

بررسی تغییرات پاتولوژیک بافت کبد ماهی شانک زردباله (Liza abu) و بیاح (Achanthopagrus latus) در پاسخ به آلاینده‌های پتروشیمی

نگین سلامات^{۱*} زهراسلیمانی^۲

(۱) گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر - ایران

(۲) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران

(دریافت مقاله: ۲۰ فروردین ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۶ تیر ماه ۱۳۹۳)

چکیده

زمینه مطالعه: خور موسی یکی از مهمترین اکوسيستم‌های دریایی و با ارزش در جنوب ایران است که مکانی برای تخمگذاری بسیاری از ماهی‌ها موجودات دیگرمی باشد و دلیل وجود صنایع مختلف در اطراف این بخش از خلیج فارس توجه بسیاری را به خود جلب کرده است. مطالعات پیشین تجمع مقادیر بالایی از آلاینده‌های دریا را در بافت‌های ماهیان این منطقه نشان داده‌اند که می‌تواند منجر به تغییر ساختار بافتی اندام‌های مختلف این ماهیان گردد. **هدف:** استفاده از تغییرات پاتولوژیکی کبد جهت بررسی اثرات آلاینده‌های خور موسی بر دو گونه ماهی شانک زردباله و بیاح. **روش کار:** در این مطالعه ۵۰ قطعه ماهی شانک زردباله و ۵۰ قطعه ماهی بیاح از پنج ایستگاه در خور موسی شامل: (۱) پتروشیمی، (۲) جغرفی، (۳) اسکله نفتی مجیدیه، (۴) غزاله و (۵) زنگی جم آوری شدن. پس از تشريح ماهیان نمونه‌هایی از کبد اخذ و در محلول ثبوت بوئن ثبت شدند. سپس نمونه‌ها براساس روش‌های مرسوم بافت‌شناسی مورد مطالعه بافتی قرار گرفتند. **نتایج:** تغییرات پاتولوژیکی مشاهده شده در بافت کبد شامل واکوئله شدن هپاتوسيت‌ها، هیپرتروفی هسته، نکروز کانونی، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس و خونریزی بود. میزان ساختمان تغییرات هیستوپاتولوژیک (Histopathological alteration index) (HAI) بافت کبد در ایستگاه پتروشیمی در هر دو گونه ماهی به طور معنی داری از سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود ($p < 0.05$). **کمترین مقدار HAI** مربوط به خورزنگی بود. **نتیجه‌گیری نهایی:** نتایج مطالعه حاضر نشان داده که تغییرات ساختار بافتی کبد هردو ماهی شانک و بیاح تحت تأثیر آلودگی خور موسی ایجاد شده و میزان این تغییرات ارتباط نزدیکی با مقدار آلودگی محیطی دارد.

واژه‌های کلیدی: شانک زردباله، بیومارکر زیستی، تغییرات هیستوپاتولوژی، کبد، بیاح

فراآوانی است (۴). موقعیت کبد دلیل اصلی اهمیت آن در جذب، ذخیره‌سازی، 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 (۹). Oliveira Ribeiro و همکاران در سال ۲۰۰۲ و همچنین Mela و همکاران در سال ۲۰۰۷ با مطالعه میکرو‌سکوپی بافت‌ها، تغییرات شدیدی را در ساختار بافتی کبد ماهیانی که در معرض آلاینده‌های مختلف قرار گرفته بودند، گزارش نموده‌اند. بنابراین به نظر می‌رسد مطالعات هیستوپاتولوژیک این اندام از ازار مناسبی جهت بررسی اثر آلاینده‌های محیطی بر ماهی باشد (۲۱).

ماهی شانک زرد باله یک گونه‌ی هرما فرودیت پروتادر روس است (۱۰). این ماهی در نزدیک کف و در آب‌های کم عمق (۵۰ متری) زیست می‌کند (۷). ماهی شانک زرد باله شکارچی و از نظر عادت غذایی گوشت‌خوار بوده و اصولاً از سخت پوستان، نرم‌تنان، خار پوستان و کرم‌ها تغذیه می‌کند. ماهی بیاح در مناطق ساحلی دریا زیست کرده و وارد مصب‌ها و آب شیرین می‌شود. از لحاظ رژیم غذایی یک ماهی پوسیده خوار بوده و معمولاً از دیتریت‌ها و موجودات کوچک موجود در شن و گل بستر تغذیه می‌کند (۱۹). با توجه به ارزش غذایی و بازار پست بودن این ماهیان تجاری در جنوب کشور، تحقیق حاضر با هدف استفاده از

مقدمه

اکوسيستم‌های آبی مجاور و احدهای صنعتی گوناگون همواره در معرض خطر آلودگی ناشی از تخلیه آلاینده‌های مختلف نظیر فلزات سنگین، ترکیبات نفتی، حاله‌ها و... از این صنایع به این محیط‌ها می‌باشدند (۲۴). خور موسی، واقع در شمال غرب خلیج فارس و در سواحل استان خوزستان، از جمله این اکوسيستم‌ها می‌باشد که همواره در معرض تهدید آلاینده‌های نفتی، فلزات سنگین معمول در ترکیبات نفت خام، پساب‌های صنایع پتروشیمی مجاور و پساب‌های شهری قرار داشته است. این آلاینده‌های در سرتاسر ستون آب و رسوبات زیرین پراکنده می‌شوند. ماهیان ساکن در این محیط‌های آبی آلوده، مواد شیمیایی را هم از طریق تغذیه با موجودات آلوده شده توسط آلاینده‌ها و هم توسط تماس سطوح تنفسی و پوست خود با آب آلوده، دریافت می‌کنند. سپس مواد شیمیایی تجمع یافته در سراسر بدن ماهی پخش شده و پس از رسیدن به مکان اصلی عملکرد، اثرات سمی خود را ایجاد می‌کنند (۹).

