



پاسخ هیستوپاتولوژیکی آبشش خرچنگ (*Metopograpsus* Forskal, 1775)

مessor در مواجهه با آلاینده کادمیوم

صدیقه پوررضا^۱، نرگس امراللهی بیوکی^۲، محمدرضا طاهری زاده^۳

۱- کارشناسی ارشد جانورشناسی دریا

poorrzasedigheh@yahoo.com

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا

۳- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا

چکیده

در سال‌های اخیر پایش اکوسیستم‌های آبی از سنجش کمی مقدار آلاینده در آب، رسوب و بافت ماهی به سنجش‌های کیفی اثرات آلاینده‌ها بر آبزیان و بررسی وضعیت سلامت آبزیان و نهایتاً اکوسیستم سوق پیدا نموده است. مطالعه حاضر به منظور بررسی پاسخ هیستوپاتولوژیکی آبشش خرچنگ *Metopograpsus messor* در مواجهه با آلاینده کادمیوم انجام شد. خرچنگ‌های بالغ با میانگین طول کاراپاس $1/98 \pm 20/13$ mm انتخاب شدند. آزمایشی در ارتباط با تأثیر فلز سنگین کادمیوم با سه تکرار انجام گرفت بدین صورت که، مقدار $5 \mu\text{g/lit}$ کادمیوم به هر یک از آکواریوم‌ها اضافه گردید، همچنین، یک تیمار به‌عنوان شاهد نگه داشته شد. نمونه‌برداری از خرچنگ‌ها در ۲ مرحله کوتاه مدت (۷۲ ساعت) و بلند مدت (۱۴ روز) پس از شروع آزمایش صورت گرفت. سپس نمونه‌های بافتی، در فیکساتیو بوئن، قرار داده شدند و پس از انجام مراحل معمول بافت‌شناسی، رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین-ائوزین انجام گرفت. اسلایدهای تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری بررسی شدند. عوارض مشاهده شده در آبشش‌ها شامل: شکسته شدن سلول‌های پیلار و فروپاشی تیغه، هیپرپلازی، نکروز، کوتیکول جدا شده، چماقی شدن رئوس انتهایی آبشش، واکوئله شدن، بدشکلی در رأس آبشش‌ها و انحراف اندک تیغه‌ها بود. مقایسه بین گروه‌های مختلف زمانی نشان داد که، شدت آسیب‌های ایجاد شده در بافت‌های آبشش با افزایش مدت زمان در معرض‌گذاری افزایش می‌یابد.

کلمات کلیدی: فلزات سنگین، آسیب‌شناسی بافتی، غلظت زیر کشنده، بیومارکر

مقدمه

فلزات سنگین^۱ از معمول‌ترین آلاینده‌هایی هستند که به‌طور طبیعی در محیط زیست و در مقادیر متفاوت در تمام زمین و آب‌های سطحی یافت می‌شوند. آلودگی این نوع فلزات، یکی از پنج نوع اصلی آلاینده‌های سمی در

¹ Heavy metals



اکوسیستم‌های آبی محسوب می‌شود (Van Dyk et al., 2007; Wu and Chen, 2004). در سال‌های اخیر پایش اکوسیستم‌های آبی از سنجش کمی مقدار آلاینده در آب، رسوب و بافت ماهی به سنجش‌های کیفی اثرات آلاینده‌ها بر آبزیان و بررسی وضعیت سلامت آبزیان و نهایتاً اکوسیستم سوق پیدا نموده است (Pereira et al., 2006). بیومارکرها^۲ یا نشانگرهای زیستی شاخص‌های ژنتیکی، بیوشیمیایی، سلولی، بافتی، خون‌شناسی، آنزیمی و جمعیتی هستند که به ردیابی اثرات ثانویه آلاینده‌ها بر آبزیان می‌پردازند و وضعیت فیزیولوژیک آبی را جهت ارزیابی سلامت آبزیان و نهایتاً اکوسیستم آبی مورد بررسی قرار می‌دهند. از مزایای بیومارکرها می‌توان به تشخیص به موقع اثرات آلاینده‌ها پیش از بروز آسیب‌های اکولوژیک، سهولت در اجرا، عدم پیچیدگی روش‌ها، نیاز به صرف هزینه کم و اجرا در شرایط مختلف آزمایشگاهی و محیطی نام برد (Schlenk, 2006). Fossi و همکاران در سال (۲۰۰۰) در گزارش خود اظهار داشتند که، با توجه به اینکه، بی‌مهرگان ۹۵ درصد از تمام گونه‌های جانوری را تشکیل می‌دهند، اجزای اصلی تمام اکوسیستم‌ها هستند و اغلب جمعیتشان زیاد است به طوری که، نمونه‌ها می‌توانند برای تجزیه و تحلیل گرفته شوند بدون اینکه تأثیر قابل توجهی روی پویایی جمعیت آن‌ها بگذارد برای ارزیابی خطرات زیست محیطی ارجحیت دارند. خرچنگ‌ها از جمله بی‌مهرگانی هستند که به‌عنوان موجودات نگهبان انتخاب می‌شوند، به دلیل اینکه جمع‌آوری و همچنین نگه داشتن آن‌ها تحت شرایط آزمایشگاهی آسان است (Gomiero et al., 2006).

