

Histopathological study of the liver in abu mullet, *Liza abu*, and tigertooth croaker, *Otolithes ruber*, from the Persian Gulf

Fatemeh Kamranzadeh¹, Negin Salamat^{1*},
Mohammad Ali Salari¹, Abdolali Movahedinia^{1,2}
1. Associate Proffessor, Department of Marine Biology,
Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of
Marine science and Technology, Khorramshahr, Irain.
2. Associate Proffessor, Department of Marine Biology,
Faculty of Marine Science and Oceanography,
University of Mazandaran, Babolsar, Irain.
(Received: Nov. 13, 2017 - Accepted: Nov. 17, 2018)

Abstract

The Persian Gulf is valuable marine ecosystem. The entrance of industrial waste waters especially from the petrochemical industries located in the cost line of the Persian Gulf resulted in considerable contamination of aquatics lives in this region. The present investigation aimed to study changes in tissue structure of the liver in *Otolithes ruber* and *Liza abu* from the Musa creek, situated in the north west of the Persian Gulf, to evaluate the possible effects of environmental pollutants on these fish. In this study, 100 *L. abu* and *O. ruber* were collected from five sampling sites in Musa creek, including Petrochemical, Ghanam, Zangi, Douragh and Patil stations. Also, 10 fish/ species were collected from Sajafi creek as a control station. The samples were taken from the liver and were fixed in 15% formalin. Tissue samples were then processed using routine histological methods. Degeneration of cytoplasm, nucleus vacuolization, hemosiderin deposits and destroyed blood cells were the most tissue changes observed. The amount of Degree of Tissue Changes (DTC) for liver of both species was significantly higher and lower at the Petrochemical and Patil stations than other sites. The structural changes observed in both species showed close relation with the level of environmental pollution. In conclusion as it seems, the liver could be considered as an appropriate biomarker to assess the pollution of the region.

Keywords: Musa creek, Environmental pollution, Fish, Tissue changes.

مطالعه آسیب‌شناسی بافتی کبد ماهی بیاخ (*Liza abu*) و شوریده (*Otolithes ruber*) خلیج فارس

فاطمه کامرانزاده^۱، نگین سلامات^{۱*}، محمدعلی سالاری^۱،
عبداللهی موحدی نیا^{۱،۲}
۱. دانشیار، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم
و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.
۲. دانشیار، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی،
دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۲۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۸/۲۶)

چکیده

خلیج فارس از اکوسیستم‌های دریایی با ارزش می‌باشد. ورود فاضلاب‌های صنعتی به‌ویژه از صنایع پتروشیمی واقع در خط ساحلی خلیج فارس، منجر به آلودگی گسترده آبزیان منطقه شده است. لذا، مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات ساختار بافتی کبد در ماهیان شوریده و بیاخ جمع‌آوری شده از خور موسی، واقع در شمال غربی خلیج فارس، جهت ارزیابی احتمال تأثیر آلاینده‌های منطقه بر این ماهیان، صورت گرفت. در این مطالعه ۵۰ قطعه ماهی از پنج ایستگاه در خور موسی شامل پتروشیمی، غنام، زنگی، دورق و پاتیل جمع‌آوری شدند. همچنین، ۱۰ قطعه از هر یک از گونه‌ها، از خور سجاچی به‌عنوان ایستگاه شاهد جهت مقایسه با ایستگاه‌های مورد مطالعه جمع‌آوری شد. پس از اخذ نمونه از بافت کبد، نمونه‌ها در فرمالین ۱۵ درصد تثبیت و بر اساس روش‌های مرسوم بافت‌شناسی کلاسیک مورد مطالعه قرار گرفت. دژنه شدن سیتوپلاسم، واکوئولاسیون هسته، رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب شده از تغییرات بافتی مشاهده شده بود. میزان درجه تغییرات بافتی به‌دست آمده در ایستگاه‌های پتروشیمی و پاتیل در هر دو گونه ماهی به‌طور معنی‌داری به ترتیب بالاتر و پایین‌تر از سایر ایستگاه‌ها بود. در هر دو گونه ماهی بیاخ و شوریده تغییرات بافتی مشاهده شده در کبد، با میزان آلودگی ایستگاه‌ها رابطه داشت. در کل به‌نظر می‌رسد کبد شاخص مناسبی جهت ارزیابی آلودگی منطقه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: خور موسی، آلودگی محیطی، ماهی، تغییرات بافتی.

مقدمه

کبد ماهیان استخوانی مانند دیگر مهره‌داران یک اندام مهم بوده که بسیاری از اعمال حیاتی را کنترل می‌کند و نقش بارزی را در فیزیولوژی ماهی، در آنابولیسم پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و کاتابولیسم ترکیبات نیتروژن دار، هورمون‌های جنسی و گلیکولیز ایفا می‌کند. علاوه بر آن مرکز ذخیره‌سازی بسیاری از مواد از جمله گلیکوژن است (EL-Bakary & EL-Gammal, 2010). کبد در خونسازی و تولید آنتی‌بادی‌ها در طی دوره لاروی نقش دارد (Kim & Sharma 2005). همچنین کبد، مهمترین و اصلی‌ترین ارگان جهت متابولیسم مواد زائد در بدن می‌باشد (Van Dyk et al., 2007).

استفاده از تغییرات بافت کبد به‌عنوان شاخص سلامت ماهیان بسیار معمول است (Au 2004). بافت کبد به‌دلیل دارا بودن نقش بسیار مهم در تجمع سموم، زیست دگرگونی و سم‌زدایی آنها، مهمترین ارگان در انجام فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیسمی بدن در زمان مواجهه با آلاینده‌ها است (Di Giulio & Hinton, 2008; Fernandes et al., 2008). Camargo & Martinez (2007) و همچنین Younis (2013) با انجام مطالعات میکروسکوپی، تغییرات شدیدی را در ساختار بافتی کبد ماهیانی که در معرض آلاینده‌های مختلف قرار گرفته بود گزارش نمودند.

خور موسی از محیط‌های دریایی است که طی سال‌های اخیر شدیداً تحت تأثیر تخلیه پساب‌های حاوی آلودگی‌هایی از قبیل مواد شیمیایی و فلزات سنگین قرار داشته و به‌دلیل حضور تعداد زیادی از صنایع پتروشیمی در محدوده آن روزانه مقدار زیادی از آلاینده‌های متفاوت را دریافت می‌کند. آلاینده‌های وارد شده به این خور به شدت اکوسیستم و موجودات آبرزی موجود در آن از قبیل ماهی‌ها که ارزش غذایی و تجاری دارند را تهدید می‌نماید (Salamat et al., 2013).

