

ارزیابی اثر آلودگی خوریات ماهیان بر کبد ماهیان شانک زردباله (*Liza abu*) با استفاده از بیومارکر هیستوپاتولوژی

چکیده

زهرا سلیمانی^{*}
نگین سلامات^۲

۱. دانشگاه علوم و فنون دریایی، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشجوی کارشناسی ارشد زیست دریا، خرمشهر، ایران
۲. دانشگاه علوم و فنون دریایی، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، استادیار گروه زیست دریا، خرمشهر، ایران

* مسئول مکاتبات:

tanin506@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۴/۲۴

خور موسی یکی از مهم‌ترین اکوسیستم‌های دریایی در جنوب ایران است که مکانی برای تخم‌گذاری بسیاری از آبزیان بوده و به دلیل وجود صنایع مختلف در اطراف این بخش از خلیج فارس، توجه بسیاری را به خود جلب کرده است. در تحقیق حاضر از تعییرات پاتولوژیکی کبد به عنوان یک بیواندیکاتور برای بررسی اثرات آلاینده‌های خور موسی در دو گونه ماهی شانک زردباله و بیاح استفاده گردید. ۵۰ قطعه ماهی شانک زردباله و ۵۰ قطعه ماهی بیاح از پنج استنگاه در خور موسی شامل پتروشیمی، جعفری، اسکله نفتی مجیدیه، غزله و زنگی در ۱۳۸۹ نمونه برداری شدند. نمونه‌های کبد از مراحل مختلف تهیه مقاطع باقی شامل فیکس کردن، قالب‌گیری در پارافین و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و افوزین عبور داده شدند. مهم‌ترین تعییرات پاتولوژیکی مشاهده شده در بافت کبد شامل واکوئوله شدن هپاتوسیت‌ها، افزایش تجمعات ملانوماکروفازی، هیپرتروفی هسته، نکروز سلول‌های کبدی، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس، خونریزی در بافت کبد بود. شاخص تعییرات هیستوپاتولوژی براساس فراوانی ضایعات بافتی مشاهده شده در کبد هر دو گونه ماهی در هر استنگاه تعیین شد. میزان شاخص تعییرات میتوپاتولوژی (HAI) بافت کبد در استنگاه پتروشیمی در هر دو گونه ماهی به طور معنی‌داری از سایر استنگاه‌ها بیشتر بود ($P < 0.05$). احتمالاً به دلیل وجود صنایع متعدد پتروشیمی اطراف این بخش از خور است که روزانه مقدار زیادی از آلاینده‌ها را از قبیل مواد شیمیایی و فلزات سنگین به آن مکان تخلیه می‌کنند. مهم‌ترین مقدار HAI در هر دو گونه در خور زنگی مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: هیستوپاتولوژی، کبد، خور موسی، *Achanthopagrus latus*, *Liza abu*

منابع مختلفی به محیط زیست وارد شده، سپس از طریق فاضلاب‌ها، باران و آب‌های زیرزمینی، در سرتاسر ستون آب و رسوبات زیرین پراکنده می‌شوند. موجودات زنده مورد استفاده جهت تغذیه ماهیان، از طریق تماس با آب یا رسوب و یا مواد غذایی آلوده می‌شوند. ماهیان مواد شیمیایی را از طریق تغذیه با مواد غذایی آلوده و تماس سطوح تنفسی و پوست خود با آب آلوده، دریافت می‌کنند. مواد شیمیایی تجمع یافته در سراسر بدن ماهی پخش شده و برخی از این مواد شیمیایی به مکان اصلی عملکرد خود دست یافته و اثرات سمی خود را ایجاد می‌کنند (Giulio and Hinton, 2008).

مقدمه

توسعه و گسترش قابل توجه صنایع، کشاورزی و تجارت از اواخر دهه قرن بیستم با افزایش روزافزون تخلیه مواد شیمیایی به محیط‌های آبی و اثرات زیان‌آور ناشی از این مواد بر موجودات آبزی همراه بوده و در حال حاضر آلودگی اکوسیستم‌های آبی مسائلهای جدی و در حال رشد است (McGlashan and Hughes, 2001). شرایط محیطی اکوسیستم‌های دریایی پایدار نبوده و فعالیت‌های آنتروپوژنیک دارای تأثیر زیادی بر این محیط‌ها می‌باشد (Vinodhini and Narayanan, 2009).

خوریات ماهشهر موسوم هستند. خور موسی همواره در معرض تهدید آلاینده‌های نفتی، فلزات سنگین معمول در ترکیبات نفت خام، پساب‌های صنایع پتروشیمی مجاور و پساب‌های شهری قرار داشته است. به علت خطرات بالایی که آلاینده‌ها برای سلامت اکوسیستم منطقه دارا می‌باشند، به دست آوردن برآورده از میزان آلودگی آبزیان به ویژه ماهیان منطقه به این نوع آلاینده‌ها بسیار مهم می‌باشد. بنابراین با توجه به ارزش غذایی ماهی شانک زرد باله و ماهی بیاح و بازار پسند بودن این ماهیان تجارتی در جنوب کشور، تحقیق حاضر با هدف استفاده از پارامترهای پاتولوژیکی جهت بررسی تاثیر آلودگی محیطی بر این ماهیان صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر، نمونه‌برداری در ۵ ایستگاه در خور موسی شامل خورهای مجیدیه، غزاله، پتروشیمی، جعفری و زنگی در سال ۱۳۸۹ انجام شد. موقعیت جغرافیایی و ویژگی‌های ایستگاه‌های نمونه‌برداری در شکل ۱ آمده است. لازم به ذکر است که گناوه‌جهت مقایسه با ایستگاه‌های مورد مطالعه جمع‌آوری گردید. عملیات نمونه‌برداری در مهر ماه ۱۳۸۹ توسط قایق صیادی صورت گرفت. از هر ایستگاه ۱۰ قطعه ماهی شانک زردباله و ۱۰ قطعه ماهی بیاح توسط قلاب صید گردید. حتی المقدور سعی شد ماهی‌ها هماندازه باشند. در هر بار نمونه‌برداری پس از بیهودش کردن ماهیان با عصاره گل میخک گل میخک (۱/۰ گرم بر لیتر) بیهودش شدند (Hedayati et al., 2011).

