

## ارزیابی اثر آلودگی خوریات ماهشهر بر کبد ماهیان شانگ زردباله

### (*Achanthopagrus latus*) و بیاح (*Liza abu*) با استفاده از بیومارکر هیستوپاتولوژی

#### چکیده

خور موسی یکی از مهم‌ترین اکوسیستم‌های دریایی در جنوب ایران است که مکانی برای تخم‌گذاری بسیاری از آبزبان 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 تغییرات پاتولوژیکی کبد به عنوان یک بیواندیکاتور برای بررسی اثرات آلاینده‌های خور موسی در دو گونه ماهی شانگ زردباله و بیاح استفاده گردید. ۵۰ قطعه ماهی شانگ زردباله و ۵۰ قطعه ماهی بیاح از پنج ایستگاه در خور موسی شامل پتروشیمی، جعفری، اسکله نفتی مجیدیه، غزاله و زنگی در ۱۳۸۹ نمونه‌برداری شدند. نمونه‌های کبد از مراحل مختلف تهیه مقاطع بافتی شامل فیکس کردن، قالب‌گیری در پارافین و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین عبور داده شدند. مهم‌ترین تغییرات پاتولوژیکی مشاهده شده در بافت کبد شامل واکنش‌ها، افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی، هیپرتروفی هسته، نکروز سلول‌های کبدی، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس، خونریزی در بافت کبد بود. شاخص تغییرات هیستوپاتولوژی براساس فراوانی ضایعات بافتی مشاهده شده در کبد هر دو گونه ماهی در هر ایستگاه تعیین شد. میزان شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI) بافت کبد در ایستگاه پتروشیمی در هر دو گونه ماهی به طور معنی‌داری از سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود ( $P < 0.05$ ) که احتمالاً به دلیل وجود صنایع متعدد پتروشیمی اطراف این بخش از خور است که روزانه مقادیر زیادی از آلاینده‌ها را از قبیل مواد شیمیایی و فلزات سنگین به آن مکان تخلیه می‌کنند. کم‌ترین مقدار HAI در هر دو گونه در خور زنگی مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: هیستوپاتولوژی، کبد، خور موسی، *Achanthopagrus latus*

*Liza abu*

زهرا سلیمانی<sup>۱\*</sup>

نگین سلامات<sup>۲</sup>

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

#### مقدمه

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).

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 آبرزی همراه بوده و در حال حاضر آلودگی اکوسیستم‌های آبی مساله‌ای جدی و در حال رشد است (McGlashan and Hughies, 2001). شرایط محیطی اکوسیستم‌های دریایی پایدار نبوده و فعالیت‌های آنتروپوژنیک دارای تاثیر زیادی بر این محیط‌ها می‌باشد (Vinodhini and Narayanan, 2009). مواد شیمیایی از

ارزیابی اثر آلودگی خوریات ماهشهر بر کبد ماهیان شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) و ...

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، به‌دست آوردن برآوردی 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 تجاری 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 نمونه‌هایی از ماهیان شانک و بیاح نیز به عنوان شاهد از بندر گناوه جهت مقایسه با ایستگاه‌های مورد مطالعه جمع‌آوری گردید. عملیات نمونه برداری 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 بیهوش کردن ماهیان با عصاره گل میخک گل میخک (۱/۰ گرم بر لیتر) بیهوش 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 ۰/۵ سانتی‌متر جدا کرده و با ذکر نام ایستگاه و شماره هر ماهی، درون ظروف شیشه‌ای دردار مجزا و حاوی محلول ثبوت بوئن قرار داده شد.

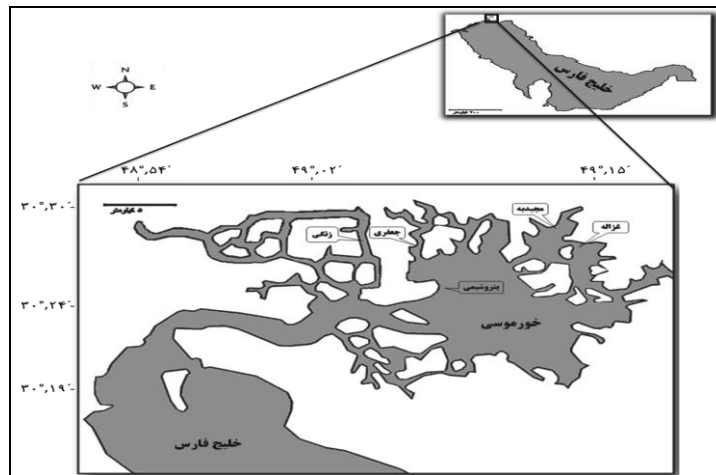
مطالعات میکروسکوپی، تغییرات بافتی شدیدی را در اندام‌هایی نظیر آبشش، کلیه و کبد ماهیانی که در معرض آلاینده‌های مختلف قرار گرفته بودند، گزارش نموده‌اند (Oliveira Ribeiro et al., 2002; Devlin, 2006; Mela et al., 2007). بنابراین به نظر می‌رسد مطالعات هیستوپاتولوژیک ابزار مناسبی جهت بررسی اثر آلاینده‌های محیطی بر ماهی می‌باشند (Teh et al., 1997).