کبد نقش مهمی در خنثی کردن و دفع سموم و تبادلات زیستی داشته و به همین دلیل مستعد ابتلاء به آسیب‌های پاتولوژیکی و متابولیکی



(Histopathologic alterations index): به منظور ارزیابی نتایج پاتولوژیک، تغییرات هیستوپاتولوژیکی بافت کبد براساس رده‌بندی انجام شده توسط Martinez و Camargo در سال ۲۰۰۷، از درجه صفر تا سه (به ترتیب شامل فقدان تغییرات بافتی، تغییرات بافتی کم، تغییرات بافتی متوسط، تغییرات بافتی شدید) دسته‌بندی شدند (جدول ۲). با توجه به تغییرات پاتولوژیک ایجاد شده در نمونه‌های کبد ماهیان شانک زرد باله و بیاح در ایستگاه‌های مختلف، HAI کبد هردو گونه ماهی در ایستگاه‌های متفاوت با استفاده از فرمول $HAI = (1X SII) + (100X SIII) + (10X SI)$ محاسبه و مقدار آن برای هریک از ایستگاه‌ها به صورت میانگین $\pm SE$ بیان شد.

در این فرمول I، II و III مراحل تغییرات بافتی و S به تعداد تغییرات بافتی هر مرحله رانشان می‌دهد.

مقدار HAI بین ۱۰ تا ۱۱ نشان دهنده عملکرد طبیعی اندام، بین ۱۱ تا ۲۰ نشان دهنده آسیب اندک به اندام مورد نظر، بین ۲۱ تا ۵۰ نشان دهنده تغییرات متوسط اندام، بین ۵۰ تا ۱۰۰ نشان دهنده تغییرات شدید و بیشتر از ۱۰۰ نشان دهنده آسیب برگشت ناپذیر اندام می‌باشد (۴).

نتایج

بافت کبد جدادشده از ماهیان شاهد زرد باله و بیاح اخذ شده از ایستگاه 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 سلول‌های کبدی قرار داشتند. هپاتوسیت‌ها به شکل سلول‌های چندوجه‌داری هسته بزرگ روشن با هستک مشخص و سیتوپلاسم کاملاً آسیدوفیلی قابل مشاهده بودند (تصویر ۲، ۳).

شاخص تغییرات هیستوپاتولوژی (HAI) کبد ماهی شانک زرد باله و بیاح: مقدار HAI کبد هردو گونه ماهی در ایستگاه‌های متفاوت در جدول ۴ قابل مشاهده است.

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز HAI، مقدار این شاخص در ایستگاه‌های پتروشیمی و جعفری به طور معنی داری از سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود ($p < 0.05$) ولی اختلاف معنی داری میان این دو ایستگاه وجود نداشت ($p > 0.05$). مقدار HAI در سایر ایستگاه‌های نیز اختلاف معنی داری را نشان داد ($p < 0.05$) (تصویر ۴).

مقدار HAI کبد ماهی شانک زرد باله در ایستگاه‌های مختلف مطابق الگوی زیربود:

ایستگاه پتروشیمی ایستگاه جعفری «ایستگاه مجیدیه» ایستگاه غزاله «ایستگاه زنگ».

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز HAI، مقدار این شاخص در ایستگاه‌های پتروشیمی و مجیدیه به طور معنی داری از سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود ($p < 0.05$) ولی اختلاف معنی داری میان این دو ایستگاه وجود

پارامترهای پاتولوژیکی جهت بررسی تأثیر آلودگی محیطی براین ماهیان صورت گرفت.

مواد و روش کار

در تحقیق حاضر، نمونه برداری در پنج ایستگاه در خور موسي شامل خورهای پتروشیمی، جعفری، مجیدیه، غزاله و زنگی انجام شد (تصویر ۱). انتخاب ایستگاه‌های حاضر براساس میزان آلودگی آب و رسوب هریک از آنها بود (۲، ۱۷، ۱۸). مقدار دما، pH و اکسیژن محلول آب هر ایستگاه در زمان نمونه برداری اندازه گیری شد که مقادیر آین پارامترها و همچنین منابع اصلی آلوده کننده هریک از ایستگاه‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

لازم به ذکر است که نمونه‌هایی از ماهیان شانک و بیاح نیز به عنوان شاهد از بندگناوه جهت مقایسه با ایستگاه‌های مورد مطالعه جمع آوری شد، چراکه بنابر تحقیقات موجود این ایستگاه دارای آلودگی کمتری نسبت به خور موسي می‌باشد (۲۲).

عملیات نمونه برداری در مهر ماه ۱۳۹۹، توسط قایق صیادی صورت گرفت. قابل ذکر است که دمای هوا و آب در خور موسي از اوخراردي بهشت ماه تا اوسط آبان ماه تقریباً یکنواخت و گرم است. از طرفی خور موسي یک منطقه محصور شده است که تنها از طریق باریکه‌ای با خلیج فارس در ارتباط می‌باشد. لذا جربانات آبی خلیج فارس چندان به خور موسي وارد نگشته و تغییرات جذر و مدى در این خور نیز زیاد نیست. بنابراین ورود و خروج آب به این خور همواره متعادل بوده و تأثیر قابل توجهی بر تغییرات آلودگی این خور نداشته است (۸، ۱۰).

از هر ایستگاه ۱۰ عدد ماهی شانک زرد باله و ۱۰ عدد ماهی بیاح (با وزن و اندازه یکسان) توسط قلاب صید گردید. جهت رعایت موازین اخلاقی و مرگ آسان جهت تشریح، ماهیان توسط عصاره خالص گل میخک ۱ mL (در هر لیتر آب، شرکت باریج اسنس کاشان) بیهود شده، وزن هر ماهی به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت 0.01 g و طول کل بدن با استفاده از تخته بیومتری با دقت 1 mm اندازه گیری و ثبت گردید. سپس قطعاتی به ابعاد $0.5 \times 0.5 \times 0.5\text{ cm}$ از کبد جدا کرده و با ذکر نام ایستگاه و شماره هر ماهی، درون ظروف شیشه‌ای درب دار مجزا حاوی محلول ثبوت بوئن قرار داده می‌شد.

سپس مراحل عمل آوري بافت با استفاده از روش‌های استاندارد مرسوم (RX-11B, tissue tek rotary, Japan) تحت برنامه زمان‌بندی شده در آزمایشگاه تحقیقات بافت شناسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر صورت گرفت. پس از آن با استفاده از دستگاه میکروتوم (مدل LEICA-RM2245)، برش‌هایی با ضخامت $5\text{ }\mu\text{m}$ از نمونه‌ها تهیه و با استفاده از رنگ هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند (۳).

تعیین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژی (HAI)



جدول ۱. مقدار پارامترهای فیزیکوشیمیابی آب و منبع آلووده‌کننده هر ایستگاه.

