

## بررسی تغییرات پاتولوژیک بافت کبد ماهی شانک زردباله (*Achanthopagrus latus*) و بیاخ (*Liza abu*) در خور موسی در پاسخ به آلاینده‌های پتروشیمی

نگین سلامات<sup>۱\*</sup> زهراسلیمانی<sup>۲</sup>

(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 اکوسیستم‌های دریایی و با ارزش در جنوب ایران است که مکانی برای تخمگذاری بسیاری از ماهی‌ها و موجودات دیگری باشد و به 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 آلاینده‌ها را در بافت‌های ماهیان این منطقه نشان داده اند که می‌تواند منجر به تغییر ساختار بافتی اندام‌های مختلف این ماهیان گردد. **هدف:** استفاده از تغییرات پاتولوژیک کبد جهت بررسی اثرات آلاینده‌های خور موسی بر دو گونه ماهی شانک زردباله و بیاخ. **روش کار:** در این مطالعه ۵۰ قطعه ماهی شانک زردباله و ۵۰ قطعه ماهی بیاخ از پنج ایستگاه در خور موسی شامل: (۱) پتروشیمی، (۲) جعفری، (۳) اسکله نفتی مجیدیه، (۴) غزاله و (۵) زنگی جمع‌آوری شدند. پس از تشریح ماهیان نمونه‌هایی از کبد اخذ و در محلول ثبوت بوئن تثبیت شدند. سپس نمونه‌ها بر اساس روش‌های مرسوم بافت‌شناسی مورد مطالعه بافتی قرار گرفتند. **نتایج:** تغییرات پاتولوژیک مشاهده شده در بافت کبد شامل واکنش‌ها و هیپاتوسیت‌ها، هیپرتروفی هسته، نکروز کانونی، اتساع سینوزوئیدها، اتساع فضای دیس و خونریزی بود. میزان شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک (HAI) (Histopathological alteration index) بافت کبد در ایستگاه پتروشیمی در هر دو گونه ماهی به طور معنی‌داری از سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود ( $p < 0.05$ ). کمترین مقدار HAI مربوط به خور زنگی بود. **نتیجه‌گیری نهایی:** نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغییرات ساختار بافتی کبد هر دو ماهی شانک و بیاخ تحت تأثیر آلودگی خور موسی ایجاد شده و میزان این تغییرات ارتباط نزدیکی با مقدار آلودگی محیطی دارد.

**واژه‌های کلیدی:** شانک زردباله، بیومارکرزیستی، تغییرات هیستوپاتولوژی، کبد، بیاخ

فراوانی 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 هیستوپاتولوژی یک این اندام ابزار مناسبی جهت بررسی اثر آلاینده‌های محیطی بر ماهی باشد (۲۱).

ماهی شانک زردباله یک گونه‌ی هرمافرودیت پروتاندروس است (۱۰). این ماهی در نزدیک کف و در آب‌های کم عمق (۵۰ متری) زیست می‌کند (۷). ماهی شانک زردباله شکارچی و از نظر عادت غذایی گوشتخوار بوده و اصولاً از سخت پوستان، نرم‌تنان، خارپوستان و کرم‌ها تغذیه می‌کند. ماهی بیاخ 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 پسند بودن این ماهیان تجاری در جنوب کشور، تحقیق حاضر با هدف استفاده از

### مقدمه

اکوسیستم‌های آبی مجاور واحدهای صنعتی گوناگون همواره در معرض خطر آلودگی ناشی از تخلیه آلاینده‌های مختلف نظیر فلزات سنگین، ترکیبات نفتی، حلال‌ها و... از این صنایع به این محیط‌ها می‌باشند (۲۴). خور موسی، واقع در شمال غرب خلیج فارس و در سواحل استان خوزستان، از جمله این اکوسیستم‌ها 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 آلاینده‌ها 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 ابتلا به آسیب‌های پاتولوژیک و متابولیکی



پارامترهای پاتولوژیکی جهت بررسی تأثیر آلودگی محیطی بر این ماهیان صورت گرفت.

