

ارزیابی هیستومتریک و هیستوفیزیولوژیک گناده ماده در دو گونه‌ی ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) و کفشک راستگرد (*Euryglossa orientalis*) در خور موسی

خدیجه خلیفی^۱، نگین سلامات^{۲*}، عبدالعلی موحدی‌نیا^۳ و امیرپرویز سلاطی^۴

تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۸

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۳

چکیده

مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی ساختار بافتی گناده و هورمون‌های جنسی ماهیان شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) و کفشک راستگرد (*Euryglossa orientalis*) جمع‌آوری شده از خور موسی انجام شد. بدین منظور حدود ۱۲۰ قطعه ماهی (۱۰ قطعه/گونه/ایستگاه) از ایستگاه‌های پتروشیمی، جعفری، مجیدیه، غزاله و زنگی واقع در خور موسی و ایستگاه گناوه (ایستگاه شاهد) جمع‌آوری شد. جهت سنجش هورمونی، خون‌گیری از ساقه‌ی دمی ماهیان و جداسازی پلاسما‌ی خون انجام شد. سپس ماهیان تشریح شده و نمونه‌هایی از بافت تخمدان آن‌ها برداشته و در محلول فرمالین تثبیت و پس از طی مراحل پاساژ بافتی، مقاطع توسط رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. فاکتورهای هیستومتری از قبیل قطر فولیکول، قطر اووسیت، میزان بافت همبندی و تنوع فولیکولی نیز محاسبه شد. میزان هورمون‌های ۱۷-بتاسترادیول و تستوسترون با استفاده از روش رادیوایمنواسی (RIA) و هورمون‌های گنادوتروپینی GTHI و GTHII با استفاده از روش IRMA سنجیده شد. در تخمدان هر دو گونه ماهی در ایستگاه‌های مختلف عمده‌ی فولیکول‌ها در مرحله‌ی پری ویتلوزن و شامل فولیکول‌های کروماتین نوکلئولوس، پری-نوکلئولوس و آلوئول قشری بود. در برخی ایستگاه‌ها به ویژه ایستگاه پتروشیمی بافت همبند بینابینی افزایش یافته و فولیکول‌های آترزی در میان سایر فولیکول‌ها مشاهده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان هورمون‌های گناده ۱۷-بتاسترادیول و تستوسترون نشان داد که غلظت این دو هورمون در ایستگاه پتروشیمی کمتر از ایستگاه شاهد و غلظت هورمون‌های GTHI و GTHII بالاتر از ایستگاه شاهد بود. در کل، احتمالاً به دلیل آلودگی زیاد ایستگاه پتروشیمی به پسماندهای صنایع پتروشیمی و کارخانه‌ی کلرآلکالی مجاور، تخمدان ماهیان صید شده از این ایستگاه دچار تغییرات ساختاری شده بود.

کلمات کلیدی: شانک زردباله، کفشک راستگرد، ۱۷-بتاسترادیول، تخمدان، تستوسترون

مقدمه

مطالعات میکروسکوپیکی بافتی و فیزیولوژیکی فراوانی در زمینه‌ی تأثیر آلاینده‌های مختلف بر سیستم اندوکرینی ماهیان توسط محققین متعددی انجام شده است (Anderson et al. 1996a,b, Karels et al. 2001). ترکیبات مخرب سیستم اندوکرینی (Endocrine disrupting compounds) (EDCs) به دلیل طیف وسیع، پایداری زیاد در محیط، تنوع اثرات از سطح مولکولی تا سطح سلولی و فیزیولوژیکی از اهمیت زیادی برخوردارند (Anderson et al. 1996a). طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی مصنوعی و طبیعی جز EDCها طبقه‌بندی

مطالعات میکروسکوپیکی بافتی و فیزیولوژیکی فراوانی در زمینه‌ی تأثیر آلاینده‌های مختلف بر سیستم اندوکرینی ماهیان توسط محققین متعددی انجام شده است (Anderson et al. 1996a,b, Karels et al. 2001). ترکیبات مخرب سیستم اندوکرینی (Endocrine disrupting compounds) (EDCs) به دلیل طیف وسیع، پایداری زیاد در محیط، تنوع اثرات از سطح مولکولی تا سطح سلولی و فیزیولوژیکی از اهمیت زیادی برخوردارند (Anderson et al. 1996a). طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی مصنوعی و طبیعی جز EDCها طبقه‌بندی

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

^{۲*} دانشیار، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

E-mail: salamatnegin@yahoo.com (نویسنده‌ی مسئول)

^۳ دانشیار، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

^۴ دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

در اعماق ۲۰۰-۱۰ متر زندگی می‌کنند. این ماهیان دو جنسی بوده (جنس نر و ماده جدا می‌باشد) و در مناطق دور از ساحل تخم‌ریزی نموده و اکثراً تخم‌های پلاژیک تولید می‌کنند (Randal and Hoover 1995). تحقیق حاضر با هدف بررسی تغییرات هیستوفیزیولوژیک محور هیپوفیز-گنادی شامل تغییرات ساختار بافتی تخمدان و نیز تغییرات هورمون‌های گنادی (۱۷-بتااسترادیول و تستوسترون) و هیپوفیزی (GTHI و GTHII) در ماهیان شانک زردباله و کفشک راستگرد جمع‌آوری شده از ایستگاه‌های نمونه‌برداری مختلف در خور موسی انجام گرفت.

مواد و روش کار

در تحقیق حاضر، نمونه‌برداری در پنج ایستگاه در خور موسی شامل خورهای مجیدیه، غزاله، پتروشیمی، جعفری و زنگی انجام شد. اساس انتخاب این ایستگاه‌ها، میزان آلودگی این مناطق بوده است که بر اساس مطالعات گذشته میزان شاخص‌های آلودگی در خور پتروشیمی بیش‌تر و در خور زنگی کم‌تر از سایر ایستگاه‌ها بود (Abdollah pour et al. 2012, 2013, Safahieh et al. 2013). موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری در تصویر ۱ آمده است. لازم به ذکر است که نمونه‌هایی از گونه‌های ماهیان به عنوان شاهد از بندر گناوه جهت مقایسه با ایستگاه‌های مورد مطالعه جمع‌آوری شد. بر اساس اطلاعات موجود میزان آلودگی این ایستگاه به دلیل دوری از منابع آلودگی، کم می‌باشد (Abdollah pour et al. 2012, 2013, Safahieh et al. 2013).