کادمیوم^۳ از جمله، فلزاتی است که امروزه نگرانی‌های زیادی را ایجاد کرده و در گروه فلزات سنگین بسیار سمی طبقه‌بندی شده است (Hetzler et al., 2006). کادمیوم حتی در غلظت‌های بسیار کم باعث مسمومیت در موجودات آبی می‌شود و به‌عنوان یکی از سمی‌ترین عناصر در محیط در نظر گرفته شده است (Padmanaban and Mohan, 2013). جانوران در اثر مسمومیت با کادمیوم دچار فقر آهن خون، بیماری‌های کبدی و آسیب‌های مغزی-عصبی می‌شوند. اثرات سمی کادمیوم از برهم زدن تعادل اسمزی تا مرگ می‌تواند متغیر باشد (گیاهی و همکاران، ۱۳۸۹). این فلز در اکوسیستم‌های آبی، حلالیت بالایی در آب دارد و همچنین ظرفیت بالایی برای تجمع زیستی^۴ در بسیاری از گونه‌های آبی دارد (Liu et al., 2013) و آن می‌تواند در آب توسط موجودات زنده از طریق سیستم تنفسی، سیستم گوارشی و سطح بدن جذب شود (Rainbow and White, 1989; Van Hatton et al., 1989). برخی از مطالعات نشان داده‌اند که در برخی از بی‌مهرگان آبی، جذب فلز سنگین از طریق فاز محلول بیشتر از جذب آن از طریق غذا است (Ornela Beltrame et al., 2010). در نتیجه، جذب عمده فلزات توسط خرچنگ ممکن است از طریق ستون آب صورت بگیرد که جذب از طریق آبشش است (Ben-Khedher et al., 2013). در واقع آبشش اندام تنفسی خرچنگ است که به‌طور مستقیم با آب در تماس است (Wang et al., 2012).

مطالعات متعددی حساسیت بالای آبشش را به‌عنوان یک نشانگر زیستی در بررسی اثرات آلاینده‌ها نشان داده است. به‌عنوان مثال: Rebelo و همکاران (۲۰۰۰) مطالعاتی بر روی خرچنگ مصبی *Chasmagnathus granulatus* انجام داده و مشاهده کردند که در معرض‌گذاری حاد با آمونیاک سبب شکسته شدن سلول‌های پیلار و فروپاشی تیغه‌های آبشش، همچنین نکرور اپیتلیال و هیپرپلازی می‌شود. Romano و Zeng (۲۰۰۷) در بررسی تغییرات هیستولوژیکی در آبشش خرچنگ شناگر آبی *Portunus pelagicus* در مواجهه با فلز سنگین آمونیاک تغییرات

² Biomarkers

³ Cadmium

⁴ Bioaccumulation



مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مشخصی نظیر نفوذ گسترده هموسیت‌ها، بافت مردگی، تغییرات اپیتلیال، شکسته شدن سلول‌های پیلار و فروپاشی لاملا در تیغه آبشش مشاهده کردند.

هدف از این مطالعه بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت آبشش خرچنگ *Metopograpsus messor* در مواجهه با آلاینده کادمیوم در دو دوره‌ی زمانی کوتاه‌مدت و بلندمدت بود. و فرض آزمایش بر این بود که تحت تأثیر آلاینده کادمیوم تغییرات هیستوپاتولوژیکی مشخصی در بافت آبشش خرچنگ *Metopograpsus messor* در دو دوره‌ی زمانی کوتاه‌مدت و بلندمدت مشاهده می‌شود.

در واقع، ما می‌توانیم با شناسایی و بررسی آسیب‌های ایجاد شده در بافت مذکور به‌عنوان نشانگرهای زیستی برای پایش آلودگی در سایر اکوسیستم‌ها استفاده کنیم.

روش کار

نمونه‌برداری از خرچنگ‌ها در آذر ماه سال ۱۳۹۲ طی یک هفته در منطقه‌ی خواجه عطا در شهرستان بندرعباس واقع در استان هرمزگان انجام شد. منطقه‌ی نمونه‌برداری از لحاظ موقعیت جغرافیایی در عرض شمالی ۲۷ درجه و ۱۰ دقیقه و ۵۷/۰۵ ثانیه و طول شرقی ۵۶ درجه و ۱۸ دقیقه و ۵۳/۳۹ ثانیه واقع شده است.

نمونه‌های زنده خرچنگ به‌صورت تصادفی و با کمترین استرس با استفاده از روش صید با دست جمع‌آوری شدند که در مجموع ۲۴ نمونه جمع‌آوری شد و پس از قرار دادن نمونه‌ها در ظرف حاوی آب دریا به آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه هرمزگان انتقال یافتند.

