصلية في الأمعاء الدقيقة (الشكل 39) كذلك وجود وذمات في الطبقة العضلية الخارجية بين الطبقة الدائرية والطبقة الطولية (الشكل 40) وبالإضافة الى

أستمرار تنخر البطانة الظهارية لنسيج الأمعاء (الأشكال 41 و 42) ظهر تحلل للنسيج الضام لمنطقة الصفيحة الأصلية لمناطق الزغابات التي عانت فيها الظهارة من التنخر (الشكل 41).

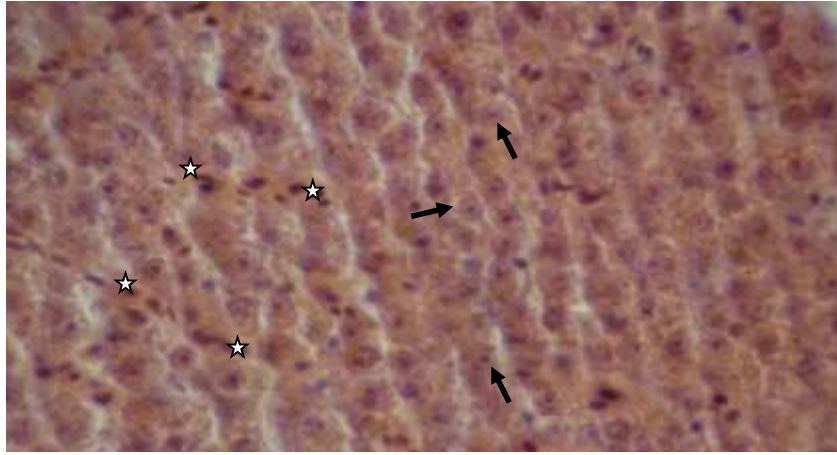
3.5. الكلى : أظهرت نتائج الفحص المجهرى زيادة شدة التغيرات النسجية المرضية وتنوعها في أسماك المجموعتين A و B خلال هذه الفترة وشملت هذه التغيرات كل مكونات الكلية ، ففي النيبات الكلوية أزداد عدد الخلايا التي تعاني من تغيرات النواة متمثلة بأزاحة النوية باتجاه أحد الجوانب أو تكتل المادة الكروماتينية بشكل هلال في محيط النواة (الشكل 43) وأزدادت عدد خلايا بطانة النيبات الكلوية التي تعاني من التنخر (الشكل 44) بينما أمتأت تجايف نيبات أخرى بنوعين من المواد الأول عبارة عن خلايا منسلخة من البطانة الظهارية للنيبات وهي خلايا ميتة عادةً يمكن تمييز أنويتها الضامرة فقط (الشكل 45) والثاني مواد غير حية تتقبل الصبغة الأيوسينية في الغالب وعادة تكون متماسكة تملأ معظم التجويف (الشكل 46) , أما في الكبيبات فلوحظ تجمع لمواد غير حية تتقبل الصبغة الأيوسينية بشدة (الأشكال 45 و 46) وحدث فرط تنسج لخلايا الكبيبة لدرجة يصعب عندها تمييز الأوعية الشعرية الدموية فيها ومع أستمرار توالد الخلايا تختفي مساحة بومان وتبدو تلك الكبيبات متضخمة ، ولوحظ في الكبيبات التي تكون قريبة من محفظة الكلية وتعاني من تلك التغيرات انها تبرز باتجاه الخارج بشكل واضح في المقاطع النسجية (الشكل 45) . كما حصل تفكك للنسيج المكون للدم (الشكل 44) وأنتشرت بين مكوناته تجمعات لمواد بنية داكنة (الشكل 43) .

6 . بعد 70 و 80 يوماً من بدء التجربة

6.1. الكبد : بينت نتائج الدراسة الحالية زيادة أكثر في شدة التغيرات النسجية المرضية لأكباد أسماك المجموعتين A و B تمثلت بتوسع وأحتقان الوريد البابي الكبدي (الشكل 48) وتوسع وأحتقان معظم أشباه الجيوب الكبدية (الشكل 49 و 50) وظهر في عدد من الأسماك تليف في بعض أجزاء أكبادها (الشكل 49) ، ولوحظ تجمع مواد غير حية بنية اللون في سايتوبلازم الخلايا الكبدية لبعض مناطق الكبد (الأشكال 48 و 50) كما لوحظ زيادة أعداد الخلايا التي تعاني فيها النواة من إزاحة نويتها باتجاه أطرافها (الأشكال 48 و 50). كما أنتشرت المساحات التي تعاني فيها الخلايا من التنخر (الأشكال 48 و 49 و 50) وظهر كبد بعض أسماك المجموعتين بأنه يعاني من تنكس وتنخر واسع لسايتوبلازم خلاياه (الشكل 51) إذ يبدو الكبد أنه مصاب بما يشبه مرض الكبد الكحولي Alcoholic liver disease .

6.2. الأمعاء : أظهرت دراسة المقاطع النسجية خلال هذه الفترة زيادة في شدة التغيرات المرضية إذ أستمر التنخر للبطانة الظهارية لنسيج الأمعاء ليشمل مساحات أكبر من النسيج الظهاري في قمم الزغابات فلوحظ أمتداده بشكل تدريجي باتجاه قاعدة الزغابة (الأشكال 44 و 46) . وأزاحة نويات الأنوية باتجاه أحد الأطراف إضافة الى تكتل المادة الكروماتينية في محيط النواة (الشكل 48) كما حصل أرتشاح للخلايا الألتهايبية في الصفيحة الأصلية للنسيج الظهاري (الشكل 146) .

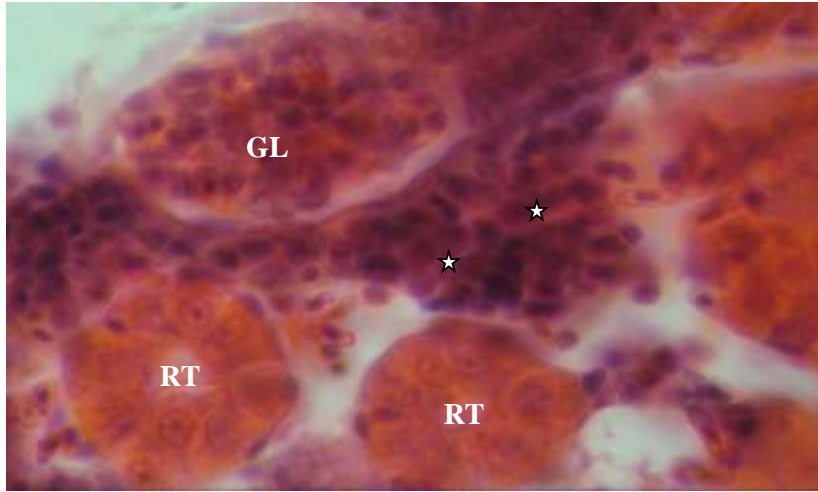
6 . 3 . الكلى : أظهرت نتائج الفحص المجهرى لكلى الأسماك وللمجموعتين A و B خلال هذه الفترة تغير موقع نويات أنوية خلايا بطانة النبيبات الكلوية لتحنتل موقعاً طرفياً (الشكل 55) كما ظهر تنخر النبيبات الكلوية بشكل واسع (الأشكال 56 و 57). ولوحظ توسع تجويف بعض النبيبات (الشكل 58) بينما امتلأت تجاويف نبيبات اخرى بخلايا منسلخة من بطانتها الظهارية (الأشكال 55 و 56). وكغيره من المكونات الكلوية تعرض النسيج المكون للدم الى تغيرات واضحة ظهر فيه تجمع لمواد غير حية بنية اللون أنتشرت في النسيج بين النبيبات الكلوية (الأشكال 56). كما ظهرت مساحات فارغة بين النبيبات نتيجة لتحلل النسيج المكون للدم (الأشكال 57 و 58)، كما وظهرت تغيرات في الكبيبات تمثلت بضمور الكبيبة التدريجي وقد أدى هذا الضمور الى عدم انتظام مساحة بومان في بعض الكبيبات إذ تبدو متوسعة من إحدى جوانبها مقارنة مع جوانب أخرى (الشكل 55) ، بينما في كبيبات أخرى بعد 80 يوماً من بدء التجربة أختفت من المقاطع النسجية تاركة محلها فراغات تحوي بقايا من الخلايا (الشكل 58) .



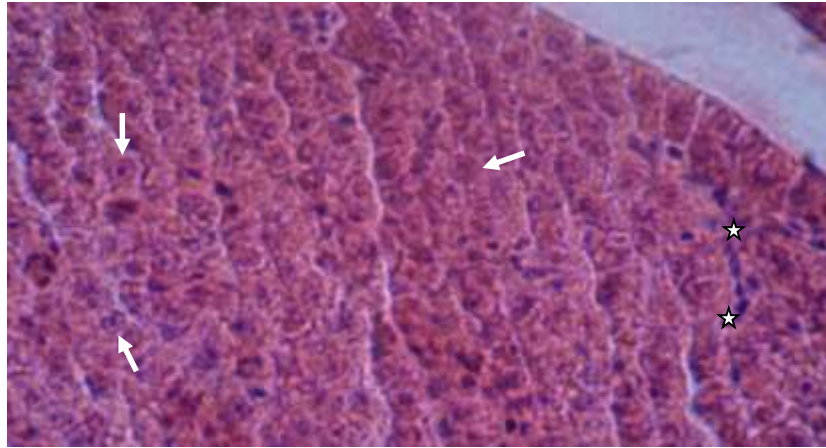
(الشكل 5) كبد اسماك مجموعة السيطرة (المجموعة C) يوضح النواة ذات النوية المركزية (الأسهم) و أشباه الجيوب الكبدية (الأنجم). قوة التكبير X 1000



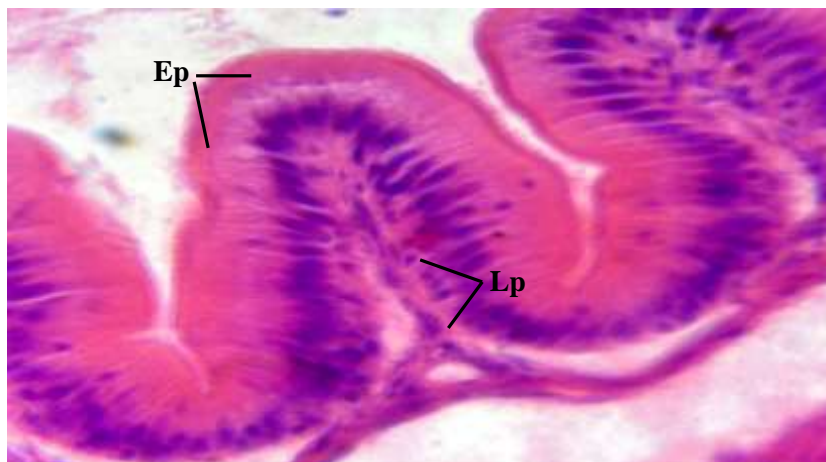
(شكل 6) امعاء أسماك مجموعة السيطرة (المجموعة C) يوضح النسيج الظهاري (Ep) والطبقة العضلية الخارجية (Mm) و الطبقة المصلية (Se). قوة التكبير 400



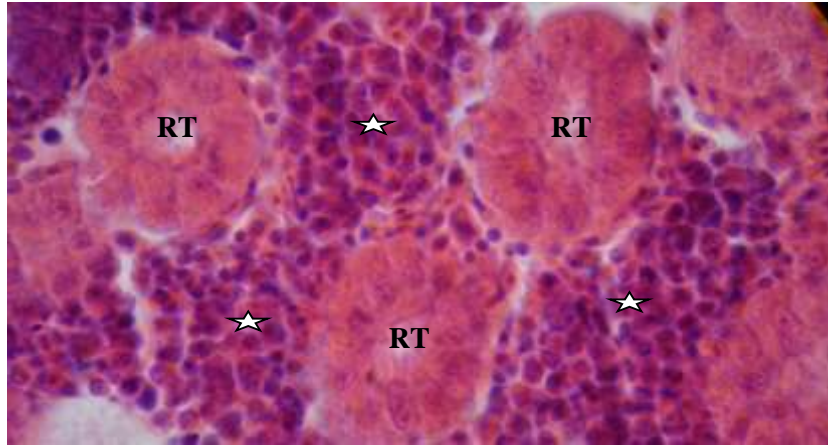
(الشكل 7) كلية أسماك مجموعة السيطرة (المجموعة C) توضح النبيبات الكلوية (RT) والكبيبة (GL) والنسيج المكون للدم (الأنجم). قوة التكبير X 400