کبد ماهی اندامی بسیار مهم جهت مطالعات سم‌شناسی می‌باشد. کبد دارای نقش مهمی در خنثی کردن و دفع سموم و تبدلات 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 همافرودیت 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 سخت‌پوستان، نرم‌تنان، خارپوستان 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 معمولاً از دیتیریت‌ها 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 خورموسی (سال ۱۳۸۹)

هیچ گونه تغییرات بافتی صورت نگرفته است.  
۱: تغییرات بافتی اندکی: تغییراتی با شدت و وسعت محدود و جزئی که قابل بازسازی و ترمیم بوده و بافت عملکرد طبیعی خود را با بهبود شرایط محیطی باز می‌یابد.  
۲: تغییرات بافتی متوسط: تغییراتی شدیدتر که عملکرد طبیعی بافت را متاثر می‌کنند. این تغییرات اگرچه برگشت پذیر 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.  
۳: تغییرات بافتی شدید: تغییراتی که ترمیم آن‌ها حتی در صورت بهبود شرایط محیطی، امکان پذیر نیست.

سایر مراحل معمول پاساژ بافتی با استفاده از دستگاه پاساژ بافتی تحت برنامه زمان بندی شده در آزمایشگاه تحقیقات بافت شناسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر صورت گرفت. آبگیری بافت‌های تثبیت شده در بوئن، توسط سری افزایشی اتانول (۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد) انجام و نمونه‌های بافتی پس از شفاف سازی توسط گزیلول پارافینه شدند. سپس از نمونه‌ها برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و با استفاده از رنگ همتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی گردید (Bancroft and Gamble, 2002). به منظور ارزیابی نتایج پاتولوژیک، تغییرات هیستوپاتولوژیکی مشاهده شده در بافت کبد هر دو گونه ماهی براساس رده بندی 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، واکووله شدن هیپاتوسیت‌ها، قرار گرفتن هسته در موقعیت جانبی، نفوذ لوکوسیتی، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس
II: تغییرات بافتی متوسط	واکووله شدن هسته، دژنره شدن سیتوپلاسم، افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی، احتقان خون
III: تغییرات بافتی شدید	نکروز، دژنره شدن هسته، خونریزی

ارزیابی اثر آلودگی خوریات ماهی‌نهر بر کبد ماهیان شانک زردباله (*Acanthopagrus 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 واکوئوله شدن هپاتوسیت‌ها، هیپرتروفی هسته، نکروز سلول‌های کبدی، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس، خونریزی در بافت کبد، افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی و هیپرتروفی سلولی بودند. همین ضایعات با شدت و وسعت کمتری در ایستگاه جعفری مشاهده شدند. عمده‌ترین ضایعات مشاهده شده در ایستگاه‌های مجیدیه و غزاله شامل واکوئوله شدن هپاتوسیت‌ها، اتساع سینوزوئیدها و اتساع فضای دیس بود. واکوئوله شدن هپاتوسیت‌ها تنها عوارض مشاهده شده ایستگاه زنگی بود (شکل ۲).