عملیات نمونه‌برداری در مهر ماه ۱۳۹۲ انجام گرفت، از هر ایستگاه ۱۰ عدد ماهی شانک زردباله‌ی ماده (حدوداً یک ساله و نزدیک به مرحله‌ی تخم‌ریزی با تخمدان در مرحله‌ی پری ویتلوژن) (میان زی) و ۱۰ عدد ماهی کفشک راستگرد ماده (حدوداً یک ساله و نزدیک به مرحله‌ی تخم‌ریزی با تخمدان در مرحله‌ی پری ویتلوژن) (کف زی) توسط تور ترال صید گردید. حتی‌المقدور

می‌شوند. اثرات این مواد شامل تغییرات جزئی تا تغییرات دائم از قبیل تمایز جنسی غیر طبیعی همراه با اندام‌های جنسی ماده یا نر شده، تغییر رفتارهای جنسی، تغییر سیستم ایمنی، ایجاد سرطان و تومور است (Anderson et al. 1996a).

تحقیقات بیان‌گر این نکته می‌باشند که آلاینده‌ها می‌توانند بر روی مراحل مختلف رشد گنادی در ماهیان تأثیر گذاشته و به این ترتیب باعث ایجاد اختلال در عملکرد سیستم تولید مثلی شوند. تخریب فولیکول‌های تخمدانی که شامل آترزی و التهاب تخمدانی هستند در بسیاری از مطالعات مورد توجه قرار گرفته است (Spies et al. 1996).

خور موسی از جمله اکوسیستم‌هایی می‌باشد که به دلیل مجاورت با صنایع مختلف و عدم توجه کافی به مسایل زیست محیطی دست‌خوش جنبه‌های منفی تکنولوژی مدرن گردیده است. اهمیت این خور نه تنها از لحاظ وجود تأسیسات بندری و مجتمع‌های پتروشیمی، بلکه به دلیل ارزش اکولوژیک خوریات منطقه می‌باشد. ظرفیت این اکوسیستم نیز مانند تمامی خورها و منابع آبی، برای پذیرش تغییرات محدود بوده و در صورتی که میزان تخریب از سرعت بازسازی طبیعی بیش‌تر شود، سلامت خورهای این منطقه به طور جدی مورد تهدید قرار می‌گیرد. به علت خطرات بالایی که آلاینده‌ها برای سلامت اکوسیستم منطقه دارا می‌باشند، به دست آوردن برآوردی از میزان آلودگی آبیان به ویژه ماهیان منطقه به این نوع آلاینده‌ها بسیار مهم می‌باشد. ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) از گونه‌های مهم و تجاری خلیج فارس محسوب می‌شود. این ماهی در نزدیک کف ساکن بوده و محیط زیست آن، آب‌های کم‌عمق (۵۰ متری) می‌باشد (Hesp et al. 2004). ماهی کفشک راستگرد (*Euryglossa orientalis*) مانند سایر ماهیان کفشک برای زندگی در کف بسترها سازگاری دارند. غالباً دریازی بوده و در مصب‌ها دیده می‌شوند و گونه‌های اندکی از آن‌ها در آب‌های شیرین یافت می‌شوند. بیش‌تر

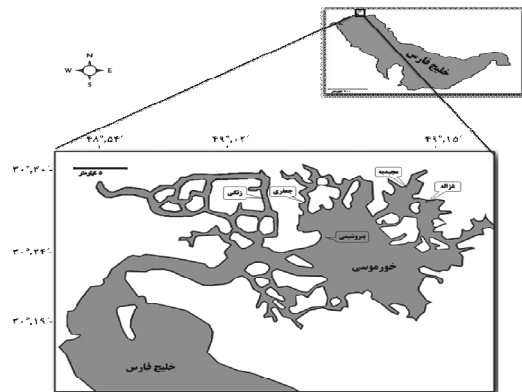
شده با ذکر کد نام ماهی و ایستگاه نمونه‌برداری در ظروف شیشه‌ای درب‌دار، جهت تثبیت در محلول فرمالین بافر ۱۵ درصد قرار داده شد. کلیه مراحل پاساژ بافتی به صورت اتوماتیک و با استفاده از دستگاه پاساژ بافتی یا هیستوکینت (مدل RX-11B, Tissue tek rotary, Japan). در آزمایشگاه بافت‌شناسی انجام شد.

پس از انتهای مراحل پاساژ بافتی، نمونه‌های بافتی توسط قالب‌های آلومینیومی لوکهارت، قالب‌گیری و با استفاده از دستگاه میکروتوم (مدل LEICA- RM2245)، برش‌های با ضخامت ۵-۶ میکرومتر، از بلوک‌های حاوی نمونه‌های بافتی تهیه شد. مقاطع بافتی سپس با استفاده از رنگ‌آمیزی معمولی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی شده با استفاده از میکروسکوپ نوری Olympus و با بزرگ‌نمایی‌های متفاوت بررسی و تصاویر مناسب توسط دوربین نصب شده بر روی میکروسکوپ Dinolite Digital Microscope و سیستم رایانه‌ای متصل به دوربین مجهز به نرم‌افزار Dino capture تهیه و ذخیره شد.

مطالعه‌ی هیستومتریک شامل تعیین پارامترهایی از قبیل قطر فولیکول‌ها و اووسیت‌ها (با توجه به این که فراوان-ترین نوع فولیکول‌ها در بافت تخمدان هر دو گونه در مرحله‌ی کروماتین نوکلئولوس و پری نوکلئولوس دیده شد، محاسبه‌ی قطر فولیکول‌ها و اووسیت‌ها به صورت میانگینی از این دو مرحله و با بزرگ‌نمایی $\times 725$ انجام شد) و همچنین ضخامت بافت همبندی حذفاصل فولیکول‌ها نیز به کمک نرم‌افزار Dino capture انجام شد. تنوع فولیکولی بافت تخمدان هر دو نوع ماهی نیز شمارش و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. بدین منظور ۵ نمونه از هر یک از گونه‌های ماهیان از هر ایستگاه و ۵ مقطع از هر نمونه و ۵ میدان دید میکروسکوپی از هر مقطع مطالعه شده انتخاب و پارامترهای مذکور در آن‌ها محاسبه و تعیین شد.

تعیین مقادیر هورمون ۱۷-بتا استرادیول به روش RIA با استفاده از دستگاه گاما کانتر و به کارگیری کیت

سعی شد ماهی‌ها هم‌اندازه باشند. در هر بار نمونه‌برداری، پس از بیهوش کردن ماهیان با عصاره‌ی میخک، وزن هر ماهی به وسیله‌ی ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و طول کل بدن با استفاده از تخته‌ی بیومتری با دقت یک میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت می‌گردید.



