

بررسی تغییرات پاتولوژیک بافت کبد، آبشش و روده بچه‌ماهی سفید (*Rutilus kutum*) در معرض قرار گرفته با آب تالاب‌انزلی

- شیمیا کوهی دهکردی*: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، صندوق پستی: ۱۱۴۴
- سروناز خلیلی‌تیلمی: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، صندوق پستی: ۱۱۴۴
- جاوید ایمانیورنمین: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، صندوق پستی: ۱۱۴۴

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۴

چکیده

تالاب‌انزلی دارای ارزش اکولوژیکی فراوانی است چرا که محل تخم‌ریزی و مهاجرت گونه‌های آبزیان و پرندگان بسیاری به حساب می‌آید. براساس تحقیقات صورت گرفته، فلزات سنگینی از جمله لیتوم، باریوم، استرانسیوم، کادمیوم، کبالت، مس، مولیبدن، نیکل، سرب و گوگرد علاوه بر هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAH) نیز به‌عنوان ترکیبات حاضر در همه منطقه تالاب در نظر گرفته می‌شوند که غلظتشان رو به افزایش بوده و می‌تواند تهدید جدی برای ساکنان تالاب در نظر گرفته شوند. مطالعه حاضر اثرات آب دارای این آلاینده‌ها را بر یکی از مهم‌ترین گونه‌های تالاب بررسی می‌کند. به‌منظور انجام تحقیق نود عدد بچه‌ماهی سفید *Rutilus kutum*، به‌مدت ۸ روز در معرض آب‌های آلوده مناطق آبکنار و سیاه‌کشیم تالاب‌انزلی (در قالب سه تیمار و در هر تیمار سه تکرار) قرار گرفتند. پس از گذشت روز اول تغییری در سلول‌های اپیتلیال آبشش دیده نشد و دژنراسیون سیتوپلاسم و هسته در سلول‌های کبد مشاهده شد، درحالی‌که پس از ۴ روز تغییر شکل سلول‌های پایه آبششی، به‌هم‌چسبیدگی رشته‌ها و رشته‌های ثانویه‌گزی شکل در بافت آبشش و تجمع صفرا در بافت کبد دیده شد ($p > 0/05$). ۸ روز در معرض‌گذاری منجر به خون‌ریزی و اتساع مویرگ‌های آبششی و هم‌چنین نکروز کانونی در کبد شد ($p < 0/05$). تغییرات ایجاد شده می‌تواند به‌وجود آلودگی در آب تالاب‌انزلی مربوط باشد.

کلمات کلیدی: آسیب بافتی، آبکنار، سیاه‌کشیم، کبد، آبشش



مقدمه

محیط‌های دریائی که در مجاورت مناطق صنعتی و شهری قرار گرفته‌اند در معرض دامنه گسترده‌ای از مواد شیمیائی هستند که ممکن است به ترکیبات احتمالی سمی تبدیل شوند (Vinodhini و Narayanan, ۲۰۰۹). طی چند دهه گذشته هزاران آلاینده آلی در محیط آزدسازی شده‌اند (Vander Oost و همکاران, ۲۰۰۳). تالاب انزلی یکی از این اکوسیستم‌هاست که به‌طور گسترده‌ای، خصوصاً طی سال‌های اخیر، در معرض آلاینده‌های سمی متفاوت قرار گرفته است. کیفیت محیطی تالاب انزلی از چندین دیدگاه مهم است، این تالاب یکی از مهم‌ترین زیستگاه‌ها برای بسیاری از موجودات مهاجر و به‌عنوان پناهگاهی برای تخم‌ریزی ماهیان دارای ارزش اقتصادی و یکی از زیستگاه‌های مهم برای ماهیان دوکفه‌ای‌ها و پرندگان در جنوب دریای خزر به حساب می‌آید (Eghtesadi Araghi و Salimi, ۲۰۰۹). بسیاری از ماهیان دریای خزر و رودخانه‌های مجاور در این تالاب تخم‌ریزی می‌کنند، بنابراین در صورتی که غلظت آلاینده‌ها در تالاب افزایش یابد ممکن است به چرخه غذایی منتقل شود. متأسفانه میزان این ترکیبات در حال افزایش است (Tavakkoli و Sabet Rafitar, ۲۰۰۳). ترکیبات آروماتیک چندحلقه‌ای از موجودترین آلاینده‌ها هستند که غلظت آن‌ها به دلیل وابستگی جوامع انسانی به سوخت‌های فسیلی در حال افزایش است (Men و همکاران،

۲۰۰۹). ترکیبات آروماتیک چندحلقه‌ای دارای دو یا چند حلقه آروماتیک پیوسته هستند که نسبت به مواد آلی موجود در طبیعت حالت واکنشی داشته و به دلیل آبریزی بالا، حلالیت کم و داشتن پیوند آروماتیک به محض ورود به محیط آبی ذرات ریز را جذب می‌کنند (Malmstrom, ۲۰۰۹). گزارشاتی مبنی بر وجود این ترکیبات در تالاب انزلی یافت شده است (Mortazavi و همکاران، ۲۰۱۲؛ Eghtesadi Araghi و Salimi, ۲۰۰۹؛ Yazdanparast و همکاران، ۲۰۰۴). از سوی دیگر ثابت شده است که ترکیباتی مانند آرسنیک، کادمیم، مس، کبالت، نیکل، مولیبدن، وانادیوم، بیسموت، کروم و روی در تالاب انزلی خصوصاً در مناطق سیاه‌کشی، شیجان و هندخاله وجود دارند (Khosheghbal و همکاران، ۲۰۱۳) (جدول ۱). چنین ترکیباتی کیفیت آب را تغییر داده و ممکن است مشکلاتی از جمله بیماری‌ها و تغییرات ساختاری را برای ماهی‌ها ایجاد کنند (Chang و همکاران، ۱۹۹۸). به دلیل توانایی در از بین بردن از طریق تخریب بیولوژیکی، فلزات سنگین ممکن است در اندام‌های آبریان در زمان در معرض قرار گرفتن با غلظت بالای این عناصر تجمع یابند (Ashraf, ۲۰۰۵). ترکیبات تجمع یافته واکنش‌های اکسیداسیون و احیا را ایجاد می‌کنند که منجر به ایجاد ترکیبات اکسیژنه واکنشی (ROS) شده که باعث بروز استرس اکسیداتیو محیطی و بنابراین تغییرات ریخت‌شناختی و بیوشیمیائی در ماهی‌ها می‌شود (Monteiro و همکاران، ۲۰۰۵).

جدول ۱: آنالیز جزئی رسوبات استخراج شده از تالاب انزلی (قسمت در میلیون)

Co	Cd	Bi	As	Sr	S	Ba
۲۰/۹۷	۰/۲۵	۰/۲۷	۱۲/۴۹	۲۶۳/۱۲	۱۶۹۸۴/۷۸	۴۲۳/۹۱
Cr	Mo	Cu	Zn	V	Pb	Ni
۹۸/۷۲	۳/۲۸	۵۴/۵۸	۱۰۹/۸۳	۱۲۱/۳۳	۲۱/۸۷	۶۸/۲۲

مطالعات محیطی به کار برده شده‌اند (Camargo و Martinez, ۲۰۰۶). به‌عنوان مثال Camargo و Martinez (۲۰۰۷) با در معرض قرار دادن گونه گرمسیری *Prochilodus lineatus* با رواناب شهری در مسیر سه رودخانه بزرگ در قفس‌هایی در برزیل آسیب‌های بافتی ناشی از این در معرض‌گذاری را بررسی کردند. هم‌چنین Raskovic و همکاران (۲۰۱۰) آسیب‌های بافت‌شناسی را در نمونه‌های ماهی کپور چندین استخر نیمه‌متراکم به‌منظور بررسی کیفیت آب استخرها و اثرات نوع کشت بر روی ماهی‌ها انجام دادند.