وزن هر ماهی به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و طول کل بدن با استفاده از تخته بیومتری با دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت شد. برای نمونه‌گیری از کبد، قطعاتی به ابعاد ۵/۰ سانتی‌گراد جدا کرده و با ذکر نام ایستگاه و شماره هر ماهی، درون ظروف شیشه‌ای دردار مجزا و حاوی محلول ثبوت بوئن قرار داده شد.

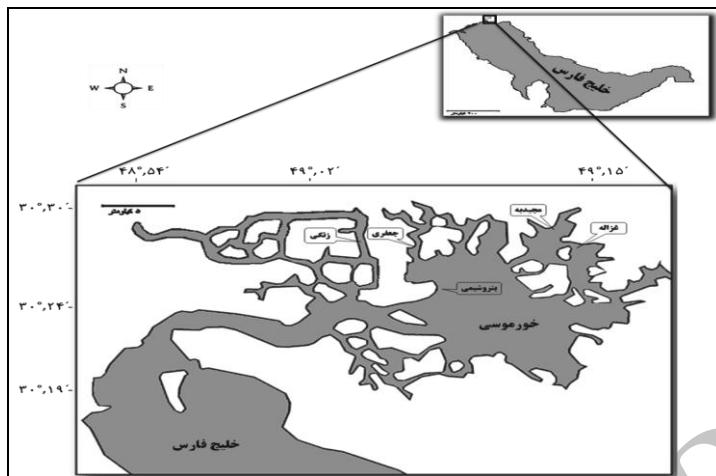
مطالعات میکروسکوپیک، تعییرات بافتی شدیدی را در اندام‌های نظیر آبشش، کلیه و کبد ماهیانی که در معرض آلاینده‌های Oliveira Ribeiro (et al., 2002; Devlin, 2006; Mela et al., 2007) بنابراین به نظر می‌رسد مطالعات هیستوپاتولوژیک ابزار مناسبی جهت بررسی اثر آلاینده‌های محیطی بر ماهی می‌باشد (Teh et al., 1997).

کبد ماهی اندامی بسیار مهم جهت مطالعات سمتناستی می‌باشد. کبد دارای نقش مهمی در ختنی کردن و دفع سموم و تبادلات زیستی بوده و به همین دلیل مستعد ابتلا به آسیب‌های پاتولوژیکی و متابولیکی فراوانی است (Camargo and Martinez, 2007). نقش متابولیکی کبد با موقعیت منحصر به فرد آن در سیستم گردش خون مرتبط است. این مکان و موقعیت کبد دلیل اصلی اهمیت آن در جذب، ذخیره سازی، متابولیسم، توزیع مجدد و دفع مواد سمی محیطی است و باعث می‌شود که کبد به عنوان یک اندام هدف مهم برای مواد سمی و آلاینده‌ها مطرح باشد. فرآیندهای جذب و دفع دو فاکتور مهم در متابولیسم فلزات سنگین و مطالعات آلاینده‌های فلزی می‌باشند (Giulio and Hinton, 2008).

ماهی شانک زردباله یک گونه هرmafrodیت پروتاندروس است (Hesp et al., 2004). این ماهی در نزدیک کف ساکن بوده و محیط زیست آن آبهای کم عمق (۵۰ متری) می‌باشد. این ماهی شکارچی، از نظر عادت غذایی گوشتخوار بوده و از سختپستان، نرمستان، خارپستان و کرم‌ها تغذیه می‌کند (Nelson, 1994; Platell et al., 2007).

ماهی بیاح در مناطق ساحلی دریا زیست کرده و وارد مصب‌ها و آب شیرین می‌شود. از لحاظ رژیم غذایی ماهی پوسیده‌خوار بوده و عموماً از دیتریت‌ها و موجودات کوچک موجود در شن و گل بستر تغذیه می‌کند (Sattari et al., 2004).

خور موسی در شمال غرب خلیج فارس و در سواحل استان خوزستان واقع شده است. سواحل استان خوزستان حدوداً دارای ۲۶ خور اصلی است که عمدتاً در خور موسی واقع شده‌اند و یک شبکه پیچیده مهم آبی را در این ناحیه ایجاد نموده که به نام



شکل ۱: نقشه منطقه مورد مطالعه و ایستگاه‌های نمونه برداری در خورموزی (سال ۱۳۸۹)

- ۱: هیچ‌گونه تغییرات بافتی صورت نگرفته است.
- ۲: تغییرات بافتی اندکی: تغییراتی باشد و وسعت محدود و جزئی که قابل بازسازی و ترمیم بوده و بافت عملکرد طبیعی خود را با بهبود شرایط محیطی باز می‌یابد.
- ۳: تغییرات بافتی متوسط: تغییراتی شدیدتر که عملکرد طبیعی بافت را متاثر می‌کنند. این تغییرات اگرچه برگشت‌پذیر هستند، اما اگر محدوده وسیعی از بافت را درگیر کرده باشند و یا این که شرایط آلودگی محیط همچنان ثابت باقی بماند، می‌توانند به تغییرات شدیدی منجر شوند.
- ۴: تغییرات بافتی شدید: تغییراتی که ترمیم آن‌ها حتی در صورت بهبود شرایط محیطی، امکان پذیر نیست.

سایر مراحل معمول پاساز بافتی با استفاده از دستگاه پاساز بافتی تحت برنامه زمان‌بندی شده در آزمایشگاه تحقیقات بافت‌شناسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر صورت گرفت. آب‌گیری بافت‌های تثبیت شده در بوئن، توسط سری افزایشی اتانول (۷۰، ۸۰ و ۹۰ درصد) انجام و نمونه‌های بافتی پس از شفاف‌سازی توسط گزیلول پارافینه شدند. سپس از نمونه‌ها برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و با استفاده از رنگ هماتوکسیلین و اوزین رنگ آمیزی گردید (Bancroft and Gamble, 2002). بهمنظور ارزیابی نتایج پاتولوژیک، تغییرات هیستوپاتولوژیکی مشاهده شده در بافت کبد هر دو گونه ماهی براساس رده‌بندی انجام شده توسط Martinez و Camargo (۲۰۰۷) از درجه صفر تا سه دسته بندی شدند (جدول ۱):

جدول ۱: تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد (Camargo and Martinez, 2007)

مرحله آسیب	تغییرات هیستوپاتولوژیکی کبد
I: تغییرات بافتی اندک	هیپرتروفی هسته، هسته‌های با اشکال نامنظم، هیپرتروفی سلولی، واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها، قرارگرفتن هسته در موقعیت جانبی، نفوذ لوکوسیتی، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس
II: تغییرات بافتی متوسط	واکوئله شدن هسته، دُزنه شدن سیتوپلاسم، افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی، احتقان خون
III: تغییرات بافتی شدید	نکروز، دُزنه شدن هسته، خونریزی

ارزیابی اثر آلدگی خوریات ماهشهر بر کبد ماهیان شانک زردباله (*Achanthopagrus latus*) و ...