میزان آلودگی هر ایستگاه		فعالیت رایج در منطقه	پارامترهای اندازه‌گیری شده				نام خور
رسوب	آب		اکسیژن محلول (mg O ₂ /L)	pH	(°C) ماد		
زیاد	زیاد	ورودی فاضلاب صنایع پتروشیمی و واحد کلآلکالی	۳/۲	۸/۴	۲۳/۶	پتروشیمی	
نسبتاً کم	زیاد	نزدیکی با مجتمع‌های پتروشیمی	۳/۸	۸/۴	۲۴	جغرافی	
زیاد	زیاد	اسکله‌ی صادرات نفت	۴/۴	۸	۲۴	مجیدیه	
زیاد	نسبتاً کم	پرورش‌های درقفس	۴/۲	۸/۱	۲۵	غزاله	
کم	کم	دوراز فعالیت‌های صنعتی و گشتی رانی	۴/۵	۸	۲۴/۵	زنگی	
بسیار کم	بسیار کم	ایستگاه شاهد	۴/۸	۷/۹۳	۲۴	گناوه	

جدول ۲. تغییرات همیستوپاتولوژیک اندک. مرحله I: تغییرات بافتی اندک، مرحله II: تغییرات بافتی متوسط، مرحله III: تغییرات بافتی شدید (۴).

مرحله آسیب	تغییرات هیستوتیپاتولوژیکی کبد
I	هیپرتروفی هسته - هسته های باشکال نامنظم - هیپرتروفی سلولی - واکوئله شدن هپاٹوسیستها - قرارگرفتن هسته در موقعیت جانبی - نفوذ لوکوسیتی - اتساع سینوزونیدها - اتساع فضای دیس
II	واکوئله شدن هسته - دُز نه شدن سیستوپلاسم - افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی - احتقان خون
III	نکروز - دُز نه شدن هسته - خونریزی

جدول ۳. ضایعات پاتولوژیک مشاهده شده در کبد ماهی شانک و بیاح جمع آوری شده از ایستگاههای مختلف.

جدول ۴. میانگین HAI کید ماهی، شانک زردباله و بیچار در هر ایستگاه نمونه برداری.

گروه شاهد	خورنگی	خور غزاله	خور مجیدیه	خور جعفری	خور پتروشیمی	
.	۳۹±۶/۰.۸	۹۸/۸۶±۴۸/۷۴	۱۸۸/۳۶±۵/۷۷	۲۷۵±۱۶	۲۸۰/۵۶±۱۷/۸۲	HAI شانک
.	۴۰/۱±۱۰	۲۷۰-۲۱±۲۱/۲۷	۳۷۵±۱۹/۲۷	۸۳±۵۴/۵۰	۳۸۶±۱۳/۳۶	HAI بیاب

جعفری «ایستگاه زنگی».
نداشت ($p < 0.05$). مقدار HAI در سایر ایستگاه‌های نیز اختلاف معنی‌داری
انشان داد ($p < 0.05$) (تصویر ۴).

بحث

مقدار HAI کید ماهی، شانک زردیا له در ایستگاه های مختلف مطابق

لگوی زیر پود:

ثرات هیستوپاتولوژیک آلانینده‌های متفاوت پر بافت‌های مختلف

نظیر کید، کلیه، آیشش، استنلیوم یو یا یو، طحال در ماهیانه که د، معرض

ایستگاه پیشوای مسیح ایستگاه محبوب «ایستگاه غزاله» ایستگاه



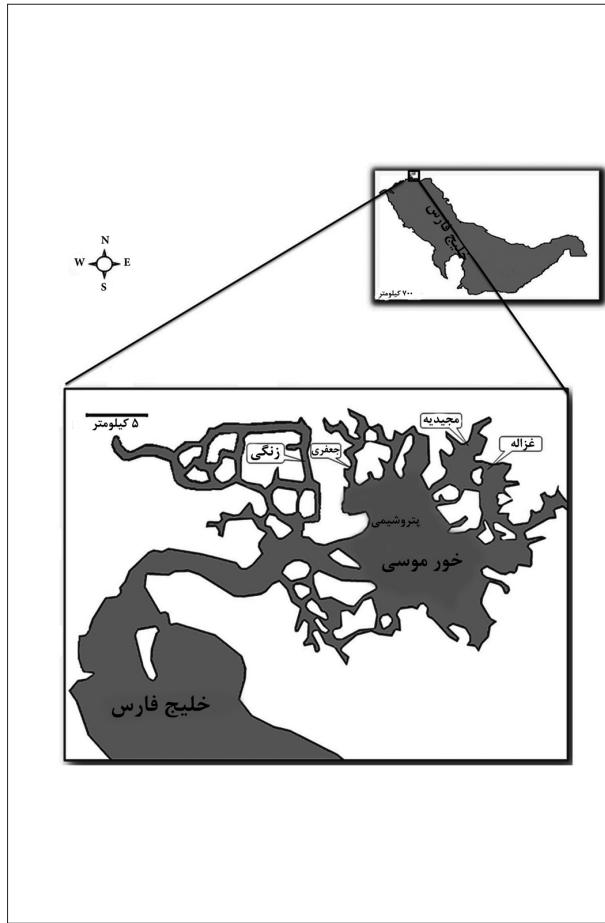
قرارگیری ماهی در معرض آلاینده ارتباط مستقیم داشته و این ضایعات در صورت وجود استرس هایی باشد زیاد ایجاد می شوند. اتساع عروق، همولیز درون عروقی، ترومبوس درگ های خونی همراه با توقف جریان خون، نیز ممکن است باعث دژنرنسانس سلولی و نکروز در کبد شوند (۱۳).

نتایج به دست آمده از مطالعه Kostoski و Velkova-Jordanoska در سال ۲۰۰۵ روی تأثیر آلودگی های شهری بر کبد ماهی Barbus meridionalis petenyi تغییرات پاتولوژیکی شامل نکروز سلول های پرانشیمی همراه با خونریزی را دریافت کردند. علاوه بر این در مطالعه ای که توسط Saenphet و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد، خونریزی، پرخونی و نکروز سلولی همراه با نفوذ سلول های تک هسته ای 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 جغرافی بوده و میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک (HAI) بافت کبد در این دو ایستگاه به طور معنی داری بیشتر از سایر ایستگاه ها بود ($p < 0.05$). نتایج مطالعات هیستوپاتولوژیک کبد ماهی بیان هم نشان داد بیشترین فراوانی تغییرات پاتولوژیک در ماهیان جمع آوری شده از خورهای پتروشیمی و مجیدیه بوده و میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک در این دو ایستگاه به طور معنی داری بیشتر از سایر ایستگاه ها بود ($p < 0.05$).