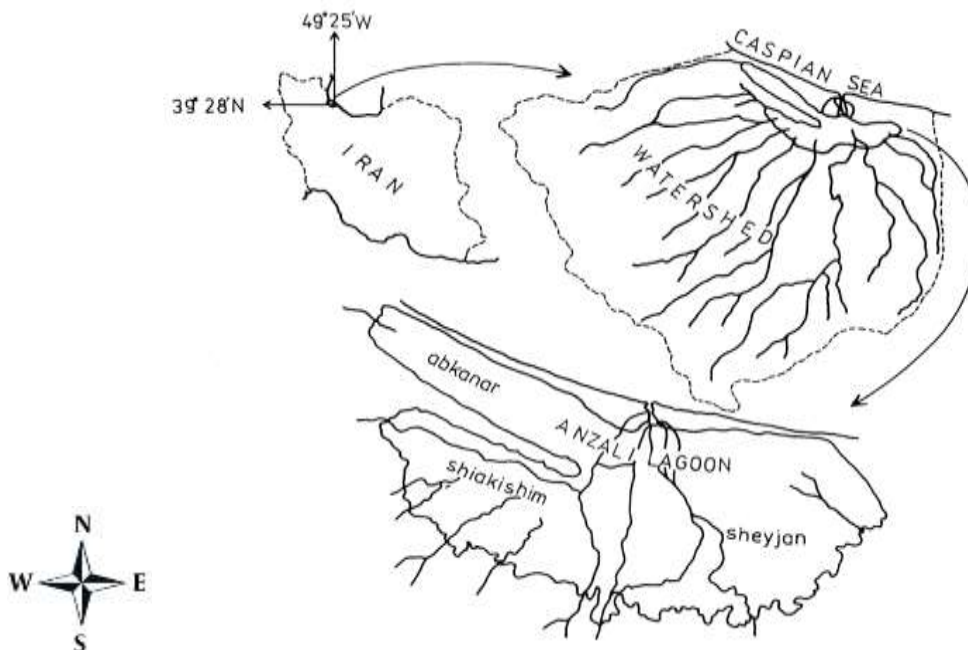
ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*, Kamenskii, ۱۹۰۱) در مناطق نزدیک به ساحل از شمال تا جنوب

تغییرات پاتولوژیکی به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان نشان‌گرهای زیستی در ارزیابی سلامتی ماهیان در معرض آلاینده قرار گرفته هم در آزمایشگاه (Thophon و همکاران، ۲۰۰۳) و محیط‌های طبیعی (Teh و همکاران، ۱۹۹۷) به کار گرفته می‌شوند. یکی از مهم‌ترین مزایای استفاده از نشان‌گرهای زیستی بافت‌شناسی در مشاهدات محیطی این است که این دسته از نشان‌گرها امکان آزمایش بافت خاصی را، شامل آبشش و کبد که مسئول اعمال حیاتی از جمله تنفس، تجمع و انتقال زیستی ترکیبات گزنوبیوتیک در ماهی‌ها هستند فراهم می‌کند (Gernhofer و همکاران، ۲۰۰۱). آزمایشات درون آزمایشگاهی، که در آن‌ها جاندار سالم به‌طور مستقیم در معرض محیط آلوده قرار می‌گیرد، متناوباً در

بنابراین تلاش برای حفظ شرایط طبیعی زیست این گونه با ارزش حیاتی، قابل توجه می‌باشد. مطالعه حاضر اثرات آسیب شناسی ناشی از رهاسازی و در معرض گذاری بچه ماهی سفید در آب تالاب انزلی را در قسمت‌های غربی و جنوبی تالاب بررسی می‌کند.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه: تالاب بین‌المللی انزلی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین و بزرگ‌ترین تالاب‌های ساحلی آب شیرین در جنوب دریای خزر در نظر گرفته می‌شود. این تالاب سطحی در حدود ۱۹۳ کیلومتر مربع را پوشانده که در استان گیلان در سمت جنوب غربی دریای خزر قرار گرفته است (JICA, ۲۰۰۵). حوضه آبریز تالاب در حدود ۳۶۱۰ کیلومتر مربع بوده و بین طول‌های جغرافیایی $48^{\circ}45'$ و $49^{\circ}42'$ و عرض جغرافیایی $36^{\circ}55'$ و $37^{\circ}32'$ شمالی قرار گرفته است (شکل ۱).



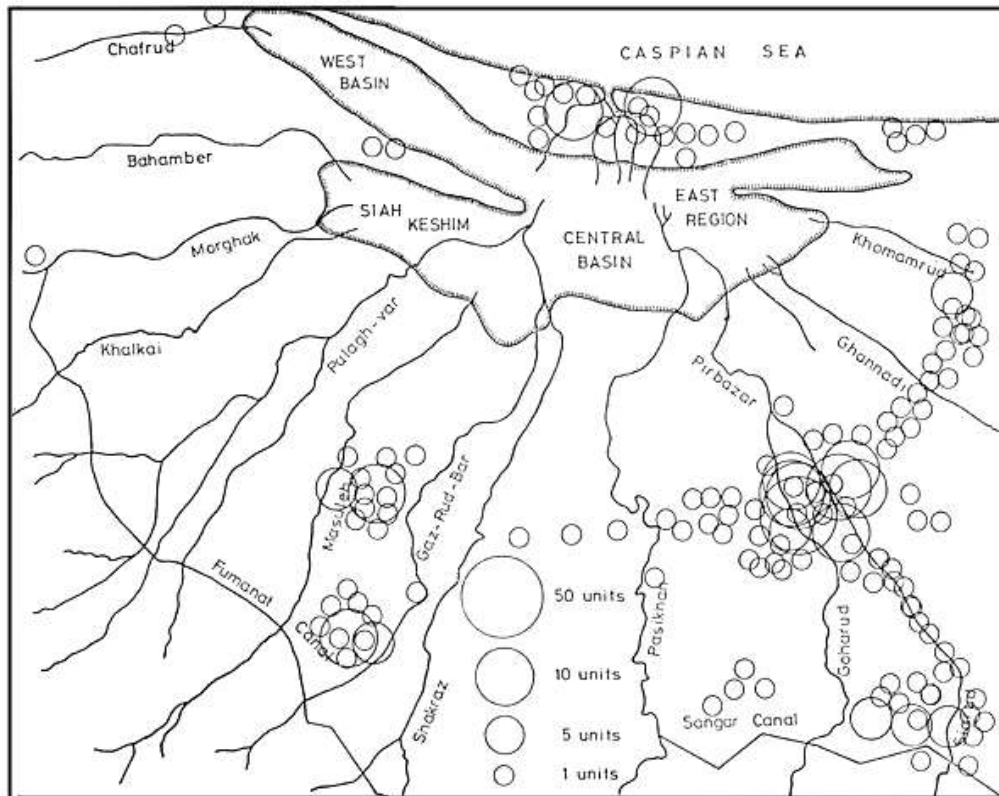
شکل ۱: نقشه تالاب انزلی، استان گیلان

میزان آن در قسمت‌های غربی و شمال غربی تالاب می‌باشد (JICA, ۲۰۰۵). فقدان تصفیه مناسب پساب صنعتی، رواناب شهری و روستائی به‌همراه فعالیت‌های کشاورزی و موجودات زنده در اطراف موجب می‌شود تالاب سالانه در حدود ۶۵,۳۰۰ تن COD، ۶۹۳۰ تن نیترژن کل (TN)، ۸۱۹ تن فسفر از منابع متفاوت آلودگی در تالاب دریافت کند (JICA, ۲۰۰۵) (شکل ۲).