## مواد و روش کار

در تحقیق حاضر، نمونه برداری در پنج ایستگاه در خور موسی شامل خورهای پتروشیمی، جعفری، مجیدیه، غزاله و زنگی انجام شد (تصویر ۱). انتخاب ایستگاه‌های حاضر بر اساس میزان آلودگی آب و رسوب هر یک از آنها بود (۲، ۵، ۱۷، ۱۸). مقدار دما، pH و اکسیژن محلول آب هر ایستگاه در زمان نمونه برداری اندازه گیری شد که مقادیر این پارامترها و همچنین منابع اصلی آلوده کننده هر یک 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 بندر گناوه جهت مقایسه با ایستگاه‌های مورد مطالعه جمع‌آوری شد، چرا که بنابر تحقیقات موجود این ایستگاه دارای آلودگی کمتری نسبت به خور موسی می‌باشد (۲۲).

عملیات نمونه برداری در مهر ماه ۱۳۸۹، توسط قایق صیادی صورت گرفت. قابل ذکر است که دمای هوا و آب در خور موسی از اواخر دیبهبشت ماه تا اواسط آبان ماه تقریباً یکنواخت و گرم است. از طرفی خور موسی یک منطقه محصور شده است که تنها از طریق باریکه‌ای با خلیج فارس در ارتباط می‌باشد. لذا جریانات آبی خلیج فارس چندان به خور موسی وارد نگشته و تغییرات جذر و مدی در این خور نیز زیاد نیست. بنابراین ورود و خروج آب به این خور همواره متعادل بوده و تأثیر قابل توجهی بر تغییر بار آلودگی این خور نداشته است (۸، ۱۰).

از هر ایستگاه ۱۰ عدد ماهی شانک زردباله 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 اسانس کاشان) بیهوش شده، وزن هر ماهی به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱g و طول کل بدن با استفاده از تخته بیومتری با دقت ۱mm اندازه‌گیری و ثبت گردید. سپس قطعاتی به ابعاد ۰/۵ 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 عمل‌آوری بافت با استفاده از روش‌های استاندارد مرسوم توسط دستگاه هیستوکینت (مدل RX-11B, tissue tek rotary, Japan) تحت برنامه زمان بندی شده در آزمایشگاه تحقیقات بافت‌شناسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر صورت گرفت. پس از آن با استفاده از دستگاه میکروتوم (مدل LEICA-RM2245)، برش‌هایی با ضخامت ۵μm از نمونه‌ها تهیه و با استفاده از رنگ هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شدند (۳).

تعیین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژی (HAI)

(Histopathologic alterations index): به منظور ارزیابی نتایج پاتولوژیکی، تغییرات هیستوپاتولوژیکی بافت کبد بر اساس رده بندی انجام شده توسط Camargo و Martinez در سال ۲۰۰۷، از درجه صفر تا سه (به ترتیب شامل فقدان تغییرات بافتی، تغییرات بافتی کم، تغییرات بافتی متوسط، تغییرات بافتی شدید) دسته بندی شدند (جدول ۲).

با توجه به تغییرات پاتولوژیکی ایجاد شده در نمونه‌های کبد ماهیان شانک زردباله و بیاح در ایستگاه‌های مختلف، HAI کبد هر دو گونه ماهی در ایستگاه‌های متفاوت با استفاده از فرمول  $HAI = (1X SI) + (10X SII) + (100X SIII)$  محاسبه و مقدار آن برای هر یک از ایستگاه‌ها به صورت میانگین  $SE \pm$  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 ۰ تا ۱۰ 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 جدا شده از ماهیان شاهد زردباله و بیاح اخذ شده از ایستگاه شاهد فاقد ضایعات بافتی بود. در لوپول‌های کبدی هیپاتوسیت‌ها (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. هیپاتوسیت‌ها به شکل سلول‌های چندوجهی دارای هسته بزرگ روشن با هستک مشخص و سیتوپلاسم کاملاً اسیدوفیلی قابل مشاهده بودند (تصویر ۲، ۳).

شاخص تغییرات هیستوپاتولوژی (HAI) کبد ماهی شانک زردباله و بیاح: مقدار HAI کبد هر دو 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 ایستگاه‌ها نیز اختلاف معنی داری را نشان داد ( $p < 0/05$ ) (تصویر ۴).

مقدار HAI کبد ماهی شانک زردباله در ایستگاه‌های مختلف مطابق الگوی زیر بود:

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



جدول ۱. مقدار پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب و منبع آلوده کننده هر ایستگاه.