ماهی بیاخ (*Liza abu*) در مناطق ساحلی دریا

زیست کرده و وارد مصب‌ها و آب شیرین می‌شود و از لحاظ رژیم غذایی ماهی پوسیده‌خوار بوده و معمولاً از دیتریت‌ها و موجودات کوچک موجود در شن و گل بستر تغذیه می‌کند (Satari et al., 2003). این گونه در سراسر خلیج فارس و دریای عمان پراکنده و جزء ماهیان بسیار مناسب جهت مصرف غذایی می‌باشد و به صورت تازه، منجمد، شور و خشک مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌علت سریع و مقاوم بودن، ماهی بیاخ به‌عنوان یک ماهی با ارزش پرورشی شناخته شده است (Salamat et al., 2013).

ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) از ممتازترین آبریان تجاری در جنوب کشور می‌باشد که در بنادر مختلف صید شده و در تمامی نقاط کشور طرفداران بسیار زیادی دارد. ماهی شوریده در آب‌های ساحلی تا عمق ۴۰ متری به سر می‌برد و بیشتر در بالای کف گلی سواحل و مصب رودخانه‌ها یافت می‌شود (Novaluna 1982; Fischer & Bianchi 1984). رژیم غذایی آنها گوشت‌خوار بوده و غذای اصلی آنها را ماهیان کوچک از جمله کفال ماهیان و سخت پوستان به خصوص میگوها تشکیل می‌دهند (Kamali et al., 2006).

با توجه به وجود صنایع مختلف، مجاورت با پر ترددترین بنادر تجاری ایران یعنی بندر ماهشهر و بندر امام خمینی و وجود اسکله‌های نفتی و مجتمع‌های پتروشیمی در منطقه خور موسی، مقادیر بالایی از آلاینده‌ها به آب‌های این منطقه وارد شده و سلامت آبریان این منطقه را تحت تأثیر قرار داده است. از طرفی، به‌دلیل اینکه ماهیان بیاخ (*L. abu*) و شوریده (*O. ruber*)، از ماهیان بومی خلیج فارس و با ارزش غذایی زیاد بوده و در جنوب ایران از بازار پسندی بالایی برخوردار می‌باشند و مصرف این ماهیان نیز رابطه مستقیمی با سلامت افراد جامعه دارد. لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی تغییرات ناشی از تأثیر آلاینده‌های محیطی بر ساختار کبد ماهیان بیاخ (*L. abu*) و شوریده (*O. ruber*) صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر، ۱۰۰ قطعه ماهی بیاچ (*L. abu*) و شوریده (*O. ruber*) با میانگین طولی و وزنی مشابه از ۵ ایستگاه در خور موسی شامل پتروشیمی، غنام، زنگی، دورق و پاتیل با استفاده از تور پرتابی در آبان ماه ۱۳۹۳ جمع‌آوری شد. همچنین ۱۰ قطعه از هر یک از ماهیان بیاچ و شوریده از خور سجافی به عنوان خور شاهد جهت مقایسه با ایستگاه‌های مورد مطالعه نیز جمع‌آوری شد. پس از نمونه‌برداری ماهیان با رعایت موازین اخلاقی بیهوش شده و ابتدا طول و وزن آنها با استفاده از تخته بیومتری با دقت ۱ میلی‌متر و ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ گرم اندازه‌گیری شد. سپس ماهیان تشریح شده و پس از جدا نمودن دیواره شکم قطعاتی به ابعاد ۰/۵ سانتی‌متر از کبد جدا شده و با ذکر نام ماهی و ایستگاه نمونه‌برداری، درون ظروف نمونه‌برداری درب‌دار و حاوی محلول ثبوت فرمالین ۱۵٪ قرار داده شدند.

مراحل عمل‌آوری بافت با استفاده از دستگاه پاساژ بافتی مدل (RX-11B, tissue tek rotary, Japan)، تحت برنامه زمان‌بندی‌شده در آزمایشگاه تحقیقات بافت‌شناسی صورت گرفت. آب‌گیری بافت‌های تثبیت شده در فرمالین ۱۵٪ (Oliveira Ribeiro et al., 2002) در سری‌های افزایشی الکلی (۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد) انجام و نمونه‌های بافتی پس از شفاف‌سازی توسط گزیلول، پارافینه شدند. سپس از نمونه‌ها مقاطعی با ضخامت ۵ میکرومتر توسط دستگاه میکروتوم مدل (LEICA-RM2245, Germany) تهیه و با استفاده از رنگ هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی گردید (Bancroft & Gamble, 2002). مقاطع رنگ‌آمیزی‌شده سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری المپیوس مجهز به لنز DinoLite و نرم‌افزار Dino capture مشاهده شد و تصاویر مناسب با بزرگنمایی‌های مختلف تهیه شد.

به‌منظور ارزیابی نتایج پاتولوژیک، تغییرات هیستوپاتولوژیکی مشاهده‌شده در بافت کبد هر دو

گونه ماهی بر اساس رده‌بندی انجام‌شده توسط Camargo & Martinez (2007) از درجه صفر تا سه دسته‌بندی شدند (جدول ۱):

- ۰) هیچ گونه تغییرات بافتی صورت نگرفته است.
- ۱) تغییرات بافتی اندک: 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 رامتاث 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، امکان‌پذیر نیست. سپس مقدار درجه تغییرات بافتی (Degree of Tissue Change) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Camargo & Martinez 2007):

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

در این فرمول I، II و III مراحل تغییرات بافتی و S تعداد تغییرات بافتی هر مرحله را نشان می‌دهد. مقدار DTC بین ۰ تا ۱۰ نشان‌دهنده عملکرد طبیعی اندام، ۱۱-۲۰ نشان‌دهنده آسیب اندک به و کم به اندام مورد نظر، ۲۱-۵۰ نشان‌دهنده تغییرات متوسط اندام، ۵۰-۱۰۰ نشان‌دهنده آسیب شدید در اندام و بیشتر از ۱۰۰ نشان‌دهنده آسیب برگشت‌ناپذیر به اندام می‌باشد (Camargo & Martine 2007).