دریای خزر زندگی می‌کند. این گونه یک مهاجر تخم‌ریز به حساب می‌آید که هر ساله در ماه‌های اسفند تا اردیبهشت در رودخانه‌ها تخم‌ریزی می‌کند. این گونه دارای رفتار تخم‌ریزی دسته‌جمعی بوده و بر روی علف‌های دریائی، بسترهای سنگریزه‌ای و شنی در رودخانه‌ها و تالاب‌ها از جمله تالاب انزلی تخم‌ریزی می‌کند (عبدلی، ۱۹۹۹). ماهی سفید یک گونه با ارزش تجاری در جنوب دریای خزر به حساب می‌آید که به دلیل طعم مناسب و آداب و رسوم طبخ مردم منطقه دارای تقاضای بالائی بوده و در طول سال به مصرف می‌رسد (Paykan Heyrati و همکاران، ۲۰۰۷). صید سالانه ماهی سفید دریای خزر در ایران در سال‌های ۱۳۷۰ تا ۱۳۸۰ در حدود ۹۶۰۰ تن بوده است (FAO, ۲۰۰۳). هر ساله به منظور احیای جمعیت این گونه ارزشمند برنامه گسترده بازسازی ذخائر این گونه در دریای خزر اجرا می‌شود که (سالانه در حدود ۱۸۷ تا ۲۰۰ میلیون قطعه) بچه ماهی به دریا رهاسازی می‌شوند (Fazli و همکاران، ۲۰۱۲؛ Abdolahy و همکاران، ۲۰۱۱).

در بسیاری از قسمت‌های تالاب فعالیت‌های کشاورزی انجام می‌شود. در مجموع ۱۰ رودخانه اصلی با دبی در حدود ۷۶ متر مکعب بر ثانیه به درون تالاب سرازیر می‌شوند (Jamshidi-Zanjani و Saeedi, ۲۰۱۲). انزلی به‌عنوان یک تالاب آب شیرین با شوری کم‌تر از ۰/۵ قسمت در هزار است، میزان اکسیژن محلول در تالاب انزلی بین ۷/۱ تا ۸/۳ میلی گرم بر لیتر بوده و بالاترین





شکل ۲: پراکندگی کارخانه‌ها و مراکز صنعتی در طول تالاب انزلی

میزان ۳ تا ۴ درصد وزن بدن انجام شد. نمونه‌برداری به ترتیب در ۱، ۴ و ۸ روز پس از در معرض گذاری انجام شد. پس از تشریح، دو نمونه از کمان‌های سمت راست و چپ آبشش، کبد و روده جدا شده و در فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند، سپس برای آب‌گیری به الکل منتقل شده و پس از آن در پارافین فیکس شدند. سپس نمونه‌ها دوباره در الکل هیدراته شده و در قالب‌های پارافینی قرار گرفتند. پس از پارافین‌زدائی با گزیلول، به شیوه هماتوکسیلین و اتوزین H&E رنگ‌آمیزی شدند. پس از آن قطعات بافتی (با ضخامت ۵ میکرومتر) برش داده شدند و بر روی لام قرار گرفتند به طوری که تقریباً هر چهار قطعه بافتی بر روی یک لام قرار گرفته و سپس با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند (Bancroft و Gamble، ۲۰۰۲).

وجود آسیب‌های بافتی برای هر بافت به وسیله درجه تغییر بافتی (DTC) تعیین شد که براساس شدت آسیب‌ها مشخص می‌شود (Bancroft و Gamble، ۲۰۰۲). برای محاسبه (DTC) (اتخاذ شده از روش Poleksic)، تغییرات موجود در هر بافت در مراحل پیش‌رونده آسیب بافتی تقسیم‌بندی شدند: مرحله I: که عملکرد طبیعی بافت را تغییر نمی‌دهد، مرحله II: که شدیدتر

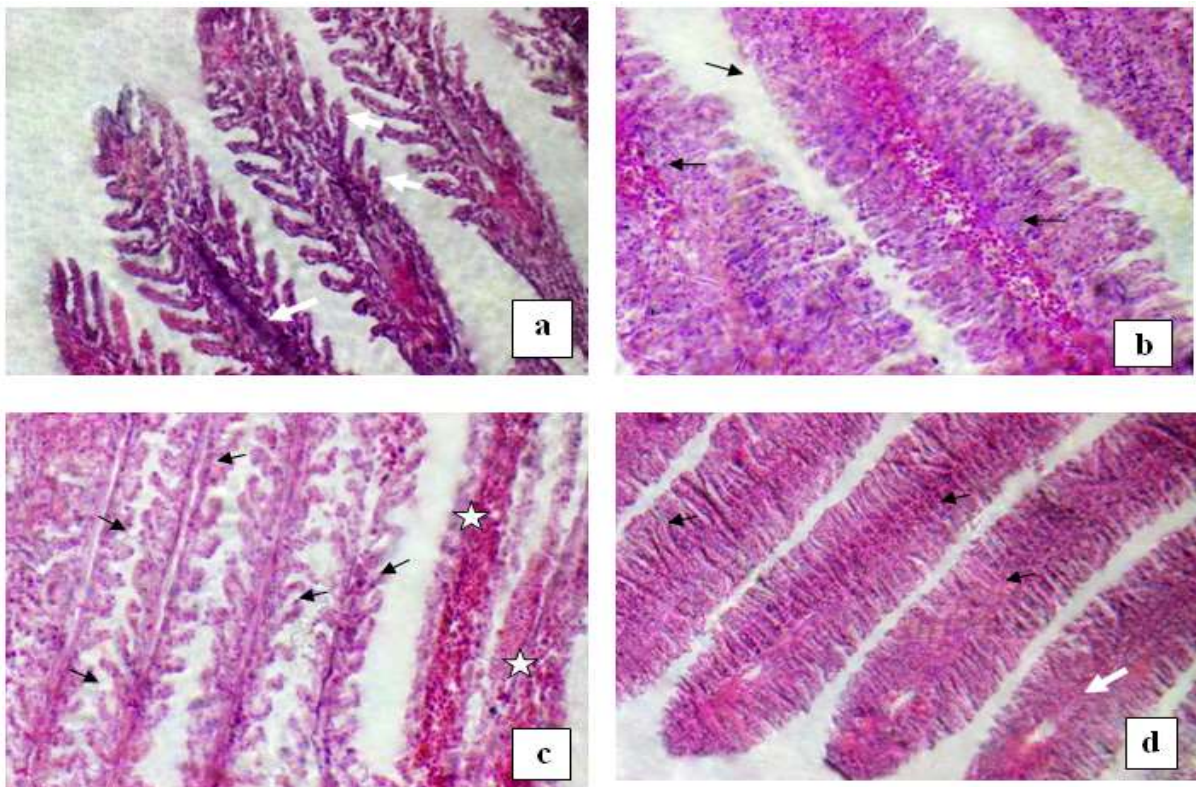
به منظور انجام آزمایش ۹۰ عدد بچه‌ماهی سفید (میانگین طولی ۱۰-۸ سانتی‌متر و میانگین وزنی $18/70 \pm 0/6$ گرم) از سالن انکوباسیون مرکز تکثیر و پرورش شهید انصاری رشت گرفته شده و پس از انتقال به مدت یک هفته در شرایط آزمایشگاهی قرار گرفتند. پس از سازش‌پذیری به شرایط، بچه‌ماهی‌ها به صورت تصادفی به ۹ آکواریوم (با ظرفیت ۱۵ لیتر، در هر کدام ۱۰ عدد) انتقال داده شدند. آب مورد آزمایش از سطح تا عمق متوسط آب (بین ۰ تا ۱۰ متر) جمع‌آوری شد. دمای متوسط آن در حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد، $pH=7/2$ ، شوری در حدود ۴۹ قسمت در هزار و هدایت الکتریکی آب به طور میانگین در حدود ۱۲۵۵ میکروزیمنس بر سانتی‌متر بود. آب آکواریوم‌ها هر ۳ روز یکبار کاملاً تعویض می‌شدند. ماهی‌ها به ۳ دسته تقسیم شدند و به مدت ۸ روز در معرض آب مورد نظر قرار داده شدند. اولین گروه به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند، گروه دوم در معرض آب منطقه آبکنار (غرب تالاب) و گروه سوم در آب منطقه سیاه‌کشم (جنوب تالاب) قرار داده شدند. بنابراین در مجموع سه تیمار و در هر کدام سه تکرار (در مجموع نه تکرار) در نظر گرفته شد. غذایی با استفاده از چیره‌های تجاری ماهی سفید و روزانه به

نتایج

آسیب‌شناسی بافت آبشش: بیش‌ترین آسیب‌ها در مرحله I مشاهده شد، که شامل به‌هم‌ریختگی شکل ظاهری تیغه‌های آبششی و گریزی‌شکل شدن است (شکل ۳c). هم‌چنین چندین مورد هایپرپلازی و چسبندگی رشته‌های آبششی دیده شد (شکل ۳b). نمونه‌هایی از آسیب‌های شدیدتر بافتی مشاهده شد (مرحله II) که شامل خون‌ریزی در تیغه‌های آبششی همراه با پارگی و از بین رفتن سلول‌های اپیتلیوم آبششی بود (شکل ۳d). آسیب‌های شدید بافتی مرحله III در نمونه‌های مطالعه شده یافت نشد. میزان DTC برای نمونه‌های آبشش ماهیان از ۱ تا ۲۰ متغیر بوده و دارای میانگین ۵/۱۶ بود، که نشان‌دهنده عملکرد طبیعی اندام تنفسی است (جدول ۲).