سلول‌های کبدی قرار داشتند. هپاتوسیت‌ها به شکل سلول‌های چندوجهی دارای هسته بزرگ روشن با هستک مشخص و سیتوپلاسم کاملاً اسیدوفیلی قابل مشاهده بودند. عوارض هیستوپاتولوژیکی مشاهده شده در ایستگاه پتروشیمی در کبد ماهی شانک زردباله نسبت به سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود. این عوارض شامل واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها، هیپرتروفی هسته، نکروز سلول‌های کبدی، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس، خونریزی در بافت کبد، افزایش تجمعات ملانوماکروفازی و هیپرتروفی سلولی بودند. همین خایعات با شدت و وسعت کمتری در ایستگاه جعفری مشاهده شدند. عمده‌ترین خایعات مشاهده شده در ایستگاه‌های مجیدیه و غزاله شامل واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها، اتساع سینوزوئیدها و اتساع فضای دیس بود. واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها تنها عوارض مشاهده شده ایستگاه زنگی بود (شکل ۲).

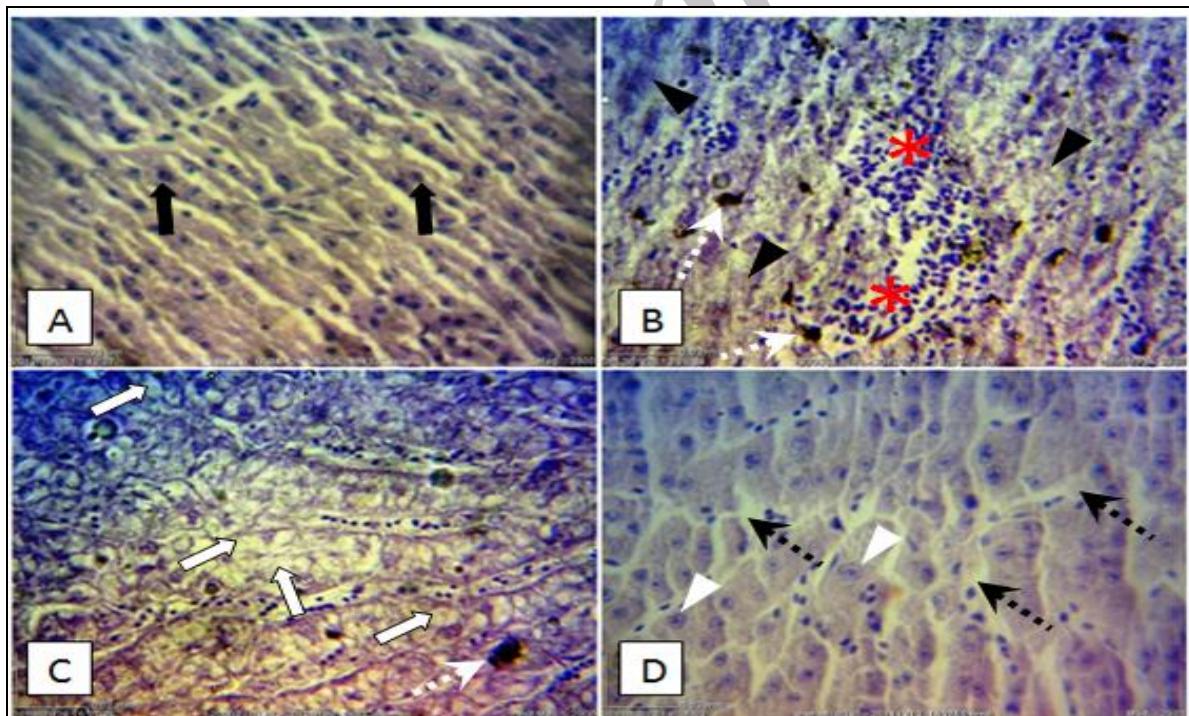
فرمول زیر جهت تعیین شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI) هر بافت استفاده شد (Camargo and Martinez, 2007):

$$HAI = (1 \times SI) + (10 \times SII) + (100 \times SIII)$$

در این فرمول I, II و III مراحل تغییرات بافتی و S به تعداد تغییرات بافتی هر مرحله را نشان می‌دهد. مقدار HAI بین ۰ تا ۱۰ نشان‌دهنده عملکرد طبیعی اندام، ۱۱ تا ۲۰ نشان‌دهنده آسیب اندک به اندام مورد نظر، ۲۱ تا ۵۰ نشان‌دهنده تغییرات متوسط اندام و بیشتر از ۱۰۰ نشان‌دهنده آسیب برگشت ناپذیر اندام می‌باشد (Camargo and Martinez, 2007).

نتایج

بافت کبد جداشده از ماهیان شاهد زردباله و بیاح شاهد فاقد خایعات بافتی بود. در لوبول‌های کبدی هپاتوسیت‌ها (سلول‌های کبدی) به شکل صفحاتی با آرایش شعاعی در اطراف یک ورید مرکزی دیده شد و سینوزوئیدهای کبدی در فاصله میان صفحات



شکل ۲: تصاویر میکروسکوپ نوری تغییرات بافتی کبد ماهی شانک زردباله (*Achanthopagrus latus*) در خورموسی (سال ۱۳۸۹)

A: ساختار بافتی طبیعی کبد در ماهی شانک زردباله شاهد: هپاتوسیت‌ها دارای هسته بزرگ روشن با هستک مشخص (پیکان سیاه)