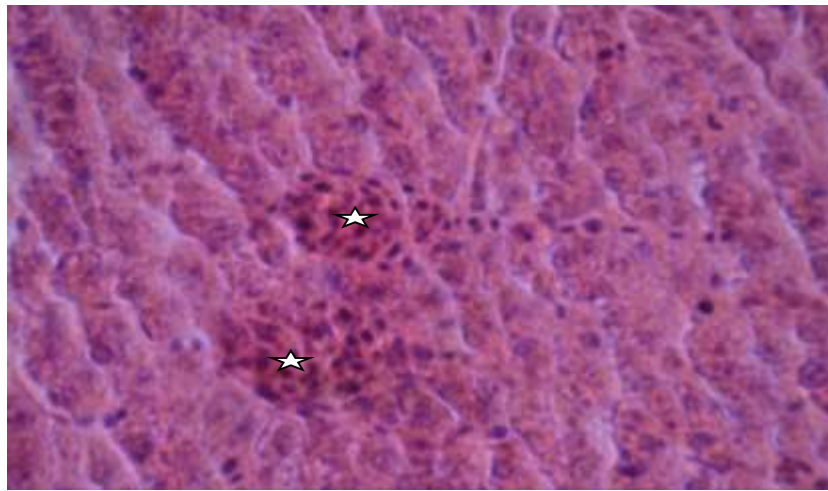
(الشكل 8) كبد اسماك المجموعة A بعد 5 ايام من بدء التجربة يوضح النواة ذات النوية المركزية (الأسهم) و أشباه الجيوب الكبدية (الأنجم). قوة التكبير X 1000



(الشكل 9) امعاء أسماك المجموعة B بعد 5 ايام من بدء التجربة توضح النسيج الظهاري لبطانة الامعاء (Ep) الصفيحة الاصيلية (Lp) قوة التكبير X 400



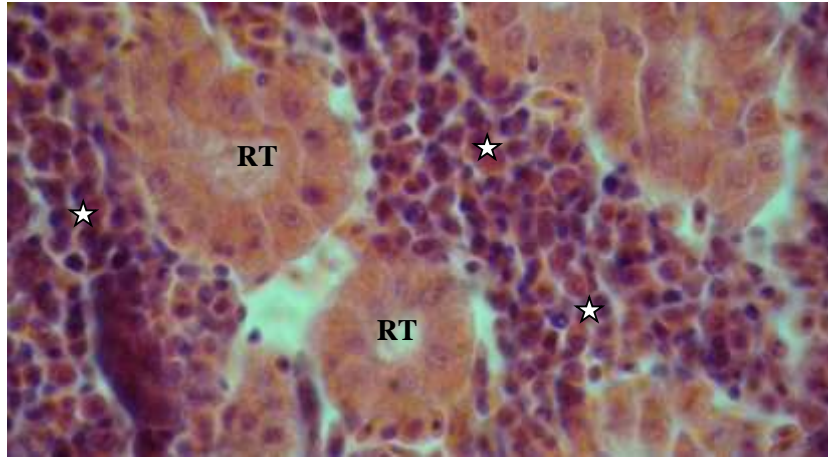
(الشكل 10) كلية أسماك المجموعة B بعد 5 أيام من بدء التجربة توضح النيببات الكلوية (RT) والنسيج المكون للدم (الأنجم). قوة التكبير X 400



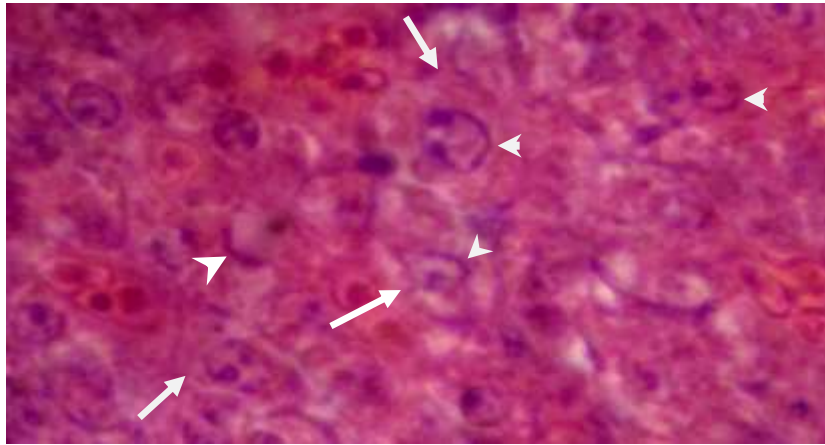
(الشكل 11) كبد أسماك المجموعة A بعد 10 ايام من بدء التجربة يوضح احتقان اشباه الجيوب الكبدية (الانجم). قوة التكبير X 400 .



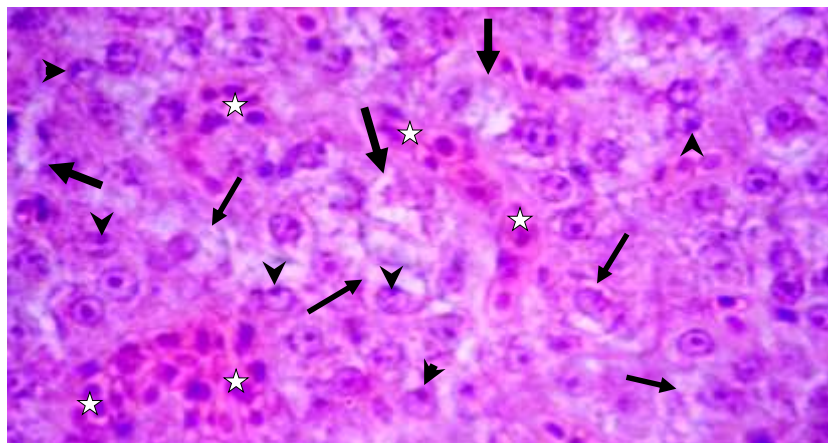
(الشكل 12) أمعاء أسماك المجموعة A بعد 10 ايام من بدء التجربة يوضح النسيج الظهاري (Ep) لا يظهر عليها اي تغيرات مرضية . قوة التكبير X 400



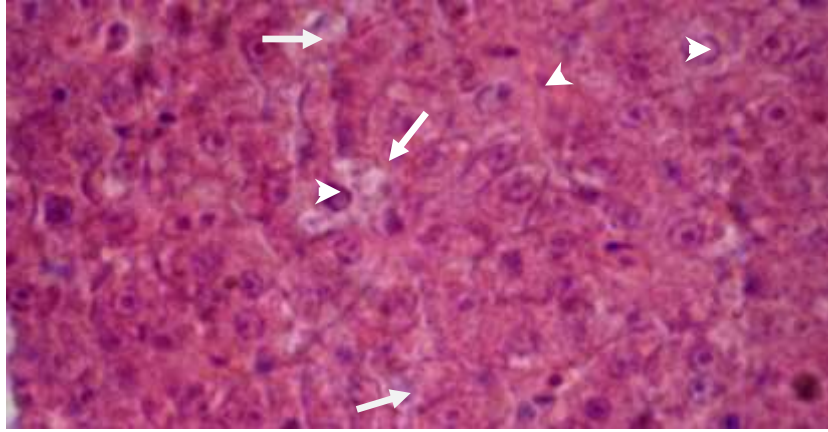
(الشكل 13) كلية أسماك المجموعة B بعد 10 ايام من بدء التجربة توضح النيببات الكلوية (RT) و النسيج المكون للدم (الأنجم) لا يظهر عليها اي تغيرات مرضية. قوة التكبير X 400



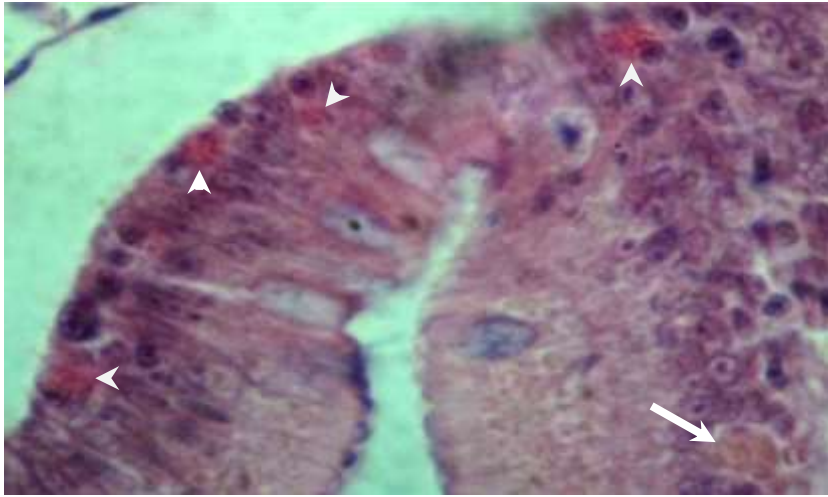
(الشكل 14) كبد أسماك المجموعة B بعد 20 يوماً من بدء التجربة يوضح انحراف النوية باتجاه الغلاف النووي وتكتل المادة الكروماتينية في محيط النواة (رؤوس الاسهم) وتضخم بعض الخلايا الكبدية (الاسهم). قوة التكبير X 1000



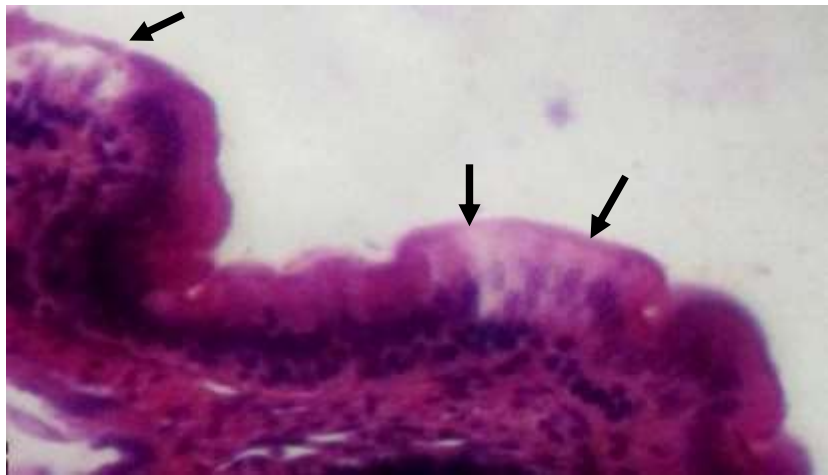
(الشكل 15) كبد أسماك المجموعة A بعد 25 يوماً من بدء التجربة يوضح انحراف النوية باتجاه الغلاف النووي (رؤوس الاسهم) وتنكس سايتوبلازم الخلايا الكبدية(الاسهم النحيفة) وتنخر بعضها (الاسهم الغليظة) واحتقان اشباه الجيوب الكبدية (الانجم). قوة التكبير X1000



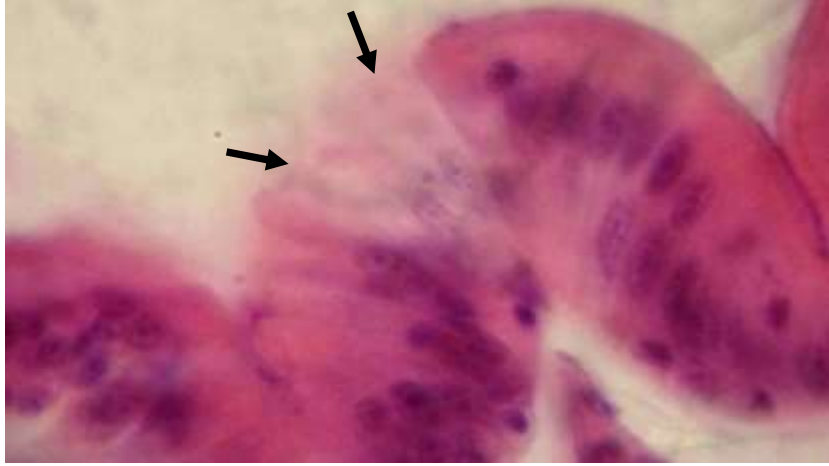
(الشكل 16) كبد أسماك المجموعة B بعد 25 يوماً من بدء التجربة توضح انحراف النوية باتجاه الغلاف النووي وتكتل المادة الكروماتينية في محيط النواة (رؤوس الاسهم) وتنكس سايتوبلازم الخلايا (الاسهم). قوة التكبير X 1000



(الشكل 17) امعاء أسماك المجموعة A بعد 15 يوماً من بدء التجربة توضح ظهور اعداد من خلايا الكلورايد في النسيج الظهاري لبطانة الامعاء (رؤوس الاسهم) وتجمع مواد غير حية في سايتوبلازم الخلايا الظهارية (الاسهم). قوة التكبير X 1000