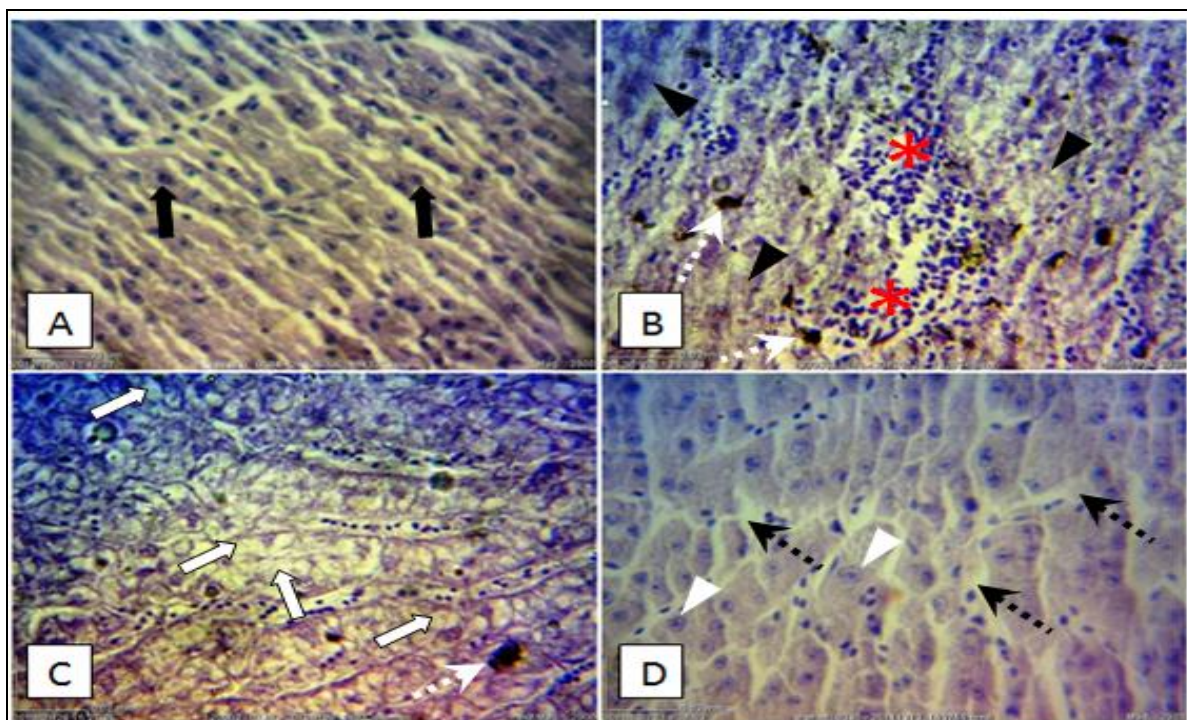
فرمول زیر جهت تعیین شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI) هر بافت استفاده شد (Camargo and Martinez, 2007):

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

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 جدا شده از ماهیان شاهد زردباله و بیاح شاهد فاقد ضایعات 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