در تحقیق حاضر بیشترین میزان HAI بافت کبد هردو گونه ماهی در ایستگاه پتروشیمی مشاهده گردید. تخلیه پساب های پتروشیمی به خورموسي عامل اصلی آلودگی خورموسي به آلاینده ها است و محدوده کارخانجات پتروشیمی مقادیر بالایی از آلودگی را نشان داده است (۲،۵،۱۹). مشاهده بیشترین فراوانی ضایعات پاتولوژیک در ایستگاه پتروشیمی نیز به دلیل آلودگی قابل توجه این ایستگاه به پساب های کارخانه کلرآلکالی و کارخانجات پتروشیمی موجود در اطراف این ایستگاه می باشد.

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 ایستگاه پتروشیمی نداشت ($p > 0.05$). دلیل این تشابه نزدیکی این خورهای یکدیگر است که با توجه به متحرک بودن ماهی، جابجایی میان خورهای نزدیک به هم و تشابه غلظت آلاینده ها در آنها منطقی به نظر می رسد. Safahieh و همکاران در سال ۲۰۱۴ نیز گزارش نمودند که خور از طرفی تا حدود زیادی توسط خروجی صنایع پتروشیمی آلوده شده اند. از طرفی اگرچه در نمونه های کبد ماهیان شانک زرد باله مربوط به ایستگاه مجیدیه ضایعات پاتولوژیک در مرحله III (نکروزو خونریزی) مشاهده شد، ولی وسعت این گونه ضایعات و میانگین HAI در این ایستگاه به طور

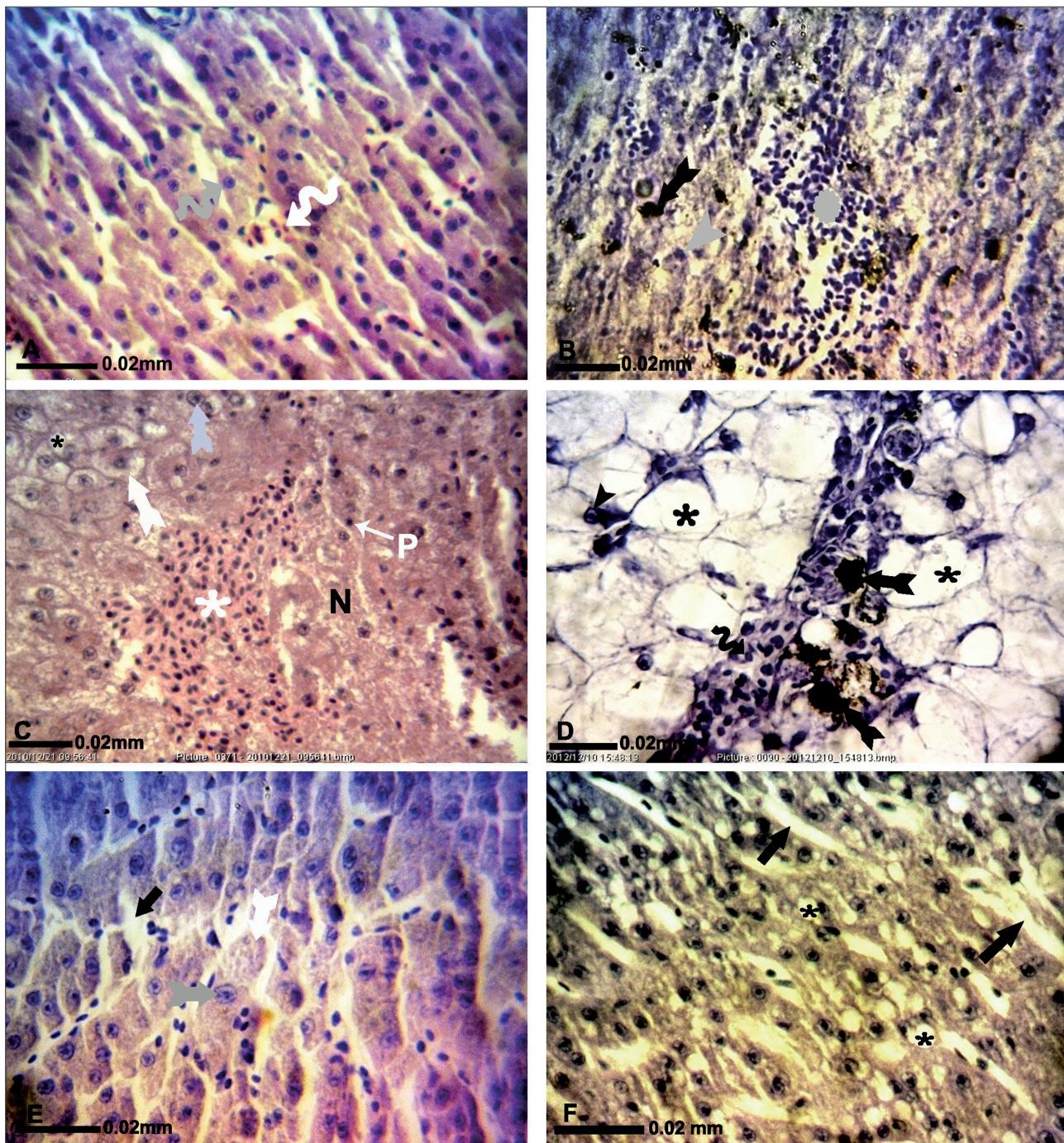


تصویر ۱. نقشه منطقه مورد مطالعه و ایستگاه های نمونه برداری.

آب های آلوده قرار داشتند، توسط محققین مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۵،۱۹). در مطالعه صورت گرفته توسط Atamanalp و همکاران در سال ۲۰۰۸ از اثر مس بر روی بافت کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان، تغییرات هیستوپاتولوژیکی مانند دژنرنسانس هپاتوسیت ها، اتساع سینوزوئید ها و پرخونی درگ های کبدی مشاهده شد. Martinez Camargo در سال ۲۰۰۷ نیز ضایعاتی نظیر واکوئله شدن هپاتوسیت ها، افزایش تجمعات ملانوما کروفاژی و هیپرتروفی هسته رادر ماهی Prochilodus lineatus که به مدت ۷ روز در معرض پساب های آلوده شهری و صنعتی قرار گرفته بود، گزارش نمودند. از آنجایی که کبد ماهی مکانی جهت سمیت زدایی انواع سموم و مواد شیمیایی است، لذا ممکن است واکوئله شدن هپاتوسیت ها نشان دهنده از بین رفتن تعادل میان میزان سنتز مواد در هپاتوسیت ها و میزان آزاد کردن آن ها درون سیستم گردش خون باشد (۲۰).