تصویر ۱: نقشه‌ی منطقه‌ی مورد مطالعه

پس از بیهوش کردن ماهی، خون‌گیری توسط سرنگ ۲/۵ میلی‌لیتری تیمار شده با هپارین و از سیاهرگ ساقه‌ی دمی به عمل آمد. جهت خون‌گیری از ماهیان، ابتدا سرنگ با زاویه‌ی حدود ۳۰ درجه و در امتداد انتهای باله‌ی مخرجی (کمی جلوتر از باله‌ی دمی و موازی با خط جانبی و کمی پایین‌تر از آن) وارد بدن ماهی شده و سپس با ایجاد خلاء در سرنگ، خون‌گیری انجام شد. سپس خون به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد. جهت تهیه‌ی پلازما نمونه‌های خون با دور ۱۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و نمونه‌های پلازما توسط سمپلر به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری جدید منتقل شدند. در نهایت میکروتیوب‌های حاوی پلازما به تفکیک نام ماهی و ایستگاه نمونه‌برداری در تانک ازت به آزمایشگاه انتقال یافته و تا زمان سنجش هورمون‌ها در فریزر ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

پس از انجام خون‌گیری محوطه‌ی شکمی ماهیان با احتیاط باز شده و نمونه‌هایی از ابتدا، انتها و وسط تخمدان ماهیان برداشته شد. تمام نمونه‌های بافتی برداشته

اختصاصی (از نوع منوکلونال موشی)، متصل می‌شود. یکی از آنتی‌بادی‌ها بر روی فاز جامد (لوله‌ها) پوشش داده شده و آنتی‌بادی دیگر به ید-۱۲۵ (ید نشان‌دار) متصل می‌شود. پس از انکوباسیون، برای خارج کردن آنتی‌بادی متصل به ید-۱۲۵ لوله‌ها تخلیه و شست و شو می‌شوند. در مرحله‌ی بعد توسط شمارنده‌ی گاما، اکتیویته موجود در هر لوله اندازه‌گیری می‌گردد. این اکتیویته رابطه‌ی مستقیم با غلظت هورمون GTH نمونه‌ها دارد. نمونه‌های مجهول با استانداردهای GTH، مورد آزمایش قرار می‌گیرند و غلظت نمونه‌های مجهول بر اساس منحنی استاندارد به دست می‌آید.

داده‌های مربوط به پارامترهای هیستومتری شامل قطر فولیکول‌ها، قطر اووسیت‌ها، ضخامت بافت همبند بینابینی و تنوع فولیکولی و نیز سطوح هورمون‌های ۱۷-بتاسترادیول، تستوسترون، GTHI و GTHII ماهیان ایستگاه‌های مختلف به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شده و وجود اختلاف میان داده‌ها با استفاده از تست one-way ANOVA با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 و سپس در صورت وجود اختلاف معنی‌دار میان ایستگاه‌ها از پس آزمون توکی (Tukey) استفاده شد. اختلاف در سطح اطمینان بالای ۹۵ درصد ($P < 0.05$) پذیرفته شد و در نهایت نمودارها در محیط Microsoft Office Excel 2010 ترسیم شدند.

نتایج

نتایج زیست‌سنجی

نتایج مربوط به بیومتری ماهیان (۱۰ عدد از هر یک از گونه‌های ماهیان) شامل میانگین طول و وزن آن‌ها به همراه انحراف معیار در جدول ۱ نشان داده شده است.

هورمونی شرکت (DRG, USA) به انجام رسید. به طوری که مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از ردیاب حاوی ید نشان-دار (ید ۱۲۵) و مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از آنتی پلازما را به ۵۰۰ میکرولیتر از نمونه افزوده، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰-۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده و به میزان ۰/۵ سی‌سی محلول رسوب دهنده محتوی گاماگلوبین در سدیم آزاد به آن اضافه شد. پس از ۲۰-۱۵ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، در ۱۵۰۰ دور سانتریفوژ نموده و میزان ید ۱۲۵ پیوند شده توسط دستگاه گاماکانتر برای مدت زمان یک دقیقه تعیین شد. با تقسیم نمودن مقادیر حاصل (پس از کسر مقدار حاصل از محلول غیر اختصاصی) بر مقادیر به دست آمده از محلول استاندارد، نتایج برحسب واحد نانوگرم بر میلی‌لیتر (ng/ml) بیان شد که جهت اطمینان از آن‌ها حاصل هر تست سه بار تکرار گردید (Ulloa-Aguirre et al. 1995).

برای سنجش سطوح هورمون تستسترون نیز از کیت DRG (USA) با ردیاب حاوی ید نشان‌دار (ید ۱۲۵) به روش RIA با دستگاه گاماکانتر استفاده گردید (Ulloa-Aguirre et al. 1995).

هورمون‌های GTHI و GTHII به روش IRMA اندازه‌گیری شدند. بدین منظور جهت سنجش این هورمون‌ها از کیت IBL Immuno-biological Laboratories, Hamburg Germany (Breton et al. 1998) استفاده شد. اساس روش IRMA به صورت غیررقابتی و ساندویچی است؛ یعنی آنالیت توسط دو آنتی‌بادی ساندویچ شده که یکی از این آنتی‌بادی‌ها توسط ماده رادیواکتیو نشان‌دار می‌شود. در این روش به ازای هر آنالیت یک ساندویچ نشان‌دار تشکیل شده، لذا رابطه‌ی مستقیم میان آنالیت و کمپلکس رادیواکتیو برقرار بود. روش کار به این صورت بود که، هورمون‌های GTH موجود در پلازما به عنوان آنتی‌ژن به دو آنتی‌بادی زوج

جدول ۱: نتایج زیست سنجی ماهیان به تفکیک گونه ماهی و ایستگاه نمونه برداری (میانگین \pm انحراف معیار)

گناوه	زنگی	غزاله	مجیدیه	جعفری	پتروشیمی	طول (cm)	شانک
۲۷/۸ \pm ۳/۹	۲۷/۹ \pm ۴/۴	۲۹/۱ \pm ۵/۶	۲۶/۸ \pm ۱/۵	۲۸/۳ \pm ۳/۳	۲۷/۵ \pm ۱/۲	طول (cm)	شانک
۱۹۶/۱ \pm ۲۶/۳	۱۷۸/۷ \pm ۲۱/۳	۲۰۰/۱ \pm ۲۲/۳	۱۸۸/۵ \pm ۹/۲۳	۱۹۸/۱ \pm ۱۹/۶	۱۹۰/۵ \pm ۱۳/۷	وزن (g)	زردباله
۴۰/۱ \pm ۱/۹	۳۷/۸ \pm ۶/۴۳	۳۹/۳۲ \pm ۳/۵۹	۴۰/۳۲ \pm ۹/۷۸	۳۸/۷۱ \pm ۵/۲۱	۳۹/۱۶ \pm ۳/۷۲	طول (cm)	کفشک
۵۴۲/۶ \pm ۷/۳	۵۱۷/۸ \pm ۱۶/۳	۵۴۳/۳ \pm ۸/۱۳	۵۳۷/۳ \pm ۴/۷۱	۵۲۹/۱ \pm ۸/۲۱	۵۳۵ \pm ۴/۸۹	وزن (g)	راستگرد