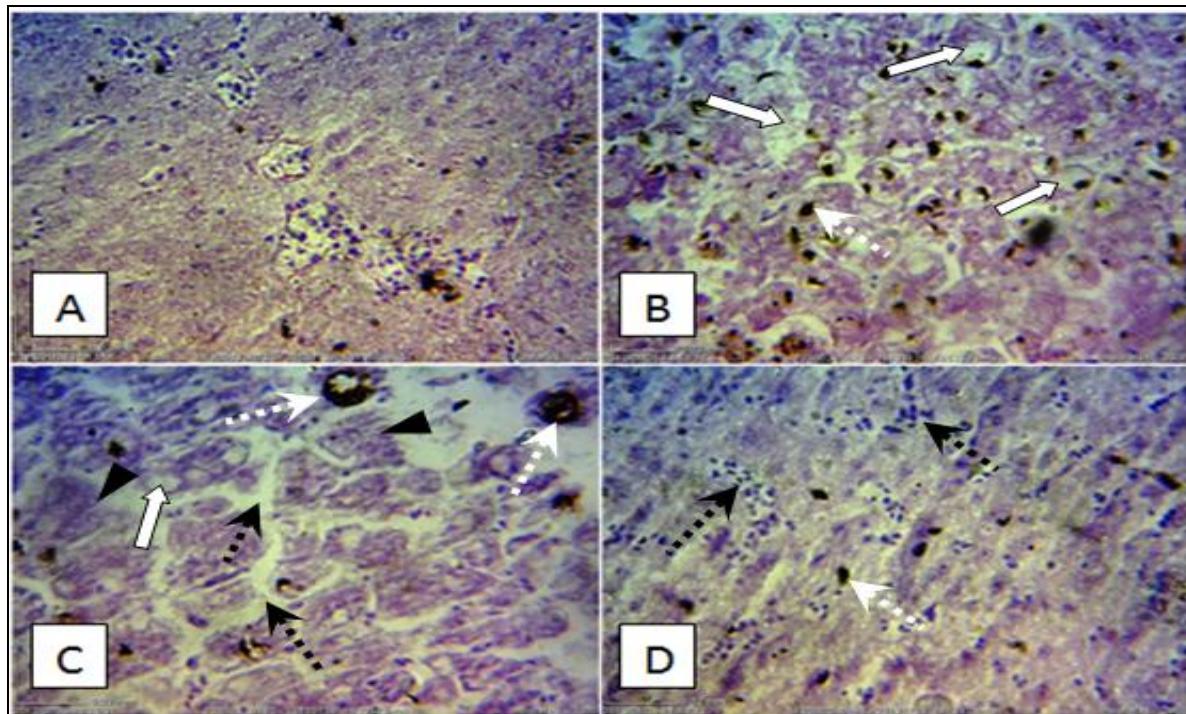
B: نفوذ لوکوسیتی (*قرمز)، افزایش تجمعات ملانوماکروفازی (پیکان منقطع سفید)، نکروز سلول‌های کبدی (نوک پیکان سیاه)

C: افزایش تجمعات ملانوماکروفازی (پیکان منقطع سفید)، واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها (پیکان سفید)

D: هیپرتروفی هسته (نوک پیکان سفید)، اتساع فضای دیس (پیکان منقطع سیاه) A, B, C و D (H&E; $\times 290$)

همین ضایعات ولی با شدت و وسعت کمتری مشاهده شدند. عمده‌ترین ضایعات مشاهده شده در ایستگاه غزاله شامل واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها، قرارگرفتن هسته در موقعیت جانبی بود. واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها تنها عوارض مشاهده شده در ایستگاه جعفری و ایستگاه زنگی بود (شکل ۳).

در کبد ماهی بیاح همانند ماهی شانک بیشترین عوارض هیستوپاتولوژیکی در ایستگاه پتروشیمی مشاهده شد. این عوارض شامل هیبرتروفی هسته، واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها، افزایش تجمعات ملانوماکروفازی، دزنه شدن هسته، قرارگرفتن هسته در موقعیت جانبی، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس، خونریزی در بافت کبد و نکروز سلول‌های کبدی بودند. در ایستگاه مجیدیه



شکل ۳: تصاویر میکروسکوپ نوری تغییرات بافتی کبد ماهی بیاح (*Liza abu*) در خور موسی (سال ۱۳۸۹)

A: ساختار بافتی طبیعی کبد در ماهی بیاح شاهد B: واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها (پیکان سفید)، افزایش تجمعات ملانوماکروفازی (پیکان منقطع سفید) C: افزایش تجمعات ملانوماکروفازی (پیکان منقطع سفید) واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها (پیکان سفید)، نکروز سلول‌های کبدی (نوك پیکان سیاه). D: افزایش تجمعات ملانوماکروفازی (پیکان منقطع سفید)، اتساع فضای دیس و افزایش لوکوسیتی (پیکان منقطع سیاه). (H&E; $\times 2900$). A, B, C, D (H&E; $\times 725$)

Camargo and Martinez,) HAI با استفاده از فرمول ۲۰۰۷ محاسبه و در جدول ۲ قابل مشاهده است.

با توجه به تغییرات پاتولوژیک ایجاد شده در نمونه‌های کبد ماهیان شانک زردباله و بیاح در ایستگاه‌های مختلف، شاخص تغییرات پاتولوژیک کبد هر دو گونه ماهی در ایستگاه‌های متفاوت

جدول ۲: میانگین شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI) در در ماهی شانک زردباله (*Achanthopagrus latus*) و بیاح (*Liza abu*) در خور موسی (سال ۱۳۸۹)

نمونه	ایستگاه	خور پتروشیمی	خور مجیدیه	خور جعفری	خور غزاله	خور زنگی	گروه شاهد
شانک		۲۸۰/۶۶±۱۷/۸۲	۱۸۸/۳۶±۵/۷۷	۲۷۵±۱۶	۹۸/۸۶±۴۸/۷۴	۳۹±۶/۰.۸	♦
بیاح		۳۸۶±۱۳/۳۶	۸۳±۵۴/۵۰	۳۷۵±۱۹/۲۷	۲۷۰/۲۱±۲۱/۳۷	۴۰/۱±۱۰	♦

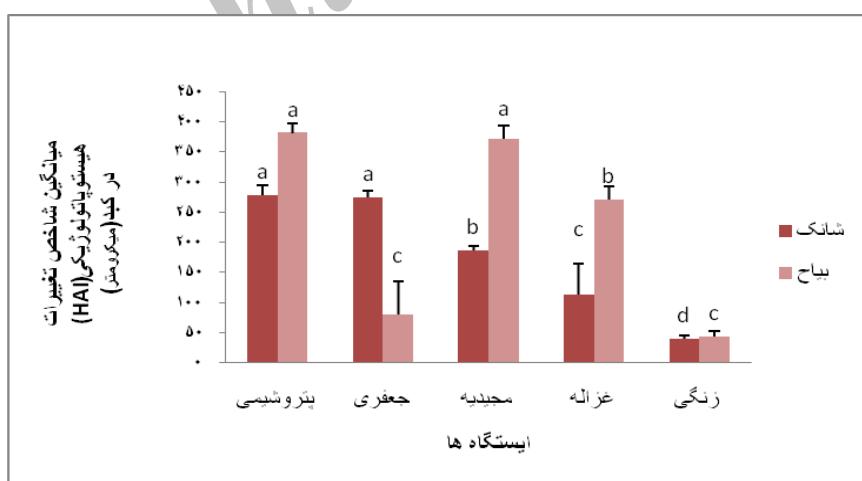
ارزیابی اثر آلدگی خوریات ماهشهر بر کبد ماهیان شانک زردباله (*Achanthopagrus latus*) و ...