ضایعاتی نظیر نکروز سلول های کبدی، دژنره شدن هسته، خونریزی در بافت کبد ماهیان مورد مطالعه در تحقیق حاضر در برخی ایستگاه ها مشاهده شدند. Oliveira Ribeiro و همکاران در سال ۲۰۰۲ معتقدند که ایجاد چنین آسیب های پاتولوژیکی با غلظت آلاینده و مدت زمان



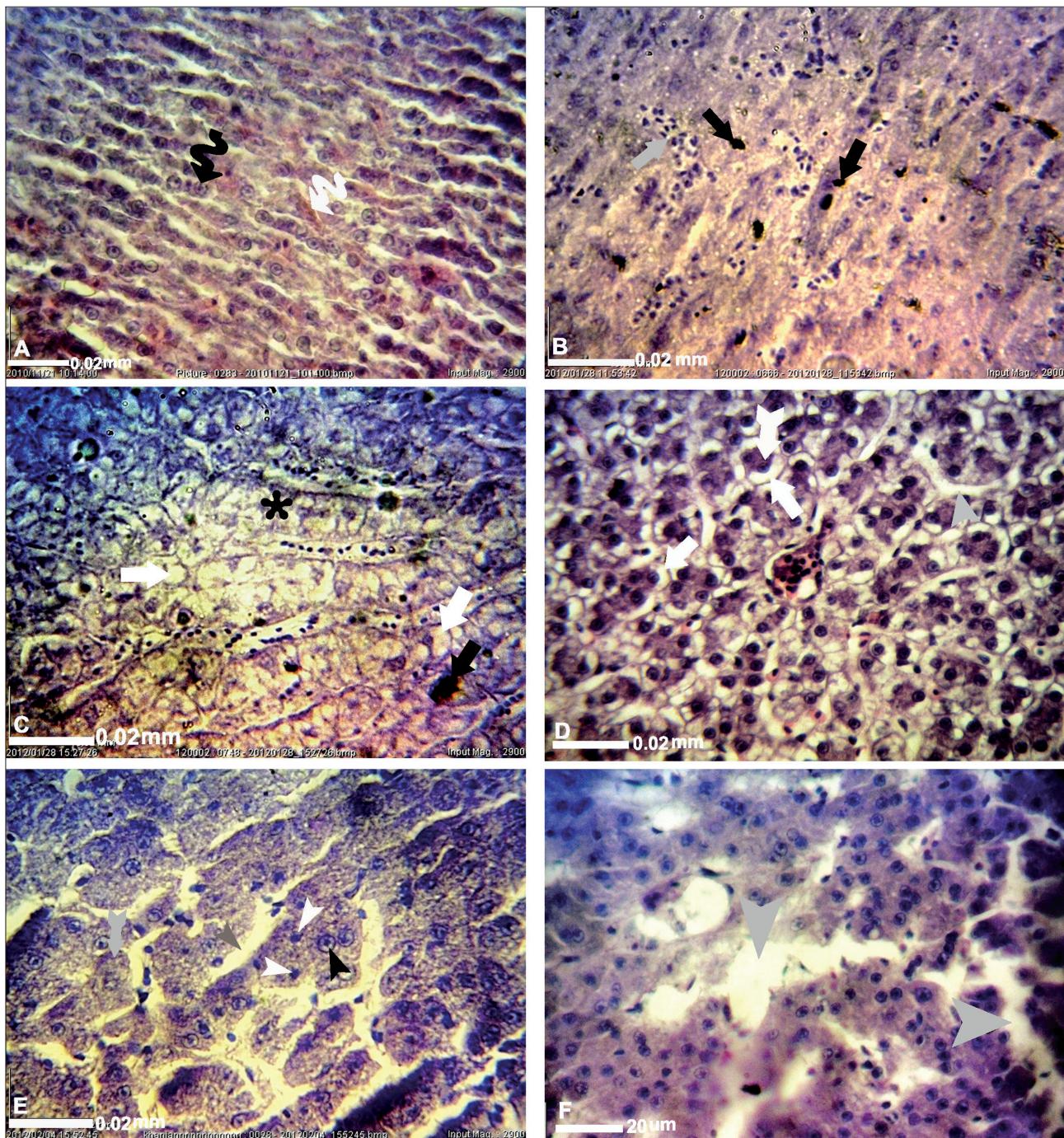


تصویر ۲. تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد ماهی شانک زردباله رانشان می دهد که در آن A (شاهد، ایستگاه بندر گناوه): ساختار طبیعی بافت کبد در ماهی شانک زردباله شاهد: هپاتوسيت‌ها با هسته بیکروماتین (سرپیکان سیاه)، سیتوزوئیدها (سرپیکان سفید)؛ B: ایستگاه جعفری: نفوذلرکوستی (سیاه)، تجمعات ملانوماکروفازی (سرپیکان سفید)، دزتراسیون سلول کبدی (سرپیکان سیاه)؛ C: ایستگاه پتروشیمی: خونریزی (سیاه)، تکروز کانثونی (سفید)، هیپرتروفی سلول کبدی (سرپیکان سفید) و هسته هپاتوسيت (پیکان سفید)، واکوئله‌شدن هپاتوسيت (سرپیکان سیاه)، پیکنووز هسته (پیکان سیاه)؛ D: ایستگاه مجیدیه: افزایش تجمعات ملانوماکروفازی (پیکان سیاه)، واکوئله‌شدن هپاتوسيت‌ها (سیاه)، جایجایی هسته به یک طرف (سرپیکان سیاه)، اتساع سیتوزوئیدی (پیکان پیچیده سیاه)؛ E: ایستگاه غزاله: هیپرتروفی سلول کبدی (سرپیکان سیاه) و هسته هپاتوسيت‌ها (سرپیکان سفید)، اتساع فضای دیس (پیکان سیاه)؛ F: ایستگاه زنگی: واکوئله‌شدن هپاتوسيت (پیکان سفید)، اتساع فضای دیس (پیکان سیاه)؛ A, D, E, F و C, B, A (سرپیکان سیاه)؛ H&E; ۲۹۰ \times .