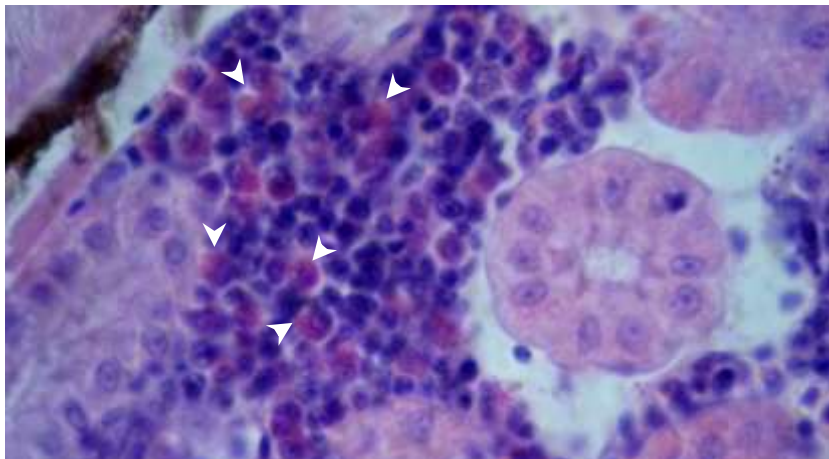
(الشكل 18) امعاء أسماك المجموعة A بعد 20 يوماً من بدء التجربة يوضح تنكس الخلايا الظهارية للامعاء (الاسهم). قوة التكبير X 400



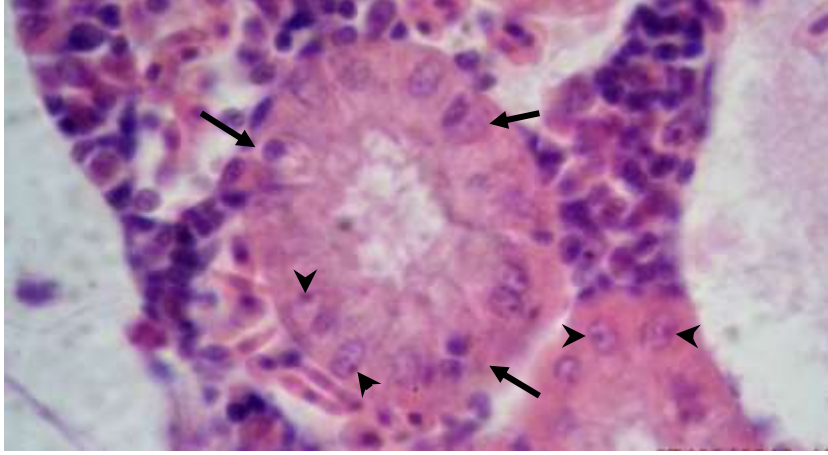
(الشكل 19) أمعاء أسماك المجموعة B بعد 25 يوماً من بدء التجربة توضح بدء تنخر بعض خلايا النسيج الظهاري لبطانة الامعاء متمثلاً بفقدان الخلايا للونها المميز بالمقاطع النسيجية (الاسهم). قوة التكبير X 1000



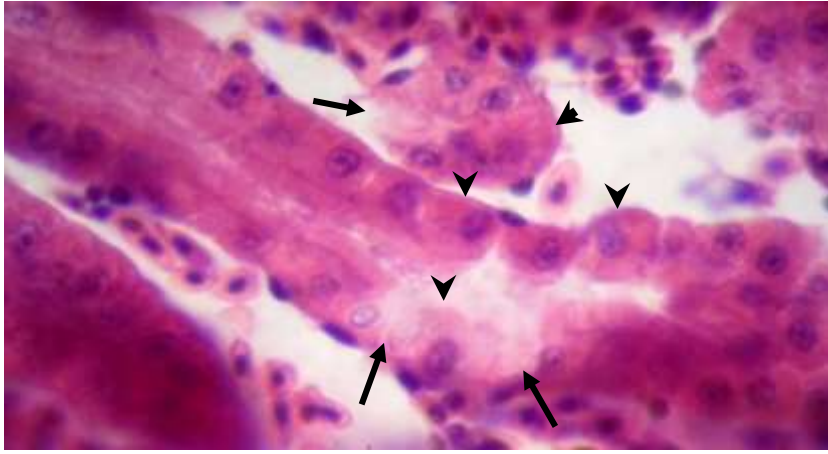
(الشكل 20) أمعاء أسماك المجموعة A بعد 15 يوماً من بدء التجربة توضح أضرار ميكانيكية في البطانة الظهارية (الاسهم) قوة التكبير X 200



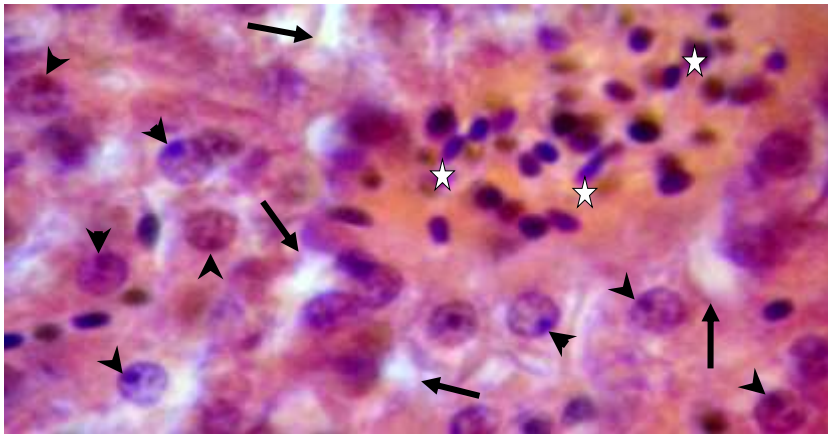
(الشكل 21) كلية أسماك المجموعة B بعد 15 يوماً من بدء التجربة توضح تجمع الخلايا البدينة في النسيج المكون للدم (رووس الاسهم). قوة التكبير X 1000



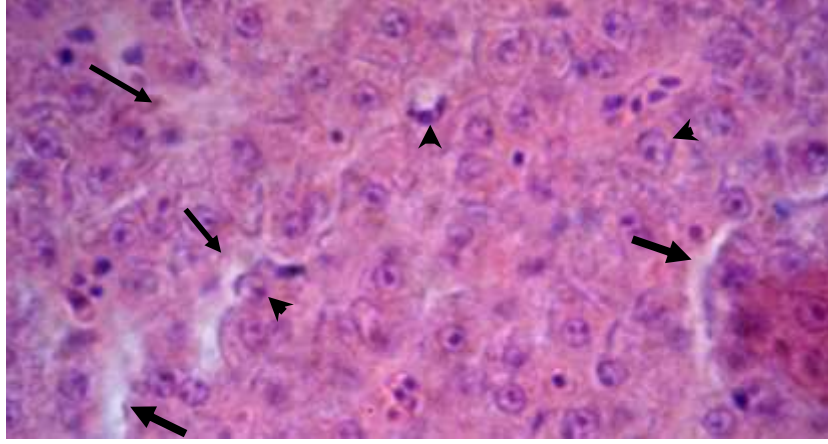
(الشكل 22) كلية أسماك المجموعة A بعد 20 يوماً من بدء التجربة توضح تنكس بعض خلايا النبيبات الكلوية وضمور انويتها (الاسهم) وانحراف النوية باتجاه الغلاف النووي (رؤوس الاسهم). قوة التكبير 1000



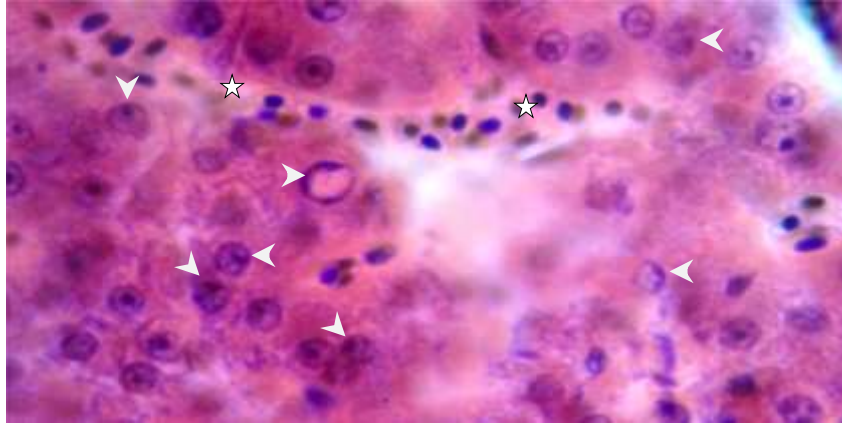
(الشكل 23) كلية أسماك المجموعة A بعد 25 يوماً بعد بدء التجربة توضح تنخر بعض خلايا النبيبات الكلوية (الاسهم) وانتفاخ بعض خلاياها (رؤوس الاسهم). قوة التكبير X 1000



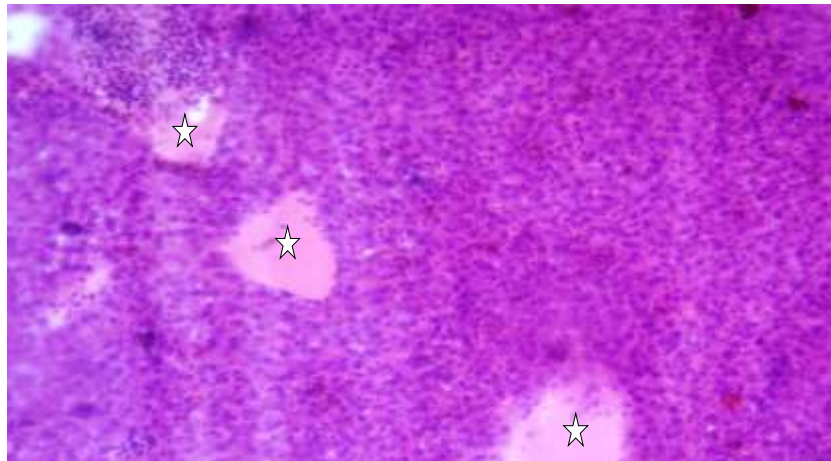
(الشكل 24) كبد أسماك المجموعة A بعد 30 يوماً من بدء التجربة يوضح تنكس سايتوبلازم الخلايا الكبدية (الاسهم) وانحراف النوية باتجاه الغلاف النووي (رؤوس الاسهم) وتجمع مواد غير حية (الانجم) قوة التكبير X 1000



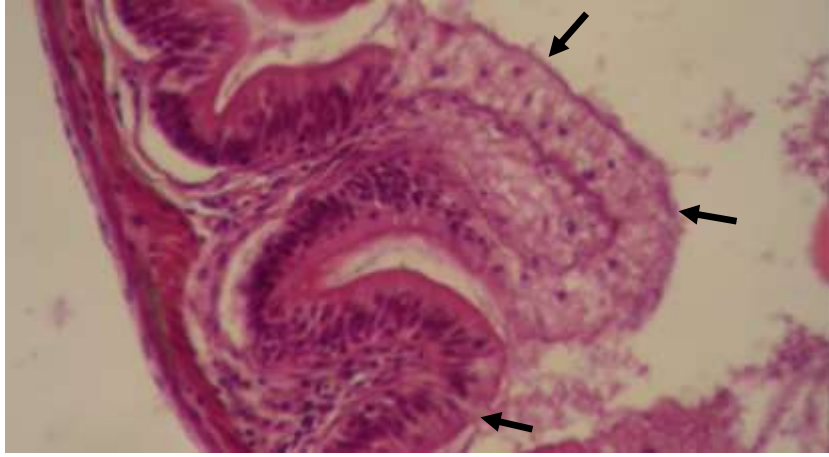
(الشكل 25) كبد أسماك المجموعة B بعد 30 يوماً من بدء التجربة يوضح تنكس سايتوبلازم الخلايا الكبدية (الاسهم النحيفة) وتنخر بعضها (الاسهم الغليظة) وانحراف النوية باتجاه وتكتل المادة الكروماتينية في محيط النواة (رؤوس الاسهم). قوة التكبير X 1000



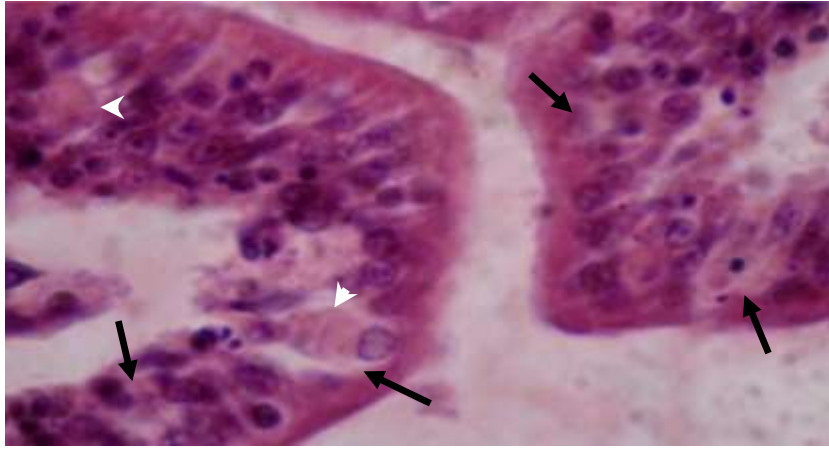
(الشكل 26) كبد أسماك المجموعة A بعد 40 يوماً من بدء التجربة يوضح انحراف النوية باتجاه الغلاف النووي واتخاذ بعضها شكلاً هلالياً (رؤوس الاسهم) واحتقان اشباه الجيوب الكبدية (الانجم). قوة التكبير X1000