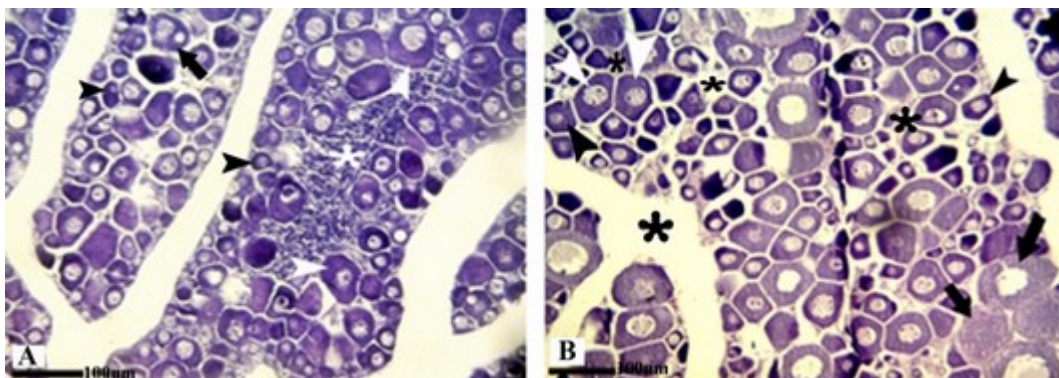
نتایج هیستولوژی

مقاطع بافتی تخمدان ماهیان ایستگاه شاهد دارای ساختار طبیعی بود. گناد در هر دو گونه‌ی این ماهیان عمدتاً نابالغ و در مرحله‌ی پری‌ویتلوژنی بوده و فولیکول‌های تخمدانی در مراحل مختلف، توسط بافت همبند سست در کنار یکدیگر قرار گرفته بودند (تصویر ۲، A و B) انواع فولیکول‌های تخمدانی مشاهده شده در تخمدان ماهیان مورد مطالعه عبارت بودند از:

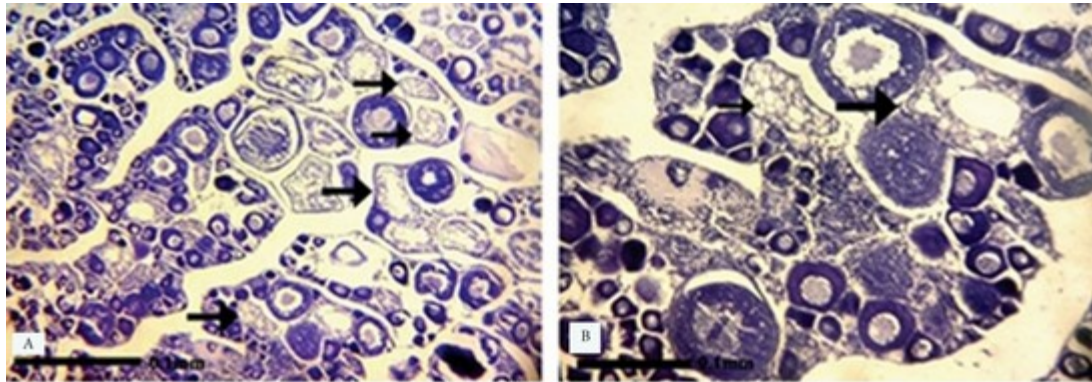
۱- فولیکول‌های کروماتین نوکلئولوس: این فولیکول‌ها با وجود هسته‌ی کاملاً هتروکروماتین و بازوفیلیک در مرکز و سیتوپلاسم تیره و بازوفیلیک در اطراف آن قابل تشخیص بود.

۲- فولیکول‌های پری‌نوکلئولوس: در این فولیکول‌ها هسته همچنان هتروکروماتین و بازوفیلیک بود ولی از شدت بازوفیلی سیتوپلاسم کاسته شده بود.

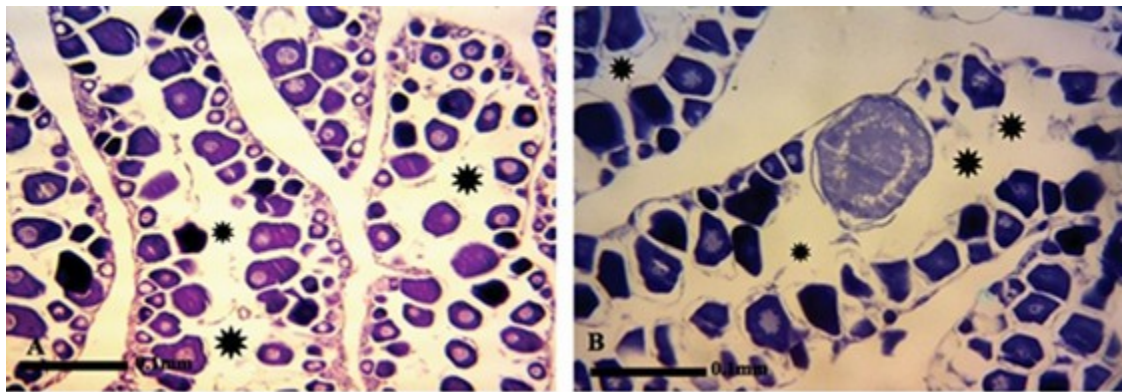
۳- فولیکول‌های آلوتول قشری: در حاشیه‌ی سیتوپلاسم اسیدوفیلیک این فولیکول‌ها، آلوتول‌های چربی قابل مشاهده بود. در تخمدان دو گونه ماهی مورد مطالعه در ایستگاه پتروشیمی، وجود فولیکول‌های آترتیک (که با توجه به تحلیل اوپلاسم فولیکول و از بین رفتن سلول‌های دیواره‌ی فولیکولی قابل تشخیص بودند) (تصویر ۳، A و B) و توسعه‌ی بافت همبند بینابینی (تصویر ۴، A و B)، قابل توجه بود. فولیکول‌های در بافت تخمدان ماهی شانک زردباله ایستگاه جعفری و بافت تخمدان ماهی کفشک راستگرد در ایستگاه‌های مجیدیه و غزاله نیز تعداد زیادی فولیکول‌های آترتیک و بافت همبند توسعه یافته مشاهده شد. تعداد فولیکول‌های آترتیک در بافت تخمدان ماهیان شانک زردباله و کفشک راستگرد ایستگاه زنگی بسیار اندک بود.