است و عملکرد طبیعی بافت را تحت تأثیر قرار می‌دهد و مرحله III: که بسیار شدید است و تغییرات غیرقابل بازگشتی را موجب می‌شود. میزان DTC برای هر جاندار به فرمول زیر محاسبه می‌شود: $DTC = (1 \times X \text{ SI}) + (10 \times X \text{ SII}) + (100 \times X \text{ SIII})$ که در آن اعداد I، II و III تعداد آسیب‌های بافتی را در مراحل I، II و III به ترتیب نشان می‌دهند. مقدار عددی DTC بین ۰ تا ۱۰ نشان‌دهنده عملکرد طبیعی بافت است، اعداد بین ۱۱ تا ۲۰ آسیب جزئی به بافت و ارزش‌های بین ۲۱ تا ۵۰ نشان‌دهنده آسیب‌های پیشرفته بافتی و مقادیر بالاتر از ۱۰۰ آسیب‌های غیرقابل بازگشت به بافت را نشان می‌دهند (Poleksic و Mitrovic، ۱۹۹۴؛ Tutundzic، ۱۹۹۴).

آنالیز آماری: برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. برای هر پارامتر، تفاوت‌های بین مکان‌های متفاوت و هم‌چنین برای روزهای مختلف آزمایش با استفاده از آزمون Kruskal-Wallis بررسی شد. در هر دو آزمون سطوح پائین‌تر از $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شدند.



شکل ۳: تغییرات هیستوپاتولوژیک آبشش ماهی سفید در معرض قرار گرفته با آب تالاب انزلی. شکل a ساختار طبیعی بافت آبشش ماهی را نشان می‌دهد که تیغه‌ها و رشته‌های آبششی کاملاً مشخص هستند. (شکل b). هایپرپلازی و چسبندگی رشته‌های آبششی (پیکان سیاه) (شکل c) رشته‌های آبششی گریزی شکل شده (پیکان سیاه) به همراه اتساع مویرگ خونی و خونریزی در ناحیه پایه تیغه آبششی (پیکان سفید). شکل d) اتساع دهانه مویرگ و خونریزی در تیغه آبششی (پیکان سفید) پس از ۸ روز در معرض گذاری ۴۰۰×.



جدول ۱: تغییرات آسیب‌شناسی در بافت آبشش و کبد بچه ماهی سفید در معرض قرار داده شده با آب تالاب‌انزلی در مقایسه با نمونه‌های شاهد و میزان آسیب‌بافتی مشاهده شده.

مرحله	آبشش	کبد
I	چسبندگی تیغه‌های آبششی، هایپرپلازی سلول‌های اپیتلیوم آبشش، خون‌ریزی، اتساع کانال حاشیه‌ای، به هم‌ریختگی، رشته‌های آبششی	هایپرتروفی هسته، تغییر شکل هسته‌ها، قرار گرفتن هسته در موقعیت جانبی، ازدیاد سلول‌ها، تشکیل واکوئل در سیتوپلاسم، مرگ سلولی، سلول‌های نامتعادل، وجود دانه‌های ائوزینوفیل در سیتوپلاسم، تجمع رنگدانه
II	گشادشدگی مویرگ، از بین رفتن سلول‌های اپیتلیال و خون‌ریزی	تشکیل واکوئل در هسته، تغییر شکل هسته، قرار گرفتن هسته در موقعیت جانبی، تخریب سلولی، خون‌ریزی، تخریب هسته، هسته‌های پیکنوتیک، تجمع صفرا
III	موردی یافت نشد	نکروز کانونی

مرحله I: عملکرد طبیعی بافت را تغییر نمی‌دهد، مرحله II: شدیدتر است و عملکرد طبیعی بافت را تحت تأثیر قرار می‌دهد و مرحله III: بسیار شدید است و تغییرات غیرقابل بازگشتی را موجب می‌شود (Mitrovic-Tutundzic و Poleksic، ۱۹۹۴).

صورت اصلاح کیفیت آب، امکان احیاء وجود داشت. تنها یک مورد از آسیب در مرحله III یافت شد (نکروز کانونی، شکل ۴e) که مربوط به نمونه‌های منطقه سیاه‌کشیم بود. در این مورد آسیب‌ها بسیار شدید بوده و تغییرات غیرقابل بازگشتی را ایجاد کرده است. میانگین DTC برای نمونه‌های کبد در حدود ۱۰/۱ (بین ۱ تا ۱۰۳)، که نشان‌دهنده این است که در اکثر موارد آسیب‌های کبدی تا حدودی منجر به تخریب بافت کبد شده‌اند (جدول ۲). میزان DTC به‌طور قابل توجهی در نمونه‌های کبد پس از ۸ روز در معرض‌گذاری بیش‌تر بود که منجر به بروز نکروز کانونی در نمونه کبد ماهی‌ها شده بود (DTC=۱۰۳).