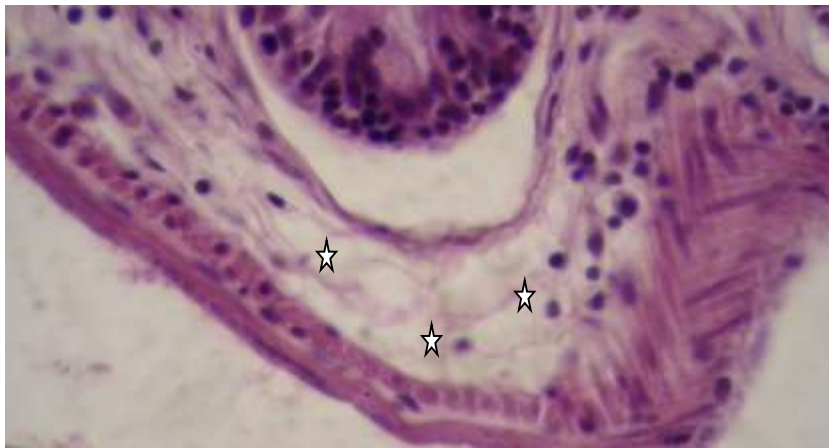
(الشكل 27) كبد أسماك المجموعة B بعد 40 يوماً من بدء التجربة توضح تجمع سوائل بين خلايا النسيج (الانجم). قوة التكبير X 400



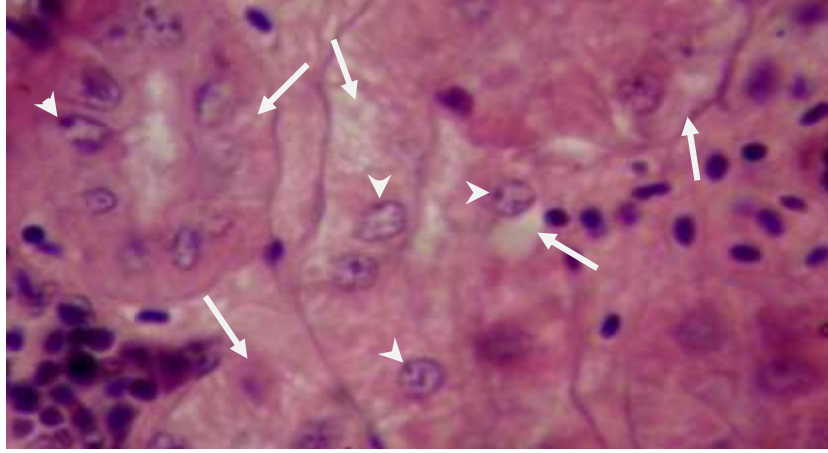
(الشكل 28) أمعاء أسماك المجموعة A بعد 30 يوماً من بدء التجربة يوضح تنخر النسيج الظهاري (الاسهم).
قوة التكبير X 4000



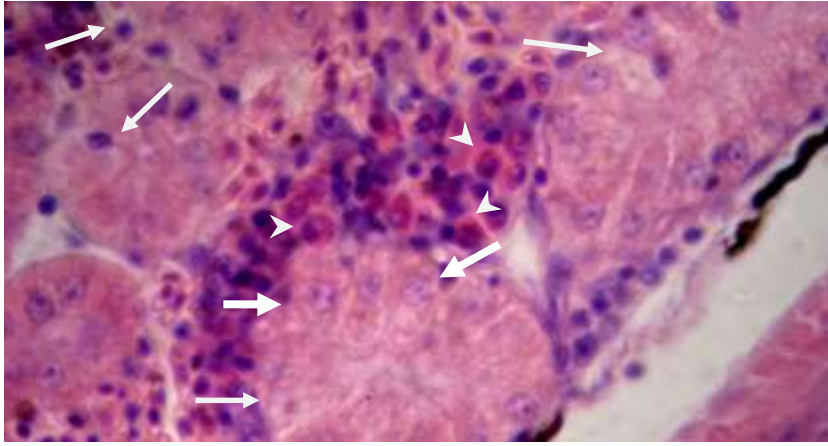
(الشكل 29) أمعاء أسماك المجموعة A بعد 40 يوماً من بدء التجربة يوضح تنخر النسيج الظهاري (الاسهم) وتجمع مواد غير حية في الخلايا الظهارية (رؤوس الاسهم). قوة التكبير X 1000



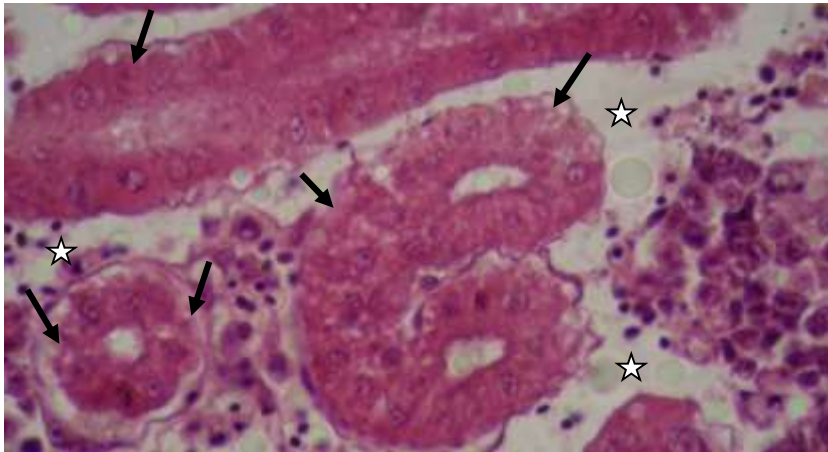
(الشكل 30) أمعاء أسماك المجموعة B بعد 40 يوماً من بدء التجربة يوضح تحلل النسيج الضام في منطقة الصفيحة الاصلية (الانجم). قوة التكبير X 1000



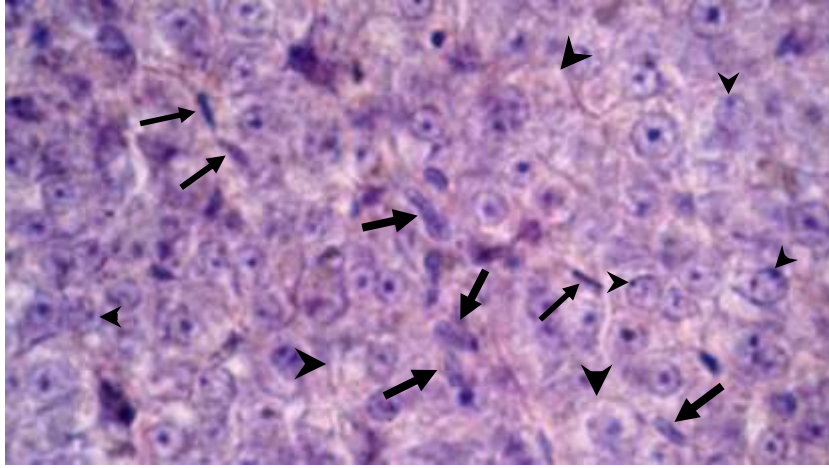
(الشكل 31) كلية أسماك المجموعة A بعد 30 يوماً من بدء التجربة يوضح تنكس سايتوبلازم بعض خلايا النبيبات الكلوية (الاسهم النحيفة) وانحراف النوية باتجاه الغلاف النووي (رؤوس الاسهم). قوة التكبير X 1000



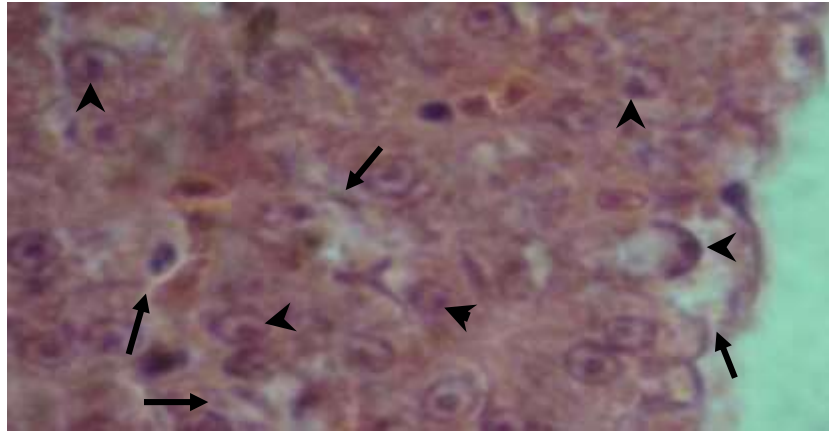
(الشكل 32) كلية أسماك المجموعة A بعد 40 يوماً من بدء التجربة يوضح تنكس سايتوبلازم بعض خلايا النبيبات الكلوية (الاسهم الغليظة) وتخریب بعضها (الاسهم النحيفة) وتجمع الخلايا البدنية في النسيج المكون للدم (رؤوس الاسهم). قوة التكبير X 1000.



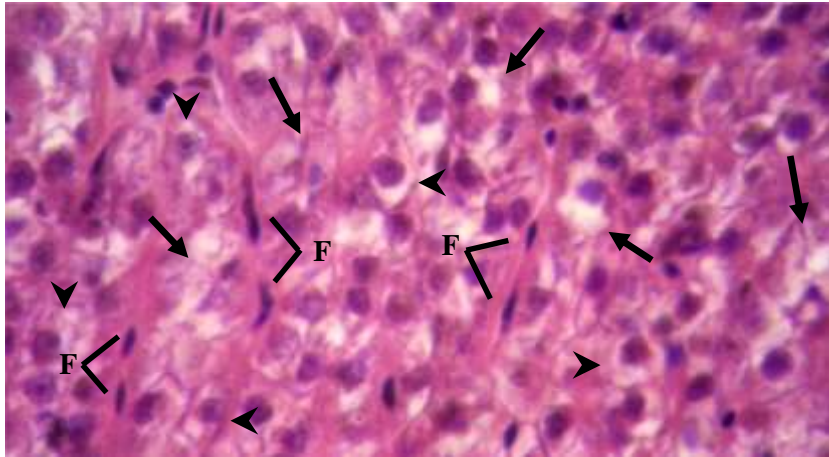
(الشكل 33) كلية أسماك المجموعة B بعد 40 يوماً من بدء التجربة يوضح تنكس سايتوبلازم بعض خلايا النبيبات الكلوية (الاسهم) وتفكك النسيج المكون للدم (الأنجم). قوة التكبير X 1000



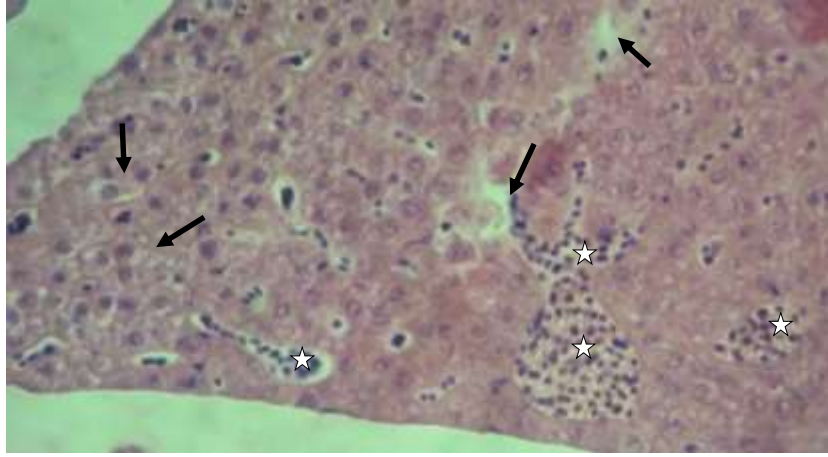
(الشكل 34) كبد أسماك المجموعة A بعد 50 يوماً من بدء التجربة توضح وجود اعداد من خلايا كوبفر (الاسهم النحيفة) واعداد من الملتهمات (الاسهم الغليظة) في التسيج البرنكي للكبـد كما يظهر انحراف نويات بعض الخلايا وضمور البعض الاخر منها (رؤوس الاسهم الصغيرة) وتنكس سايتوبلازم الخلايا (رؤوس الاسهم الكبيرة). قوة التكبير X 1000