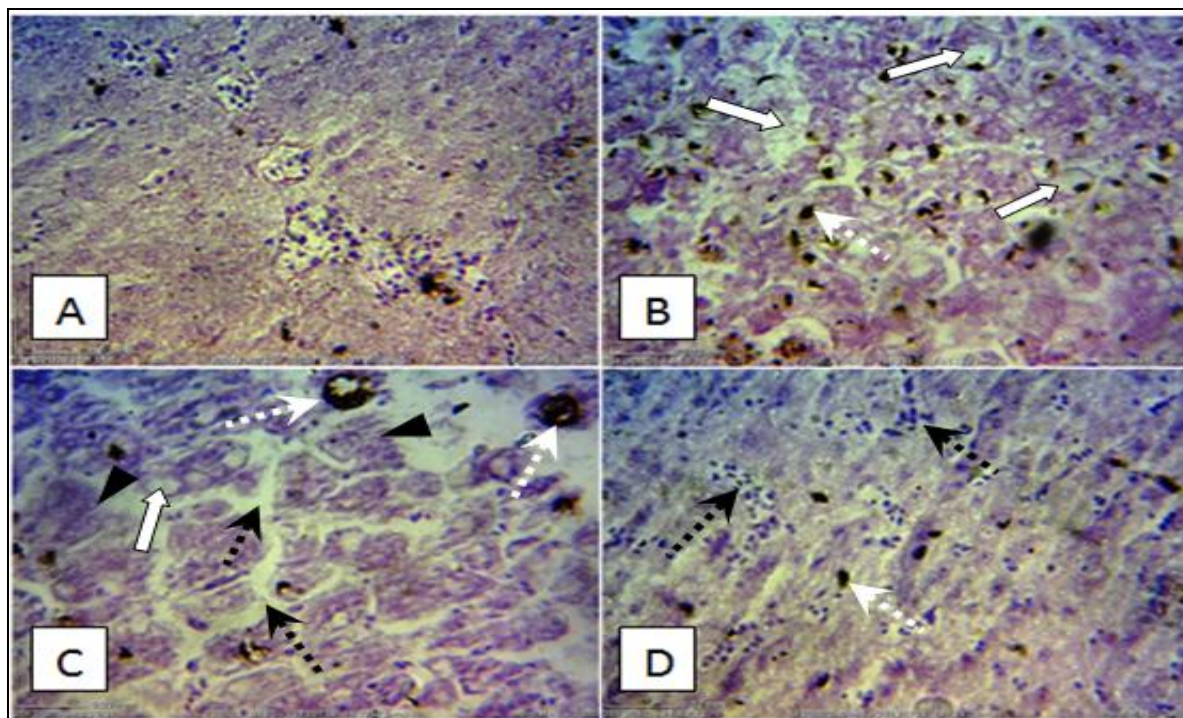


شکل ۲: تصاویر میکروسکوپ نوری تغییرات بافتی کبد ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) در خورموسی (سال ۱۳۸۹)

- 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 ملانوماکروفاژی (پیکان منقطع سفید)، نکروز سلول‌های کبدی (نوک پیکان سیاه)  
 C: افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی (پیکان منقطع سفید)، واکوئوله شدن هپاتوسیت‌ها (پیکان سفید)  
 D: هیپرتروفی هسته (نوک پیکان سفید)، اتساع فضای دیس (پیکان منقطع سیاه) A، B، C و D (H&E; ×۲۹۰)

همین ضایعات ولی با شدت و وسعت کمتری مشاهده شدند. عمده ترین ضایعات مشاهده شده در ایستگاه غزاله شامل واکوتوله شدن هیاتوسیت‌ها، قرارگرفتن هسته در موقعیت جانبی بود. واکوتوله شدن هیاتوسیت‌ها 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 هیپرتروفی هسته، واکوتوله شدن هیاتوسیت‌ها، افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی، دژنره 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: واکوتوله شدن هیاتوسیت‌ها (پیکان سفید)، افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی (پیکان منقطع سفید) C: افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی (پیکان منقطع سفید) واکوتوله شدن هیاتوسیت‌ها (پیکان سفید)، نکروز سلول‌های کبدی (نوک پیکان سیاه)، D: افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی (پیکان منقطع سفید)، اتساع فضای دیس و افزایش لوکوسیتی (پیکان منقطع سیاه) A (H&E;×۷۲۵) B: C و D (H&E;×۲۹۰۰)

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 ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*)

و بیاح (*Liza abu*) در خور موسی (سال ۱۳۸۹)

گروه شاهد	خور زنگی	خور غزاله	خور مجیدیه	خور جعفری	خور پتروشیمی	ایستگاه نمونه
♦	۳۹±۶/۰۸	۹۸/۸۶±۴۸/۷۴	۱۸۸/۳۶±۵/۷۷	۲۷۵±۱۶	۲۸۰/۶۶±۱۷/۸۲	شانک
♦	۴۰/۱±۱۰	۲۷۰/۲۱±۲۱/۳۷	۳۷۵±۱۹/۲۷	۸۳±۵۴/۵۰	۳۸۶±۱۳/۳۶	بیاح

با استفاده از فرمول HAI (Camargo and Martinez, 2007) محاسبه و در جدول ۲ قابل مشاهده است.

ارزیابی اثر آلودگی خوریات ماهشهر بر کبد ماهیان شانک زردباله (*Acanthopagrus 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 مختل 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.

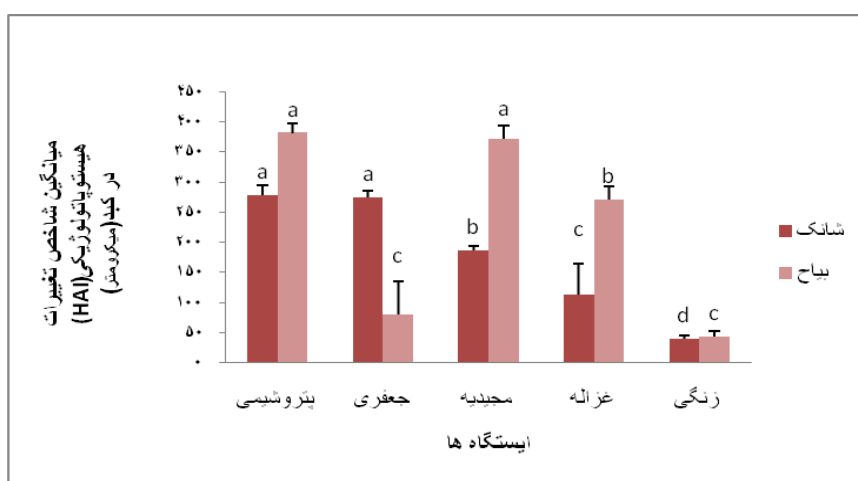
براساس نتایج حاصل از آنالیز شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI)، مقدار این شاخص در ایستگاه‌های پتروشیمی و مجیدیه به طور معنی‌داری از سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود ( $P < 0.05$ )، ولی اختلاف معنی‌داری میان این دو ایستگاه وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI) در سایر ایستگاه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۴).