خرچنگ‌ها جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاه در آکواریوم‌های شیشه‌ای پر شده با آب دریا فیلتر شده به مدت ۱۴ روز نگهداری شدند (Kavitha et al., 2013) در طول دوره‌ی سازگاری و در معرض‌گذاری نمونه‌ها دوبار در روز با تکه‌های کوچکی از گوشت ماهی به‌صورت دستی غذایی می‌شدند (Ferrer et al., 2006).

شرایط آب در طول دوره‌ی سازگاری و در معرض‌گذاری به شرح ذیل بود:

درجه حرارت $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ، شوری 45ppt ، اسیدیته (pH): $8/3$ ، اکسیژن محلول (DO): $2/75\text{mg/lit}$ و دوره‌ی نوری $12\text{L}/12\text{D}$.

پس از سازگاری نمونه‌ها با شرایط آزمایشگاهی، نمونه‌های بالغ، که از نظر ظاهری کاملاً سالم بودند، با میانگین طول کاراپاس $1/98 \pm 20/13\text{ mm}$ برای آزمایش انتخاب شدند.

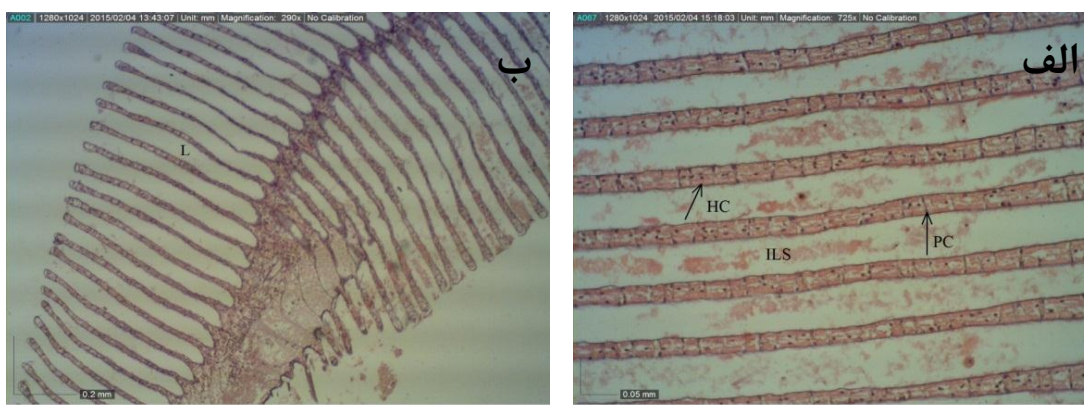
تیمار انتخابی برای پژوهش حاضر فلز سنگین کادمیوم با یک غلظت زیرکشنده $5\mu\text{g/lit}$ در دو بازه‌ی زمانی کوتاه‌مدت (۷۲ ساعت) و بلندمدت (۱۴ روز) در نظر گرفته شد. همه‌ی شرایط موجود برای نمونه‌های تیمار مشابه شرایط ایجاد شده برای دوره‌ی سازگاری بود (Liu et al, 2013). آزمایشی در ارتباط با تأثیر فلز کادمیوم با سه تکرار انجام شد. همچنین یک تیمار بدون در معرض‌گذاری به‌عنوان شاهد (گروه کنترل) نگه داشته شد (Kavitha et al., 2013). خرچنگ‌های شاهد فقط در معرض آب تمیز قرار گرفتند و در شرایطی مشابه با شرایط خرچنگ‌های تیمار نگه داشته شدند (Wang et al., 2012).



نمونه‌برداری از خرچنگ‌ها در ۲ مرحله از در معرض گذاری کوتاه مدت (۷۲ ساعت) و بلندمدت (۱۴ روز) پس از شروع آزمایش صورت گرفت. بدین صورت که، در هر زمان نمونه‌گیری، ۲ خرچنگ از هر تکرار از گروه‌های در معرض قرار گرفته و شاهد نمونه‌برداری شد. پس از اتمام هر دوره‌ی زمانی، خرچنگ‌ها را با قرار دادن آن‌ها به مدت ۱۵ دقیقه بر روی یخ بی‌هوش کرده (Liu et al, 2011; Wang et al, 2008; Liu et al, 2013). سپس آبشش‌ها با دقت جدا شده و به مدت ۴۸ ساعت در محلول بوئن تثبیت شدند، و بعد از آن به الکل ۷۰ درصد منتقل شدند. تهیه مقاطع بافتی بر اساس روش پارافینه انجام شد. برش‌های بافتی تهیه شده ۵ میکرونی، بر اساس روش هماتوکسیلین-انئوزین رنگ‌آمیزی شدند. بررسی اثرات تخریبی کادمیوم بر روی بافت‌های آبشش در زیر میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی‌های مختلف انجام شد. تغییرات بافتی ساختارهای آبشش بر اساس روش نیمه کمی با استفاده از امتیازات از - تا +++ بر اساس درجه تغییر مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش (-) بدون تغییر، (+) تغییر خفیف، (++) تغییر متوسط و (+++) تغییر شدید می‌باشد.