نام خور	پارامترهای اندازه گیری شده			میزان آلودگی هر ایستگاه	
	دما (°C)	pH	اکسیژن محلول (mg O <sub>2</sub> /L)	فعالیت رایج در منطقه	آب رسوب
پتروشیمی	۲۲/۶	۸/۴	۳/۲	ورودی فاضلاب صنایه پتروشیمی و واحد کلرآلکالی	زیاد
جعفری	۲۴	۸/۴	۳/۸	نزدیکی با مجتمع های پتروشیمی	زیاد
مجیدیه	۲۴	۸	۴/۴	اسکله ی صادرات نفت	زیاد
غزاله	۲۵	۸/۱	۴/۲	پرورش ماهی در قفس	نسبتاً کم
زنگی	۲۴/۵	۸	۴/۵	دور از فعالیت های صنعتی و کشتی رانی	کم
گناوه	۲۴	۷/۹۳	۴/۸	ایستگاه شاهد	بسیار کم

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

مرحله آسیب	تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد
I	هیپرتروفی هسته - هسته های با اشکال نامنظم - هیپرتروفی سلولی - واکوئوله شدن هیاتوسیت ها - قرار گرفتن هسته در موقعیت جانبی - نفوذ لوکوسیتی - اتساع سینوزوئیدها - اتساع فضای دیس
II	واکوئوله شدن هسته - دژنره شدن سیتوپلاسم - افزایش تجمعات ملانوما کروفاژی - احتقان خون
III	نکروز - دژنره شدن هسته - خونریزی

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

خور	پتروشیمی		جعفری		مجیدیه		غزاله		زنگی		گناوه
	شانک	بیاح	شانک	بیاح	شانک	بیاح	شانک	بیاح	شانک	بیاح	
هیپرتروفی هسته	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
هیپرتروفی سلولی	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
واکوئوله شدن هیاتوسیت ها	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
هسته در موقعیت جانبی	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
نفوذ لوکوسیتی	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
اتساع سینوزوئیدها	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
اتساع فضای دیس	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
واکوئوله شدن هسته	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
دژنره شدن سیتوپلاسم	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
تجمعات ملانوما کروفاژی	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
احتقان خون	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
نکروز	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
دژنره شدن هسته	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
خونریزی	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

جدول ۴. میانگین HAI کبد ماهی شانک زردباله و بیاح در هر ایستگاه نمونه برداری.

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

نداشت ( $p > 0.05$ ). مقدار HAI در سایر ایستگاه ها نیز اختلاف معنی داری نشان داد ( $p < 0.05$ ) (تصویر ۴).

### بحث

اثرات هیستوپاتولوژیک آلاینده های متفاوت بر بافت های مختلف

نظیر کبد، کلیه، آبشش، اپیتلیوم بویایی و طحال در ماهیانی که در معرض

مقدار HAI کبد ماهی شانک زردباله در ایستگاه های مختلف مطابق

الگوی زیر بود:

ایستگاه پتروشیمی ایستگاه مجیدیه «ایستگاه غزاله» ایستگاه

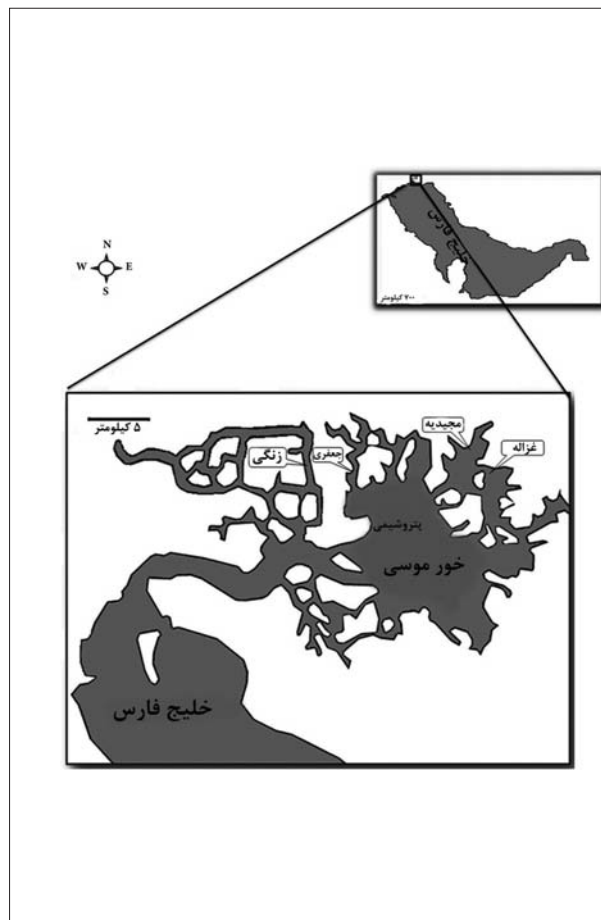


قرارگیری ماهی در معرض آلاینده ارتباط مستقیم داشته و این ضایعات در صورت وجود استرس‌هایی با شدت زیاد ایجاد می‌شوند. اتساع عروق، همولیز درون عروقی، ترومبوس در رگ‌های خونی همراه با توقف جریان خون، نیز ممکن است باعث دژنرسانس سلولی و نکروز در کبد شوند (۱۳). نتایج به دست آمده از مطالعه *Kostoski و Velkova-Jordanoska* در سال ۲۰۰۵ روی تأثیر آلودگی‌های شهری بر کبد ماهی *Barbus meridionalis petenyi*، تغییرات پاتولوژیکی شامل نکروز سلول‌های پارانشیمی همراه با خونریزی را دریافت کبد نشان داد. علاوه بر این در مطالعه‌ای که توسط *Saenphet* و همکاران در سال 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 بود ( $p < 0.05$ ). نتایج مطالعات هیستوپاتولوژیک کبد ماهی بیاح هم نشان داد بیشترین فراوانی تغییرات پاتولوژیک در ماهیان جمع‌آوری شده از خورهای پتروشیمی و مجیدیه بوده و میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک در این دو ایستگاه به طور معنی‌داری بیشتر از سایر ایستگاه‌ها بود ( $p < 0.05$ ).

در تحقیق حاضر بیشترین میزان HAI بافت کبد هر دو گونه ماهی در ایستگاه پتروشیمی مشاهده گردید. تخلیه پساب‌های پتروشیمی به خور موسی عامل اصلی آلودگی خور موسی به آلاینده‌ها 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 پساب‌های کارخانه کلر آلکالی و کارخانجات پتروشیمی موجود در اطراف این ایستگاه می‌باشد.

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 ( $p > 0.05$ ). 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. *Safahieh* و همکاران در سال ۲۰۱۴ نیز گزارش نمودند که خور جعفری تا حدود زیادی توسط خرو جی 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 به طور