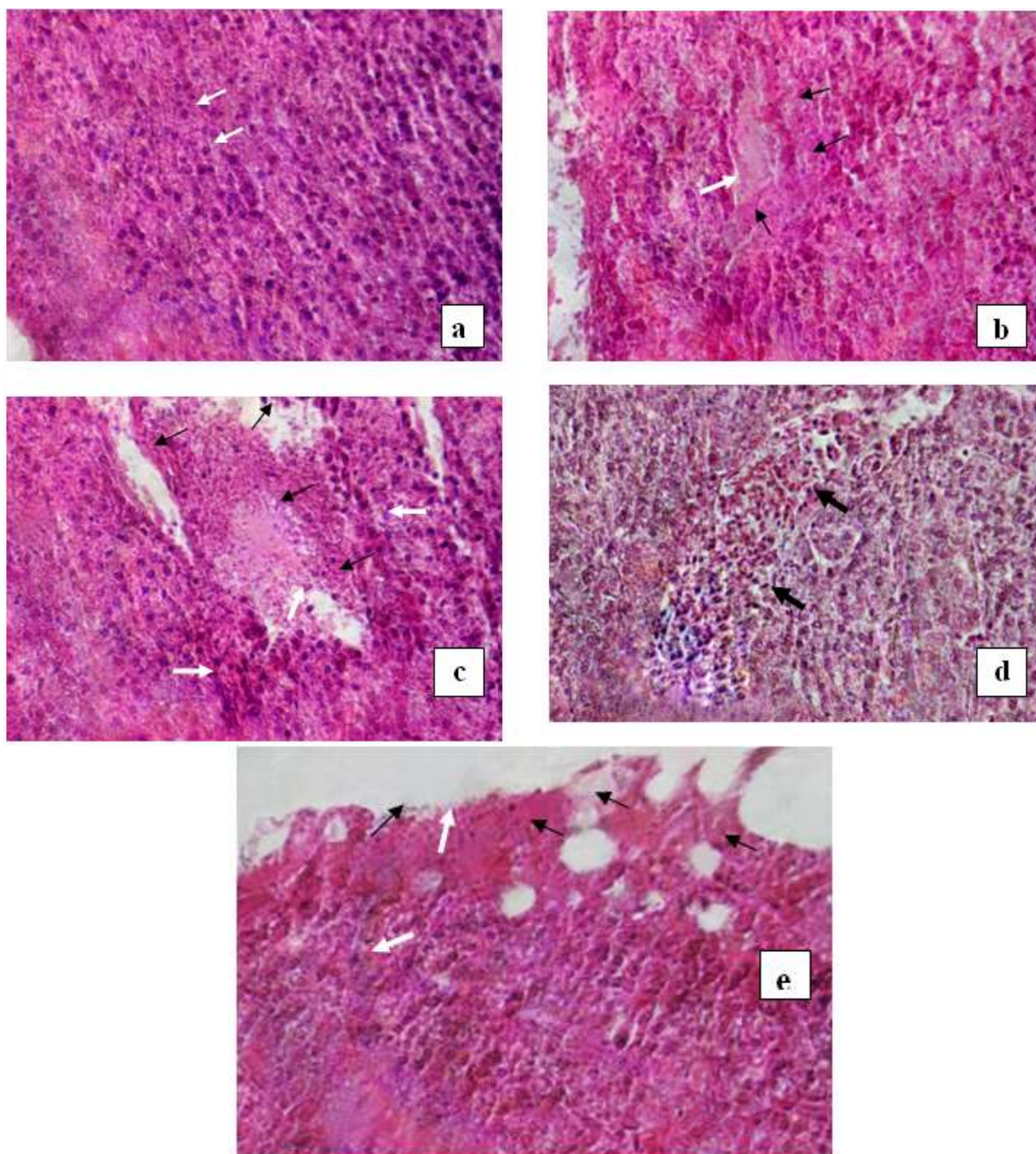
آسیب‌شناسی بافت کبد: مهم‌ترین آسیب‌های یافت شده در کبد (جدول ۲) عبارتند از: ایجاد اشکال نامتعارف در هسته‌ها و دژنره‌شدن سیتوپلاسم (شکل ۴b). هم‌چنین در سیتوپلاسم مواردی از واکوئله‌شدن هسته و هم‌چنین تجمع صفرا مشاهده شد (شکل ۴c). مورد معمول مشاهده شده دیگر تجمع سلول‌های خونی است (شکل ۴d). در موارد شدیدتر، پس از ۸ روز در معرض‌گذاری موادی از نکروز کانونی و نکروز گسترده سیتوپلاسم و هسته‌ها (دژنراسیون سلول‌ها) مشاهده شد (شکل ۴e). عمده آسیب‌های مشاهده شده در بچه‌ماهی‌های مورد آزمایش مربوط به مرحله I و II بود، که بافت در حد جزئی آسیب دیده بود و در

جدول ۲: درجه آسیب بافتی (DTC = Degree of Tissue Change) در نمونه‌های آبشش و کبد بچه‌ماهی سفید در آب تالاب انزلی در منطقه

آبکنار و سیاه‌کشیم (A,S) در مقایسه با نمونه‌های شاهد (C) پس از ۸ روز در معرض‌گذاری

تعداد روز در معرض‌گذاری	مکان در معرض‌گذاری	بافت آبشش	بافت کبد
۱		۰	۱
۴	شاهد	۳	۱۳
۸		۵	۱۱
۱		۰	۳
۴	آبکنار	۴	۳۲
۸		۲۶	۴۰
۱		۲	۵
۴	سیاه‌کشیم	۴	۵
۸		۶	۱۱۷



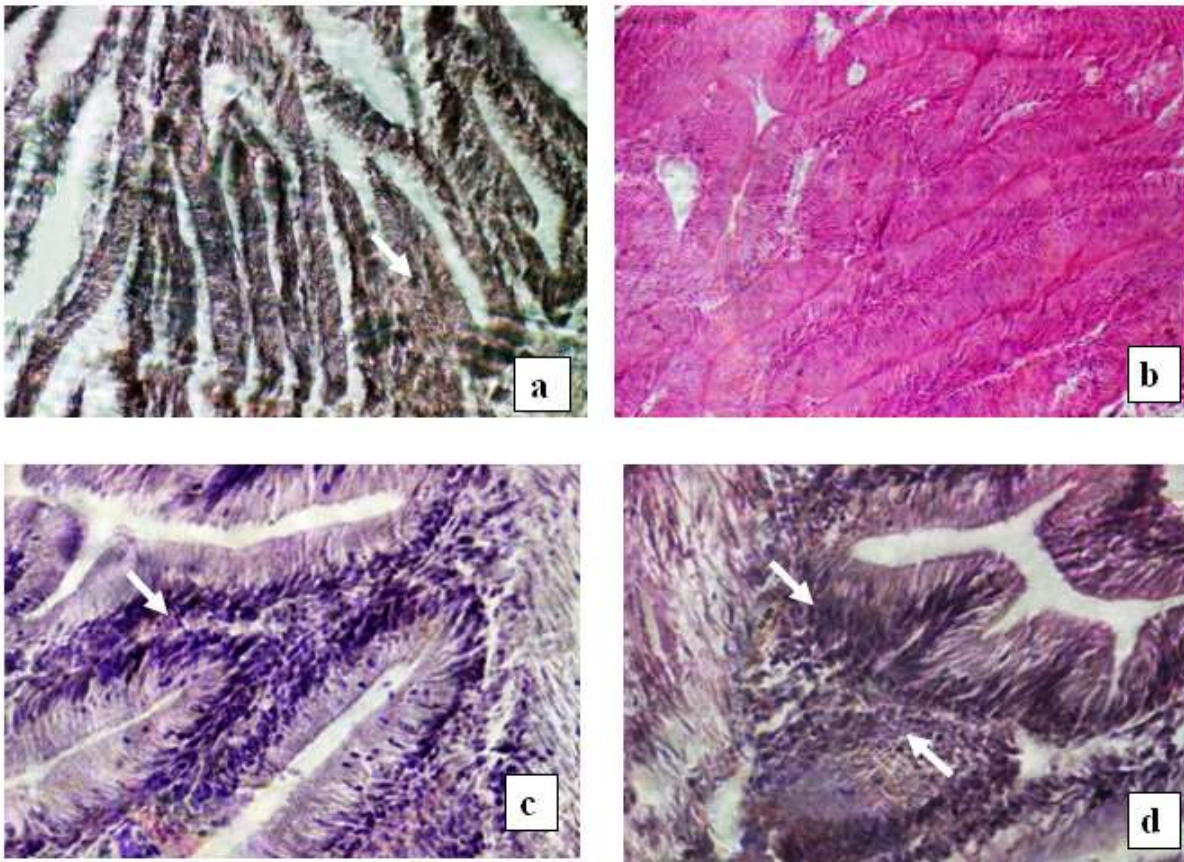


شکل ۴: تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد ماهی سفید در معرض قرار گرفته با آب تالاب انزلی. شکل a ساختار طبیعی بافت کبد ماهی را نشان می‌دهد که هپاتوسیت‌ها با هسته‌های گرد کاملاً مشخص هستند (سر پیکان سفید). (b) دژنره شدن هسته‌ها (پیکان سیاه) و سیتوپلاسم (پیکان سفید). (c) تجمع صفرا (پیکان‌های سفید) و واکوئل‌های بزرگ همراه با نکروز سلولی (پیکان سیاه)، (d) تجمع سلول‌های خونی در مویرگ‌های کوچک (e) تشکیل واکوئل در سیتوپلاسم (پیکان سیاه)، سلول‌های کبدی نشان دهنده نکروز کانونی (پیکان سفید) و سیروز، $\times 400$

(۵c) هم‌چنین هایپرپلازی سلوهای اپیتلیال و تخریب پرزها نیز تشخیص داده شد (شکل ۵d). نمونه‌های روده و آسیب‌های تعیین شده آن‌ها برای تعیین DTC کافی نبودند.