در ماهی بیاح با توجه به مقادیر شاخص هیستوپاتولوژیک کبد در ایستگاه‌های متفاوت و براساس رده بندی مورد بررسی ضایعات پاتولوژیک ایجاد شده در ایستگاه‌های پتروشیمی، مجیدیه و غزاله از نوع ضایعات غیر قابل ترمیم و مختلف کننده عملکرد طبیعی اندام می‌باشد. تغییرات پاتولوژیک ایجاد شده در ایستگاه جعفری از نوع ضایعات برگشت پذیر بوده که اختلالی در فعالیت طبیعی کبد ایجاد نمی‌کنند. همچنین ضایعات هیستوپاتولوژیک موجود در نمونه‌های کبد ایستگاه زنگی آسیب‌های جزئی و غیر قابل توجه بوده که تاثیری بر عملکرد اندام ندارند.

براساس نتایج حاصل از آنالیز شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI)، مقدار این شاخص در ایستگاه‌های پتروشیمی و مجیدیه به طور معنی‌داری از سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود ($P<0.05$ ، ولی اختلاف معنی‌داری میان این دو ایستگاه وجود نداشت ($P>0.05$). شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI) در سایر ایستگاه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0.05$) (شکل ۴). شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI) کبد ماهی بیاح در ایستگاه‌های مختلف مطابق الگوی زیر می‌باشد: ایستگاه پتروشیمی \leq ایستگاه مجیدیه \leq ایستگاه غزاله \leq ایستگاه جعفری \leq ایستگاه زنگی

با توجه به مقادیر شاخص هیستوپاتولوژیک کبد در ماهیان شانک زردباله در ایستگاه‌های متفاوت و براساس رده بندی مورد بررسی ضایعات پاتولوژیک ایجاد شده در ایستگاه‌های پتروشیمی، جعفری و مجیدیه از نوع ضایعات غیر قابل ترمیم و مختلف کننده عملکرد طبیعی اندام می‌باشد. تغییرات پاتولوژیک ایجاد شده در ایستگاه غزاله از نوع ضایعات برگشت پذیر بوده که اختلالی در فعالیت طبیعی کبد ایجاد نمی‌کنند. همچنین ضایعات هیستوپاتولوژیک موجود در نمونه‌های کبد ایستگاه زنگی آسیب‌های جزئی و غیر قابل توجه بوده که تاثیری بر عملکرد اندام ندارند.

براساس نتایج حاصل از آنالیز شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI)، مقدار این شاخص در ایستگاه‌های پتروشیمی و جعفری به طور معنی‌داری از سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود ($P<0.05$ ، ولی اختلاف معنی‌داری میان این دو ایستگاه وجود نداشت ($P>0.05$). مقدار شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI) در سایر ایستگاه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0.05$) (شکل ۴). شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI) کبد ماهی شانک زردباله در ایستگاه‌های مختلف مطابق الگوی زیر می‌باشد: ایستگاه پتروشیمی \leq ایستگاه جعفری \leq ایستگاه مجیدیه \leq ایستگاه غزاله \leq ایستگاه زنگی



شکل ۴: میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیکی (HAI) کبد ماهی شانک زردباله (*Achanthopagrus latus*) و بیاح (*Liza abu*) در ایستگاه‌های مختلف (سال ۱۳۸۹)

(۲۰۰۵) روی تاثیر آلودگی‌های شهری بر کبد ماهی Kostoski *Barbus meridionalis petenyi* تغییرات پاتولوژیکی شامل نکروز سلول‌های پارانشیمی همراه با خونریزی را در بافت کبد نشان داد. علاوه بر این در بررسی که توسط Saenphet و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد، خونریزی، پرخونی و نکروز سلولی همراه با نفوذ سلول‌های تک هسته‌ای در کبد ماهی همراه با نفوذ سلول‌های تک هسته‌ای در کبد ماهی *Anabas testudineus* که در معرض آب اسیدی قرار گرفته بود، مشاهده شد.

نتایج نشان داد که بیشترین فراوانی تغییرات پاتولوژیک مشاهده شده در کبد ماهی شانک زرد باله مربوط به ایستگاه پتروشیمی (HAI) جعفری بوده و میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک (HAI) بافت کبد در این دو ایستگاه به طور معنی‌داری بیشتر از سایر ایستگاه‌ها می‌باشد ($P < 0.05$). بنابراین براساس شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک، الگوی ضایعات هیستوپاتولوژیکی مشاهده شده در بافت کبد این ماهی در ایستگاه‌های متفاوت مطابق با الگوی زیر بود:

پتروشیمی<جعفری<مجیدیه<غزاله<زنگی

نتایج مطالعات هیستوپاتولوژیک کبد ماهی بیاح نیز نشان داد بیشترین فراوانی تغییرات پاتولوژیک در ماهیان جمع‌آوری شده از خورهای پتروشیمی و مجیدیه بوده و میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک در این دو ایستگاه به طور معنی‌داری بیشتر از سایر ایستگاه‌ها بود ($P < 0.05$). اما میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک در این دو ایستگاه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$).