داده‌های مربوط به درجه تغییرات بافتی DTC در هر دو گونه ماهی بیاچ و شوریده در ایستگاه‌های مورد مطالعه به‌صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد بیان شد. برای تعیین نرمالیتی داده‌ها از تست Shapiro-wilk استفاده شد و جهت مقایسه شاخص‌ها در هر ماهی در ایستگاه‌های مختلف از آنالیز واریانس یکطرفه (one-

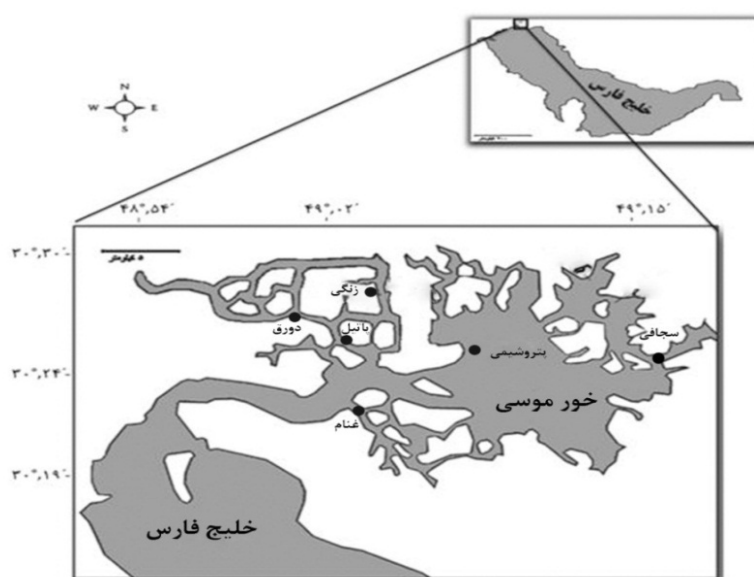
صفحات مرکزی با آرایش شعاعی پیرامون یک ورید مرکزی دیده شدند سطح خارجی کبد نیز توسط یک کپسول از جنس بافت همبند پوشانده شده بود (شکل A).

در نمونه‌های کبدی جدا شده از ماهیان شوریده و بیاح در ایستگاه‌های نمونه‌برداری تغییرات هیستوپاتولوژیکی متعددی مشاهده شد که می‌توان به نکروز، رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب شده، تجمعات ملانوماکروفاژی، جانبی شدن هسته اشاره نمود. ضایعات مشاهده شده در کبد ماهیان بیاح و شوریده در جدول ۲ آورده شده است. مقدار DTC محاسبه شده برای کبد ماهیان در ایستگاه‌های مختلف در شکل ۴ قابل مشاهده است.

SPSS و نرم‌افزار ANOVA (away) استفاده و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار، از پس آزمون DUNCAN برای مقایسه دو به دو ایستگاه‌ها استفاده شد. و اختلاف در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد پذیرش قرار گرفت. سپس رسم نمودارها در فضای Microsoft Excel 2010 انجام شد.

نتایج

نمونه‌های بافت کبد جدا شده از ماهیان شوریده و بیاح خور سجافی دارای ساختاری طبیعی بودند. سلول‌های کبدی به صورت ساختارهای چندوجهی با هسته کروی بزرگ و روشن و هستک‌های مشخص و سیتوپلاسم اسیدوفیلی مشاهده گردید. هپاتوسیت‌های به شکل



شکل ۱. نقشه منطقه خور موسی و ایستگاه‌های نمونه‌برداری غانم، پاتیل، دورق، زنگی، پتروشیمی، سجافی

جدول ۱. دسته‌بندی تغییرات بافتی کبد (Camargo & Martine, 2007). I: تغییرات بافتی اندک که قابل ترمیم می‌باشند؛ II: تغییرات بافتی متوسط که عملکرد طبیعی بافت را متاثر می‌کنند؛ III: تغییرات بافتی شدید که غیر قابل ترمیم می‌باشند.

مرحله آسیب	تغییرات بافتی کبد
I	نامنظم و غیرعادی شدن شکل هپاتوسیت‌ها، هیپرتروفی سلولی، هسته‌های با اشکال نامنظم و غیرعادی، هیپرتروفی هسته، واکوئوله شدن هپاتوسیت‌ها، جانبی شدن هسته، التهاب بافتی، نفوذ لوکوسیتی، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس، تورم ابری شکل
II	احتقان خون، افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی، واکوئوله شدن هسته، دژنره شدن سیتوپلاسم، چرب‌شدگی، هیالینه شدن، خونریزی، پیکنوز شدن هسته، رکود صفراء
III	دژنره شدن هسته، نکروز

جدول ۲. ضایعات مشاهده شده در کبد ماهیان بیاخ و شوریده در ایستگاه‌های نمونه‌برداری

ایستگاه‌ها	تغییرات هیستوپاتولوژیکی ماهی بیاخ	تغییرات هیستوپاتولوژیکی ماهی شوریده
پتروشیمی	رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده، پیکنوز، تجمعات ملانوماکروفاژی، جانبی شدن هسته، واکوئوله شدن هسته (شکل ۲-B)	رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده، تجمعات ملانوماکروفاژی، واکوئوله شدن هیاتوسیت، پیکنوز، جانبی شدن هسته (شکل ۳-B)
غنام	رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده، واکوئوله شدن هیاتوسیت، اتساع فضای دیس، دژنراسیون هیاتوسیت (شکل ۲-C)	رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده، تجمعات واکوئوله شدن هیاتوسیت، پیکنوز، جانبی شدن هسته (شکل ۳-C)
زنگی	رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده، تجمعات ملانوماکروفاژی، دژنراسیون هیاتوسیت‌ها، پیکنوز (شکل ۲-D)	رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده، تجمعات ملانوماکروفاژی، جانبی شدن هسته (شکل ۳-D)
دورق	رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده (شکل ۳-E)	دژنراسیون هیاتوسیت‌ها، رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده، جانبی شدن هسته، واکوئوله شدن هیاتوسیت (شکل ۳-E)
پاتیل	تجمعات ملانوماکروفاژی، رسوب هموسیدرین، واکوئوله شدن هسته (شکل ۲-F)	رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده (شکل ۳-F)
شاهد (سجافی)	رسوب هموسیدرین، تجمعات ملانوماکروفاژی (شکل ۲-A)	رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده (شکل ۳-A)