خور موسی بوده و احتمالاً جریان‌های آبی حاوی آلاینده‌ها کمتر به این خورها می‌یابند. لازم به ذکر است Safahieh و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش نمودند که غلظت جیوه در آب خور مجیدیه و غزاله بیش از سایر ایستگاه‌ها بوده و می‌توان گفت احتمالاً میزان کلی آلاینده‌های موجود

معنی داری از دو ایستگاه پتروشیمی و جعفری کمتر بود ($p < 0.05$) $.HAI$ در دو ایستگاه غزاله و زنگی نیز بسیار پایین بود. که نشان دهنده کمتر بودن غلظت کلی آلاینده‌های موجود در این خورها می‌باشد. خورهای مجیدیه و غزاله از جمله خورهای انتهایی در منطقه





تصویر ۳. تغییرات بافتی کبد ماهی بیاح رانشان می دهد که در آن A (شاهد، استگاه سفید)؛ B. استگاه جعفری: اتساع سینوزوئیدی (پیکان سفید)، افزایش تجمعات ملانوماکروفازی (پیکان سیاه)؛ C. استگاه پتروشیمی: افزایش تجمعات ملانوماکروفازی (پیکان سیاه)، واکوئله شدن هپاتوسيت های کبدی (*سیاه)؛ D. استگاه مجیدیه: واکوئله شدن هپاتوسيت ها (سرپیکان سیاه)، جابجایی هسته هپاتوسيت ها به یک طرف (پیکان سفید)؛ E. استگاه غزاله: هیپرتروفی سلول های کبدی (پیکان سیاه) و هسته (سرپیکان سیاه)، اتساع فضای دیس (سرپیکان خاکستری)، پیکنوز هسته (سرپیکان سفید)؛ F. استگاه زنگی: اتساع فضای دیس (سرپیکان سفید)، پیکنوز هسته (سرپیکان سفید)؛ A، B، C، D، E، F (H&E; ۲۹۰×).

فرآورده های نفتی به این خور (۱۶، ۱۷)، فراوانی ضایعات پاتولوژیک در این خور طبیعی به نظر می رسد.
همچنین در ماهی بیاح وسعت ضایعات و میانگین HAI خور غزاله به طور معنی داری کمتری از خورهای پتروشیمی و مجیدیه بود ($p < 0.05$)،

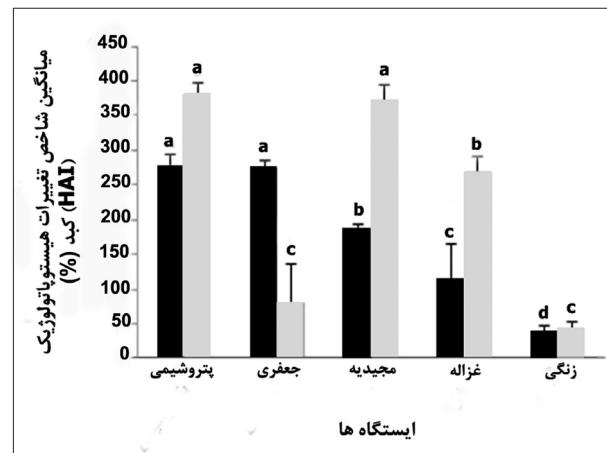
در این خورهای نفتی دلیل دور بودن آنها از منابع آلاینده، کمتر است. در ماهی بیاح بعد از خور پتروشیمی بیشترین فراوانی تغییرات پاتولوژیکی کبد در خور مجیدیه مشاهده شد که با توجه به وجود اسکله صادرات نفت در مجاورت خور مجیدیه و ورود آلاینده های ناشی از



از طرفی نتایج نشان داد که میانگین HAI کبد ماهی بیاح درد و خور مجیدیه و غزاله به طور معنی داری بیش از ماهی شانک می باشد، در حالیکه در خور جعفری میانگین HAI کبد ماهی شانک پتروشیمی قابل توجهی بیش از ماهی بیاح بود. نتایج حاصل از مطالعه Safahieh و همکاران در سال ۲۰۱۳ و ۲۰۱۴ در ارتباط با آلودگی آب و رسوب خورهای جعفری، مجیدیه و غزاله نشان دادند، میزان آلودگی آب خور جعفری به طور معنی داری بیش از آب خورهای مجیدیه و غزاله بود (عکس از این مطالعه در میان ۲۰۰۰ نمونه خورهای جعفری، مجیدیه و غزاله، لذت‌گیری از لحاظ آلودگی رسوبات این خورها، لذت‌گیری از آب خورهای جعفری، مجیدیه و غزاله، لذت‌گیری از آب خورهای جعفری، مجیدیه و غزاله از دورترین خورها به خلیج فارس بوده و تبادل آبی کمتری میان آنها و آب‌های آزاد صورت می‌گیرد) (۱۶). به نظر می‌رسد پس از ورود جریان‌های آبی آلوده به این خورها، به دلیل راکد بودن آب و ارتباط سیار کم این خورها با آب‌های آزاد، زمان بیشتری جهت ته نشین شدن مواد معلق موجود در آب وجود دارد. به همین دلیل میزان آلودگی رسوبات این خورها بیش از سایر خورها (به جز خور پتروشیمی) است.

تحلیل ارزیابی نتایج حاصل از تحقیق حاضر بدون درنظر گرفتن ارتباط معنی دار موجود میان میزان آلودگی آب و رسوب این خورها و بیولوژی ماهی امکان پذیر نمی‌باشد. با توجه به آلودگی قابل توجه رسوبات خورهای مجیدیه و غزاله، به نظر می‌رسد در این خورهای ماهی بیاح که بسترهای و پوسیده خوار بوده و معمولاً از دیتریت‌ها و موجودات کوچک موجود در شن و گل بستر تغذیه می‌کند (۱۹) (بیش از ماهی شانک زرد باله متاثر شود). از طرفی در خور جعفری، که میزان آلودگی رسوبات آن کمتر از خورهای مجیدیه و غزاله و میزان آلوگی آب آن بیشتر از آن خورهای ماهی باشد، ماهی شانک به طور قابل توجهی بیش از ماهی بیاح متاثر شد، علت این است که این ماهی در نزدیک بستر زندگی نموده و تماس بیشتری با آب دارد. میزان آلودگی آب و رسوب هر خور، نوع آلاینده‌های موجود در آب و رسوب و همچنین بیولوژی اورگانیسم، بر فراوانی و وسعت آسیب‌های ایجاد شده در گونه‌های مختلف آذیزان سیار مؤثر است.