نتایج

آبشش‌های M.messor از تعدادی لاملا یا صفحات مسطح تشکیل شده است، یک لایه نازک از کیتین کل سطح خارجی آبشش را می‌پوشاند و در فواصل نامنظم، تیغه توسط سلول‌های پیلار پیوسته شده است. حضور و پراکنش تناوبی سلول‌های پیلار در داخل تیغه آبشش در حمایت ساختاری و هدایت جریان همولنف کمک می‌کند. بر اساس مطالعات بافت‌شناسی هیچ‌گونه تغییرات پاتولوژیکی شاخصی در نمونه‌های کنترل مشاهده نشد. آبشش‌های خرچنگ‌های کنترل آرایش یکنواخت تیغه (L^5) همراه با فضای یکنواخت داخلی تیغه (ILS^6) و فضای خونی طبیعی با تعداد مناسبی از هموسیت‌ها در جریان خون (HC^7) را نشان می‌دهند و هیچ ناهنجاری و بدشکلی ساختاری (MF^8) در رأس آبشش‌های گروه کنترل مشاهده نشد (شکل ۱).



شکل ۱- ساختار عمومی آبشش در گروه کنترل

⁵ lamellae

⁶ Interlamellar space

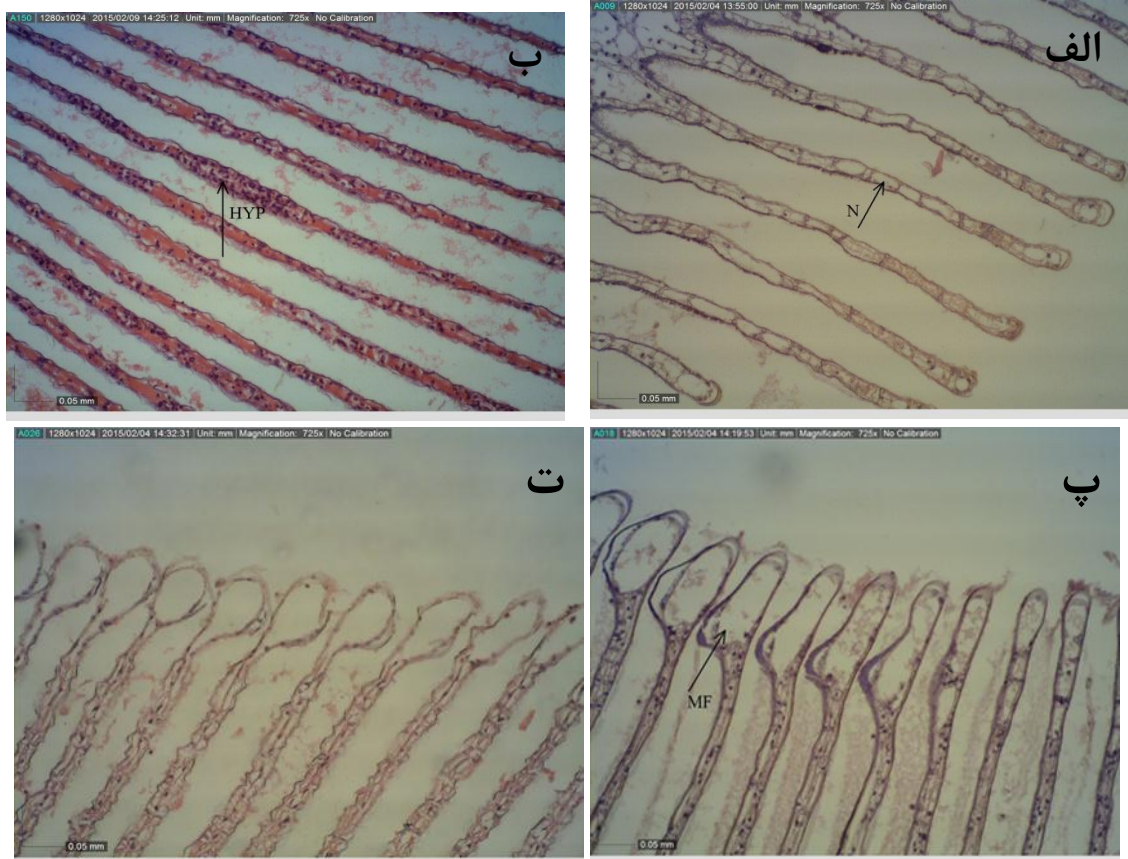
⁷ Haemocytes

⁸ Malformation

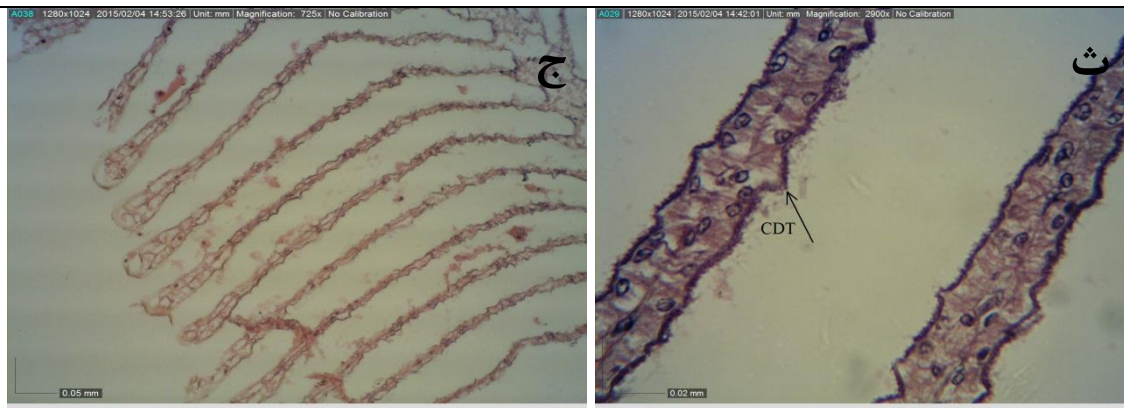


الف) سلول‌های پیلار (PC^۹)، هموسیت‌ها (HC)، فضای یکنواخت داخلی لاملا (ILS) (H&E, ob.10). ب) آرایش طبیعی لاملا (L) بدون هیچ ناهنجاری و بدشکلی ساختاری در رأس لاملاها (H&E, ob. 4).