شاخص تغییرات میتوپالوژی (HAI) کبد ماهی بیاح در ایستگاه‌های مختلف مطابق الگوی زیر می‌باشد:  
ایستگاه پتروشیمی ≤ ایستگاه مجیدیه < ایستگاه غزاله < ایستگاه جعفری < 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 مختل 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 ≤ ایستگاه جعفری < ایستگاه مجیدیه < ایستگاه غزاله < ایستگاه زنگی



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

## بحث و نتیجه گیری

محققین متعددی اثرات هیستوپاتولوژیک آلاینده‌های متفاوت بر بافت‌های مختلف نظیر کبد، کلیه، آبشش، اپیتلیوم بویایی 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، واکوئوله شدن هپاتوسیت‌ها، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس، افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی 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 قزل‌آلای رنگین‌کمان، تغییرات هیستوپاتولوژیکی مانند دژنراسیون هپاتوسیت‌ها، اتساع سینوزوئیدها و پرخونی در رگ‌های کبدی مشاهده شد.

Camargo و Martinez (۲۰۰۷) نیز ضایعاتی نظیر واکوئوله شدن هپاتوسیت‌ها، افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی 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 واکوئوله شدن هپاتوسیت‌ها نشان دهنده از بین رفتن تعادل میان میزان سنتر 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 آلاینده و مدت زمان قرارگیری ماهی در معرض آلاینده 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 دژنراسیون سلولی و نکروز در کبد شوند (Mohamed, 2009). نتایج بدست آمده از مطالعه Velkova-Jordanoska و

Kostoski (۲۰۰۵) روی تاثیر آلودگی‌های شهری بر کبد ماهی *Barbus meridionalis petenysi*، 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 *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 و 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 به‌طور 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 آلاینده‌ها بوده 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 قابل توجه این ایستگاه توسط پساب‌های کارخانه کلر آلکالی و کارخانجات پتروشیمی می‌باشد. البته لازم به ذکر است اطلاع دقیقی از انواع آلاینده‌های موجود در هر خور و مقدار آن‌ها وجود نداشته و تنها

در ماهی بیاح وسعت ضایعات و میانگین HAI خور غزاله به طور معنی‌داری کمتر از خورهای پتروشیمی و مجیدیه بود ( $P < 0.05$ )، ولی میانگین HAI کبد ماهی بیاح این خور ( $21/37 \pm 270/21$ ) 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 می‌رسد.

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 عبدالله‌پور (۱۳۸۹) و بابادی (۱۳۹۰)، میزان غلظت آلودگی‌هایی نظیر جیوه در رسوبات خور جعفری کمتر از سایر خورها و تقریباً همسان با خور زنگی بود. بنابراین کمتر بودن میانگین HAI ماهی بیاح در خور جعفری نسبت به سایر خورها، احتمالاً به این دلیل می‌باشد که ماهی بیاح، ماهی بستری و پوده خوار بوده و از رسوبات بستر تغذیه می‌کند.

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 معنی‌داری 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 فراوان‌ترین میزان پسماندهای شهری را دریافت می‌کرد.

در مطالعه حاضر فراوانی ضایعات بافتی و میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد دو گونه ماهی شانک و ماهی بیاح اگرچه در ایستگاه‌هایی مانند خور پتروشیمی و خور زنگی تا حدودی مشابه بود، ولی در سایر ایستگاه‌ها (جعفری، مجیدیه و غزاله)، تفاوت‌های قابل توجهی را نشان می‌داد. میانگین HAI در خورهای پتروشیمی میان ماهی شانک و ماهی بیاح تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ( $P > 0.05$ ). براساس مطالعات صورت گرفته میزان آلودگی در این خور بیشتر از سایر خورها بود که می‌تواند ناشی از آلوده بودن بیش از حد آب و رسوب خور پتروشیمی باشد (Babadi, 2011; Abdollah pour, 2010; Assar, 2009). این طور به نظر می‌رسد که آلودگی موجود در این خور، حجم بالایی از آلودگی را تحمل می‌کنند و

می‌توان به تحقیقات محدودی که در ارتباط با اندازه‌گیری برخی آلاینده‌ها مانند جیوه وجود دارد، بسنده نمود. در مطالعه‌ای که گودرزی و همکاران (۱۳۸۵) انجام دادند دریافتند که بیش‌ترین مقدار جیوه موجود مربوط به خور پتروشیمی است که به علت تخلیه پساب‌های پتروشیمی می‌باشد.