تصویر ۲: ساختار طبیعی بافت تخمدان A، ماهی شانک زردباله: فولیکول در مرحله‌ی کروماتین نوکلئولوس (رأس پیکان سیاه)، فولیکول در مرحله‌ی پری‌نوکلئولوس (رأس پیکان سفید)، فولیکول در مرحله‌ی آلوتول قشری (پیکان سیاه) و بافت همبند بینابینی (ستاره سفید) (H&E; \times 725). B، ماهی کفشک راستگرد: فولیکول در مرحله‌ی کروماتین نوکلئولوس (رأس پیکان سیاه)، فولیکول در مرحله‌ی پری‌نوکلئولوس (رأس پیکان سفید)، فولیکول در مرحله‌ی آلوتول قشری (پیکان سیاه) و بافت همبند بینابینی (ستاره سیاه) (H&E; \times 725).



تصویر ۳: فولیکول‌های آترزی شده در تخمدان A، ماهی شانک زردباله و B، کفشک راستگرد. پیکان‌های سیاه رنگ فولیکول‌های آترزی شده را نشان می‌دهد (H&E;×725).

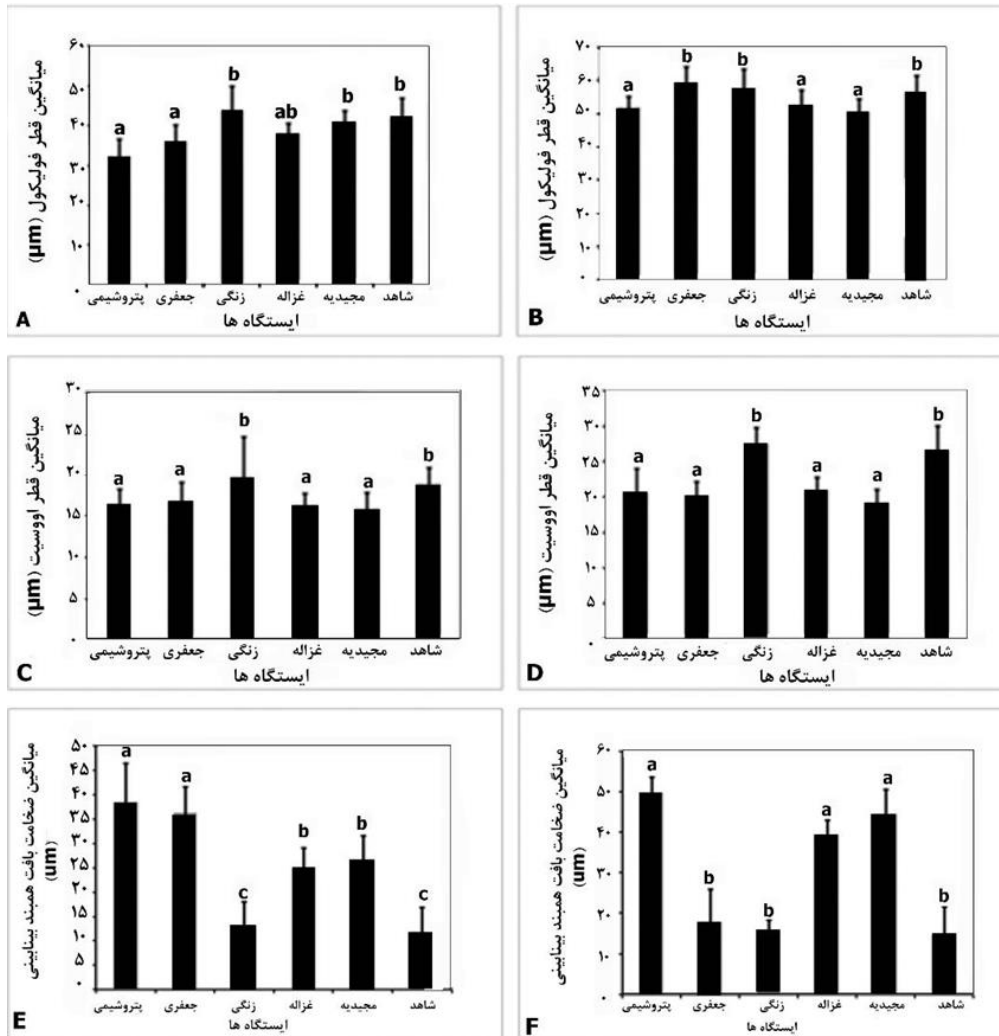


تصویر ۴: توسعه‌ی بافت همبند بینابینی در تخمدان A، ماهی شانک زردباله و B، ماهی کفشک راستگرد. ستاره‌های سیاه افزایش فضای بافت همبند بین فولیکول‌ها را نشان می‌دهد (H&E;×725).

نتایج هیستومتری

بافت همبند بینابینی برای هر دو ماهی شانک زردباله و کفشک راستگرد نشان داد که بیش‌ترین میزان بافت همبندی در ماهیان ایستگاه پتروشیمی و کم‌ترین آن مربوط به ایستگاه زنگی بود. هر چند که در سایر ایستگاه‌ها الگوی تغییرات متفاوت دیده شد و این الگو برای ماهی شانک زردباله به صورت پتروشیمی ≤ جعفری < مجیدیه ≤ غزاله < زنگی و برای ماهی کفشک راستگرد پتروشیمی ≤ مجیدیه ≤ غزاله < جعفری < زنگی بود. تصویر ۵ نتایج مربوط به اندازه‌گیری بافت همبند بینابینی در تخمدان ماهیان ایستگاه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