نتایج حاصل از بررسی پاتولوژیکی بافت آبشش در خرچنگ *M.messor* گروه‌های آزمایشی قرار گرفته در معرض فلز سنگین کادمیوم نشان می‌دهد که، تغییرات قابل توجهی در تیمارهای مختلف در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد. این تغییرات عبارتند از: شکسته شدن سلول‌های پیلار و فروپاشی لاملا^{۱۰}، هیپرپلازی^{۱۱}، نکروز^{۱۲}، کوتیکول جدا شده^{۱۳}، چماقی شدن رئوس انتهایی لاملا^{۱۴}، واکوئله شدن^{۱۵}، بدشکلی در رأس آبشش‌ها^{۱۶} و انحراف اندک لاملا^{۱۷} (شکل‌های ۲ و ۳).

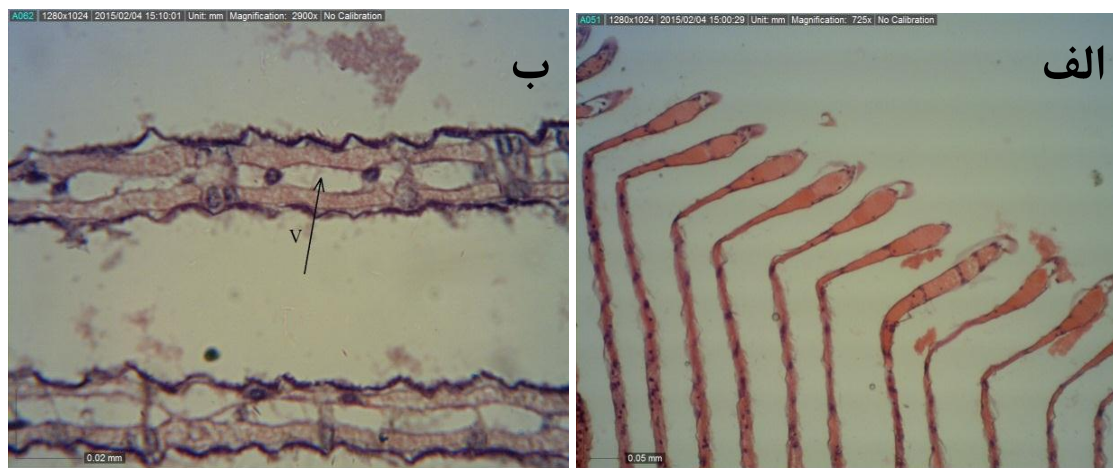


- ⁹ Pillar cells
¹⁰ Disruption of the pillar cells and collapsing of lamellae
¹¹ Hyperplasia
¹² Necrosis
¹³ Detached Cuticle
¹⁴ Club-shaped distal tips of gill lamellae
¹⁵ Vacuolisation
¹⁶ Malformation at tip of the gills
¹⁷ Slight lamellae distortion



شکل ۲- نمایی از عوارض ایجاد شده در آبشش‌ها

الف) نکروز (N) (H&E, ob.10)، (ب) هیپرپلازی (HYP) (H&E, ob.10)، (پ) بدشکلی در رأس آبشش‌ها (MF) (H&E, ob. 10)، (ت) چماقی شدن رئوس انتهایی لاملا (ث) کوتیکول جدا شده (CDT) (H&E, ob. 40)، (ج) شکسته شدن سلول‌های پیلار و فروپاشی لاملا (H&E, ob. 10).



شکل ۳- نمایی از عوارض ایجاد شده در آبشش‌ها

الف) انحراف اندک لاملاها (H&E, ob.10)، (ب) واکنش شدن (V) (H&E, ob.40).