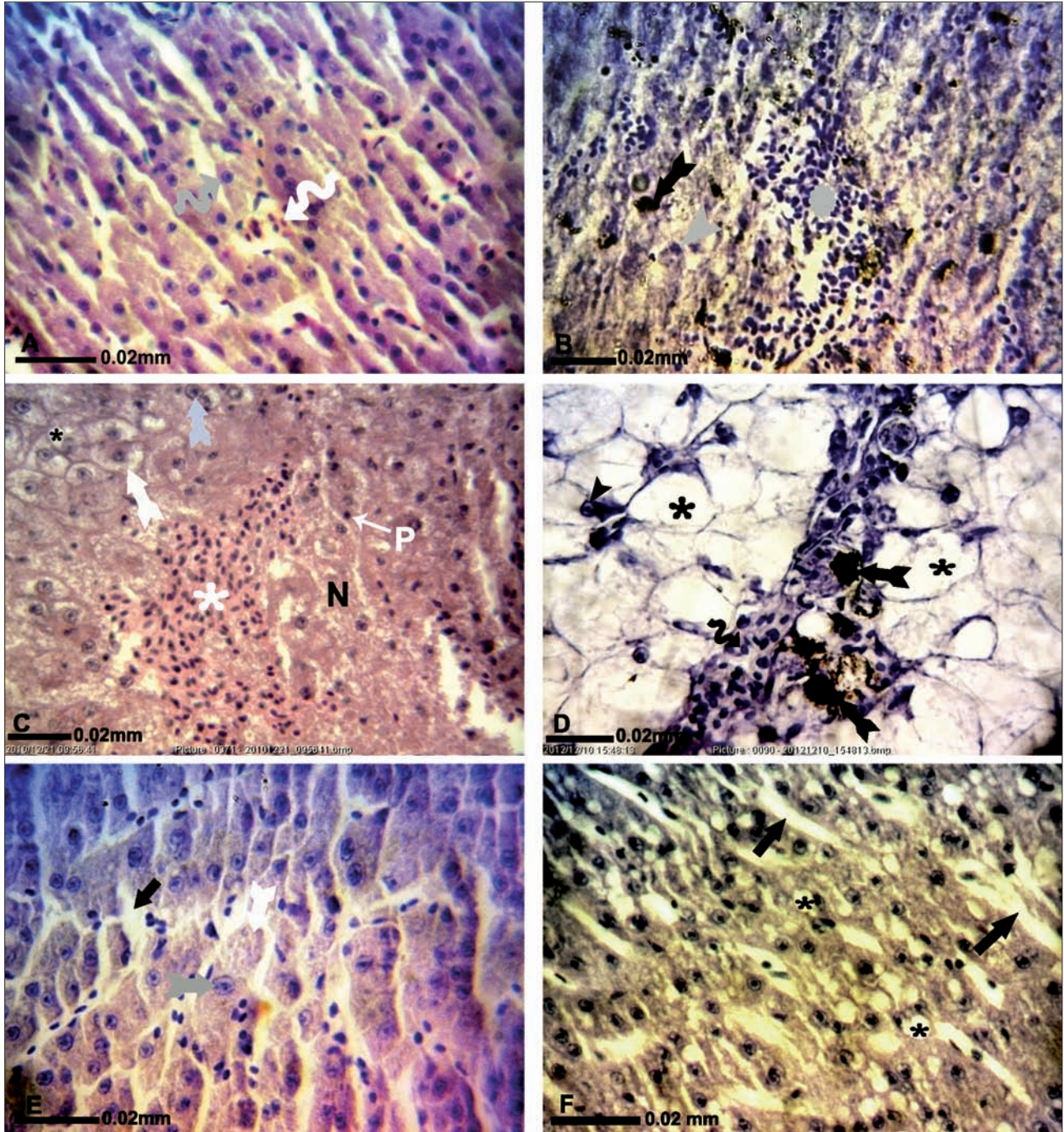


تصویر ۱. نقشه منطقه مورد مطالعه و ایستگاه‌های نمونه برداری.

آب‌های آلوده قرار داشتند، توسط محققین مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۵، ۱۹). در مطالعه صورت گرفته توسط *Atamanalp* و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثر مس بر روی بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، تغییرات هیستوپاتولوژیکی مانند دژنرسانس هیپاتوسیت‌ها، اتساع سینوزوئیدها و پرخونی در رگ‌های کبدی مشاهده شد. *Martinez و Camargo* در سال ۲۰۰۷ نیز ضایعاتی نظیر واکوئله شدن هیپاتوسیت‌ها، افزایش تجمعات ملانوما کروفاژی و هیپرتروفی هسته راد ماهی *Prochilodus lineatus* که به مدت ۷ روز در معرض پساب‌های آلوده شهری و صنعتی قرار گرفته بود، گزارش نمودند. از آنجایی که کبد ماهی مکانی جهت سمیت‌زدایی انواع سموم و مواد شیمیایی است، لذا ممکن است واکوئله شدن هیپاتوسیت‌ها نشانه‌دهنده از بین رفتن تعادل میان میزان سنتز مواد در هیپاتوسیت‌ها و میزان آزادکردن آن‌ها درون سیستم گردش خون باشد (۲۰).

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 در سال ۲۰۰۲ معتقدند که ایجاد چنین آسیب‌های پاتولوژیکی با غلظت آلاینده و مدت زمان