آسیب‌شناسی بافت روده: اولین روز در معرض گذاری آسیب جدی به بافت کبد وارد نکرد درحالی‌که در روز چهارم چسبندگی پرزهای کبدی دیده شده (شکل ۵b)، و روز هشتم در معرض گذاری دژنره شدن پرزها مشاهده شد (شکل





شکل ۵: تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت روده ماهی سفید در آب تالاب انزلی. (a) بافت روده پس از یک روز در معرض گذاری. (b) چسبندگی پرزها پس از ۴ روز، $(\chi^2=8/73, df=2, p<0/05)$ دژنره شدن پرزها (پیکان سفید)، (c) هایپرپلازی سلول‌های اپیتلیال و تخریب سلولی پس از ۸ روز در معرض گذاری (پیکان‌های سفید)، (d) $(\chi^2=6/51, df=2, p<0/05)$ پیکان‌های سفید، $\times 200$

اول آزمایش اثر مشخصی بر سلول‌های اپیتلیال رشته‌های آبششی نداشت، در حالی که پس از ۴ روز در معرض گذاری علائمی از جمله تغییر شکل در تیغه‌های ثانویه و رشته‌های آبششی، چسبندگی تیغه‌های آبششی و رشته‌های گریزی شکل ظاهر گردید. پس از ۸ روز در معرض گذاری تغییرات شدیدی هم‌چون گشاد شدن دهانه مویرگ و خون‌ریزی در رشته‌های آبششی اولیه مشاهده گردید. در سایر نمونه‌های در معرض گذاشته شده نیز موارد مشابهی مشاهده شد. Jalaludeen و همکاران (۲۰۱۲) با در معرض قرار دادن تیلاپیا با دوزهای غیرکشنده کادمیوم سولفات و بررسی آثار پاتولوژیک دریافتند که کادمیوم سولفات منجر به افزایش ترشح موکوس، افزایش اندازه سلول‌ها، واکوتله شدن بافت، تغییر شکل رشته‌های ثانویه و خون‌ریزی در بافت آبشش می‌شود. از آن‌جاکه کادمیوم از جمله فلزات سنگین یافت شده در آب تالاب انزلی می‌باشد حضور این یون می‌تواند به بروز علائم آسیب‌شناسی مذکور در بچه ماهی سفید کمک کند. هم‌چنین Gokhale و Coutinho

در نمونه‌های آبشش، درجه آسیب بافتی به صورت معنی‌داری در روزهای آخر در معرض گذاری بیش‌تر از روزهای اول بود $(\chi^2=8/73, df=2, p<0/05)$ اگرچه میزان DTC در مکان‌های مختلف دارای اختلاف معنی‌دار نبود ولی در مناطق آلوده (خصوصاً آبکنار) بسیار بالاتر بود $(\chi^2=4/22, df=2, p>0/05)$ در مورد نمونه‌های کبد، همانند نمونه‌های آبشش میزان DTC در زمان‌های متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار بود $(\chi^2=6/51, df=2, p<0/05)$ اما در مکان‌های متفاوت اختلاف معنی‌دار نبود گرچه میزان آن در منطقه سیاه‌کشیم بالاتر بود.

بحث

اثرات هیستوپاتولوژیک ناشی از در معرض گذاری بچه‌ماهی سفید در آب انزلی مورد بررسی قرار گرفت، در نمونه‌های بافت آبشش در گروه شاهد نمونه نامتعادلی یافت نشد. هم‌چنین روز

در بافت کبد دو گونه ماهی در حوزه رودخانه‌ای در برزیل بررسی کردند و مشاهده کردند که تغییرات اساسی در بافت کبد از جمله تورم، خون‌ریزی، تجمع رنگدانه‌ها و نکروز کانونی مشاهده شد. این مطالعه به منظور تعیین آلوده‌ترین منطقه انجام شد. هم‌چنین Camargo و Martinez (۲۰۰۶) ضایعاتی مانند واکوئله شدن هیپاتوسیت، افزایش تجمع ملانوماکروفازی و هایپرتروفی هسته را در ماهی *Prochilodus lineatus* که به مدت ۷ روز در معرض پساب‌های آلوده شهری و صنعتی قرار گرفته بود، گزارش نمودند. واکوئلی شدن هیپاتوسیت‌ها می‌تواند به‌عنوان نشانه‌ای از فرآیند دژنره شدن باشد که آسیب‌های متابولیسمی احتمالاً در ارتباط با مواجهه با آلاینده‌ها را پیشنهاد می‌کند (Santos و Pacheco, ۲۰۰۲). تغییرات آسیب‌شناسی در کبد هم‌چنین منجر به بروز مشکلات متابولیسمی از جمله تجمع صفرها، همانند مورد مشاهده شده در مطالعه مذکور می‌گردد. این آسیب که به‌وسیله باقیمانده‌های صفرها به شکل دانه‌های قهوه‌ای و زرد در سیتوپلاسم هیپاتوسیت‌ها مشخص می‌شود زمانی ظاهر می‌شود که صفرها نتوانند از کبد آزاد شود. تجمع صفرها آسیب احتمالی به متابولیسم کبد را نشان می‌دهد (Fanta و همکاران، ۲۰۰۳). کبد اندامی است که به‌واسطه عملکرد، جایگاه و ذخیره خونی خود به‌میزان زیادی به فرآیند سم‌زدایی و انتقال زیستی وابسته است (Van der Oost و همکاران، ۲۰۰۳) و به‌طور گسترده‌ای تحت تأثیر آلاینده‌های موجود در آب قرار می‌گیرد (Rodrigues و Fanta، ۱۹۹۸).

طبق آمار و داده‌های وزارت صنعت و معدن در ایران، تالاب انزلی شامل ۵۱ معدن فعال و ۱۴ معدن متروکه مانند معدن فلزات (آهن، سرب و روی) و فعالیت‌های استخراج ذغال سنگ است، هم‌چنین ۴۱ کارخانجات اصلی شامل کارخانجات چوب و کاغذ، صنایع غذایی، فلزات و صنایع وابسته، لاستیک و پلاستیک، نساجی و ماشین‌های الکتریکی است که در منطقه مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (JICA، ۲۰۰۵). بنابراین دور از انتظار نیست که مقادیر رو به افزایشی از فلزات سنگین در بدنه آبی این منطقه و متعاقباً بقایا و رسوبات آن یافت شود. AshjaArdalan و همکاران (۲۰۰۹) حضور فلزات سنگینی از جمله نقره، سرب، روی و مس را در کبد و ماهیچه ماهی سوف‌حاجی‌طرخان، *Perca fluviatilis*، در دو منطقه آبکنار (غربی) و شیجان (شرقی) اعلام کردند. در میان مکان‌های مورد مطالعه، سیاه‌کشیم به‌عنوان منطقه آلوده‌تر در نظر گرفته شد چرا که مقادیر بالاتری از DTC برای نمونه‌های کبد در آن گزارش شد. این مسئله احتمالاً به این خاطر است که سیاه‌کشیم در پائین‌دست در قسمت جنوبی تالاب قرار گرفته که باعث تجمع آلاینده‌ها در این منطقه می‌شود.