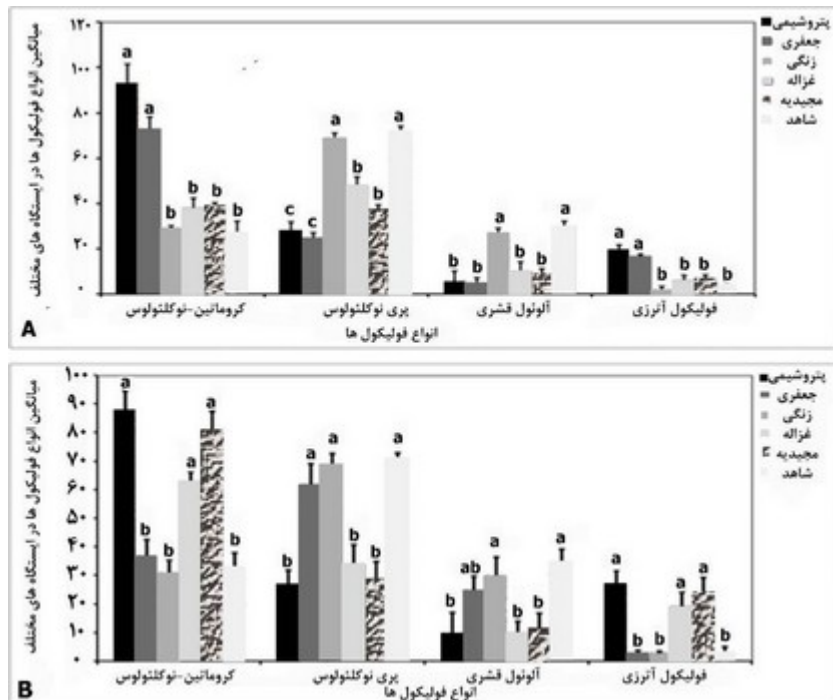
بررسی‌های هیستومتری فاکتورهایی از قبیل قطر فولیکول، قطر اووسیت، فواصل بافت همبندی و تنوع فولیکول‌ها در دو گونه‌ی مورد مطالعه در ایستگاه‌های مختلف، در مقایسه با ماهیان ایستگاه شاهد، نتایج متفاوتی را نشان داد. با توجه به تصویر ۵ نتایج مربوط به میانگین قطر فولیکول‌ها در ماهیان شانک زردباله و کفشک راستگرد ایستگاه‌های مختلف خور موسی تفاوت معنی‌دار نشان نداد. بر اساس تصویر ۵ نتایج مربوط به اندازه‌گیری میانگین قطر اووسیت تخمدان ماهیان شانک زردباله و کفشک راستگرد نیز در ایستگاه‌های مختلف اختلاف معنی‌دار نشان نداد. نتایج هیستومتری مربوط به اندازه‌ی



تصویر ۵: نتایج مطالعه‌ی هیستومتریکی تخمدان در دو ماهی شانک زردباله و کفشک راستگرد خور موسی بر حسب میکرومتر شامل: A. میانگین قطر فولیکول‌ها در تخمدان ماهی شانک زردباله، B. میانگین قطر فولیکول‌ها در تخمدان ماهی کفشک راستگرد، C. میانگین قطر اووسیت‌ها در تخمدان ماهی شانک زردباله، D. میانگین قطر اووسیت‌ها در تخمدان ماهی کفشک راستگرد، E. اندازه‌ی بافت همبند بینابینی در تخمدان ماهی شانک زردباله، F. اندازه‌ی بافت همبند بینابینی در تخمدان کفشک راستگرد.

با اختلاف معنی‌داری از سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود ($P < 0/05$)، در حالی که تعداد این فولیکول‌ها در سایر ایستگاه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. بیش‌ترین تعداد فولیکول‌های کروماتین‌نوکلئولوس در تخمدان ماهی کفشک راستگرد بدون وجود اختلاف معنی‌دار، به ترتیب در ایستگاه‌های پتروشیمی، مجیدیه و غزاله مشاهده شد در حالی که کم‌ترین تعداد این نوع فولیکول‌ها در ایستگاه‌های زنگی و جعفری مشاهده شد، هر چند که اختلاف معنی‌داری بین این دو ایستگاه وجود نداشت.

نتایج محاسبه تعداد و تنوع فولیکولی (فولیکول‌های کروماتین‌نوکلئولوس، پری‌نوکلئولوس، آلونول قشری و آترزی شده) در تخمدان گونه‌های مورد مطالعه در ایستگاه‌های مختلف الگوهای متفاوتی را نشان داد (شکل ۶). با توجه به نتیجه‌ی آزمون واریانس یک طرفه میان انواع فولیکول‌ها در تخمدان هر دو گونه در همه‌ی ایستگاه‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0/05$). نتایج تعداد فولیکول‌های نارس کروماتین‌نوکلئولوس در تخمدان ماهی شانک زردباله در ایستگاه‌های پتروشیمی و جعفری



تصویر ۶: تعداد و تنوع انواع فولیکول‌ها در A، تخمدان ماهی شانک زردباله و B، تخمدان ماهی کفشک راستگرد.

شاهد و زنگی مشاهده شد و سایر ایستگاه‌ها باهم اختلاف معنی‌دار نشان ندادند. تعداد این فولیکول‌ها در ایستگاه جعفری نیز با هیچ کدام از ایستگاه‌ها اختلاف معنی‌دار نداشت.

بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد فولیکول‌های آترزی شده در ماهیان شانک زردباله و کفشک راستگرد به ترتیب در ایستگاه پتروشیمی و زنگی مشاهده شد. این نوع فولیکول‌ها در ماهیان شانک زردباله ایستگاه جعفری با ایستگاه پتروشیمی تفاوت معنی‌دار نداشتند و در ماهی کفشک راستگرد عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین ایستگاه‌های پتروشیمی، مجیدیه و غزاله مشاهده شد.

نتایج هورمونی

بر اساس نتایج مربوط به اندازه‌گیری هورمون ۱۷-بتاسترادیول در پلازما ماهی شانک زردباله کم‌ترین غلظت این هورمون در ایستگاه‌های پتروشیمی و جعفری بدون وجود اختلاف معنی‌دار بین این دو ایستگاه مشاهده شد. در حالی که بیش‌ترین غلظت این هورمون مربوط به پلازما ماهیان ایستگاه زنگی بود که اختلاف معنی‌داری

فراوانی فولیکول‌های پری‌نوکلئولوس در تخمدان ماهی شانک زردباله در ایستگاه‌های زنگی و شاهد با اختلاف معنی‌داری بیش از سایر ایستگاه‌ها بود ($P < 0.05$) و کم‌ترین تعداد این فولیکول‌ها بدون اختلاف معنی‌دار در ایستگاه‌های پتروشیمی و جعفری دیده شد. در تخمدان ماهی کفشک راستگرد بیش‌ترین تعداد فولیکول‌های پری‌نوکلئولوس بدون وجود اختلاف معنی‌دار در ایستگاه‌های شاهد، زنگی و جعفری و کم‌ترین تعداد در ایستگاه‌های پتروشیمی، مجیدیه و غزاله مشاهده شد، هر چند که بین این ایستگاه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

تعداد فولیکول‌های آلوئول قشری در ماهی شانک زردباله در کلیه ایستگاه‌ها بسیار پایین بود هرچند که تعداد این نوع فولیکول‌ها در ایستگاه‌های شاهد و زنگی بدون وجود اختلاف معنی‌دار بیش‌تر از سایر ایستگاه‌ها بود. سایر ایستگاه‌ها باهم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. تعداد فولیکول‌های آلوئول قشری در ماهی کفشک راستگرد در همه ایستگاه‌ها بیش از ماهی شانک زردباله بود، برای این نوع ماهی نیز بیش‌ترین تعداد این فولیکول‌ها بدون وجود اختلاف معنی‌دار در ایستگاه‌های

با ایستگاه شاهد نداشت، مقدار هورمون ۱۷-بتاسترادیول در ماهیان شانک زردباله در ایستگاه‌های غزاله و مجیدیه نیز اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و همچنین ایستگاه زنگی نشان نداد (تصویر ۷A).