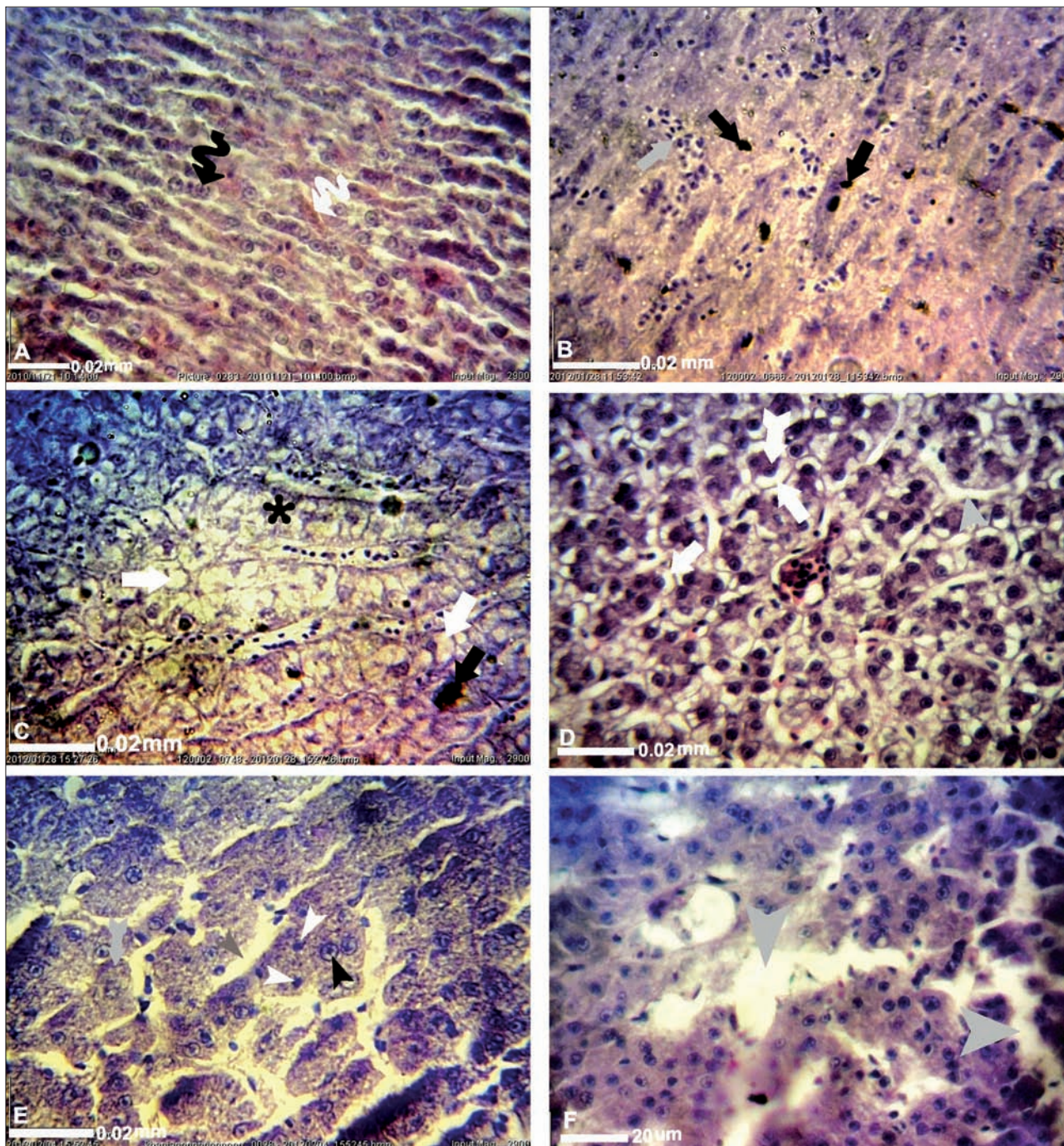


تصویر ۲. تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد ماهی شانگ زردباله را نشان می دهد که در آن A (شاهد، ایستگاه بندر گناوه): ساختار طبیعی بافت کبد در ماهی شانگ زردباله شاهد: هیاتوسیت ها با هسته یوکروماتین (سر پیکان سیاه)، سینوزوئیدها (سر پیکان سفید)؛ B. ایستگاه جعفری: نفوذ لوکوسیتی (\*سیاه)، تجمعات ملانوماکروفاژی (سر پیکان سفید)، دژنراسیون سلول کبدی (سر پیکان سیاه)؛ C. ایستگاه پتروشیمی: خونریزی (\*سیاه)، نکروز کانونی (\*سفید)، هیپرتروفی سلول کبدی (سر پیکان سفید) و هسته هیاتوسیت (پیکان سفید)، واکنش شدن هیاتوسیت (سر پیکان سیاه)، پیکنوز هسته (پیکان سیاه)؛ D. ایستگاه مجیدیه: افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی (پیکان سیاه)، واکنش شدن هیاتوسیت ها (\*سیاه)، جایجایی هسته به یک طرف (سر پیکان سیاه)، اتساع سینوزوئیدی (پیکان پیچیده سیاه)؛ E. ایستگاه غزاله: هیپرتروفی سلول کبدی (سر پیکان سیاه) و هسته هیاتوسیت ها (سر پیکان سفید)، اتساع فضای دیس (پیکان سیاه)؛ F. ایستگاه زنگی: واکنش شدن هیاتوسیت (پیکان سفید)، اتساع فضای دیس (پیکان سیاه)؛ A, B, C, D, E و F (H&E؛ ۲۹۰×).