بنابراین نتایج مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که آلاینده‌های محیطی موجود در خور موسی منجر به ایجاد تغییرات قابل توجهی در ساختار بافتی ماهیان ساکن در این آبهای جمله ماهی شانک زرد باله و بیاح می‌شوند. از طرفی بر اساس نتایج تحقیق حاضر و سایر مطالعات انجام شده در این زمینه به نظر می‌رسد که برخی از تغییرات هیستوپاتولوژیک غالباً در ارتباط با وجود آلاینده‌های خاصی ایجاد می‌شوند. به عنوان مثال واکوئله شدن سلول‌های کبدی غالباً با وجود آلاینده‌های نفتی مرتبط است، همانگونه که در تحقیق حاضر نیز بیشترین وسعت این ضایعه عمده‌است در ایستگاه‌هایی مانند اسکله نفتی مجیدیه و یا ایستگاه پتروشیمی مشاهده شد. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ضایعاتی نظیر خونریزی و نکروز کانونی، از جمله تغییرات بافتی می‌باشند که در نتیجه استرس‌های محیطی شدید رخداده و غالباً نشان دهنده شرایط محیطی



تصویر ۴. میانگین HAI کبد ماهی شانک زرد باله و بیاح در ایستگاه‌های مختلف.

ولی میانگین HAI کبد ماهی بیاح این خور ($270 \pm 21 / 37$) سیار 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 بافت کبد ماهی بیاح در درواستگاه جعفری و زنگی سیار پایین بود. اگرچه خور جعفری در نزدیکی خور پتروشیمی و در مجاورت کارخانه کلرآلکالی قرار دارد، ولی بنا به گزارش Safahieh و همکاران در سال ۲۰۱۳ و ۲۰۱۴ میزان غلظت آلودگی هایی نظیر حیوه در رسوبات خور جعفری کمتر از سایر خورهای تقربیاً 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 بسترهای و پوده خوار بوده و از رسوبات بستر تعذیه می‌کند. همچنین Dehghan Madiseh در سال ۲۰۰۹ بررسی رسوبات منطقه خور موسی، به این نتیجه رسیدند که بین غلظت فلزات موجود در رسوب خورهای زنگی و جعفری اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. Martínez و Camargo در سال ۲۰۰۷ طی مطالعه *Prochilodus lineatus* هیستوپاتولوژیک کبد، آبشش و کلیه ماهی گزارش نمودند بیشترین تغییرات این بافت‌ها در ایستگاهی مشاهده شد که بیشترین 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 ($p > 0.05$). بر اساس مطالعات صورت گرفته توسط Dehghan Madiseh و همکاران در سال ۲۰۰۸ Safahieh، و همکاران در سال ۲۰۱۳ و ۲۰۱۴ 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.



بحرانی می باشند.

References

- Atamanalp, M., Sisman, T., Geyikoglu, F., Topal, A. (2008) The histopathological effects of copper sulphate on rainbow trout liver (*Oncorhynchus mykiss*). *J Fish Aquat Sci.* 3: 291-297.
- Azimi, A., Safahieh, A., Dadollahi Sohrab, A., Zolgharnein, H., Saffar, B., Savari, A. (2012) Assessment of metallothionein as a biomarker of heavy metal (Hg, Cd, Pb and Cu) in oyster *crassostrea gigas* in Imam Khomeini port. *Oceanogr.* 3: 27-39.
- Bancroft, J.D., Gamble, M. (2002) Theory and Practice of Histological Techniques. (5th ed.). Elsevier science. Oxford Philadelphia, USA.
- Camargo, M.M.P., Martinez, C.B.R. (2007) Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotrop Ichthyol.* 5: 327-336.
- Dehghan Madiseh, S., Savari, A., Parham, H., Marammazy, J., Papahn, F., Sabzalizadeh, S. (2008) Heavy metals contaminant evaluation in sediments of Khour-e-Musa creeks, northwest of Persian Gulf. *Iran J Fish Sci.* 7: 137-156.
- Dehghan Madiseh, S., Savary, A., Parham, H., Sabzalizadeh, S. (2009) Determination of the level of contamination in Khuzestan coastal waters (Northern Persian Gulf) by using an ecological risk index. *Environ Monit Assess.* 159: 521-530.
- Eskandari, GH., Saghavi, H., Zabayeh Najafabadi, M., Dehghan Madiseh, S., Koochaknejad, E. (2013) Effect of salinity on reproductive performance of *Acanthopagrus latus* (Houttuyn) in spawning tanks. *J Aquac Res.* 44: 588-595.
- Gahandideh, M., Shirvani, A. (2011) Prediction of superficial water temperature in Persian Gulf using autoregression process. *J Water Sour Eng.* 4: 53-61.
- Giulio, R.T., Hinton, D.E. (2008) The Toxicology of Fishes. Taylor & Francis publication. CRC press. USA.
- Gulf, M.Z., Atkinson, B.W. (2004) Observed and modelled climatology of the land-sea breeze circulation over the Persian Gulf. *Int J Climatol.* 24: 883-905.
- Hesp, S.A., Potter, I.C., Hall, N.G. (2004) Reproductive biology and protandrous hermaphroditism in *Acanthopagrus latus*. *Environ Biol Fish* 70: 257-272.
- Mela, M., Randia, M.A.F., Venturab, D.F., Carvalhoc, C.E.V., Pelletierd, E., Oliveira Ribeiro, C.A. (2007) Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. *Ecotoxicol Environ Saf.* 68: 426-35.
- Mohamed, F.A.S. (2009) Histopathological Studies on *Tilapia zillii* and *Solea vulgaris* from Lake Qarun, Egypt. *World J Fish Mar Sci.* 1: 29-39.
- Oliveira Ribeiro, C.A., Belger, L., Pelletier, E., Rouleau, C. (2002) Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environ Res.* 90: 217-225.
- Saenphet, S., Thaworn, W., Saenphet, K. (2009) Histopathological alterations of the gills, liver, and kidneys of *Anabas testudineus* (Bloch) fish living in unused Libnite Mine, Lidistrict, Lamphun Province, Thailand. *Southeast Asian. J Trop Med Public Health.* 40: 1121-1126.
- Safahieh, A., Babadi, S., Nabavi, M.B., Ronagh, M.T., Ghanemi, K. (2013) Assessment of mercury intake through consumption of yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) from Musa Estuary. *J Life Sci Technol.* 1: 142-146.
- Safahieh, A., Abdolahpur Monikh, F., Savari, A., Doraghi, A., Ronagh, M.T. (2014) Spatial and seasonal variations of heavy metal concentration in sediment, Musa estuary (Persian Gulf). *Indian J Geo-Mar Sci.* 43: 849-857.