نتایج آنالیز هورمون ۱۷-بتاسترادیول در پلازما ماهی کفشک راستگرد نشان داد که بیش‌ترین غلظت این هورمون در ماهیان ایستگاه‌های زنگی و جعفری مشاهده شد، بدون این که اختلاف معنی‌داری بین غلظت هورمون در این ایستگاه‌ها با یکدیگر و با ایستگاه شاهد مشاهده شود ($P > 0/05$). در صورتی که کم‌ترین غلظت این هورمون در ماهیان ایستگاه‌های پتروشیمی، مجیدیه و غزاله دیده شد. لازم به ذکر است که بین این ایستگاه‌ها نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (تصویر ۷A).

نتایج آنالیز هورمون تستوسترون مشابه هورمون ۱۷-بتاسترادیول بود. به این صورت که کم‌ترین غلظت این هورمون در پلازما ماهی شانک زردباله بدون وجود اختلاف معنی‌دار ($P > 0/05$) در ماهیان ایستگاه‌های پتروشیمی و جعفری مشاهده شد، غلظت این هورمون در ماهیان شانک زردباله‌ی ایستگاه‌های زنگی، غزاله و مجیدیه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر و همچنین با ماهیان ایستگاه شاهد نشان نداد (تصویر ۷B).

مطابق با نتایج آنالیز هورمون تستوسترون در پلازما ماهی کفشک راستگرد، بیش‌ترین غلظت این هورمون در ماهیان ایستگاه‌های زنگی و جعفری مشاهده شد بدون این که اختلاف معنی‌داری بین غلظت هورمون در این ایستگاه‌ها با یکدیگر و با ایستگاه شاهد مشاهده شود. در صورتی که کم‌ترین غلظت این هورمون در ماهیان ایستگاه‌های پتروشیمی، مجیدیه و غزاله دیده شد. لازم به ذکر است که اختلاف معنی‌داری بین این ایستگاه‌ها وجود نداشت (تصویر ۷B).

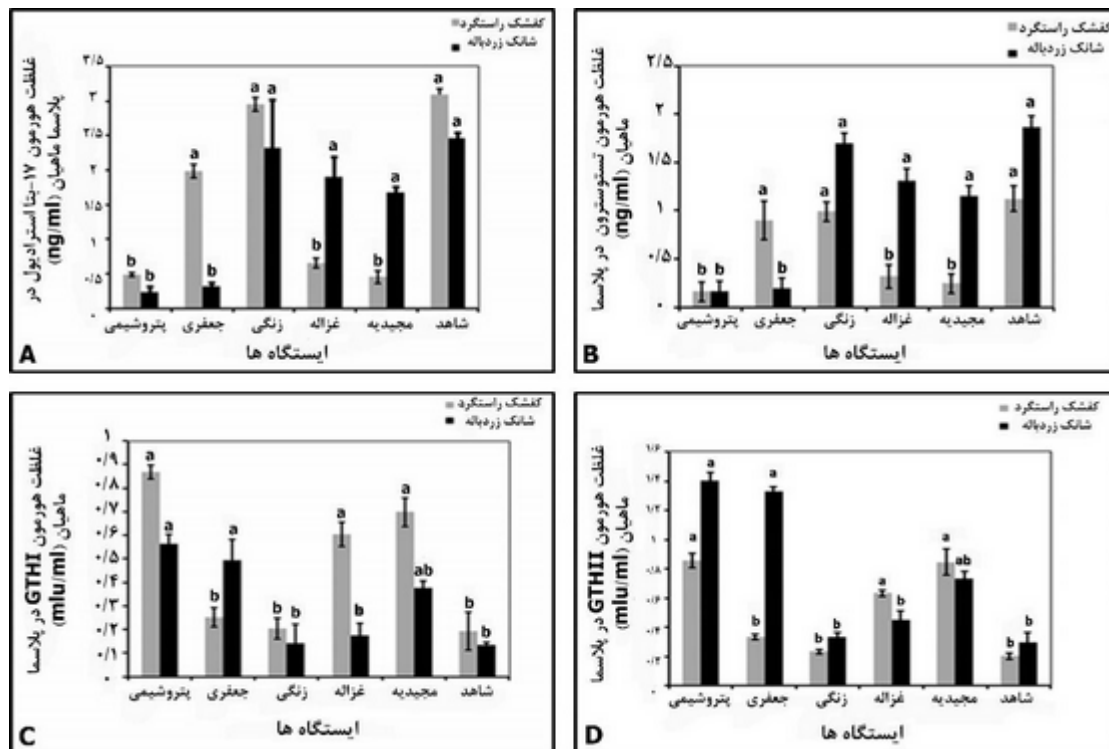
بر اساس نتایج آنالیز هورمون GTHI در پلازما ماهی شانک زردباله نشان داد که بالاترین غلظت این هورمون در ماهیان ایستگاه‌های پتروشیمی و جعفری اندازه‌گیری شد، در حالی که اختلاف معنی‌داری بین این دو ایستگاه

وجود نداشت. پایین‌ترین سطوح این هورمون نیز در ایستگاه‌های زنگی و غزاله ثبت شد که اختلاف معنی‌داری میان این ایستگاه‌ها با یکدیگر و با ایستگاه شاهد نیز دیده نشد. لازم به ذکر است که غلظت این هورمون در ایستگاه مجیدیه با هیچ یک از ایستگاه‌های مذکور اختلاف معنی‌دار نداشت (تصویر ۷C).

نتایج آنالیز هورمون GTHI در پلازما ماهی کفشک راستگرد ایستگاه‌های مختلف، بیش‌ترین غلظت این هورمون را به ترتیب در ماهیان ایستگاه‌های پتروشیمی، مجیدیه و غزاله نشان داد، هر چند که بین این سه ایستگاه اختلاف معنی‌داری دیده نشد. غلظت این هورمون در ماهیان ایستگاه‌های زنگی و جعفری با اختلاف معنی‌داری کم‌تر از سه ایستگاه مذکور بود ($P < 0/05$)، ولی تفاوت معنی‌داری با ایستگاه شاهد نداشتند (تصویر ۷C).