خور موسی بوده و احتمالاً جریان های آبی حاوی آلاینده ها کمتر به این خورها راه می یابند. لازم به ذکر است Safahieh و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش نمودند که غلظت جیوه در آب خور مجیدیه و غزاله بیش از سایر ایستگاه ها بوده و می توان گفت احتمالاً میزان کلی آلاینده های موجود

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





تصویر ۳. تغییرات بافتی کبد ماهی بیاح را نشان می‌دهد که در آن A (شاهد، ایستگاه بندر گناوه): ساختار طبیعی بافت کبد در ماهی بیاح: هپاتوسیت‌ها با هسته یوکروماتین (پیکان سیاه)، سینوزوئیدها (پیکان سفید)؛ B. ایستگاه جعفری: اتساع سینوزوئیدی (پیکان سفید)، افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی (پیکان سیاه)؛ C. ایستگاه پتروشیمی: افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی (پیکان سیاه)، واکنش شدن هپاتوسیت‌ها (پیکان سفید)؛ D. ایستگاه مجیدیه: واکنش شدن هپاتوسیت‌ها (سر پیکان سیاه)، جابجایی هسته هپاتوسیت‌ها به یک طرف (پیکان سیاه)، اتساع سینوزوئیدی (سر پیکان سفید)؛ E. ایستگاه غزاله: هیپرتروفی سلول‌های کبدی (پیکان سیاه) و هسته (سر پیکان سیاه)، اتساع فضای دیس (سر پیکان خاکستری)، پیکنوز هسته (سر پیکان سفید)؛ F. ایستگاه زنگی: اتساع فضای دیس (پیکان سیاه)؛ A، B، C، D، E و F (H&E؛ ۲۹۰۰×).

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

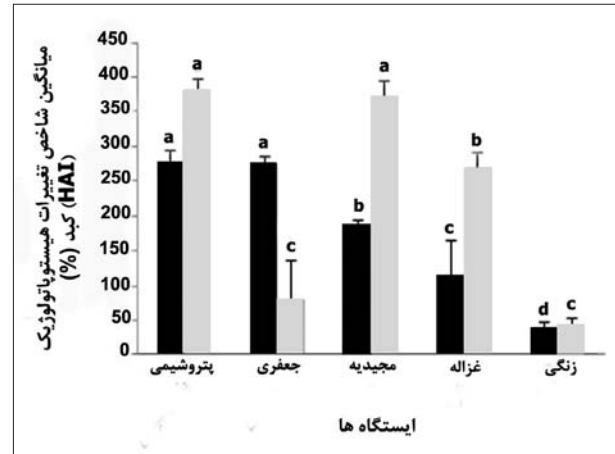
در این خورها به دلیل دور بودن آنها از منابع آلاینده، کمتر است. در ماهی بیاح بعد از خور پتروشیمی بیشترین فراوانی تغییرات پاتولوژیک کبد در خور مجیدیه مشاهده شد که با توجه به وجود اسکله صادرات نفت در مجاورت خور مجیدیه و ورود آلاینده‌های ناشی از



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 بطور 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 (جعفری، مجیدیه، غزاله)، در حالیکه از لحاظ آلودگی رسوبات این خورها، الگوی زیرارائه 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 آب های آزاد صورت می گیرد (۱۶). به نظر می رسد پس از ورود جریان های آبی آلوده به این خورها، به دلیل راکد بودن آب و ارتباط بسیار کم این خورها با آب های 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 و ارزیابی نتایج حاصل از تحقیق حاضر بدون در نظر گرفتن ارتباط معنی دار موجود میان میزان آلودگی آب و رسوب این خورها و بیولوژی ماهی امکان پذیر نمی باشد. با توجه به آلودگی قابل توجه رسوبات خورهای مجیدیه و غزاله، به نظر می رسد در این خورها ماهی بیاح که بستری و پوسیده خوار بوده و معمولاً از دیتریته ها و موجودات کوچک موجود در شن و گل بستر تغذیه می کند (۱۹) بیش از ماهی شانک زردباله متأثر شود. از طرفی در خور جعفری، که میزان آلودگی رسوبات آن کمتر از خورهای مجیدیه و غزاله و میزان آلودگی آب آن بیشتر از آن خورها می باشد، ماهی شانک به طور قابل توجهی بیش از ماهی بیاح متأثر 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 آلاینده های موجود در آب و رسوب و همچنین بیولوژی اورگانسیم، بر فراوانی و وسعت آسیب های ایجاد شده در گونه های مختلف آبزیان بسیار مؤثر است.