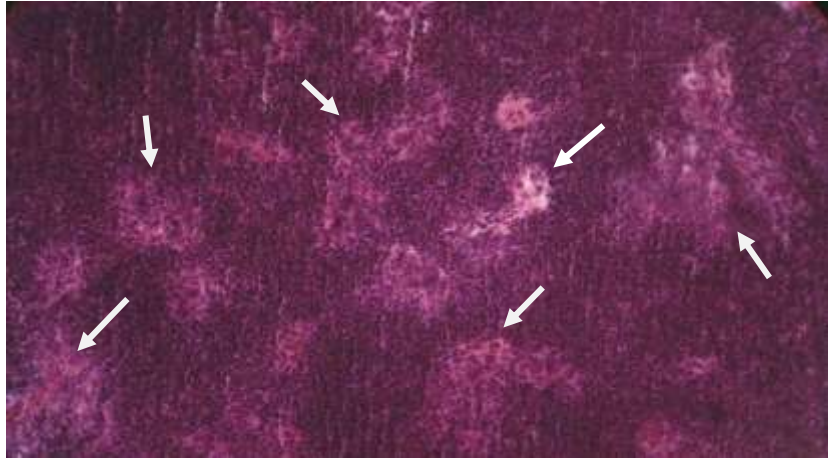
(الشكل 35) كبد أسماك المجموعة B بعد 50 يوماً من بدء التجربة توضح تنخر الخلايا الكبدية (الاسهم) وانحراف النوية باتجاه الغلاف النووي وتكتل المادة الكروماتينية في محيط النواة (رؤوس الاسهم). قوة التكبير X 1000



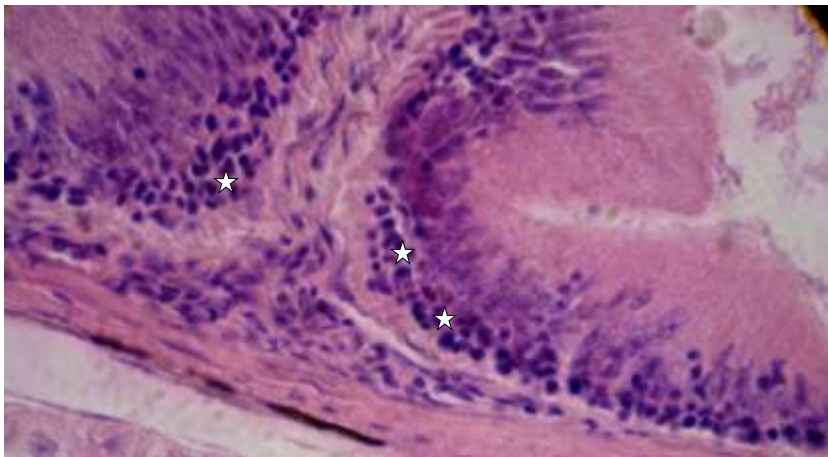
(الشكل 36) كبد أسماك المجموعة A بعد 50 يوماً من بدء التجربة يوضح تنكس سايتوبلازم الخلايا الكبدية (رؤوس الاسهم) وتنخر بعضها (الاسهم) وبداية تليف (F). قوة التكبير X 1000



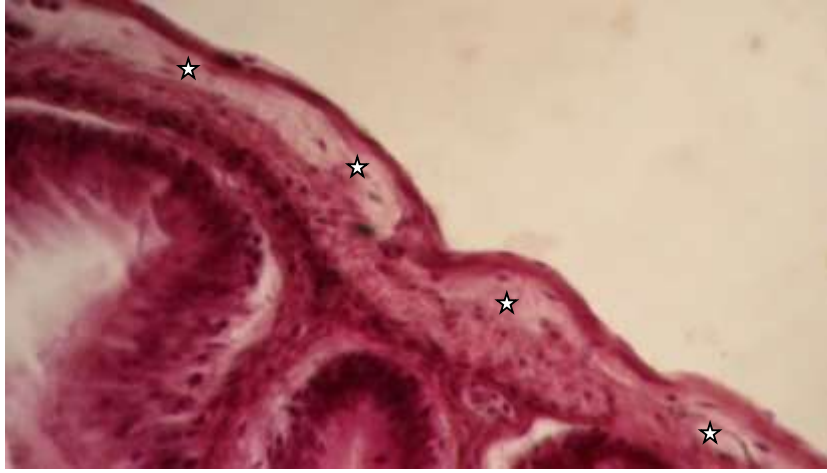
(الشكل 37) كبد أسماك المجموعة A بعد 60 يوماً من بدء التجربة يوضح تنخر الخلايا الكبدية (الأسهم) وتوسع اشباه الجيوب الكبدية واحتقان او عيتها الدموية (الانجم) . قوة التكبير X 400



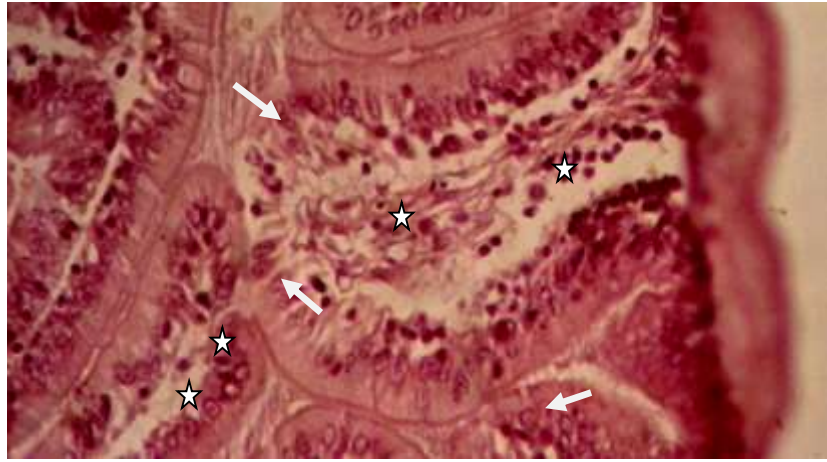
(الشكل 38) كبد أسماك المجموعة B بعد 60 يوماً من بدء التجربة توضح بؤر التنخر الواسعة في الكبد (الاسهم) . قوة التكبير X 400



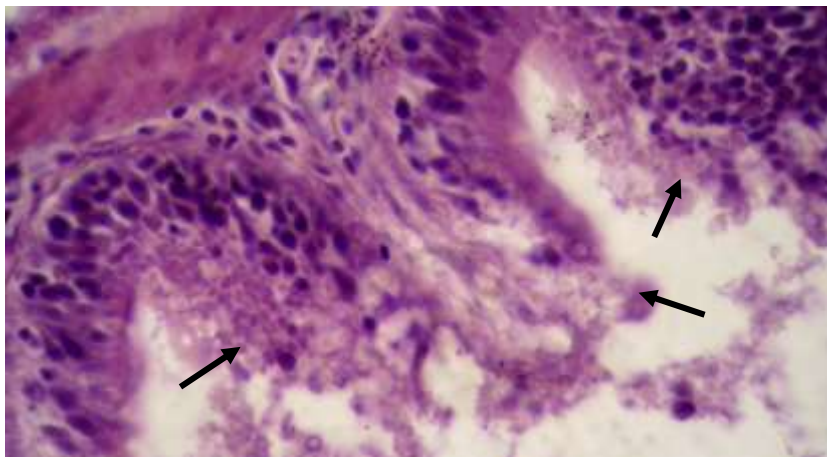
(الشكل 39) أمعاء المجموعة A بعد 50 يوماً من بدء التجربة توضح ارتشاح الخلايا الالتهابية في النسيج الضام للصفحة الاصلية (الأنجم). قوة التكبير X 1000



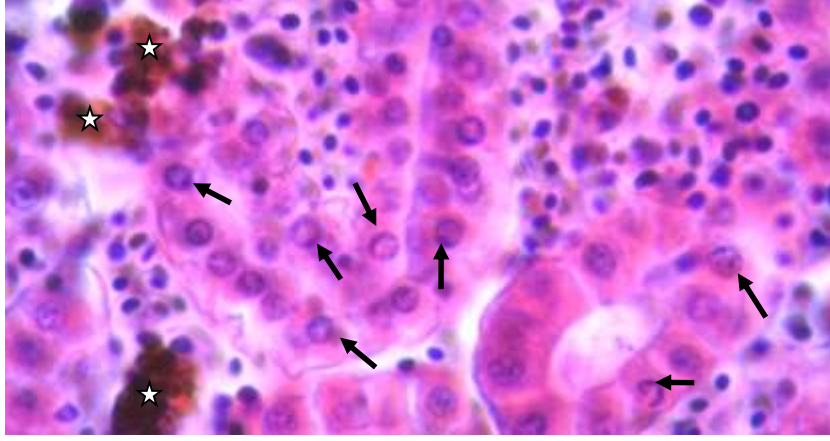
(الشكل 40) أمعاء أسماك المجموعة B بعد 50 يوماً من بدء التجربة يوضح وذمات في الطبقة العضلية للجدار بين الطبقة الدائرية والطبقة الطولية (الأنجم). قوة التكبير X 400



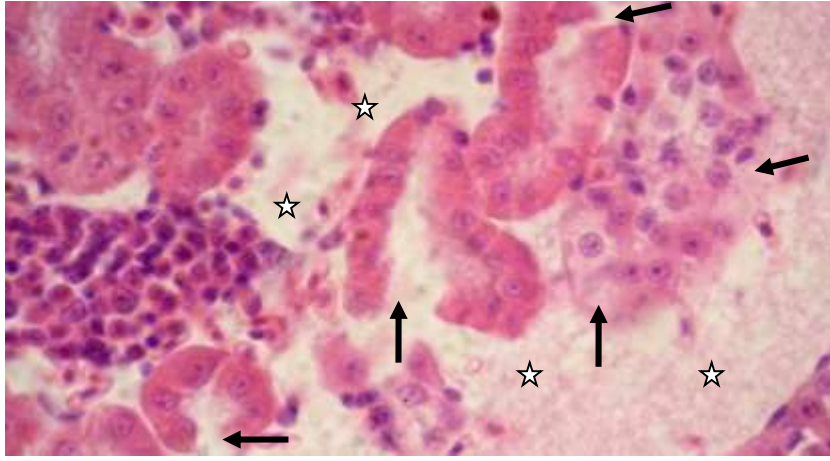
(الشكل 41) أمعاء أسماك المجموعة A بعد 60 يوماً من بدء التجربة توضح تنخر النسيج الظهاري (الاسهم) وتحلل النسيج الضام للصفحة الاصلية (الانجم). قوة التكبير X400



(الشكل 42) أمعاء أسماك المجموعة B بعد 60 يوماً من بدء التجربة توضح تنخر النسيج الظهاري (الاسهم) . قوة التكبير X1000



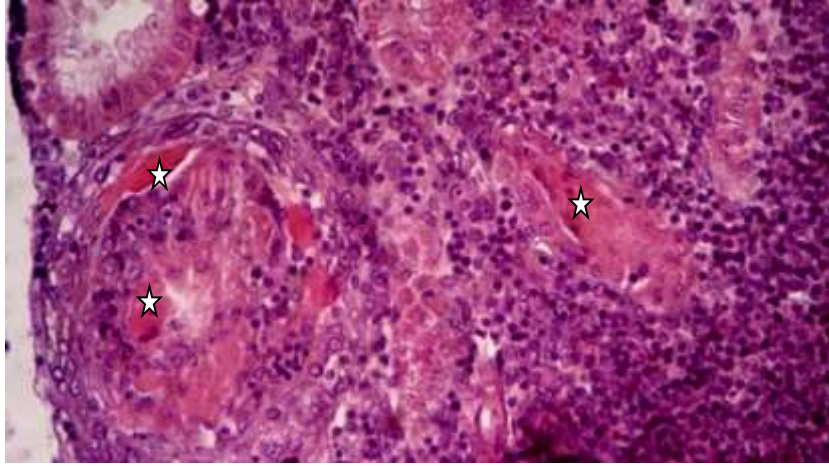
(الشكل 43) كلية أسماك المجموعة A بعد 50 يوماً من بدء التجربة يوضح انحراف النوية باتجاه الغلاف النووي وتكتل المادة الكروماتينية في محيط النواة (الأسهم) وتجمع مواد في النسيج المكون للدم (الأنجم). قوة التكبير X 1000



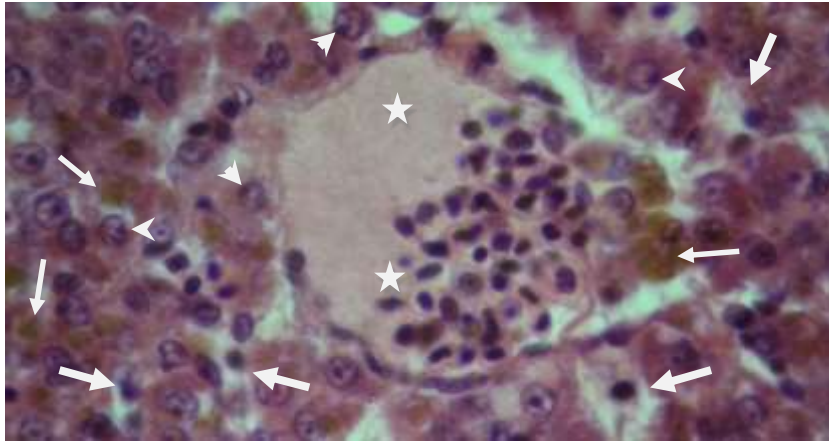
(الشكل 44) كلية أسماك المجموعة A بعد 60 يوماً من بدء التجربة يوضح تنخر خلايا النبيبات الكلوية (الاسهم) وتفكك النسيج المكون للدم (الأنجم) . قوة التكبير X 1000