(۲۰۰۰) با در معرض‌گذاری ماهی‌کپور (*Cyprinus carpio*) و تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) مواردی از تغییر مکان سلول‌های اپیتلیال آبشش مشاهده کردند. Engelhardt و همکاران (۱۹۸۱) در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) قرار گرفته در معرض بقایای محصولات نفتی، تغییر مکان سلول‌های اپیتلیال و چسبیدگی تیغه‌های آبششی را گزارش کردند، که مشابه با موارد یافت شده در تالاب‌انزلی بود. گرچه نمی‌توان آسیب‌های مشاهده شده را به آلاینده خاصی ارتباط داد، مجموع عوامل ذکر شده می‌توانند در بروز آسیب‌های بافتی اثرگذار باشند. عمده آسیب‌های آبشش به‌دلیل در معرض‌گذاری‌ها با دوزهای پائین‌تر از حد‌کننده است که بر سلول‌های اپیتلیوم رشته‌های آبششی اثر می‌گذارد (Laurén و Hinton، ۱۹۹۰)، هم‌چنین زمانی که ماهی نوع شدیدی از استرس را تجربه کند، جراحاتی در رگ‌های خونی نیز وارد می‌شود. بنابراین، تخریب سلول‌های پایه‌ای می‌تواند منجر به افزایش جریان خون در رشته‌های آبششی، اتساع کانال حاشیه‌ای، خونریزی و گشادشدگی رگ شود (Rosety-Rodriguez و همکاران، ۲۰۰۲). آبشش در بسیاری از اعمال حیاتی مانند تنفس، تنظیم اسمزی و دفع نقش دارد و به دلیل تعامل‌هایی که با محیط اطراف داشته نسبت به تغییرات کیفیت آب حساسیت بالایی داشته و به‌عنوان هدف ابتدایی آلاینده‌ها در نظر گرفته می‌شود. تغییراتی همانند تغییر مکان سلول‌های اپیتلیال، هایپرپلازی و هایپرتروفی سلول‌های اپیتلیال و هم‌چنین چسبندگی جزئی در رشته‌های ثانویه مثال‌هایی از مکانیسم دفاعی آبشش است چرا که منجر به افزایش فاصله بین محیط خارجی و جریان خون است که به‌عنوان یک سد دفاعی برای ورود آلاینده‌ها عمل می‌کند (Mazon و Fernandes، ۲۰۰۳). البته آسیب در سطح بافت و سلول در آبشش، شاخص حساس و نه دقیقی از کیفیت عمومی آب را در یک محیط آلوده فراهم می‌کند و این آسیب‌ها حتی در دوزهای حاد و بحرانی بازگشت‌پذیر هستند نمی‌توانند به‌عنوان شاخصی از در معرض‌گذاری طولانی مدت استفاده شوند (Oliveira Ribeiro و همکاران، ۲۰۰۲).

در ارتباط با بافت کبد، متداول‌ترین علامت آسیب آتروفی سلولی، کاهش اندازه هسته و پیوستگی سیتوپلاسم است. اثرات حاد در معرض‌گذاری پس از ۴ روز باعث بروز واکوئله شدن، تجمع سلول‌های خونی و تجمع صفرها در بافت کبد شد. در نهایت پس از ۸ روز در معرض‌گذاری علائمی از جمله نکروز کانونی و دژنراسیون گسترده سیتوپلاسم بروز یافت. هم‌چنین تغییرات درجه تغییر بافتی (DTC) در این بافت پس از روز هشتم معنی‌دار بود. Pontes و Viana و همکاران (۲۰۱۳) تغییرات آسیب‌شناسی را



- Anzali Wetland in spring. Journal of Marine Science and Technology Research. Vol. ۴, No. ۲, pp: ۴۷-۶۰.
۴. **Ashraf, W., ۲۰۰۵.** Accumulation of heavy metals in kidney and heart tissues of *Epinephelus microdon* fish from the Arabian Gulf. Environmental Monitoring Assessment. pp: ۱۰۱-۳۱۱.
 ۵. **Bancroft, J.D. and Gamble, M., ۲۰۰۲.** Theory and Practice of Histological Techniques (۵th Ed.). Elsevier science. Oxford Philadelphia, USA.
 ۶. **Camargo, M.M.P. and Martinez, C.B.R., ۲۰۰۷.** Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. Neotropical Ichthyology. Vol. ۵, No. ۳, pp: ۳۲۷-۳۳۶.
 ۷. **Camargo, M.M.P. and Martinez, C.B.R., ۲۰۰۶.** Biochemical and physiological biomarkers in *Prochilodus lineatus* submitted to in situ tests in an urban stream in southern Brazil. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. ۲۱, pp: ۶۱-۶۹.
 ۸. **Chang, S.; Zdanowicz, V.S. and Murchelano, R.A., ۱۹۹۸.** Associations between liver lesions in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) and sediment chemical contaminants from north-east United States estuaries. Journal of Marine Sciences. Vol. ۵۵, pp: ۹۵۴-۹۶۹.
 ۹. **Coutinho, C. and Gokhale, K.S., ۲۰۰۰.** Selected oxidative enzymes and histopathological changes in the gills of *Cyprinus carpio* and *Oreochromis mossambicus* cultured in secondary sewage effluent. Water Research. Vol. ۳۴, pp: ۲۹۹۷-۳۰۰۴.
 ۱۰. **Eghtesadi Araghi, P. and Salimi, L., ۲۰۰۹.** Investigation on Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Anzali Wetland (Siah-Kashim) by HPLC: role of octanol-water partition coefficient. Journal of Marine Science and Technology Research. Vol. ۴, No. ۲, pp: ۱-۱۱.
 ۱۱. **Engelhardt, F.R.; Wong, M.P. and Duey, M.E., ۱۹۸۱.** Hydromineral balance and gill morphology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), acclimated to fresh and sea water as affected by petroleum exposure. Aquatic Toxicology. Vol. ۱, pp: ۱۷۵-۱۸۶.
 ۱۲. **FAO, ۲۰۰۳.** Fishstat Plus (v. ۲.۳۰) Fishery Statistics.
 ۱۳. **Fanta, E.; Rios, F.S.; Romao, S.; Vianna, A.C.C. and Freiberger, S., ۲۰۰۳.** Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol. ۵۴, pp: ۱۱۹-۱۳۰.
 ۱۴. **Fazli, H.; Daryanabard, G.; Salmanmahiny, A.; Abdolmaleki, S.; Bandani, G. and AfraeiBandpei, M., ۲۰۱۲.** Fingerling release program, biomass trend and evolution of the condition factor of Caspian Kutum during the ۱۹۹۱-۲۰۱۱ period. Cybium. Vol. ۳۶, pp: ۵۴۵-۵۵۰.

تغییرات آسیب شناختی مشاهده شده در بافت‌های آبشش، روده و کبد بچه‌ماهی سفید در مطالعه حاضر بیان‌گر این نکته است که ماهی به اثرات آلاینده‌های متفاوت واکنش داده و بنابراین حضور این مواد را در آب تالاب‌انزلی تأیید می‌کند و بر تهدیدکردن زندگی آبزیان ساکن از جمله ماهی سفید در منطقه دلالت می‌کند. هم‌چنین مطالعه حاضر نشان‌گر این نکته است که آسیب‌شناسی بافتی می‌تواند به‌عنوان نشان‌گر زیستی کارآمدی برای بررسی اثرات آلاینده‌های محیطی بوده و کبد به‌عنوان اندامی در نظر گرفته می‌شود که بیش‌ترین تأثیر را از استرس‌های محیطی اطراف جاندار می‌پذیرد. ضمناً آسیب‌شناسی بافتی می‌تواند اثرات سریع و واکنش‌های ایجاد شده را در مواجهه با آلاینده‌های شیمیایی بررسی مورد قرار دهد. بررسی سایر اثرات ایجاد شده در آبزیان در معرض قرار گرفته با آب‌های آلوده تالاب‌انزلی از جمله اثرات استرس اکسیداتیو و تأثیر این آلاینده‌ها بر روی جوامع کفزی منطقه می‌تواند به شناخت بهتر خطرات در این تالاب با ارزش و تلاش در حفاظت از آن کمک کند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نهایت تشکر و سپاس از کارمندان و اساتید گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی صومعه‌سرا، دانشگاه گیلان خصوصاً جناب آقای دکتر ستاری اعلام می‌گردد که در راهنمایی پروژه حاضر و در تهیه آب نمونه از تالاب مساعدت فرمودند. هم‌چنین از مسئول محترم آزمایشگاه فیزیولوژی آبزیان جناب آقای اسداله و جناب آقای دکتر درافشان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی به‌دلیل زحمات بی‌شائبه‌شان تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. **Abdolahy, H.; Daud, S.; Rezvani Ghilkolahi, S.; Pourkazemi, M.; Siraj, S. and Abdul Satar, M., ۲۰۱۱.** Fingerling production and stock enhancement of Mahisefid (*Rutilus frisii kutum*) lessons for others in the south of Caspian Sea. Reviews in Fish Biology and Fisheries. Vol. ۲۱, pp: ۲۴۷-۲۵۷.
۲. **Abdoli, A., ۱۹۹۹.** The Inland Water Fishes of Iran. Natural and Wild Life Museum of Iran, Tehran, Iran. ۳۷۷ P.
۳. **AshjaArdalan, A.; Sohrabi, M.R.; Mirheydari, S.M. and Abdollah Beigi, H., ۲۰۰۹.** Determination of Hg, Pb, Zn, Cu in muscle and liver of tissue of European perch (*Perca fluviatilis*) in areas of Abkenar and Sheyjan of