بنابر نتایج مطالعه حاضر می توان نتیجه گرفت که آلاینده های محیطی موجود در خور موسی منجر به ایجاد تغییرات قابل توجهی در ساختار بافتی ماهیان ساکن در این آبها از جمله ماهی شانک زردباله و بیاح می شوند. از طرفی بر اساس نتایج تحقیق حاضر و سایر مطالعات انجام شده در این زمینه به نظر می رسد که برخی از تغییرات هیستوپاتولوژیک غالباً در ارتباط با وجود آلاینده های خاصی ایجاد می شوند. به عنوان مثال واکوئوله شدن سلول های کبدی غالباً با وجود آلاینده های نفتی مرتبط است، همانگونه که در تحقیق حاضر نیز بیشترین وسعت این ضایعه عمدتاً در ایستگاه هایی 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 می باشند که در نتیجه استرس های محیطی شدید رخ داده و غالباً نشان دهنده شرایط محیطی



تصویر ۴. میانگین HAI کبد ماهی شانک زردباله و بیاح در ایستگاه های مختلف.

ولی میانگین HAI کبد ماهی بیاح این خور (۲۷۰/۲۱±۲۱/۳۷) بسیار بالا بوده و نشان از آلودگی زیاد این ایستگاه داشت، که با توجه به نزدیکی خور غزاله به خور مجیدیه، این امر کاملاً منطقی به نظر می رسد. میانگین HAI بافت کبد ماهی بیاح درد و ایستگاه جعفری و زنگی بسیار پایین بود. اگر چه خور جعفری در نزدیکی خور پتروشیمی و در مجاورت کارخانه کلر آلکالی قرار دارد، ولی بنا به گزارش Safahieh و همکاران در سال ۲۰۱۳ و ۲۰۱۴، میزان غلظت آلودگی هایی 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 می باشد که ماهی بیاح، ماهی بستری و پوده خوار بوده و از رسوبات بستر تغذیه می کند. همچنین Dehghan Madiseh و همکاران در سال ۲۰۰۹ با بررسی رسوبات منطقه خور موسی، به این نتیجه رسیدند که بین غلظت فلزات موجود در رسوب خورهای زنگی و جعفری اختلاف معنی داری وجود ندارد. Camargo و Martinez در سال ۲۰۰۷ طی مطالعه هیستوپاتولوژیک کبد، آبشش و کلیه ماهی *Prochilodus lineatus* گزارش نمودند بیشترین تغییرات این بافت ها در ایستگاهی مشاهده شد که بیشترین میزان پسماندهای شهری را دریافت می کرد.

در مطالعه حاضر فراوانی ضایعات بافتی و میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد دو گونه ماهی شانک و ماهی بیاح اگر چه در ایستگاه هایی مانند خور پتروشیمی و خور زنگی تا حدودی مشابه بود، ولی در سایر ایستگاه ها (جعفری، مجیدیه و غزاله)، تفاوت های قابل توجهی را نشان می داد. میانگین HAI در خورهای پتروشیمی میان ماهی شانک و ماهی بیاح تفاوت معنی داری را نشان نداد ( $p > 0.05$ ). 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 می تواند ناشی از آلوده بودن بیش از حد آب و رسوب خور پتروشیمی باشد.



## References

بحرانی می باشند.

### تشکر و قدردانی

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

- 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. (5<sup>th</sup> 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., Zabayah 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., Abdolapur 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.





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 Shenan 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 meridionalispetenyi 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.<sup>1\*</sup>, Soleimani, Z.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Oceanography, Khorramshahr Marine Sciences and Technology University, Khorramshahr- Iran

<sup>2</sup>Department 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 valuable 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 Mussa 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 dis 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 ●), Piknosis (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), Piknosis (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