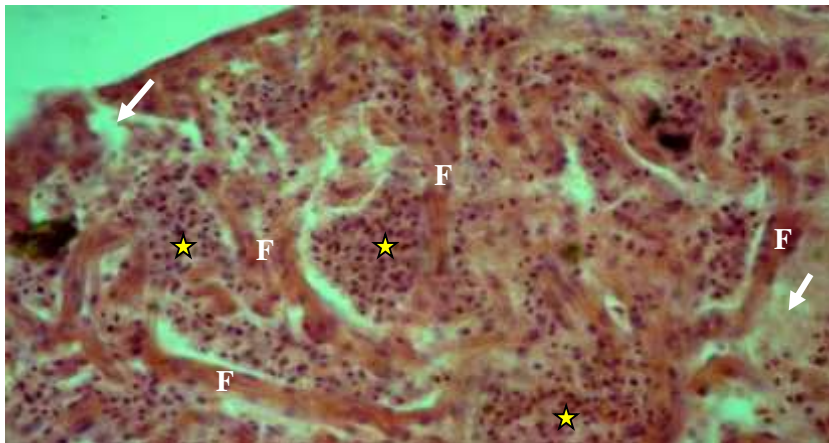
(الشكل 45) كلية أسماك المجموعة B بعد 60 يوماً من بدء التجربة يوضح توسع النبيبات الكلوية (رؤوس الاسهم) وانسلاخ خلايا النبيبات الكلوية وتجمعها في التجويف (الاسهم) وتجمع مواد في الكبيبة (الانجم) وتضخم الكبيبة وبروزها الى خارج محفظة الكلية ويلاحظ اختفاء مساحة بومان . قوة التكبير X 400



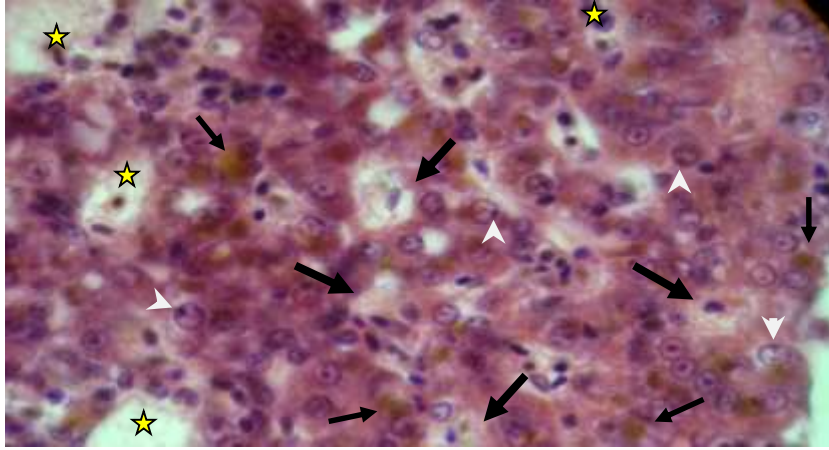
(الشكل 46) كلية أسماك المجموعة A بعد 50 يوماً من بدء التجربة يوضح تجمع مواد في النبيبات و الكبيبات (الانجم) و تضخم محفظة بومان ويلاحظ اختفاء مساحة بومان. قوة التكبير X 400



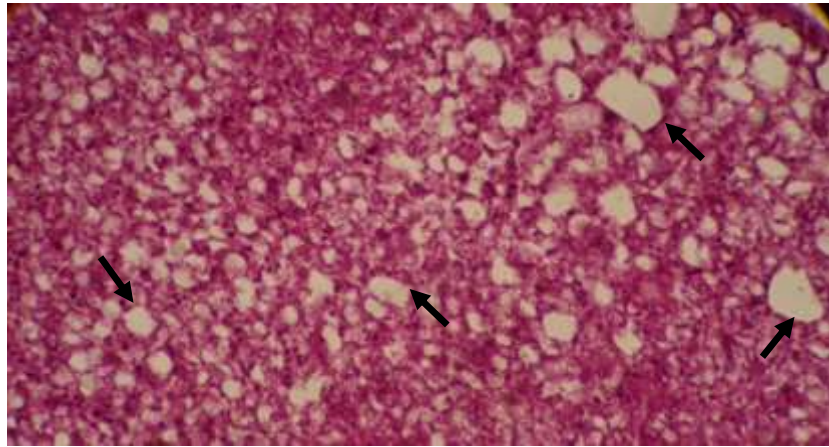
شكل 48) كبد اسماك المجموعة B بعد 70 يوماً من بدء التجربة يوضح تنخر الخلايا (الاسهم الغليظة) توسع واحتقان الوريد البابي الكبدي (الانجم) وانحراف النوية باتجاه الغلاف النووي (رؤوس الاسهم) و تجمع مواد غير حية (الاسهم النحيفة). قوة التكبير X 1000



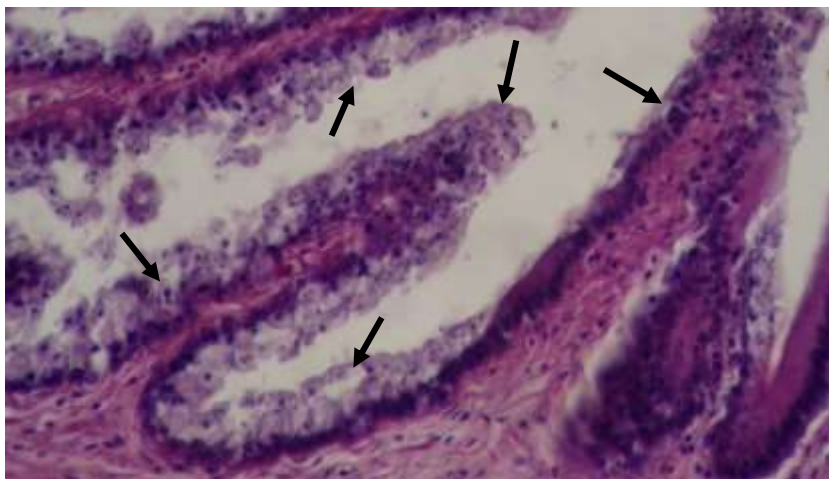
(الشكل 49) كبد أسماك المجموعة A بعد 80 يوم من بدء التجربة يوضح تليف (F) وتنخر الخلايا الكبدية (الأسهم) واحتقان اشباه الجيوب الكبدية (الانجم). قوة التكبير X 400



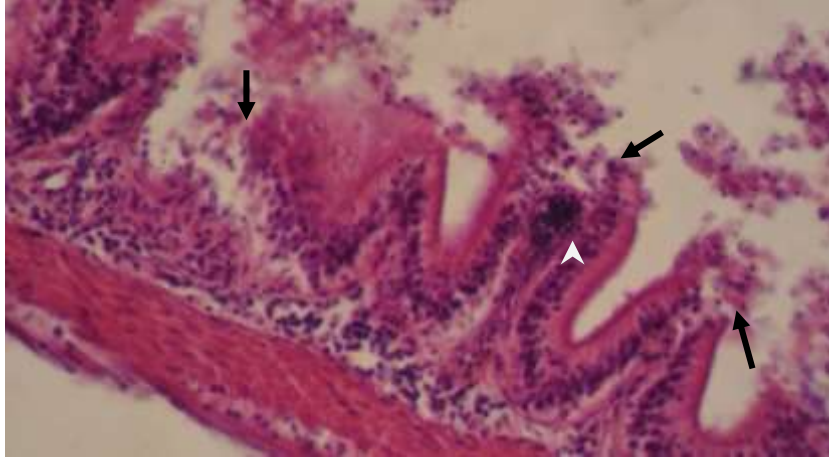
(الشكل 50) كبد اسماك المجموعة B بعد 80 يوماً من بدء التجربة يوضح تنخر الخلايا (الأسهم الغليظة) و تجمع مواد غير حية (الاسهم النحيفة) وانحراف النوية باتجاه الغلاف النووي (رؤوس الاسهم) وتوسع اشباه الجيوب الكبدية (الأنجم) . قوة التكبير X 1000



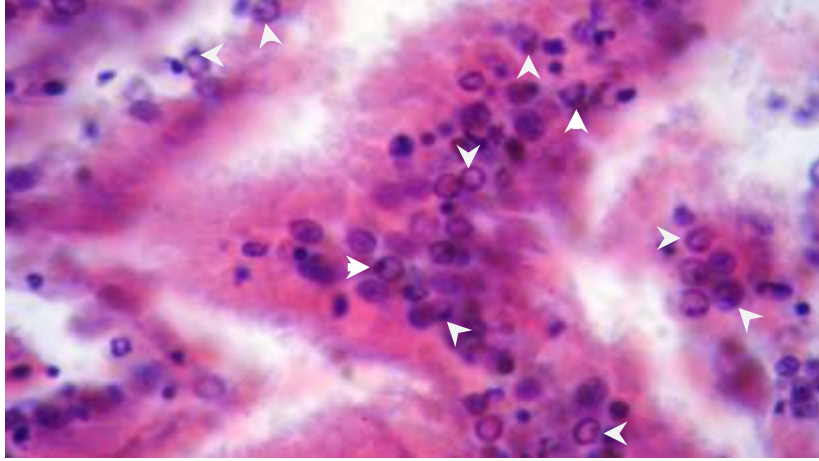
(الشكل 51) كبد أسماك المجموعة A بعد 80 يوماً من بدء التجربة يوضح تنكس وتنخر واسع لمعظم خلايا الكبد (يشبه مرض الكبد الكحولي alcoholic disease) (الأسهم). قوة التكبير X 400



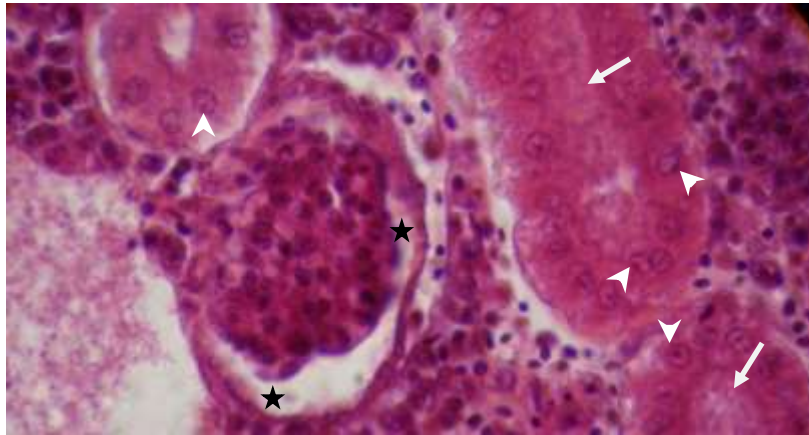
(الشكل 52) امعاء أسماك المجموعة A بعد 70 يوماً من بدء التجربة توضح تنخر النسيج الظهاري لبطانة الأمعاء(الاسهم) . قوة التكبير X400



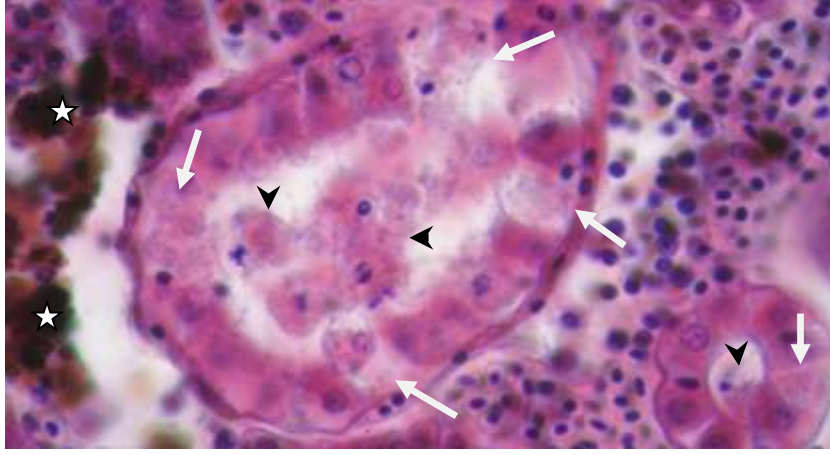
(الشكل 53) امعاء أسماك المجموعة A بعد 80 يوماً من بدء التجربة توضح تنخر النسيج الظهاري لبطانة الأمعاء (الاسهم) وارتشاح الخلايا الالتهابية في الصفيحة الاصبلة (رؤوس الاسهم) . قوة التكبير X400