در تحقیق حاضر بیشترین میزان شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک (HAI) در بافت کبد هر دو گونه ماهی در ایستگاه پتروشیمی مشاهده گردید. تخلیه پساب‌های پتروشیمی به خور موسی عامل اصلی آلودگی خور موسی به آلینده‌ها بود و محدوده کارخانجات پتروشیمی مقادیر بالایی از آلودگی را نشان داده است (Abdollah pour, 2010; Faghiri, 2009; Assar, 2009). مشاهده بیشترین فراوانی ضایعات پاتولوژیک در ایستگاه پتروشیمی نیز احتمالاً به دلیل آلودگی قبل توجه این ایستگاه توسط پساب‌های کارخانه کلر الکالی و کارخانجات پتروشیمی می‌باشد. البته لازم به ذکر است اطلاع دقیقی از انواع آلینده‌های موجود در هر خور و مقدار آن‌ها وجود نداشته و تنها

بحث و نتیجه‌گیری

محققین متعددی اثرات هیستوپاتولوژیک آلینده‌های متفاوت بر بافت‌های مختلف نظیر کبد، کلیه، آبشش، اپیتلیوم بوبایی و طحال در ماهیانی که در معرض آب‌های آلوده قرار داشتند، را مورد ارزیابی قرار داده‌اند (Samson and Shenker, 2000; Oliveira Ribeiro *et al.*, 2002). در مطالعه حاضر ضایعات پاتولوژیکی نظیر هیپرتروفی هسته، واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس، افزایش تجمعات ملانوماکروفائزی در بافت کبد ماهیان شانک زردباله و بیاح جمع‌آوری شده از ایستگاه‌های مختلف از جمله ضایعات معمول بودند. در مطالعه Atamanalp و همکاران (۲۰۰۸) روی تاثیر مس بر بافت کبد ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان، تغییرات هیستوپاتولوژیکی مانند دژنرنسنس هپاتوسیت‌ها، اتساع سینوزوئیدها و پرخونی در رگ‌های کبدی مشاهده شد. Martinez و Camargo (۲۰۰۷) نیز ضایعاتی نظیر واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها، افزایش تجمعات ملانوماکروفائزی و هیپرتروفی هسته را در گونه Prochilodus lineatus که به مدت ۷ روز در معرض پساب‌های آلوده شهری و صنعتی قرار گرفته بود، گزارش نمودند.

از آنجایی که کبد ماهی مکانی جهت سمیت‌زدایی انواع سموم و مواد شیمیایی است، لذا ممکن است واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها نشان دهنده از بین رفتن تعادل میان میزان سنتز مواد در هپاتوسیت‌ها و میزان آزاد کردن آن‌ها درون سیستم گردش خون باشد (Soufy *et al.*, 2007). از طرفی ضایعاتی نظیر نکروز سلول‌های کبدی، دژنره شدن هسته، خونریزی در بافت کبد ماهیان مورد مطالعه در تحقیق حاضر در برخی ایستگاه‌ها مشاهده شدند. Oliveira Ribeiro و همکاران (۲۰۰۲) معتقدند که ایجاد چنین آسیب‌های پاتولوژیکی با غلظت آلینده و مدت زمان قرارگیری ماهی در معرض آلینده ارتباط مستقیم داشته و این ضایعات در صورت وجود استرس‌هایی با شدت زیاد ایجاد می‌شوند. اتساع عروق، همولیز درون عروقی، ترومبوس در رگ‌های خونی همراه با توقف جریان خون ممکن است باعث دژنرنسنس سلولی و نکروز در کبد شوند (Mohamed, 2009). نتایج بدست آمده از مطالعه Velkova-Jordanoska و

در ماهی بیاح وسعت ضایعات و میانگین HAI خور غزاله به طور معنی داری کمتر از خورهای پتروشیمی و مجیدیه بود ($P<0.05$)، ولی میانگین HAI کبد ماهی بیاح این خور ($270/21\pm21/37$) بسیار بالا بوده و نشان از آلودگی زیاد این ایستگاه داشت که با توجه به نزدیکی خور غزاله به خور مجیدیه، این امر کاملاً منطقی به نظر می رسد.

میانگین HAI هر دو بافت کبد ماهی بیاح در دو ایستگاه جعفری و زنگی بسیار پایین بود. اگر چه خور جعفری در نزدیکی خور پتروشیمی و در مجاورت کارخانه کلرآلکالی قرار دارد، ولی بنا به گزارش عبدالله پور (۱۳۹۰) و بابادی (۱۳۸۹)، میزان غلظت آلودگی هایی نظیر جیوه در رسوبات خور جعفری کمتر از سایر خورهای و تقریباً همسان با خور زنگی بود. بنابراین کمتر بودن میانگین HAI ماهی بیاح در خور جعفری نسبت به سایر خورهای احتمالاً به این دلیل می باشد که ماهی بیاح، ماهی بستری و پوده خوار بوده و از رسوبات بستر تغذیه می کند.

Dehghan Madiseh و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی رسوبات منطقه خور موسی، به این نتیجه رسیدند که بین غلظت فلزات موجود در رسوب خورهای زنگی و جعفری اختلاف معنی داری وجود ندارد.

Martinez و Camargo (۲۰۰۷) طی مطالعه هیستوپاتولوژیک کبد، آبشش و کلیه ماهی *Prochilodus lineatus* گزارش نمودند بیشترین تغییرات این بافتها در ایستگاهی مشاهده شد که فراوان ترین میزان پسماندهای شهری را دریافت می کرد.

در مطالعه حاضر فراوانی ضایعات بافتی و میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد دو گونه ماهی شانک و ماهی بیاح اگرچه در ایستگاه هایی مانند خور پتروشیمی و خور زنگی تا حدودی مشابه بود، ولی در سایر ایستگاه ها (جهفری، مجیدیه و غزاله)، تفاوت های قابل توجهی را نشان می داد. میانگین HAI در خورهای پتروشیمی میان ماهی شانک و ماهی بیاح تفاوت معنی داری را نشان نداد ($P>0.05$). براساس مطالعات صورت گرفته میزان آلودگی در این خور بیشتر از سایر خورها بود که می تواند ناشی از آلوده بودن بیش از حد آب و رسوب خور Babadi, 2011; Abdollah pour, 2011; Assar, 2009 پتروشیمی باشد (Assar, 2009). این طور به نظر می رسد که آبزیان موجود در این خور، حجم بالایی از آلودگی را تحمل می کنند و

می توان به تحقیقات محدودی که در ارتباط با اندازه گیری برخی آلاینده ها مانند جیوه وجود دارد، بسته نمود. در مطالعه ای که گودرزی و همکاران (۱۳۸۵) انجام دادند دریافتند که بیشترین مقدار جیوه موجود مربوط به خور پتروشیمی است که به علت تخلیه پساب های پتروشیمی می باشد.