بحث و نتیجه‌گیری

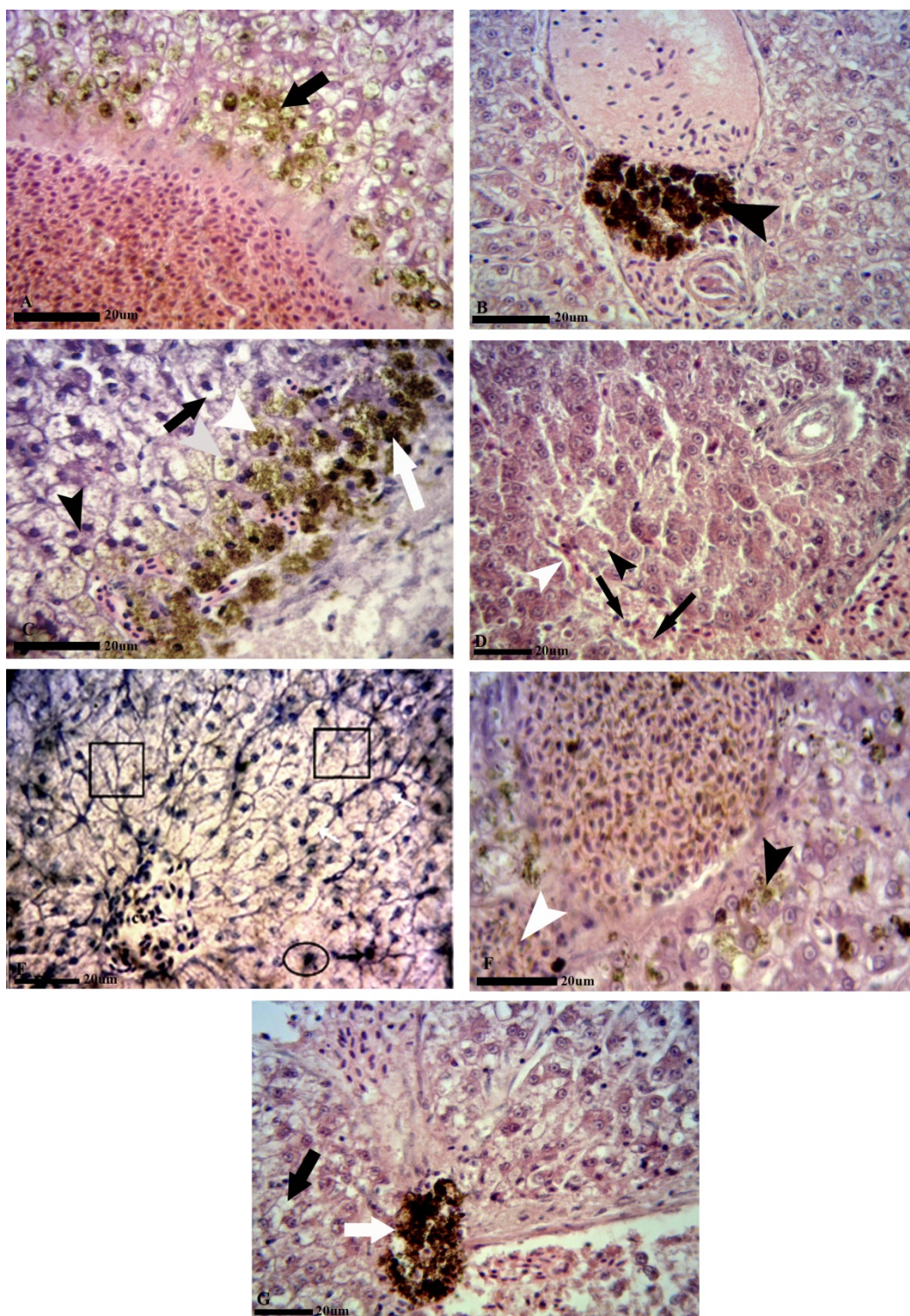
کبد ماهی نقش مهمی در عملکردهای حیاتی بدن ایفا می‌کند و ارگان اصلی برای تجمع، زیست دگرگونی، و دفع آلاینده‌ها در ماهی می‌باشد (Tribskorn *et al.*, 1994; Tribskorn *et al.*, 1997). به همین دلیل، استفاده از تغییرات بافتی کبد به‌عنوان شاخص سلامت ماهیان بسیار معمول است (A, 2004).

در تحقیق حاضر، عوارض پاتولوژیک بافت کبد دو گونه ماهی بیاخ و شوریده تحت تأثیر آلاینده‌های محیطی منطقه خور موسی مورد بررسی قرار گرفت. از عوارض مشاهده‌شده در برخی از ایستگاه‌ها می‌توان، خونریزی، جانبی شدن هسته، نکروز، ملانوماکروفاژی و واکوئولاسیون را نام برد. در مطالعه Velkova- Jordanoska & ostoski (2005) روی ماهی *Barbus meridionalis petenyi* ضایعاتی نظیر خونریزی و نکروز گزارش شد. Ogundiran *et al.* (2010) بیان نمودند نکروز می‌تواند به‌دلیل عدم توانایی ماهیان در بازسازی و تولید سلول‌های کبدی جدید و بیشتر بودن فرایند سم‌زدایی از ظرفیت سم‌زدایی کبد باشد. همچنین Kakkar *et al.* (2011) خونریزی در بافت را نتیجه اختلال عروق خونی و نشانه‌ای از آسیب فیزیکی شدید حاصل از تأثیر آلاینده معرفی نمودند.