براساس بررسی‌های انجام شده مشاهده گردید که، با افزایش مدت زمان در معرض‌گذاری اثر فلز سنگین کادمیوم بر ساختار و ریخت‌شناسی بافت آبشش بیشتر می‌شود (جدول ۱).

جدول ۱- خلاصه‌ای از اثرات پاتولوژیکی مشاهده شده در بافت آبشش خرچنگ *M.messor* در معرض $5\mu\text{g/lit}$ کادمیوم. بدون تغییر (-)، تغییرات خفیف و کم (+)، تغییرات متوسط (++)، تغییرات زیاد (+++).

نوع عارضه	کنترل	۷۲ ساعت در معرض‌گذاری	۱۴ روز در معرض‌گذاری
شکسته شدن سلول‌های پیلار و	-	+	++



فروپاشی لاملا

++	+	-	هیپرپلازی
+	-	-	نکروز
+++	++	-	کوتیکول جدا شده
+++	++	-	چماقی شدن رئوس
			انتهایی لاملا
+++	++	-	واکوئل شدن
++	+	-	بدشکلی در رأس
			آبش‌ها
++	+	-	انحراف اندک
			لاملاها

بحث

در سال‌های اخیر، اثر بیولوژیکی فلزات سنگین در سیستم‌های آبی به یک نگرانی بزرگ تبدیل شده است. یکی از جالب‌ترین جنبه‌ها به‌ویژه با در نظر گرفتن اثرات طولانی‌مدت، اثر سطح کم فلزات سنگین در سیستم‌های زیست محیطی است. در این رابطه، بی‌مهرگان به‌عنوان شاخص مفید موجودات زنده به‌کار می‌روند و این ثابت شده است که، بی‌مهرگان تمایل بیشتری به تجمع سرب و کادمیوم نسبت به سایر موجودات آبی دارند (Meyer et al., 1991). مطالعات هیستوپاتولوژی در ارزیابی پتانسیل آلودگی ناشی از سموم فلزات سنگین مفید هستند، زیرا مقدار ناچیزی از این مواد شیمیایی که منجر به مرگ حیوانات نمی‌شوند می‌توانند آسیب‌های قابل ملاحظه‌ای در اندام ایجاد کنند (Chourpagar and Kulkarni 2013) از جمله، مواجهه طولانی‌مدت ترکیبات فلزی، تغییرات هیستوپاتولوژیکی آشکاری در آبشش خرچنگ ایجاد می‌کند (Krishnaja et al., 1987).

در تفسیر تغییرات مشاهده شده در بافت آبشش خرچنگ‌های تحت استرس کادمیوم، می‌توان بیان نمود که، آبشش‌ها اندام‌های مهم برای سخت‌پوستان هستند، آن‌ها مسئول تبادل گاز، دفع آمونیاک، تنظیم اسمزی و متعادل کردن اسید-باز هستند (Romano and Zeng, 2007) و همچنین مکان‌های اصلی جذب فلزات سنگین موجود در محیط شناخته شده‌اند (Shaganas, 2007). آبشش‌ها اولین نواحی هستند که از تغییرات عملکردی توسط هر سم از جمله فلزات سنگین رنج می‌برند. در واقع، ناحیه سطحی بزرگ برای جذب، حجم زیادی از عبور آب در طول سطح آبشش و بیومس نسبتاً کوچک آبشش‌ها در مقایسه با نواحی سطحی دیگر منجر به حضور غلظت‌های بالای فلزات سنگین، به‌خصوص کادمیوم در این اندام تنفسی شده است (Meyer et al., 1991). همچنین، سلول‌های اپیدرمی تیغه آبشش، برخلاف بقیه پوست دارای تنها یک پوشش خیلی نازک از کوتیکول هستند در نتیجه آبشش‌های سخت‌پوستان نفوذپذیرترین قسمت از پوستشان را تشکیل می‌دهند، بنابراین به حمله میکروبی و صدمات آسیب‌پذیرند (Vogan et



al., 2001). علاوه بر این، آبخش‌های سخت‌پوستان در تنفس و تنظیم فشار اسمزی مهم بوده و آسیب سلولی منجر به بهم ریختگی بافت آبخش می‌شود، که این می‌تواند عواقب جدی در بر داشته باشد. در حقیقت گزارش شده است که فلزات سنگین بر توانایی تنظیم اسمزی در خرچنگ‌ها مؤثرند (Krishnaja et al., 1987). تجمع کادمیوم در آبخش‌ها منجر به تغییرات مورفولوژیکی در داخل سلول‌ها می‌شود، که اثراتی روی عملکرد اندامک‌ها نشان می‌دهد (Shaganas, 2007).