از طرفی نمونه‌های کبد ماهی شانک زرد باله جمع‌آوری شده از ایستگاه جعفری، پس از ایستگاه پتروشیمی، دارای بیش‌ترین فراوانی تغییرات پاتولوژیکی بوده و میانگین HAI آن تفاوت معنی‌داری 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 آلاینده‌ها در آن‌ها منطقی به نظر می‌رسد. عبدالله‌پور (۱۳۸۹) گزارش نمود که خور جعفری تا حد زیادی توسط خروجی صنایع پتروشیمی آلوده می‌شود.

از طرفی اگرچه در نمونه‌های 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 به‌طور معنی‌داری از دو ایستگاه پتروشیمی و جعفری کمتر بود ( $P < 0.05$ ). همچنین میانگین HAI در دو ایستگاه غزاله و زنگی بسیار پایین بود که نشان‌دهنده کمتر بودن غلظت کلی آلاینده‌های موجود در این خورها می‌باشد. خورهای مجیدیه و غزاله از جمله خورهای انتهایی در منطقه خور موسی بوده و احتمالاً جریان‌های آبی حاوی آلاینده‌ها کمتر به این خورها راه می‌یابند. بابادی (۱۳۹۰) گزارش نمود که غلظت جیوه در آب خور مجیدیه و غزاله بیش از سایر ایستگاه‌ها بوده، ولی اطلاعی راجع به غلظت کل آلاینده‌های موجود در این خورها وجود نداشته و احتمالاً میزان کلی آلاینده‌های 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 آلاینده‌های ناشی از فرآورده‌های نفتی به این خور فراوانی ضایعات پاتولوژیک در این خور طبیعی به نظر می‌رسد (Babadi, 2011; Abdollah pour, 2010).



همچنین بیولوژی اورگانیزم، 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. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۷۵ ص.

ستاری، م.، شاهسونی، د. و شفیعی، ش.، ۱۳۸۳. ماهی شناسی ۲ (سیستماتیک). انتشارات حق شناس، صفحات ۲۴۶-۲۴۵.

عبدالله پور، ف.، ۱۳۸۹. مطالعه مقایسه‌ای تجمع فلزات سنگین (کادمیوم، کبالت، مس، نیکل و سرب) در رسوبات و گونه‌های غالب ماهیان خوریات موسی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۸۶ ص.

عصار، م.، ۱۳۸۸. بررسی تجمع زیستی جیوه و متیل جیوه در ماهی شبه شوریده در خوریات ماهشهر. پایان‌نامه 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*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۹۸ ص.

گودرزی، م.، اسماعیلی ساری، ع.، ساداتی پور، م. و پوری، ق.، ۱۳۸۵. اندازه‌گیری میزان جیوه ناشی از صنایع کلرکالی در رسوبات منطقه بندر امام. هفتمین 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, Elsevier 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 آلودگی آب و رسوب خورهای جعفری، مجیدیه و غزاله نشان داد، میزان آلودگی آب خور جعفری به طور معنی‌داری بیش از آب خورهای مجیدیه و غزاله بود (جعفری < مجیدیه < غزاله)، در حالی که از لحاظ آلودگی 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 آلوده 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 آلودگی 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 آلودگی آب و رسوب این خورها و بیولوژی ماهی امکان پذیر نباشد. با توجه به آلودگی قابل توجه رسوبات خورهای مجیدیه و غزاله، به نظر می‌رسد در این خورها ماهی بیاح به علت نوع رژیم غذایی (تغذیه از رسوبات)، بیش از ماهی شانک زردباله متاثر شود. در خور جعفری که میزان آلودگی رسوبات کمتر از خورهای مجیدیه و غزاله و میزان آلودگی 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 آلودگی 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. *Histopatology 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 Croatica*, 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., Esmaili sari, A., Sadati pour, M. and Poory, G. H., 2005.** Measurement of mercury concentration in Imam Port deposit due to color alkali industries. 7<sup>th</sup> 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 Hughies 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 Mussa 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, hemorrhagia, 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