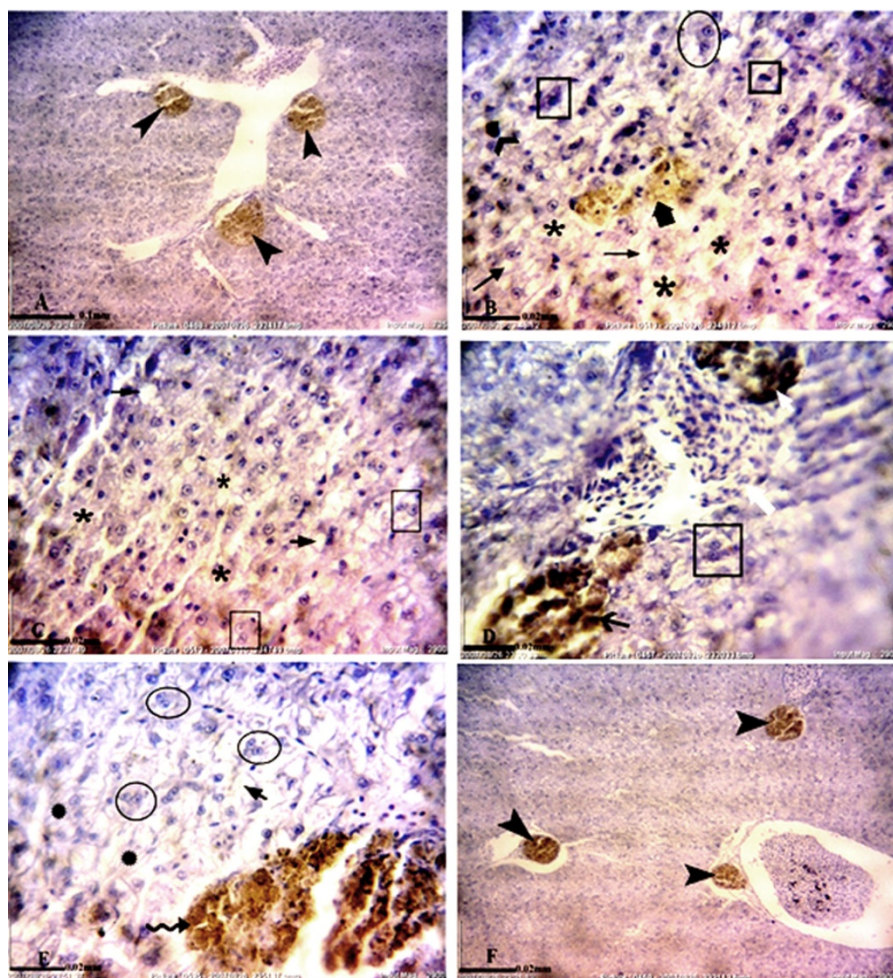
بررسی DTC ماهیان بیاخ و شوریده نشان داد، بیشترین میزان شاخص DTC در هر دو گونه ماهیان بیاخ و شوریده مربوط به ایستگاه پتروشیمی و غنام می‌باشد و کمترین سطح میانگین DTC مربوط به ماهیان ایستگاه پاتیل می‌باشد.

به‌ترتیب پس از ایستگاه غنام بیشترین میزان شاخص DTC در ماهیان بیاخ ایستگاه‌های زنگی، دورق و پاتیل مشاهده شد. میان ایستگاه‌های پتروشیمی و غنام و همچنین بین ایستگاه‌های زنگی، دورق و پاتیل اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). شاخص DTC در ماهیان شوریده نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، بیشترین میزان شاخص DTC در ماهیان شوریده پس از ایستگاه‌های پتروشیمی و غنام مربوط به ایستگاه زنگی بود و میان میزان DTC در ماهیان صید شده از ایستگاه‌های دورق و پاتیل با ایستگاه شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). البته، بین ایستگاه‌های پتروشیمی با غنام و همچنین غنام با زنگی نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

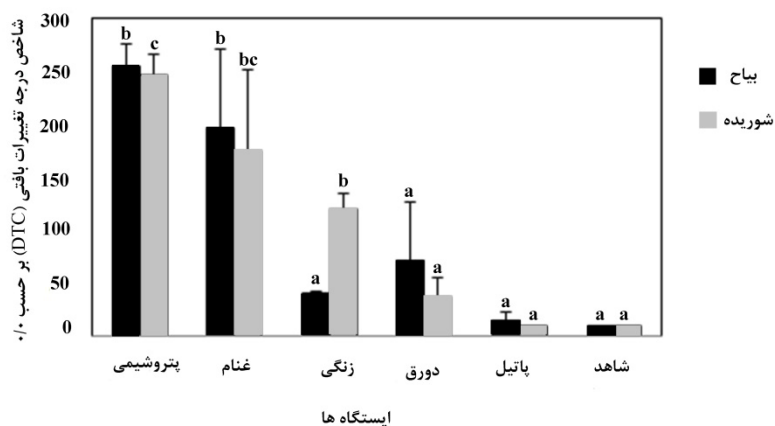
همچنین بر اساس نتایج حاصل از تحقیق حاضر، میانگین شاخص DTC ماهیان شوریده در ایستگاه‌های زنگی و دورق از ماهیان بیاخ به‌طور معنی‌داری به ترتیب بیشتر و کمتر بود ($P < 0.05$). ولی در سایر ایستگاه‌ها میان ماهیان بیاخ و شوریده همان ایستگاه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).



شکل ۲. A. ایستگاه شاهد: تجمعات ملانوماکروفاژی (سرپیکان سیاه)، رسوب هموسیدرین (پیکان سیاه). B) ایستگاه پتروشیمی: رسوب هموسیدرین (سر پیکان سفید)، پیکنوز (دایره سیاه)، تجمعات ملانوماکروفاژی (پیکان سفید)، جانی شدن هسته (مربع سیاه)، واکوئوله شدن هسته (پیکان سیاه). C) ایستگاه غنام: رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده (پیکان خمیده سیاه)، واکوئوله شدن هپاتوسیت (سرپیکان سیاه)، اتساع فضای دیس (پیکان سفید). D) ایستگاه زنگی: واکوئوله شدن هپاتوسیت‌ها (پیکان سفید)، تجمعات ملانوماکروفاژی (پیکان سیاه)، دژنراسیون هپاتوسیت (مربع)، پیکنوز (دایره سیاه). E) ایستگاه دورق: رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده (پیکان خمیده سیاه). F) ایستگاه پاتیل: تجمعات ملانوماکروفاژی (پیکان سفید)، رسوب هموسیدرین (سر پیکان سیاه)، واکوئوله شدن هسته (پیکان سیاه). A, B, C, D, E, F: (H&E; $\times 290$) A; (H&E; $\times 725$) A, B, C, D, E, F; (H&E; $\times 2900$) B, C, D, E, F.