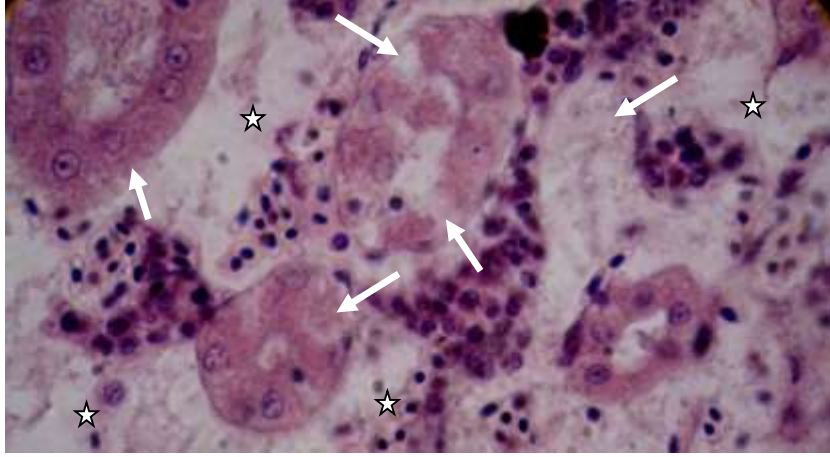
(الشكل 54) امعاء أسماك المجموعة B بعد 80 يوماً من بدء التجربة توضح انحراف النوية باتجاه الغلاف النووي وتكتل المادة الكروماتينية في محيط النواة (رؤوس الاسهم). قوة التكبير X1000



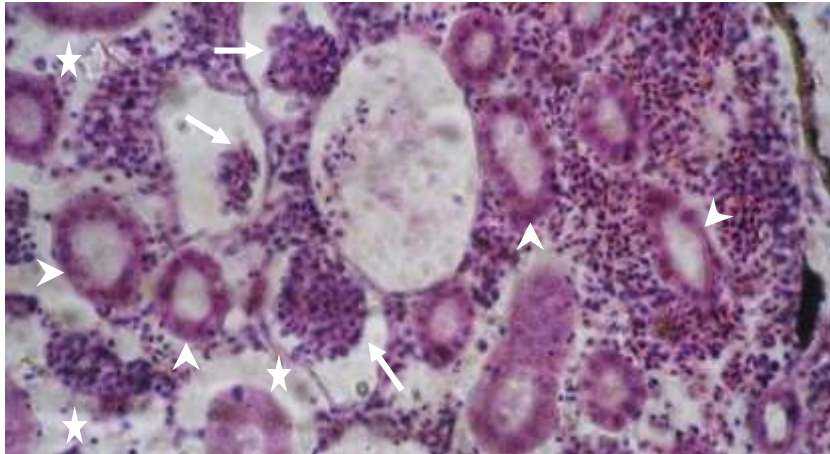
(الشكل 55) كلية أسماك المجموعة A بعد 70 يوماً من بدء التجربة توضح عدم انتظام مساحة بومان (الانجم) وانسلاخ خلايا النبيبات الكلوية وتجمعها في التجويف (الاسهم) وانحراف النوية باتجاه الغلاف النووي (الاسهم). قوة التكبير X 1000



(الشكل 56) كلية أسماك المجموعة B بعد 70 يوماً من بدء التجربة يوضح تنخر خلايا النبيبات الكلوية (الاسهم) وانسلاخ بعض خلاياها وتجمعها في تجويفها (رؤوس الاسهم) وتجمع مواد بنية اللون غامقة في النسيج المكون للدم (الانجم). قوة التكبير X 1000



(الشكل 57) كلية أسماك المجموعة A بعد 80 يوماً من بدء التجربة يوضح تنخر النبيبات الكلوية وتحلل بعضها (الاسهم) وتحلل النسيج المكون للدم (الانجم). قوة التكبير X 400



(الشكل 58) كلية أسماك المجموعة B بعد 80 يوماً من بدء التجربة يوضح توسع النبيبات الكلوية (رؤوس الاسهم) وتحلل الكبيبات (الاسهم) وتحلل النسيج المكون للدم (الانجم). قوة التكبير X 400

المناقشة

يضم جنس *Lyngbya* 65 نوعاً (Desikachary, 1959) إلا ان الدراسات لم تتناول إلا عدد قليل منها ، ويعد النوعين *Lyngbya majuscula* و *Lyngbya wollei* من أكثر الأنواع التي أجريت الأختبارات الحيوية عليها (Luesch et al., 2000; Carmichael, 1997). تم في الدراسة الحالية عزل الطحلب *Lyngbya martensiana* من البيئة المائية المحلية ، وتم تنقيته وتنميته واكثاره واجراء عملية الاستخلاص الكحولي عليه لفصل وتشخيص المركبات السامة بأستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز- طيف الكتلة . أثبت التحليل على أساس البيانات المتوفرة من جهاز GC-Mass أن المستخلص الكحولي الخام يحتوي على العديد من المركبات وأن العناصر الأساسية فيها هي المركب الفلويدي Thiourea trimethyl بمساحة مقدارها 3.44 % والمركب 7-Hexadecenoic acid, methyl ester بمساحة مقدارها 13.46 % وهو من الأحماض الدهنية غير المشبعة الذي يعد من مكونات الغشاء الخلوي في البكتيريا ذاتية التغذية السالبة لصبغة جرام ومنها الطحالب الخضراءمزرقة (www.caymanchem.com) والمركب Cyclohexasiloxane, dodecamethyl بمساحة مقدارها 79.87 % . تمتلك هذه المركبات الثلاث أكبر مساحة من المجموع الكلي لمساحة المركبات المشخصة بواسطة جهاز GC-Mass ومن المحتمل أنها سبب الفعالية الحيوية للطحلب إذ أن المركب الذي يعطي أكبر مساحة يعزى إليه سبب التأثير السام (Manilal et al., 2010) لذا تعد هذه المركبات هي السبب في التغيرات النسيجية المرضية التي حدثت في أعضاء سمكة *Xiphophorus helleri* . لقد ازدادت شدة التغيرات مع طول فترة تغذية الأسماك على الطحلب ولكلا المجموعتين A و B وقد سجلت دراسات أخرى وجود علاقة بين شدة التغيرات التي تحدث في الأحياء المختلفة ومنها الأسماك وطول فترة التعرض للمواد السامة (Pathan et al., 2010).

إن توسع واحتقان الأوعية الدموية الذي لوحظ في الأعضاء المدروسة وللفترات الزمنية المختلفة حدث كأستجابة ألتهابية (Weissman, 1992) للتأثير السمي للطحلب إذ تؤدي الألتهابات بشكل عام الى أحتقان الأوعية الدموية أما بسبب الأضطرابات التي تحدثها مسببات الألتهاب في الآليات التي تحافظ على المستوى الطبيعي لضغط الدم أو نتيجة حدوث الضرر في موقع الألتهاب نفسه (Mallat, 1985) , كما يعد أرتشاح الخلايا الألتهابية في الاعضاء المدروسة وتجمع السوائل بين الأنسجة المختلفة (وذمات) Oedema علامات أخرى على الأستجابة الألتهابية لتلك الانسجة للتأثير السمي للطحلب .

خلال العمليات الحيوية التي تجري في الأنسجة المختلفة وخلاياها من عمليات أمتصاص absorption وتوزيع distribution وطرح المواد elimination فإن السموم الداخلة الى الجسم سوف تواجه في البدء أغشية الخلايا وعضياتها قبل أن تصل الى أهدافها وبالتالي فإن تلك الأغشية تعد عائقاً أمام المواد السامة لحماية الخلايا وخلال ذلك ممكن أن تحدث السموم تغيرات في تركيب تلك الأغشية مسببة تغيراً في وظيفتها (خلل وظيفي) Dysfunction ولاسيما عمليات النقل عبر الأغشية (Hodgson, 2004) لذلك فإن الأنتفاخ Swelling الذي لوحظ في خلايا الأعضاء المدروسة كما في الخلايا الظهارية للأمعاء والنبيبات الكلوية و خلايا الكلورايد ربما يدل على تغيرات في نفاذية الغشاء البلازمي في تلك الخلايا أما بفعل طبيعة مركبات الطحلب أو بفعل

ارتباط تلك المركبات مع بروتينات أغشية الخلايا وتسببها بتغيير وظيفة تلك الأغشية (Stevens *et al.*, 2009) ومن المعروف أن تغيير نفاذية الأغشية أو تضررها ممكن أن يؤدي بالنتيجة النهائية الى أضرار أكبر تصل الى موت الخلايا (Levison *et al.*, 2008) الأمر الذي يفسر كثرة مساحات الأنسجة في الأعضاء المدروسة التي تعاني من التنخر في الفترات المتأخرة من التجربة .

يعد الكبد من أهم أعضاء الجسم تحسناً للسموم كونه يمثل عضو الأيض الرئيس للعديد من المواد السامة الداخلة لجسم الكائن الحي (Hinton, 2001) لذا تظهر عليه تنوع التأثيرات النسجية المرضية كلما ازدادت شدة تلك السموم وفاقته حد قدرته على التخلص منها , أن زيادة خلايا كوبفر Kupffer و الملتهمات الخلية Macrophage التي لوحظت في نسيج الكبد دليلاً واضحاً على الاستجابة الألتهايبية للسموم الطحلبية وتأثيراتها التي تمثلت بموت الخلايا لاسيما في الفترة الأخيرة من التجربة إذ ظهرت مساحات خالية من الخلايا ومن المعروف أن دور الخلايا الألتهايبية وخلايا كوبفر هو لأزالة الخلايا التالفة وتنظيف النسيج من بقايا تلك الخلايا وكرد فعل طبيعي لذلك التأثير الكبير فأن النسيج الكبدي يملأ الفراغات التي تكونت بفعل موت الخلايا بالنسيج الليفي (Stevens *et al.*, 2009) وتشير بعض الدراسات الى أن التعرض للسموم يؤدي الى حدوث تنكس في الخلايا الكبدية لفشل في تمثيل البروتين وتراكمه فيها (Thophon *et al.*, 2003) أو بسبب تثبيط المواد السامة عملية تصنيع البروتين من خلال تأثيره على أنزيم البروتين فوسفاتيز (Theiss *et al.*, 1988) ومع استمرار حدوث الألتهايبات ازدادت شدة التغيرات لتصاب الخلايا الكبدية بالتنخر الذي شمل مساحات واسعة من الكبد في الفترات المتأخرة من التجربة (Curran and Crocker, 2000). ان ظهور المواد البنية في برنكيما الكبد ربما تعود الى أنسداد القنوات الصفراوية وقنيتها بفعل المواد السامة أو بفعل تحطم خلايا الكبد مما أدى الى حدوث الألتهايبات في مواقع الانسداد .

أن أزاحة النوية وتضخم بعضها وتكثف المادة الكروماتينية في محيط النواة قرب الغلاف النووي في الاعضاء المدروسة ربما تحدث بسبب ارتباط المواد السامة مع الحوامض النووية DNA و RNA مسببة تقطعها (Hawkins *et al.*, 1997; Chorus *et al.*, 2000)

أن المواد التي تجمعت في السايوبلازم القمي بشكل غير طبيعي في بطانة الأمعاء ربما تمثل خلايا مخاطية Goblet cells وبفعل التأثير السمي للطحلب أصبحت هذه الخلايا غير قادرة على إطلاق محتوياتها المخاطية أما بسبب تغيرات في الغشاء أو تغيرات في طبيعة المواد ومثل هذه الحالة المرضية التي تصيب الخلايا المخاطية يطلق عليها (Curran) mucoid degeneration (and Crocker, 2000).

ان الكلية واحدة من الأعضاء التي تتأثر بتلوث المياه (Thophon, *et al.*, 2003) إذ تعمل على تصفية الدم الحامل للسموم وتزداد كمية السموم فيها خلال نفس الفترة التي يحدث فيه تضرر للكبد (Falconer *et al.*, 1983) وحصلت العديد من التغيرات النسجية المرضية في الكلية فقد لوحظ تنخر خلايا النبيبات الكلوية وتحلل بعضها بالكامل والذي قد يحدث بسبب تحطم الهيكل الساند للخلايا بفعل تثبيط الأنزيمات الخاصة بها بفعل التأثير البالغ للسموم . وتعمل هذه السموم على تثبيط تصنيع البروتين بواسطة الأرتباط إلى الحوامض النووية DNA و RNA مؤدية

الى تقطيعها (Chorus *et al.*, 2000 ; Hawkins *et al.*, 1997). كذلك من التغيرات تنكس خلايا النيببات وتغيرات في الكبيبات أذ أن التغيرات التي لوحظت في الكلية تجعلها غير قادرة على تادية وظائفها بشكل طبيعي وهذا يعني حدوث خلل في وظائف الكلية قد يمثل ما يسمى الفشل الكلوي Renal failure (Bahatngar *et al.*, 2007) ومن تلك التغيرات التي لوحظت في المقاطع النسجية وتشير الى الفشل الكلوي أنسداد النيببات الكلوية بمواد غير حية التي قد تكون عبارة عن كالسيوم تم تكديسه فيها بسبب تثبيط إعادة امتصاصه أو طرحه خارج الجسم وهو مشابه لتكوين الحصى في اللبائن (Curran and Crocker, 2000) وربما تكون عبارة عن أميلويد amyloid وهو بروتين تفرزه الخلايا نتجة تضررها (Karp, 2010), أن الضرر الذي يصيب النيببات الكلوية قد يؤدي الى انسلاخ Sloughing خلاياها وتجمع هذه الخلايا المنسلخة في تجويف النيببات . كما ظهر أختفاء مساحة بومان المحيطة بالكبيبات وربما يكون فرط تنسج في خلايا المسراق Mesangial cell في الكبيبات هو السبب في أختفائها . أما المواد البنية التي ظهرت في النسيج المكون للدم ربما تمثل مراكز ملتهمات خلايا الميلانين وتعد هذه الحالة شائعة في بعض الأسماك ومنها *Salmo trutta* و *Oreochromis mossambicus* المعرضة لكلوريد الزئبق (Handy and Penrice, 1993) والأسماك الأخرى المعرضة للملوثات العضوية (Pacheco and Santos, 2002).