از طرفی نمونه های کبد ماهی شانک زرد باله جمع آوری شده از ایستگاه جعفری، پس از ایستگاه پتروشیمی، دارای بیشترین فراوانی تغییرات پاتولوژیکی بوده و میانگین HAI آن تفاوت معنی داری با میانگین HAI ایستگاه پتروشیمی نداشت ($P>0.05$). احتمالاً دلیل این تشابه نزدیکی این خورها به یکدیگر است که با توجه به متحرک بودن ماهی، جابجایی میان خورهای نزدیک به هم و تشابه غلظت آلاینده ها در آن ها منطقی به نظر می رسد. عبدالله پور (۱۳۸۹) گزارش نمود که خور جعفری تا حد زیادی توسط خروجی صنایع پتروشیمی آلوده می شود.

از طرفی اگرچه در نمونه های کبد ماهیان شانک زرد باله مربوط به ایستگاه مجیدیه ضایعات پاتولوژیک در مرحله III (نکروز و خونریزی) مشاهده شد، ولی وسعت این گونه ضایعات و میانگین HAI در این ایستگاه به طور معنی داری از دو ایستگاه پتروشیمی و جعفری کمتر بود ($P<0.05$). همچنین میانگین HAI در دو ایستگاه غزاله و زنگی بسیار پایین بود که نشان دهنده کمتر بودن غلظت کلی آلاینده های موجود در این خورها می باشد. خورهای مجیدیه و غزاله از جمله خورهای انتهایی در منطقه خور موسی بوده و احتمالاً جریان های آبی حاوی آلاینده ها کمتر به این خورها راه می یابند. بابادی (۱۳۹۰) گزارش نمود که غلظت جیوه در آب خور مجیدیه و غزاله بیش از سایر ایستگاه ها بوده، ولی اطلاعی راجع به غلظت کل آلاینده های موجود در این خورها وجود نداشته و احتمالاً میزان کلی آلاینده های موجود در این خورها به دلیل دور بودن آنها از منابع آلاینده، کمتر است.

در ماهی بیاح پس از خور پتروشیمی بیشترین فراوانی تغییرات پاتولوژیکی کبد در خور مجیدیه مشاهده شد که با توجه به وجود اسکله صادرات نفت در مجاورت خور مجیدیه و ورود آلاینده های ناشی از فرآورده های نفتی به این خور فراوانی ضایعات پاتولوژیک Babadi, 2011; در این خور طبیعی به نظر می رسد (Abdollah pour, 2010).

همچنین بیولوژی اورگانیسم، بر فراوانی و وسعت آسیب‌های ایجاد شده در گونه‌های مختلف آبزیان بسیار موثر است.

منابع

- بابادی، ص، ۱۳۹۰. تجمع زیستی جیوه در برخی از بافت‌های ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*): مقایسه محیط طبیعی با شرایط آزمایشگاهی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۷۵. ص.
- ستاری، م، شاهسونی، د. و شفیعی، ش، ۱۳۸۳. ماهی‌شناسی ۲ (سیستماتیک). انتشارات حق شناس، صفحات ۲۴۶-۲۴۵.
- عبدالله پور، ف، ۱۳۸۹. مطالعه مقایسه‌ای تجمع فلزات سنگین (کادمیوم، کربالت، مس، نیکل و سرب) در رسوبات و گونه‌های غالب ماهیان خوریات موسی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۶۵. ص.
- عصار، م، ۱۳۸۸. بررسی تجمع زیستی جیوه و متیل جیوه در ماهی شبه شوریده در خوریات ماهشهر. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۹۷. ص.
- فقیری، ا، ۱۳۸۸. پایش زیستی فلزات سنگین (جیوه، مس، سرب) در بندر امام خمینی (ره) با استفاده از صدف دوکفه‌ای *Crassostrea gigas*. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۹۸. ص.
- گودرزی، م، اسماعیلی ساری، ع، ساداتی پور، م. و پوری، ق، ۱۳۸۵. اندازه گیری میزان جیوه ناشی از صنایع کلرالکالی در رسوبات منطقه بندر امام، هفتمنی کنگره بین‌المللی مهندسی عمران، ۹. ص.
- Atamanalp, M., Sisman, T., Geyikoglu, F. and Topal, A., 2008.** The histopathological effects of copper sulphate on rainbow trout liver (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Fisheries and Aquatic Science, 3 (5):291-297.
- Bancroft, J. D. and Gamble, M., 2002.** Theory and practice of histological techniques. fifth edition, Elsivier Science, oxford Philadelphia, 175p.
- Camargo, M. M. P. and Martinez, C. B. R., 2007.** Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. Neotropical Ichthyology, 5(3): 327-336.
- Dehghan Madiseh, S., Savary, A., Parham, H. and Sabzalizadeh, S. 2009.** Determination of the level of contamination in Khuzestan coastal waters (Northern Persian Gulf) by using an ecological risk index. Environmental Monitoring and Assessment, 159: 521-530.
- Devlin, E. W., 2006.** Acute toxicity, uptake and histopathology of aqueous methyl mercury to fathead Minnow embryos. Ecotoxicology, 15: 97-110.

بدیهی است که تغییرات ساختارهای بافتی آن‌ها یکی از پاسخ‌های قابل انتظار این جانداران به آلاینده‌ها است. در این خور، هر دو گونه ماهی مورد مطالعه بیشترین ضایعات بافتی را نشان دادند و فراوانی و وسعت ضایعات در هر دو گونه تقریباً مشابه بود.

نتایج نشان داد که میانگین HAI کبد ماهی بیاح در دو خور مجیدیه و غزاله به طور معنی‌داری بیش از ماهی شانک می‌باشد، در حالی که در خور جعفری میانگین HAI کبد ماهی شانک به‌طور قابل توجهی بیش از ماهی بیاح بود. نتایج حاصل از مطالعه بابادی (۱۳۹۰) و عبدالله پور (۱۳۸۹) در ارتباط با آلدگی آب و رسوب خورهای جعفری، مجیدیه و غزاله نشان داد، میزان آلدگی آب خور جعفری به طور معنی‌داری بیش از آب خورهای مجیدیه و غزاله بود (جعفری <مجیدیه <غزاله)، در حالی که از لحاظ آلدگی رسوبات این خورها، الگوی زیر ارائه شده بود: مجیدیه <غزاله <جعفری. لازم به ذکر است خورهای مجیدیه و غزاله از دورترین خورها به خلیج فارس بوده و تبادل آبی کمتری میان آنها و آب‌های آزاد صورت می‌گیرد (Babadi, 2011).