شکل ۳. A. ایستگاه شاهد: رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده (سرپیکان سیاه) B ایستگاه پتروشیمی: رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده (پیکان سیاه پهن)، تجمعات ملانوماکروفاژی (سرپیکان سیاه)، واکوئوله شدن هپاتوسیت (پیکان سیاه باریک)، پیکنوز (مربع سیاه)، جانبی شدن هسته (دایره سیاه)، C ایستگاه غنم: واکوئوله شدن هپاتوسیت (پیکان سیاه)، پیکنوز (دایره سیاه)، جانبی شدن هسته (مربع سیاه). D ایستگاه زنگی: تجمعات ملانوماکروفاژی (پیکان سفید)، جانبی شدن هسته (مربع سیاه). E ایستگاه دورق: دژنراسیون هپاتوسیت‌ها (* سیاه)، رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده (پیکان خمیده سیاه)، جانبی شدن هسته (دایره سیاه)، واکوئوله شدن هپاتوسیت (سرپیکان سیاه). F. ایستگاه پاتیل: رسوب هموسیدرین و سلول‌های خونی تخریب‌شده (سرپیکان سیاه) A, B, C, D, E. A (H&E; × 725) B; C; D; E; F (H&E; × 2900).



شکل ۴. نمودار شاخص درجه تغییرات سلولی (DTC) کبد ماهیان بیاچ و شوریده ایستگاه‌های مختلف

Chavan & Muley (2014) در مطالعه اثر فلزات سنگین بر کبد و آبشش ماهی *Cirrhinus mrigala* تغییرات شدید را در بافت کبد مشاهده کردند که شامل از دست دادن ساختار سلولی، نکروز سلول‌های کبدی و تجمع چربی در سلول‌های پارانشیمی بود. Fanta et al. (2003) نیز اختلالاتی شامل نامنظم شدن اشکال سلول‌های کبدی، واکوئوله شدن سیتوپلاسم، هسته در موقعیت جانبی را در ماهی *Corydoras paleatus siluriform* در مواجهه با ارگانو فسفرها گزارش نمود و با بررسی نتایج بیان کردند که ایجاد واکوئولاسیون ممکن است نوعی مکانیسم جبرانی توسط هیپاتوسیت‌ها در پاسخ به وضعیت استرس موجود در محیط باشد که به دلیل نیاز ماهی به انرژی زیاد رخ داده و منجر به مهار سنتز پروتئین و تجمع چربی (برای تشکیل واکوئل‌های چربی) جهت ایجاد انرژی لازم می‌شود. همچنین Marigomez et al. (2006) در مطالعه روی کبد ماهی *Merluccius merluccius* و ماهی *Engraulis encrasicolus* در اثر مواجهه با نشت مقادیر فراوانی از نفت (در پی گذشت بیش از یکسال) در خلیج Biscay، وجود عوارضی همچون هیپرتروفی سلول و هسته، نکروز، پیکنوز، چند شکلی شدن هسته هیپاتوسیت‌ها، آتروفی و التهاب بافت کبد و تجمع ملانوماکروفاژها را مشاهده کردند. Oliveira Ribeiro et al. (2002) نیز عنوان کردند که آسیب‌های پاتولوژیکی با غلظت آلاینده و مدت زمان قرار گیری در معرض آلاینده ارتباط مستقیم دارد. در بررسی تغییرات هیستوپاتولوژی کبد ماهی *Channa punctatus* تیمار شده با سوخت‌های فسیلی توسط Kakkar et al. (2011) بیان نمودند که افزایش تراکم مراکز ملانوماکروفاژی احتمالاً دلالت بر اختلالات متابولیسمی و فقدان تغذیه‌ای در پاسخ به آلاینده‌ها دارد. مراکز ملانوماکروفاژ موجود در کبد، در مراحل اولیه از تعدادی اریتروسیت به‌همراه

ماکروفاژهایی با درجات مختلف پیگمانتاسیون تشکیل شده و یک بافت همبند سست ناحیه مرزی را ایجاد می‌کند. سپس تعدادی از سلول‌های لایه سخت لنفوسیتی مرکز را احاطه کرده و در مراحل بعد ماکروفاژها به‌طور فزاینده‌ای تیره شده و به‌علاوه ته نشین شدن پیگمان‌ها در آنها افزایش می‌یابد. در مراحل پیشرفته بسیاری از ماکروفاژها به رنگ قهوه‌ای تیره در آمده به‌طوری که لایه لنفوسیتی کاملاً غیرقابل رویت شده و در عوض بخش مرکزی توسط تعدادی اریتروست با هسته پیکنوز شده اشغال می‌شود (Deivasigamani 2007).

نتایج نشان داد که بیشترین تغییرات پاتولوژیک مربوط به ماهیان بیاح و شوریده ایستگاه پتروشیمی بوده و میانگین درجه تغییرات بافتی (DTC) بافت کبد در این ایستگاه به‌طور معنی‌داری نسبت سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود ($P < 0.05$). Salamat et al. (2013) در بررسی تغییرات پاتولوژیک بافت کبد ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) و بیاح (*Liza abu*) در خور موسی در پاسخ به آلاینده‌های پتروشیمی، بیشترین میزان تغییرات را از بافت کبد ماهی بیاح ایستگاه پتروشیمی گزارش نمودند. وجود صنایع عظیم پتروشیمی در حاشیه خور موسی از جمله کارخانه پتروشیمی بندر امام خمینی، صنایع پتروشیمی مارون، کارون و ... و نیز کارخانه کلرآلکالی (که در مجاورت این کارخانجات قرار دارد)، که روزانه با ورود پساب‌های خود به آب‌های این منطقه به‌ویژه ایستگاه پتروشیمی منجر به ورود حجم بالایی از آلاینده‌ها از جمله فلزات سنگین و ترکیبات نفتی نظیر ترکیبات آروماتیک چند حلقه‌ای و انواع فنل‌ها به این آب‌ها می‌شوند (Azimi et al., 2013; Safahieh et al., 2013)، وجود تغییرات بافتی فراوان در کبد ماهیان مورد مطالعه حاضر به‌ویژه در ایستگاه پتروشیمی منطقی به‌نظر می‌رسد. Safahieh et al. (2013) بیشترین میزان جیوه و

خور زنگی بسیار کم و در آب‌های این ایستگاه زیاد بوده است. Babadi (2011) هم در بررسی آلاینده‌های مانند جیوه موجود در رسوبات خورهای مختلف به نتایج مشابهی دست یافت و اعلام نمود که غلظت جیوه در رسوبات خور زنگی کمتر از آب این خور است. ماهی بیاخ ماهی دیتريت خوار بوده که نزدیک بستر زندگی می‌کند، درحالی‌که ماهی شوریده یک ماهی گوشت‌خوار بوده که در ستون آب زندگی می‌کند. به همین دلیل در ایستگاه زنگی با داشتن آبی آلوده تر از رسوبات آن، بالاتر بودن DTC کبد ماهیان شوریده در مقایسه با ماهیان بیاخ منطقی به نظر می‌رسد. همچنین Salamat et al. (2013) نیز در مطالعه‌ای بر تغییرات پاتولوژیک بافت آبشش و کلیه، ناشی از آلودگی ایستگاه‌های مختلف خور موسی، اعلام کردند که کمترین میزان ضایعات بافتی در ماهی بیاخ که کفزی و پوده خوار است، مربوط به خور زنگی می‌باشد که نشان‌دهنده پایین بودن غلظت کلی آلاینده‌ها در رسوبات این خورها می‌باشد.