المصادر

- AL-Aarajy, M. (1996) . Studies on the mass culture of some microalgae as food for fish larvae, PH.D Thesis ,Univ. of Basrah . 107 p.
- Al-Mousawi, A. H.; Hadi, R. A.; Kassim, T. I and Alaami, A. A. (1999). A study on the algae in the Shatt Al-Arab estuary, southern Iraq. Marine Mesopot. 5 (2): 303-305.
- Arthur, K., C. Limpus, G. Balazs, A. Capper, J. Udy, G. Shaw, U. Keuper-Bennett, and P. Bennett. (2008a). The exposure of green turtles (*Chelonia mydas*) to tumour promoting compounds produced by the cyanobacterium *Lyngbya majuscula* and their potential role in the a etiology of fibropapillomatosis. Harmful Algae 7:114–125.
- Bahatnagar, C.; Bhatnagar, M. and Regar, B.C.(2007).Flour., 40-55.
- Berry, J. P., M. Gantar, M. H. Perez, G. Berry, and Noriega, F. G. (2008). Cyanobacterial toxins as allelochemicals with potential applications as algaecides, herbicides and insecticides. Mar. Drugs 6:117–146.

- Blunt, J. W., and. Munro, M. H (2008) (ed.). Dictionary of marine natural products with CD-ROM. Chapman & Hall/CRC, Boca Raton, FL. Branching and Phototrophic Bacteria. Springer - Verlag, NY. 1, 473- 597
- Carmichael , W.W. (1994) . The toxin of the cyanobacteria . J. Sci. Am. 270 : 78 - 86 .
- Carmichael , W.W. (1997). The Cyanotoxins. Adv. Bot. Res., 27:211-256.
- Castenholz, R.W. (2001) .Cyanobacteria *et al.* In : Boone, D.R., Castenholz, R.W., and Garrity, G.M. (Eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Ed., The Archaea and the Deeply
- Chorus , I. and Bartram , J. (1999) . Toxic cyanobacteria in water : a guide to their public health consequences , Monitoring and management. London : E& FN Spon: 41-111.
- Chorus, I.; Falconer , I. R.; Salas, H. J. and Bartram, J. (2000). Health caused by freshwater cyanobacteria in recreational water. J. Toxicol. and Environ. Heal., 3: 323–347.
- Cox, P. A.; Banack, S. A.; Murch, S. J.; Rasmussen, U.; Tien, G.; Bidigare, R. R.; Metcalf, J. S.; Morrison, L. F.; Codd, G. A. and Bergman, B. (2005) . Cyanobacteria produce beta-N-methylamino- methylamino -alanine, a neurotoxic amino acid. Proc. Natl. sci. USA: 102:5074-5078.
- Curran, R.C. and Crocker, J. (2000). Curran's atlas of histopathology, 4th revised edition, Harvey Miller Publishers Oxford University Press. P 288.
- Desikachary, T. U. (1959). Cyanophyta. Indian council of Agricultural research , New Delhi , 517 pp distributed cyanobacterial genus *Planktothrix*. Environ Microbiol, 7: 1667-1669
- Epply, R. (1977). The growth and culture of Diatoms. 24-64. In(ed. Wanner,D) the biology of Diatoms. Botanical.
- Falconer, I.R. ; Beresford , A.M. and Runnegar, M.T.C. (1983) . Evidence of liver damage by toxin from a blood of the blue - green algae *Microcystis aeruginosa* . Med. J. Aust., (1): 511-514.

- Falconer, I.R. (1998). Algal toxin and human health . In :The handbook of environmental chemistry. eds.: J. Hrubec, Vol. 5., Part c ,Quality and treatment of Drinking water II. Springer-verlag ,Berlin , p. 53 – 82.
- Falconer, I. R. (2005). Cyanobacterial toxins of drinking water supplies: cylindrospermopsins and microcystins. Boca Raton: CRC Press
- Fogg, G.E.(1975).Algal culture and phytoplankton ecology.2nd ed. Univ. Wisconsin Press, Wisconsin , USA., 175 PP .
- Handy, R.D. and Penrice,W.S.(1993). Biochem. Physiol., 106, 717.
- Hawkins, P.R.; Chandrasena, N.R.; Jones, G.J.; Humpage, A.R. and Falconer, I.R. (1997). Isolation and toxicity of *Cylindropermopsis raciborskii* from an Ornamental lake. Toxicon, 35: 341-346.
- Hinton, D.E.; Segner, H. and Braunbeck, T.(2001). Toxic responses of the liver. In: Schlenk, D., Bensen, W.H. (Eds.), Organs. In: Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts, vol. 1. Taylor & Francis, London, pp. 224–268.
- Hodgson, E. (2004). Textbook of modern toxicology 3rd, Carolina state.
- Humason, G. L. (1972). Animal tissue techniques. 3rd ed. W. H. Freeman and company, Son Fran. 614 p.
- Karp, J. E. (2010). Amyloidosis Diagnosis and Treatment. Rochester: Humana,. Online Source.
- Levison, D. A.; Reid, R.; Harrison, D.J. and Fleming, S. (2008). Muirs text book of pathology . 4th ed.,Hodder Arnold, P 570.
- Luesch, H.; Yoshida, W.Y.; Moore, R.E.; Paul, V.J. and Mooberry, S.L. (2000). Isolation, structure determination, and biological activity of Lyngbyabellin A from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. J Nat Prod 63:611–615.

- Mallat, J., (1985). Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A statistical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42: 630–648.
- Manilal, A.; Sujith, S.; Seghal, G. and Seven, M. V. (2010). Evaluation of seaweed bioactives on common aquatic floral and faunal weeds of shrimp ponds. *Int. J. Marine Sci.*, 27 (1): 47-56.
- Osborn, N.J.; Webb, P.M. and Shaw, G.R. (2001). The toxins of *Lyngbyamajuscula* and their human and ecological health effects. *Environ Int* 27(5):381–392.
- Pacheco, M. and Santos, M. A. (2002). *Ecotoxicol. Environm. Safe.*, 53-331.
- Pathan, T.S.; Thete, P.B.; Shinde, S.E.; Sonawane, D.L. and Khillare, Y.K. (2010). Histopathological changes in the Gill of Freshwater Fish, *Rasbora daniconius* Exposed to Paper Mill Effluent. *Iranian Journal of Energy & Environment.* 1 (3):170-175
- Paul, J.; Scholin, C.; van den Engh, G. and Perry, M.J. (2007). A sea of microbes. In situ. instrumentation. *Oceanogr.* 2(2): 70-78.
- Pearson, L.; Mihali, T, Moffitt M.; Kellmann, R.and Neilan, B. (2010). On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins,microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin. *Mar Drugs*, 8: 1650-1680
- Rastogi, R. P. and Sinha, R. P. (2009). Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites. *Biotechnology Adv*, 27: 521- 539.
- Rohrlack, T.; Christoffersen, K. and Friberg-Jensen, U. (2005). Frequency of inhibitors of daphnid trypsin in the widely .
- Shaw, G. and Lam, P.K.S.(2007).Health aspects of freshwater cyanobacterial toxins. *Water Sci. Technol. Water Supply*, 7, 193–203.
- Soil and Water, (2005). The blue green algae (Cyanobacteria). (www.Lakes.chebucto.org/cyano.html).
- Stanley, S.M. (2004). *Earth System History*, 2nd ed.; WH Freeman & Co.: New York, NY, USA,; p. 263
- Stein, J.R. (1973). *Handbook of phycological method.* Cambridge University pres . Cambridge .UK. 448 p.

- Stevens, A.; Lowe, J. and Scott, I. (2009). Core pathology . 3th ed. Mosby elsvier, 632 P.
- Tan, L. T. (2007). Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery. *Phytochemistry*, 68: 954-979.
- Teneva, I.; Dzambazov, B.; Koleva, L.; Mladenova, R. and Schir, K. (2005). Toxic potential of five fresh water Phormidium species (Cyanobacteria). *Toxicon.*, 45(6): 711-725.
- Theiss, W.C.; Carmichael , W.W.; Wyman , J. and Bruner, R. (1988). Blood pressure and hepatocellular effects of the cyclic hepatopeptide toxin produced by the fresh water cyanobacterium (blue - green algae) *Microcystis aeruginosa* strain Kc - 7820 . *Toxicon .*, 26 (7) : 603 - 613 .
- Thophon, S.; Kruatrachue, M. Upthan, E. S.; Pokethitiyook, P. Sahaphong, S. and Jarikuan, S. (2003). Environ. Pollu., 121, 307. toxins. In: Botana, LM, editor. Seafood and freshwater toxins: pharmacology, physiology, and detection. New York: Marcel Dekker. p 19–43.
- Van Dolah, F.M. (2000). Diversity of marine and freshwater algal
- Weideman, V.E.; walne, P.R. and Tainor, F.R. (1984). A new technique for obtaining axenic cultures of algae . *Can. J. Bot.*, 42:958 -959 .
- Weissman, G.(1992). Inflammation :historical perspective. In Gallin, J.I *et al.*, (eds): Inflammation: Basic principles and clinical correlates, 2nd ed. New York. Ravenpress, pp. 5-13.
- www.caymanchem.com. Cayaman Chemical.
- Yin, Q.; Carmichael, W.W. and Evans, W. (1997). Factors influencing growth and toxin production by cultures of freshwater cyanobacterium *Lyngbya wollei* Farlow ex Gomant. *J. Appl. Phyco.*, 9: 55-63.
- العلي , علي عبد اللطيف عبد الحسن (2009). التغيرات المرضية النسجية لأسماك المولي الاسود *poecilia sphenops* واجنتها المعرضة لتركيز مؤثر (تحت مميت) من عنصر الكاديوم . مجلة ابحاث البصرة (العلميات) العدد 35 الجزء 6.

Histopathological effects of toxic alga *Lyngbya martensiana* Menegh. ex Gomont on liver, intestine and kidney of fish *Xiphophorus helleri*

Ahmed M. A. Al-jaafar Yusra T. Y. Al-Rudainy Ali A .A. Al-Ali

Biology dept. / College of Education for pure sciences / Basrah university

Abstract

Blue green algae *Lyngbya martensiana* was isolated from Shatt Al-Arab /Basra government / Iraq and determination of its toxic effects on fish *Xiphophorus helleri*. The toxic compounds were isolated and identified by using gas chromatography - mass technique (GC- Mass). These compounds were cyclohexasiloxane, dodecamethyl compound, Alkaloid compound Thioura trimethyl and unsaturated fatty acid 7-Hexadecenoic acid and the. Fishes fed on algae for successive periods starting from five days and continued to 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70 and 80 days . The toxic effects of algae were determined on the liver, intestine and kidneys of fish for each period separately through tissue sections.. The histological sections showed that this algae caused clear histopathological changes in the liver, intestine and kidneys. The intensity and diversity of these changes became more obvious with long-lasting of feeding period.

Histopathological changes in the liver represented by degeneration in cytoplasm of hepatocytes and aggregation of non-living materials in them. Fibrosis , infiltration of inflammatory cells , occurrence hypertrophy in some hepatocytes and their nucleoli appear peripheral position , aneurism and congestion of most sinusoid were detected. Consequently, these changes leads to necrosis and fibrosis in hepatocytes during the late periods of the experiment. The necrosis in intestine was the most significant histological changes which appeared evidently in large areas of the lining epithelial combined with of chloride cells aggregation in the intestinal wall and aggregation of non-living substances in cytoplasm of epithelial cells lining. The lamina propria of connective tissue underwent from lyses and infiltration of inflammatory cells as well as oedema was observed. In kidney , the histopathological changes represented by degeneration in lining epithelial tissue of renal tubules and swelling in some of them and

necrosis in other. There was an increase in the number of mast cells in hematopoietic tissue in addition to its analysis in glomerules. Atrophy and hyperplasia was also seen and irregularity of Bowman's space

Keywords: Blue green algae *Lyngbya martensiana*,
Histopathological effects , *Xiphophorus helleri*