هیپرپلازی رشته‌های آبخشی بیشتر یک پاسخ بلندمدت سلول‌های سنگفرشی است که اغلب در پاسخ به میزان کم عوامل آسیب‌رسان اتفاق می‌افتد. هیپرپلازی سلول‌های پوششی به‌عنوان پاسخ مزمن علیه عفونت‌های میکروبی و انگلی و یا تحریکات شیمیایی می‌باشند (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۹۰). هیپرپلازی ایجاد شده در اثر تماس با آلاینده‌هایی همچون هیدروکربن‌های نفتی و فلزات سنگین، در سلول‌های پوششی آبخش ناشی از عدم توانایی سلول‌ها در تفکیک شدن می‌باشد که نتیجتاً به افزایش تقسیم سلولی یا میتوز می‌انجامد (رستمی بشمن و همکاران، ۱۳۷۹). تخریب سلول‌های پیلار ناشی از جریان شدید خون به درون تیغه‌های آبخشی و یا حتی اثر مستقیم آلاینده بر روی این سلول‌ها می‌باشد. چماقی شدن لاملا دلیلی بر تغییرات مزمن آبخش می‌باشد (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۹۰). در دید میکروسکوپی، سلول‌های اپیتلیال در رأس لاملاها تجمع یافته که بدین دلیل منظره‌ای شبیه به چماق پیدا کرده‌اند (احمدمرادی و همکاران، ۱۳۹۲). بسیاری از عوامل آسیب‌رسان باعث واکنش شدن و نکروز بافت پوششی تیغه‌های آبخشی می‌شوند (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۹۰). واکنش شدن سلول‌ها ممکن است یک شکست برای تنظیم مقدار حجم آب نشان دهد. در واقع واکنش شدن به‌طور بالقوه‌ای روی فرآیندهای فیزیولوژیکی در آبخش توسط افزایش فاصله انتشار برای گازهای تنفسی و یون‌ها اثر خواهد گذاشت (Ben-Khedher et al., 2013). نکروز ضایعه‌ای است که در آن سلول‌ها فعالیت کمتری دارند و حتی می‌میرند. هسته این سلول‌ها دچار تغییراتی شده و سیتوپلاسم آن‌ها معمولاً یکنواخت می‌گردد. نهایتاً این سلول‌ها سیتولیز یا فاگوسیت می‌شوند (Haschek et al., 2010).

عواقب فیزیولوژیکی تغییرات بافتی مانند نکروز، آسیب اپیتلیال و فروپاشی لاملا احتمالاً بر بهره‌وری آبی پروری، مانند کاهش تبادل گاز، اختلال در تنظیم فشار اسمزی، کاهش رشد و در موارد شدید مرگ‌ومیر حیوانات می‌باشد. شیوع گسترده هموسیت‌ها، همراه با فروپاشی تیغه آبخش احتمالاً منجر به کاهش جریان همولنف لازم برای تبادل گاز در داخل ساختار آبخش می‌شود (Romano and Zeng, 2007).

منابع

- احمدمرادی، ا.، موسوی، م.، رضائی، آ. ۱۳۹۲. بررسی آسیب‌شناسی آبخش و پوست ماهیان گلدفیش و آنجل در شهرستان‌های آبادان و خرمشهر. مجله دامپزشکی ایران، ۳: ۲۶-۱۳.
- رستمی بشمن، م.، سلطانی، م.، ساسانی، ف. ۱۳۷۹. مطالعه اثرات هیستوپاتولوژی برخی از فلزات سنگین (سولفات مس، سولفات روی، سولفات جیوه و کلرور کادمیوم) بر بافت‌های ماهی کپور معمولی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۴: ۱-۳.



شریف پور، ع.، ابطحی، ب.، حیدری جامع بزرگی، ف.، سیف آبادی، ج.، تقی زاده رحمت آبادی، ز. ۱۳۹۰. آسیب شناسی اثرات فاز محلول نفت خام بر بافت آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) در شرایط آزمایشگاهی. مجله علمی شیلات ایران، ۱: ۸۹-۱۰۰.

Ben-Khedher S, Jebali j, Houas Z, Naweli H, Jrad A, Banni M, Boussetta H. (2013). Metals bioaccumulation and histopathological biomarkers in *Carcinus maenas* crab from Bizerta lagoon, Tunisia. *Environ Sci Pollut Res*.

Chourpagar AR, Kulkarni GK. (2013). Impact of Copper sulphate on Gill structure of a Freshwater Female Crab, *Barytelphusa cunicularis* (Westwood). *Journal of Academia and Industrial Research (JAIR)*, 2, 167-169.

Ferrer L, Andrade S, Asteasuain R, Marcovecchio J. (2006). Acute toxicities of four metals on the early life stages of the crab *Chasmagnathus granulata* from Bahía Blanca estuary, Argentina. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65, 209–217.

Fossi MC, Casini S, Savelli C, Corbelli C, Franchi E, Mattei N, Sanchez-Hernandez JC, Corsi I, Bamber S, Depledge MH. (2000). Biomarker responses at different levels of biological organisation in crabs (*Carcinus aestuarii*) experimentally exposed to benzo(a) pyrene. *Chemosphere*, 40, 861-874.

Gomiero A, Pampanin DM, Bjørnstad A, Larsen BK, Provan F, Lyng E, Andersen OK. (2006). An ecotoxicoproteomic approach (SELDI-TOF mass spectrometry) to biomarker discovery in crab exposed to pollutants under laboratory conditions. *Aquatic Toxicology*, 78, 34–41.