میزان DTC نمونه‌های کبد جدا شده از ماهیان بیاخ (۷۱/۵) جمع‌آوری شده از ایستگاه دورق به‌طور معنی‌داری بیش از ماهیان شوریده (۳۷) این ایستگاه بود ($P < 0.05$). Dehghan Madiseh et al. (2009) مقادیر زیادی از فلزات سنگین مختلف به ویژه روی (Zn) و جیوه (Hg) را در رسوبات این خور گزارش نمودند. درحالی‌که میزان آلاینده‌ها در آب این منطقه کمتر از رسوبات آن است.

کمترین مقدار DTC کبد هر دو گونه ماهی مورد مطالعه در ایستگاه پاتیل اندازه‌گیری شد که با مقادیر DTC اندازه‌گیری‌شده در ایستگاه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. Dehghan Madiseh et al. (2009) سطح فلزات سنگین را در رسوبات و آب این ایستگاه کمتر از حد استاندارد اندازه‌گیری نمودند. بنا بر گزارشات Dehghan Madiseh et al. (2009) وجود جریان آب ورودی زیاد به این ایستگاه را بالاتر بودن کیفیت آب این ایستگاه ذکر نمودند.

al. (2011) بیشترین میزان ترکیبات آروماتیک چند حلقه‌ای را در آب‌های ایستگاه پتروشیمی اندازه‌گیری نمودند.

در تحقیق حاضر مقدار DTC در دو ماهی بیاخ و شوریده در ایستگاه پتروشیمی به ترتیب ۲۵۵ و ۲۴۷ بود. بر اساس تقسیم‌بندی Camargo & Martinez (2007) مقدار DTC بیشتر از ۱۰۰ نشان‌دهنده آسیب برگشت‌ناپذیر به اندام بوده که حتی در صورت بهبود شرایط محیطی، ترمیم آنها امکان‌پذیر نیست. بنابراین، بالا بودن میزان DTC کبد ماهیان صید شده از ایستگاه پتروشیمی در تحقیق حاضر و با توجه به تحقیقات پیشین در ارتباط با میزان آلاینده‌های مختلف در آب‌های این ایستگاه، دلالت بر پایین بودن کیفیت آب این منطقه دارد.

پس از ایستگاه پتروشیمی، بیشترین مقدار DTC و تغییرات بافتی مربوط به نمونه‌های کبدی اخذ شده از ماهیان شوریده و بیاخ جمع‌آوری شده از ایستگاه غنام، بود. تردد کشتی‌های نفتی و باری، نزدیکی به مجتمع پتروشیمی و بنادر و کشتیرانی از عوامل آلاینده این ایستگاه محسوب می‌شوند (Dehghan Madiseh et al., 2009). Safahieh et al. (2013) بیشترین مقدار فلزات سنگین همچون نیکل (Ni) و آهن (Fe) را در ایستگاه غنام، گزارش نموده و منشاء آنها را پایانه‌های نفتی و تردد کشتی‌های نفتی اعلام کردند. بالا بودن میزان DTC کبد ماهیان بیاخ و شوریده ایستگاه غنام (۱۹۶ و ۱۷۶) نیز دلالت بر کیفیت پایین آب این ایستگاه دارد.

مقدار DTC نمونه‌های کبد ماهیان شوریده جمع‌آوری شده از ایستگاه زنگی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان بیاخ بود ($P > 0.05$). Dehghan Madiseh et al. (2009) سطح فلزات سنگین را در این ایستگاه متوسط اعلام کرده و بیشترین عناصر را در این ایستگاه کادمیوم (Cd) و سرب (Pb) اعلام نمودند. از طرفی Abdollahpoor (2010) گزارش نمود میزان غلظت آلاینده‌هایی مانند جیوه در رسوبات

رسوبات و آب این ایستگاه کمتر از حد استاندارد می‌باشد. از طرفی، ضایعات ایجادشده در بافت کبد ماهیان بیاح و شوریده مطالعه‌شده در این تحقیق با بیولوژی گونه ماهی و شرایط جغرافیایی و منابع آلودگی ایستگاه‌های مختلف در ارتباط است. در مطالعه حاضر بیشترین تغییرات در ایستگاه‌های مختلف مربوط به ماهی بیاح بود که ماهی کفزی و پوده‌خوار بوده و از رسوبات تغذیه می‌کند. لذا، با توجه به تجمع عمده آلاینده‌ها در رسوبات در مقایسه با آب، این ماهی بیشتر در معرض خطر بوده و تحت تأثیر آلودگی محیطی قرار می‌گیرد. به همین دلیل، به‌نظر می‌رسد استفاده از ماهی بیاح به‌عنوان نشانگر زیستی مناسب جهت پایش محیط زیست آبی، مناسب است.