۲۶. **Mortazavi, S.; Riyahi Bakhtiari, A.; Esmaili Sari, A.; Bahramifar, N. and Rahbarizade, F., ۲۰۱۲.** Phenolic endocrine disrupting chemicals (EDCs) in Anzali Wetland, Iran: Elevated concentrations of ۴-nonylphenol, octylphenol and bisphenol A. *Marine Pollution Bulletin*. Vol. ۶۴, No. ۵, pp: ۱۰۶۷-۱۰۷۳.
۲۷. **Oliveira Ribeiro, C.A.; Belger, L.; Pelletier, E. and Rouleau, C., ۲۰۰۲.** Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environmental Research*. Vol. ۹۰, pp: ۲۱۷-۲۲۵.
۲۸. **Pacheco, M. and Santos, M.A., ۲۰۰۲.** Biotransformation, genotoxic and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. ۵۳, pp: ۳۳۱-۳۴۷.
۲۹. **Paykan Heyrati, F.; Mostafavi, H.; Toloee, H. and Dorafshan, S., ۲۰۰۷.** Induced spawning of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, ۱۹۰۱) using (D-Ala^۶, Pro^۹-NEt) GnRHa combined with domperidone. *Aquaculture*. Vol. ۲۶۵, pp: ۲۸۸-۲۹۳.
۳۰. **Poleksic, V. and Mitrovic-Tutundzic, V., ۱۹۹۴.** Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. pp: ۳۳۹-۳۵۲. In: Müller, R. and R. Lloyd (Eds.). *Sublethal and Chronic effects of pollutants on freshwater fish*. Oxford, Fishing News Books.
۳۱. **Pontes Viana, A.; Lucena Frédou, F.; da Silva Montes, C. and Martins Rocha, R., ۲۰۱۳.** Fish histopathology and catalase activity as biomarkers of the environmental quality of the industrial district on the Amazon estuary, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. Vol. ۳۵, No. ۳, pp: ۳۹۵-۴۰۱.
۳۲. **Raskovic, B.; Poleksic, V.; Zivic, I. and Spasic, M., ۲۰۱۰.** Histology of carp (*Cyprinus carpio* L.) gills and pond water quality in semi intensive production. *Bulg. J. Agric. Sci.* Vol. ۱۶, pp: ۲۵۳-۲۶۲.
۳۳. **Rosety-Rodriguez, M.; Ordonez, F.J.; Rosety, M.; Rosety, J.M.; Ribelles, A. and Carrasco, C., ۲۰۰۲.** Morpho-histochemical changes in the gills of turbot, *Scophthalmus maximus* L., induced by sodium dodecyl sulfate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. ۵۱, pp: ۲۲۳-۲۲۸.
۳۴. **Rodrigues, E.L. and Fanta, E., ۱۹۹۸.** Liver histopathology of the fish *Brachydaniorerio* after acute exposure to sublethal levels of the organophosphate Dimetoato ۵۰۰. *Revista Brasileira de Zoologia*. Vol. ۱۵, pp: ۴۴۱-۴۵۰.
۳۵. **Tavakkoli, B. and Sabet Raftar, K., ۲۰۰۳.** Determination of relationships between pollution indices with
۱۵. **Fernandes, M.N. and Mazon, A.F., ۲۰۰۳.** Environmental pollution and fish gill morphology. In: Val, A. L. and B. G. Kapoor (Eds.). *Fish adaptations*. Enfield, Science Publishers. pp: ۲۰۳-۲۳۱.
۱۶. **Gernhofer, M.; Pawet, M.; Schramm, M.; Müller, E. and Triebkorn, R., ۲۰۰۱.** Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *Journal of Aquatic Ecosystem, Stress and Recovery*. Vol. ۸, pp: ۲۴۱-۲۶۰.
۱۷. **Hinton, D.E. and Laurén, D.J., ۱۹۹۰.** Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potential biomarkers of exposure. pp: ۵۱-۶۵. In: McCarthy, J.F. and L.R. Shugart (Eds.). *Biomarkers of Environmental Contamination*. BocaRaton, Lewis Publishers.
۱۸. **Jamshidi-Zanjani, A. and Saeedi, M., ۲۰۱۳.** Metal pollution assessment and multivariate analysis in sediment of Anzali international wetland. *Environmental Earth Science*. Vol. ۷۰, No. ۴, pp: ۱۷۹۱-۱۸۰۸.
۱۹. **Jain, C.K., ۲۰۰۴.** Metal fractionation study on bed sediments of River Yamuna, India. *Water Res.* Vol. ۱۰, pp: ۱-۴۲.
۲۰. **Jalaludeen, M.D.; Arunachalam, M.; Raja, M.; Nandagopal, S.; Ahmad Bhat, S.; Sundar, S. and Palanimuthu, D., ۲۰۱۲.** Histopathology of the Gill, Liver and Kidney tissues of the freshwater fish *Tilapia Mossambica* exposed to Cadmium Sulphate. *I.J.A.B.R.* Vol. ۲, No. ۴, pp: ۵۷۲-۵۷۸.
۲۱. **Japan International Cooperation Agency (JICA), ۲۰۰۵.** The study on integrated management for ecosystem conservation of the Anzali wetland in the Islamic Republic of Iran. Final report submitted to department of environment.
۲۲. **Khosheghbal, M.; Charkhabi, A.; Sharifi, F. and Ghazban, F., ۲۰۱۳.** An Investigation of the sediment pollution in the Anzali Wetland. *Polish Journal of Environmental Studies*. Vol. ۲۲, No. ۱, pp: ۲۸۳-۲۸۸.
۲۳. **Malmstrom, C., ۲۰۰۹.** Screening of hydrophobic DNA adducts in flounder (*Platichthys flesus*) from the Baltic Sea. *Chemosphere*.
۲۴. **Men, B.; He, M.; Tan, L.; Lin, C. and Quan, X., ۲۰۰۹.** Distributions of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Daliao River Estuary of Liaodong Bay, Bohai Sea (China). *Mar Pollut Bull.* Vol. ۵۸, No. ۶, pp: ۸۱۸-۸۲۶.
۲۵. **Monteiro, S.M.; Mancera, J.M.; Fontainhas Fernandes, A. and Sousa, M., ۲۰۰۵.** Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology C*. Vol. ۱۴۱, pp: ۳۷۵-۳۸۳.



- socioeconomic and ecological factors in watershed area of Anzali wetland. *Journal of Environmental Studies*. Vol. ۲۸, pp: ۵۱-۵۷.
۳۶. **Teh, S.J.; Adams, S.M. and Hinton, D.E., ۱۹۹۷.** Histopathological biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquatic Toxicology*. Vol. ۳۷, pp: ۵۱-۷۰.
۳۷. **Thophon, S.; Kruatrachue, M.; Upathan, E.S.; Pokethitiyook, P.; Sahaphong, S. and Jarikhuan, S., ۲۰۰۳.** Histopathological alterations of white seabass, *Latescalcarifer* in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental Pollution*. Vol. ۱۲۱, pp: ۳۰۷-۳۲۰.
۳۸. **Vander Oost, R.; Beyer, J. and Vermeulen, N.P.E., ۲۰۰۲.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. Vol. ۱۳, No. ۲, pp: ۵۷-۱۴۹.
۳۹. **Vinodhini, R. and Narayanan, M., ۲۰۰۹.** Heavy Metal Induced Histopathological Alterations in Selected Organs of the *Cyprinus carpio* L. (Common Carp). *International Journal of Environmental Resources*. Vol. ۳, No. ۱, pp: ۹۵-۱۰۰.
۴۰. **Yazdanparast, F.; Nouri, A. and Rabbani, M., ۲۰۰۴.** Identification and determination of PAHs compounds in Anzali International Wetland. *International Journal of Environmental Science & Technology*. Vol. ۱, No. ۳, pp: ۲۱۵-۲۱۹.