به نظر می‌رسد پس از ورود جریان‌های آبی آلدود به این خورها، به دلیل راکد بودن آب و ارتباط بسیار کم این خورها با آب‌های آزاد، زمان بیشتری جهت ته نشین شدن مواد معلق موجود در آب وجود دارد. احتمالاً به همین دلیل میزان آلدگی رسوبات این خورها بیش از سایر خورها (به جز خور پتروشیمی) است.

تحلیل و ارزیابی نتایج حاصل از تحقیق حاضر بدون در نظر گرفتن ارتباط معنی‌دار موجود میان میزان آلدگی آب و رسوب این خورها و بیولوژی ماهی امکان پذیر نباد. با توجه به آلدگی قابل توجه رسوبات خورهای مجیدیه و غزاله، به نظر می‌رسد در این خورها ماهی بیاح به علت نوع رژیم غذایی (تعذیب رسوبات)، بیش از ماهی شانک زردباله متأثر شود. در خور جعفری که میزان آلدگی رسوبات کمتر از خورهای مجیدیه و غزاله و میزان الگوی آب بیشتر از آن خورها می‌باشد، ماهی شانک به طور قابل توجهی بیش از ماهی بیاح متاثر است. احتمالاً علت این است که این ماهی در نزدیک بستر زندگی نموده و تماس بیشتری با آب دارد. این طور به نظر می‌رسد که میزان آلدگی آب و رسوب هر خور، نوع آلاینده‌های موجود در آب و رسوب و

- Platell, M. E., Ang, H. P., Hesp, S. A. and Potter, I. C., 2007.** Comparisons between the influences of habitat, body size and season on the dietary composition of the Sparid *Acanthopagrus latus* in a large marine embayment. *Estuarine and Coastal Shelf Science*, 72: 626-634.
- Saenphet, S., Thaworn, W. and Saenphet, K., 2009.** Histopathological Alterations of the Gills, Liver, and Kidneys Testudineus (Bloch) Fish Living in Unused Libnite Mine, Lidistrict, Lamphun Province, Thailand. *Histopathology of internal organs of Fish Living in Lignite Mine*, 40(5): 1121-1126.
- Samson, J. C. and Shenker, J., 2000.** The teratogenic effects of methyl mercury on early development of the zebrafish, *Danio rerio*. *Aquatic Toxicology*, 48: 343–354.
- Soufy, H., Soliman, M., El-Manakhly, E. and Gaafa, A., 2007.** Some biochemical and pathological investigations on monosex Tilapia following chronic exposure to carbofuran pesticides. *Global Veterinaria*, 1: 45-52.
- Teh, S. J., Adams, S. M. and Hinton, D. E., 1997.** Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquatic Toxicology*, 37: 51–70.
- Velkova-Jordanoska, L. and Kostoski, G., 2005.** Histopathological analysis of liver in fish (*Barbus meridionalis petenyi* Heckel) in reservoir Trebenista. *Natural Croatica1*, 4(2): 147–153.
- Vinodhini, R. and Narayanan, M., 2009.** Heavy Metal Induced Histopathological Alterations in Selected Organs of the *Cyprinus carpio* L.(Common Carp). *International Journal of Environmental Research*, 3(1): 95-100.
- Giulio, R. T. and Hinton, D. E., 2008.** The toxicology of fishes. Taylor and Francis publication, CRC press., PP. 544-561.
- Goudarzi, M., Esmaeili sari, A., Sadati pour, M. and Poory, G. H., 2005.** Measurement of mercury concentration in Imam Port deposit due to color alkali industries. 7th International congress of engineering, 9p.
- Hesp, S. A., Potter, I. C. and Hall, N. G., 2004.** Reproductive biology and protandrous hermaphroditism in *Acanthopagrus latus*. *Environmental Biology of Fish*, 70: 257–272.
- Mc Glashan, D. J. and Hughes J. M., 2001.** Genetic evidence for historical continuity between populations of the Australian freshwater fish *Craterocephalus stercusmuscarum* (Atherinidae) east and west of the Great Diving Range. *Journal of Fish Biology*, 59: 55-67.
- Mela, M., Randia, M. A. F., Venturab, D. F., Carvalhoc, C. E. V., Pelletierd, E. and Oliveira Ribeiro, C. A., 2007.** Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. *Ecotoxicology Environmental, Safety*, 68: 426–35.
- Mohamed, F. A. S., 2009.** Histopathological Studies on *Tilapia zillii* and *Solea vulgaris* from Lake Qarun, Egypt. *World Journal of Fish and Marine Science*, 1 (1): 29-39.
- Nelson, J. S., 1994.** *Fisheries of the world*. Wiley, New York, 600p.
- Oliveira Ribeiro, C. A., Belger, L., Pelletier, E. and Rouleau, C., 2002.** Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environmental Research*, 90: 217–225.

The assessment of effects of contaminants in creeks Mahshahr in livers of yellowfin sea bream (*Achantopagrus latus*) and Abu mullet (*Liza abu*) by Histopathological biomarkers.

Musa creek, suitable place for spawning of many fish species and other organisms, is one of the most important and voluble ecosystems in the west of Iran which received so many attentions due to existents of various industries around this part of Persian Gulf. Previous studies confirmed that marine fishes have collected high amounts of pollutants in this area. In the present study, pathological alterations of liver is used as an indicator for evaluating of contaminants effects on two fish species including of yellowfin seabream and abu mullet in Musa creek. In this regards, 50 yellowfin seabreams and 50 abu mullets were collected from different sampling sites in Musa creeks including: 1. Petrochemical, 2. Gaafari, 3. Magidieh, 4. Ghazaleh and 5. Zangi. The livers of fish were passed from routine histological process and five-micrometer thick sections were stained in hematoxylin-eosin for examination by light microscopy. The commonest pathological changes in the liver of yellowfin seabreams and abu mullets including vacuolation of hepatocytes, hemorrhage, melanomacrophages aggregates, nuclear hypertrophy, focal necrosis and enlargement of sinusoid. Histopathological alteration index was determined on the basis of frequency of pathological changes in liver of two species. The most amount of HAI for liver of both species was observed at the Petrochemical station ($p<0.05$). It is probably due to extensive various petrochemical industries which surrounding this part of creek and a great deal of contaminations such as petroleum chemical and heavy metals daily discharge into it. The least amount of HAI was related to Zangi station in the both species.

Keywords: Histopathology, *Achantopagrus latus*, *Liza abu*, liver, Musa creek