با جمع‌بندی نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه‌گیری نمود که بیشترین تغییرات بافتی مشاهده‌شده در کبد هر دو گونه مورد مطالعه، مربوط به ماهیان جمع‌آوری شده از ایستگاه پتروشیمی بود که به‌دلیل وجود صنایع گسترده پتروشیمی در اطراف این ایستگاه و همچنین نزدیکی به شهرهای متعدد، فاضلاب‌های صنعتی و شهری فراوانی را دریافت می‌کند. لذا، آبریان این منطقه در معرض حجم زیادی از پساب‌های آلوده به انواع آلاینده‌های آلی (به‌ویژه آلاینده‌های نفتی) و معدنی (فلزات سنگین) می‌باشند. همچنین، کمترین ضایعات بافتی، در ماهیان جمع‌آوری شده از ایستگاه پاتیل مشاهده شد که بنا به تحقیقات صورت گرفته سطح آلاینده‌های مختلف در

REFERENCES

- Abdollahpoor, A.; (2010). Comparative study of heavy metal accumulation (Cd, Cu, Co, Ni and Pb) in sediment and prominent fish species of Musa creek. M.Sc. thesis, Khorramshahr University of Marine Science and Technology.
- Au, D.W.T.; (2004). The application of histocytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Mar Poll Bull*; 48: 817-834.
- Azimi, A.; Dadolahi Sohrab, A.; Safahieh, A.; Zolgharnein, H.; Savari, A.; Faghiri, I.; (2013). The study of heavy metals (Hg, Cd, Pb and Cu) levels in Sediments of North-West of Persian gulf- Imam Khomeini Port. *J Ocean*; 3(11): 10-17.
- Babadi, S.; (2011). Bioaccumulation of mercury in some tissues of yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*): Comparison of In vivo and In vitro conditions. MSc thesis, Khorramshahr University of Marine Science and Technology.
- Bancroft, D.; Gamble, M.; (2002). *Microorganisms. Theory and practice of histological techniques*. 5th ed. Philadelphia, USA: Churchill Livingstone Elsevier; 325-344.
- 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.
- Chavan, V.R.; Muley, D.V.; (2014). Effect of heavy metals on liver and gill of fish *Cirrhinus mrigala*. *Int J Curr Microbiol App Sci*; 3(5): 277-288.
- 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.
- Deivasigamani, B.; (2007). Structure of immune organ in edible catfish, *Mystus gulio*. *Environ Biol*; 28(4): 757-764.
- Di Giulio, R.T.; Hinton, D.E.; (2008). *The toxicology of fishes*. Boca Raton, Taylor and Francis Group; 1101.
- El-Bakary, N.E.R.; El-Gammal, H.L.; (2010). Comparative histological, histochemical and ultrastructural study on the proximal intestine of the

- flatheadgrey mulletand seabream. J World App Sci; 8: 477-485.
- Halliwell, B.; Gutteridge, J.M.C.; (1989). Free Radicals in Biology and Medicine, second ed. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Fanta, E.; Rios, F.S.; Romão, S.; Vianna, A.C.C.; Freiburger, S.; (2003). Histopathology of fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. Ecotoxicol Environ Safe; 54: 119-130.
- Fernandes, C.; Fontainhas-Fernandes, A.; Rocha, E.; Salgado, M.A.; (2008). Monitoring pollution in Esmoriz-Paramos lagoon, Portugal: Liver histological and biochemical effects in *Liza saliens*. Environ Monit Assess; 145: 315-322.
- Fischer, W.; Bianchi, G.; (1984). FAO Species Identification Sheet for Fishery Purposes. Western Indian Ocean, (Fishing Area 51), Vol II. Rome: FAO.
- Kakkar, K.G.; (2011). Water soluble fraction of diesel fuel induced histopathological alterations in the liver *Channa punctatus*. Fish Shellfish Immunol; 18: 14-16.
- Kim, S.H.; Sharma, R.P.; (2005). Mercury alters endotoxin induced inflammatory cytokine expression in liver: differential role of P38 and extra cellular signalregulated mitogen activated protein kinases. Immunotoxicol; 27: 123-135.
- Marigomez, I.; Soto, M.; Cancio, I.; Orbea, A.; Garmendia, L.; Cajaraville, M.P.; (2003). Cell and tissue biomarkers in mussel and histopathology in hake and anchovy from Bay of Biscay after the Prestige oil spill (Monitoring Campaign 2003). Mar Poll Bull; 53: 287-304.
- Novaluna, N.A.; (1982). Morphometrics, biology and population dynamics of the croaker fish, *Otolithes tuber*. In: Pauly D, Mines AN. (editors) Small-scale fisheries of San Miguel Bay, Philippines, Biology and stock assessment, ICLARM Technical Reports; 124.
- Ogundiran, M.A.; Fawole, O.O.; Adewoye, S.O.; Ayandiran, T.A.; (2010). Toxicological impact of detergent effluent on juvenile of African catfish (*Clarias gariepinus*) (Buchell 1822). Agric Biol J N Am; 1: 330-342.
- 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.
- Safahieh, A.; Monikh, F.A.; Savari, A.; Doraghi, A.; (2011). Heavy metals concentration in Mullet Fish, *Liza abu* from petrochemical waste receiving creeks, Musa Estuary (Persian Gulf). J Environ Protec; 2(09): 12-18.
- 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.
- Salamat, N.; Soleimani, Z.; Safahieh, A.; Savari, A.; Ronagh, M.T.; (2013). Using Histopathological changes as a biomarker to trace contamination loading of Musa Creeks (Persian Gulf). Toxicol Pathol; 41: 913-920.
- Satari, M.; Shahsavani, D.; Shafiei, Sh.; (2003). Fish Biology 2 (Systematic). Hagh Shenas publication. Tehran, Iran.
- Triebkorn, R.; Kohler, H.R.; Flemming, J.; Braunbeck, T.; Negele, R.D.; Rahmann, H.; (1994). Evaluation of bis(tri-n-butyltin)oxide (TBTO) neurotoxicity in rainbow-trout (*Oncorhynchus mykiss*). 1. Behavior, weight increase, and tin content. Aquat Toxicol; 30: 189-197.
- Triebkorn, R.; Köhler, H.R.; Honnen, W.; Schramm, M.; Adams, S.M.; Müller, E.F.; (1997). Induction of heat shock proteins, changes in liver ultrastructure,

- and al terations of fish behavior: are these biomarkers related and are they useful to reflect the state of pollution in the field? J Aquat Ecosyst Stress Rec (Formerly Journal of Aquatic Ecosystem Health); 6: 57-73.
- Van Dyk, J.C.; Pieterse, G.M.; van Vuren, J.H.J.; (2007). Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. Ecotox Environ Safe; 66: 432-440.
- Velkova-Jordanoska, L.; Kostoski, G.; (2005). Histopathological analysis of liver in fish (*Barbus meridionalis petenysi* Heckel) in reservoir Trebenita. Nat Croat; 14(2): 147-153.
- Younis, E.M.; Abdel-Warith, A.A.; Al-Asgah, N.A.; Ebaid, H.; Mubarak, M.; (2013). Histological changes in the liver and intestine of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to sublethal concentrations of cadmium. Pakistan J Zool; 45(3): 833-841.