Hetzer A, Daughney CJ, Morgan HW. (2006). Cadmium ion Biosorption by the thermophilic bacteria *Geobacillus stearothermophilus* and *G. thermocatenulatus*. *Applied Environmental Microbiology*, 6, 4020-4027.

Kavitha R, Deepa Rani S, Sivagnanam S, Padmaja M. (2013). Cadmium Nanoparticle Induced Histological and Biochemical changes in Hepatopancreas of Mud Crab *Scylla olivacea* (Herbst, 1796). *Journal of Academia and Industrial Research (JAIR)*, 2, 205-209.

Krishnaja AP, Rege MS, Joshi AG. (1987). Toxic Effects of Certain Heavy Metals (Hg, Cd, Pb, As, and Se) on the Intertidal Crab *Scylla serrata*. *Marine Environmental Research*, 21, 109-119.

Liu D, Yan B, Yang J, Lei W, Wang L. (2011). Mitochondrial pathway of apoptosis in the hepatopancreas of the freshwater crab *Sinopotamon yangtsekiense* exposed to cadmium. *Aquatic Toxicology*, 105, 394–402.

Liu D, Yang J, Wang L. (2013). Cadmium induces ultrastructural changes in the hepatopancreas of the freshwater crab *Sinopotamon henanense*. *Micron*, 47, 24–32.

Meyer W, Kretschmer M, Hoffmann A, Harisch G. (1991). Biochemical and Histochemical Observations on Effects of Low- Level Heavy Metal Load (Lead, Cadmium) in Different Organ Systems of the Freshwater Crayfish, *Astacus astacus* L. (Crustacea: Decapoda). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21, 137- 156.

Ornela Beltrame M, De Marco SG, Marcovecchio JE. (2010). Influences of Sex, Habitat, and Seasonality on Heavy-Metal Concentrations in the Burrowing Crab



(*Neohelice Granulata*) From a Coastal Lagoon in Argentina. Arch Environ Contam Toxicol, Vol 58,746–756.

Padmanaban AM, Mohan K. (2013). Toxic effects of cadmium chloride on hematological changes in fresh water field crab *Paratelphusa hydrodromous* (decapoda: brachyura). International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, 8, 2319-8753.

Pereira R, Pereira ML, Ribeiro R, Gonçalves F. (2006). Tissues and hair residues and histopathology in wild rats (*Rattus rattus* L.) and Algerian mice (*Mus spretus* Lataste) from an abandoned mine area (Southeast Portugal). Environ. Pollut, 139, 561–575.

Rainbow PS, White SL. (1989). Comparative strategies of heavy metal accumulation by crustaceans: zinc, copper and cadmium in a decapod, an amphipod and a barnacle. Hydrobiologia, 174, 245–262.

Rebelo MF, Rodriguez EM, Santos EA, Ansaldo M. (2000). Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea-Decapoda) following acute exposure to ammonia. Comparative Biochemistry and Physiology, 125, 157–164.

Romano N, Zeng C. (2007). Ontogenetic changes in tolerance to acute ammonia exposure and associated gill histological alterations during early juvenile development of the blue swimmer crab, *Portunus pelagicus*. Aquaculture, 266, 246–254.

Schlenk D. (2006). Mechanisms of stereoselective sulfoxidation and toxicity of the organophosphate, fenthion, in three fish species. Mar. Environ. Res, 62, 39.

Shaganas BB. (2007). Studies on The Effect of Toxic Heavy Metal Mercury on The Physiology and Biochemistry of An Estuarine Crab *Scylla Serrata* (Forsk.) Ph.D. thesis, School of Environmental Studies Cochin University of Science And Technology Kochi, 682 022, Kerala, 187 p.

Van Dyk JC, Pieterse GM, Van Vuren JHJ. (2007). Histological changes in the Liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. Ecotoxicology and Environmental Safety, 66, 432-440.

Van Hatton B, De Voogt P, Van Den Bosch L. (1989). Bioaccumulation of cadmium by the freshwater isopod *Asellus aquaticus* (L.) from aqueous and dietary sources. Environmental Pollution, 62, 129-151.

Vogan CL, Ramos CC, Rowley AF. (2001). A histological study of shell disease syndrome in the edible crab *Cancer pagurus*. Dis Aquat Org, 47, 209–217.

Wang J, Wang Q, Li J, Shen Q, Wang F, Wang L. (2012). Cadmium induces hydrogen peroxide production and initiates hydrogen peroxide-dependent apoptosis in the gill of freshwater crab, *Sinopotamon henanense*. Comparative Biochemistry and Physiology, 156, 195–201.

Wang L, Yan B, Liu N, Li Y, Wang Q. (2008). Effects of cadmium on glutathione synthesis in hepatopancreas of freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense*. Chemosphere, 74, 51–56.

Wu JP, Chen HC. (2004). Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption, ammonium excretion, and osmoregulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Chemosphere, 57, 1591-1598.