تشکر و قدردانی

همه مراحل عملی مطالعه حاضر در دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و با حمایت مالی دانشگاه انجام شد. همچنین نویسندها مقاله حاضر از مسئولین ایستگاه تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی واقع در ماهشهر به دلیل همکاری آنها سپاسگزارند.



18. Samson, J.C., Shenker, J. (2000) Theteratogenic effects of methyl mercury on early development of the zebrafish, Daniorerio. *Aquat Toxicol.* 48: 343-354.
19. Satari, M., Shahsavani, D., Shafiei, Sh. (2003) *Fish Biology 2 (Systematic)*. Hagh Shenas publication. Tehran, Iran.
20. Soufy, H., Soliman, M., El-Manakhly, E., Gaafa, A. (2007) Some biochemical and pathological investigations on monosex Tilapia following chronic exposure to carbofuran pesticides. *Global Vet.* 1: 45-52.
21. Teh, S.J., Adams, S.M., Hinton, D.E. (1997) Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquat Toxicol.* 37: 51-70.
22. Torabi Delshad, S., Mousavi, S.A., Rajabi Islami, H., Pazira A. (2012) Mercury concentration of the white-cheek shark, *Carcharhinus dussumieri* (Elasmobranchii, Chondrichthyes), and its relation with length and sex. *Panam J Aquat Sci.* 7: 135-142.
23. Velkova-Jordanoska, L., Kostoski, G. (2005) Histopathological analysis of liver in fish (*Barbus meridionalis petenyi Heckel*) in reservoir Trebenista. *Nat Croat.* 14: 147-153.
24. Vinodhini, R., Narayanan, M. (2009) Heavy metal induced histopathological alterations in selected organs of the *Cyprinus carpio* L.(Common Carp). *Int J Environ Res.* 3: 95-100.



Assessment of liver pathological alterations in yellowfin seabream (*Achantopagrus latus*) and Abu mullet (*Liza abu*) in Musa creek in response to petrochemical pollutants

Salamat, N.^{1*}, Soleimani, Z.²

¹Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Oceanography, Khorramshahr Marine Sciences and Technology University, Khorramshahr-Iran

²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz-Iran

(Received 9 April 2014, Accepted 27 June 2014)

Abstract:

BACKGROUND: Musa creek, suitable place for spawning of many fish species and other organisms, is one of the most important and volatile ecosystems in the west of Iran that received so many attentions due to existents of various industries around this part of Persian Gulf. Previous studies confirmed that marine fish have collected high amounts of pollutants in this area which could be lead to sever tissue changes in these fish. **OBJECTIVES:** In the present study, pathological alterations of liver is used for evaluating of contaminants effects on two fish species including of yellowfin seabream and abu mullet in Musa creek. **METHODS:** In this study, 50 yellowfin seabreams and 50 abu mullets were collected from five sampling sites in Musa creek including: 1. Petrochemical, 2. Gaafari, 3. Magidieh, 4. Ghazaleh and 5. Zangi. The samples were taken from the liver after fish dissection and were fixed in Bouin's solution. The liver samples were then studied based on the routine histological methods. **RESULTS:** The pathological changes in the liver included vacuolation of hepatocytes, nuclear hypertrophy, focal necrosis, dilation of sinusoid and diss spaces. The amount of histopathological alteration index (HAI) for liver of both species was significantly higher at the Petrochemical station than other sites ($p<0.05$). The least amount of HAI was related to Zangi station. **CONCLUSIONS:** The results of present study showed that the alternations of liver tissue structure in *Achantopagrus latus* and *Liza abu* caused by the Musa creek contamination and there is close relation between amounts of this alterations and the environmental pollution.

Key words: *Achantopagrus latus*, biomarker, histopathological alterations, liver, *Liza abu*

Figure Legends and Table Captions

Table 1. amount of water physicochemical parameters and the pollution sources of each stations.

Table 2. Liver histopathological alterations. Stage I: slight tissue changes, Stage II: moderate tissue changes, Stage III: sever tissue changes (4).

Table 3. Pathological alterations observed in the liver of *A. latus* and *L. abu* collected from different stations.

Table 4. The HAI mean of the liver in *A. latus* and *L. abu* in each sampling site.

Figure 1. The map of the study area and sampling sites.

Figure 2. Liver histopathological changes in *A. latus*: A. (control): Euchromatin nucleus (black arrow head), Sinusoids (white arrowheads); B. Jaafari: Leukocyte infiltration (black ●), Melanomacrophage (white arrowhead), Degeneration (black arrowhead); C. Petrochemical: Hemorrhage (black ●), Necrosis (white ●), Pikkosis (black arrow); D. Majidieh: Nucleus lateral movement (black arrowhead), Sinusoidal dilation (black convoluted arrows); E. Ghazaleh: Nucleus hypertrophy (white arrowhead); F. Zangi: Disse dilation (black arrow); (H&E; $\times 2900$).

Figure 3. Liver histopathological changes in *L. abu*: A (control): Euchromatin nucleus (black arrow), Sinusoids (white arrow); B. Jaafari: Sinusoidal dilation (white arrow), Melanomacrophage (black arrow); C. Petrochemical: Vacuolation (white arrow), Necrosis (black ●); D. Majidieh: Nucleus lateral movement (black arrow), Sinusoidal dilation (white arrowhead); E. Ghazaleh: Nucleus hypertrophy (black arrowhead), Disse dilation (gray arrowhead), Pikkosis (white arrowhead); F. Zangi: Disse dilation (black arrow); (H&E; $\times 2900$).

Figure 4. HAI mean of the liver of *A. latus* and *L. abu* from different stations.

*Corresponding author's email: salamatnegin@yahoo.com, Tel: 0632-4233322, Fax: 0632-4233322

J. Vet. Res. 69, 3:301-310, 2014