نتایج آنالیز هورمون GTHII نیز مشابه با هورمون GTHI بود. بیش‌ترین غلظت این هورمون در ماهیان شانک زردباله در ایستگاه‌های پتروشیمی و جعفری ثبت شد که میان آن‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. پایین‌ترین سطوح این هورمون نیز در ماهیان شانک زردباله در ایستگاه‌های زنگی و غزاله ثبت شد که اختلاف معنی‌داری میان این ایستگاه‌ها با یکدیگر و با ایستگاه شاهد دیده نشد. لازم به ذکر است که غلظت این هورمون در ایستگاه مجیدیه با هیچ یک از ایستگاه‌های مذکور اختلاف معنی‌دار نداشت (تصویر ۷D).

در ماهیان کفشک راستگرد آنالیز هورمون GTHII نیز نتایج مشابه آنالیز هورمون GTHI را نشان داد. ماهیان ایستگاه‌های پتروشیمی، مجیدیه و غزاله بالاترین غلظت این هورمون را داشتند، هر چند که بین این سه ایستگاه اختلاف معنی‌داری دیده نشد. غلظت این هورمون در ماهیان ایستگاه‌های زنگی و جعفری بدون اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و ایستگاه شاهد ($P < 0/05$) کم‌تر از سه ایستگاه مذکور بود. شکل ۴-۲۲ میانگین غلظت هورمون GTHII در پلازما ماهیان مورد مطالعه را در ایستگاه‌های مختلف نشان می‌دهد (تصویر ۷D).



تصویر ۷: A. غلظت هورمون ۱۷-بتا استرادیول بر حسب ng/ml در پلاسمای ماهیان شانک زردباله و کفشک راستگرد، B. غلظت هورمون تستوسترون بر حسب ng/ml در پلاسمای ماهیان شانک زردباله و کفشک راستگرد، C. غلظت هورمون GTHI بر حسب mlu/ml در پلاسمای ماهیان شانک زردباله و کفشک راستگرد، D. غلظت هورمون GTHII بر حسب mlu/ml در پلاسمای ماهیان شانک زردباله و کفشک راستگرد در ایستگاه‌های مختلف.

بحث

همچون آترزی فولیکول‌ها، کاهش تکامل فولیکول‌ها و به هم ریختگی بافتی را مشاهده کردند. Banayi و همکاران در سال ۲۰۱۳ ماهی کپور معمولی *Cyprnius carpio* را در معرض غلظت‌های تحت کشنده ۶۰ و ۱۲۰ میکروگرم بر لیتر دیازینون (نوعی آفت کش که به طور وسیع در کشاورزی و منازل از آن استفاده می‌شود) در دوره‌ی ۳۰ روزه قرار دادند، بررسی بافت تخمدان این ماهی‌ها نشان داد که مواجهه با این غلظت‌های دیازینون سبب افزایش تعداد اووسیت‌های آترزی شده گردیده بود، از مهمترین مشخصات این اووسیت‌ها، می‌توان به از هم پاشیدگی هسته، تجزیه‌ی غشای زرده، افزایش در تعداد و اندازه‌ی سلول‌های لایه‌ی فولیکولی و تغییر حالت و آبکی شدن

در این مطالعه، نتایج حاصل از بررسی تغییرات بافت تخمدان ماهی شانک زردباله و کفشک راستگرد در ایستگاه‌های مختلف خور موسی نیز وجود ضایعاتی نظیر افزایش فولیکول‌های کروماتین نوکلئولوس و پری-نوکلئولوس، افزایش فولیکول‌های آترزی شده، افزایش ضخامت بافت همبند بینابینی، تغییر تنوع فولیکولی در تخمدان، کاهش فولیکول‌های تکامل یافته مانند فولیکول‌هایی در مراحل آلوتول قشری و زرده‌سازی اولیه، به همراه بی‌نظمی در ساختار تخمدان را نشان داد.

در مطالعه‌ی Mohamed در سال ۲۰۰۹ اثرات آلودگی دریاچه‌ی کوران مصر بر بافت‌های مختلف از جمله تخمدان ماهیان *Tilapia zillii*, *Solea vulgaris* عوارضی

شوند که این هورمون‌ها نیز به نوبه‌ی خود بر هورمون‌های استروئیدی (جنسی) مؤثر می‌باشند (Karels et al. 2001). در مطالعه‌ی حاضر، غلظت این هورمون‌ها در ایستگاه‌های نمونه‌برداری مختلف در پلاسما ماهیان شانک زردباله و کفشک راستگرد با شدت ضایعات بافتی ایجاد شده در تخمدان ماهیان رابطه‌ی مستقیمی را نشان داد. در ایستگاه‌هایی نظیر ایستگاه پتروشیمی که بافت تخمدان هر دو نوع ماهی بیش‌ترین ضایعات را نشان داد، این هورمون‌ها دارای کم‌ترین سطوح پلاسمای بودند. در حالی که در ایستگاهی مانند ایستگاه زنگی که تخمدان ماهیان مورد مطالعه کم‌ترین عوارض را نشان داد سطوح پلاسمای این هورمون‌ها نیز بالا و نزدیک به ماهیان شاهد بود.

در تحقیق Hecker و همکاران در سال ۲۰۰۷، میزان تغییرات فاکتورهای نظیر فعالیت آنزیم آروماتاز، سائز گناد و نیز سطوح هورمون‌های ۱۷-بتاسترادیول، تستوسترون، ۱۱-کتوتستوسترون در جنس نر و ماده‌ی ماهی سیم (*Abramis brama*) را در رودخانه‌ی الب آلمان بررسی شد، نتایج این محققین نشان داد که به دلیل آلودگی‌های مختلف این رودخانه پارامترهای مذکور در مقایسه با مطالعات قبلی بر این ماهی، در سطح پایین‌تری قرار داشتند. تحقیقات دیگر، دلیل کاهش غلظت هورمون‌های جنسی نظیر ۱۷-بتاسترادیول و تستوسترون در مواجهه ماهی با آلاینده‌های آلی را تداخل این آلاینده‌ها با گیرنده‌های هورمونی و بر هم زدن ساختار گیرنده‌ها در اندام‌های هدف اعلام کردند (Thomas and Budianatra 1995). همچنین به نظر می‌رسد تمایل زیاد آلاینده‌ها به رسپتورهای استروئیدی و قابلیت اتصال به آن‌ها از مهم‌ترین دلایل نوسانات هورمونی باشد (James 2010). از طرفی مطالعات نشان داده‌اند که هورمون ۱۷-بتاسترادیول از طریق تأثیر بازدارنده بر بروز پدیده‌ی آپوپتوزیس (مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی) در نگهداری و حفظ سلامت فولیکول‌ها مؤثر است. بنابراین کاهش این هورمون به

گلوبول‌های زرده و نیز تغییر رنگ محتویات سلولی اشاره کرد. این محققین همچنین اظهار داشتند که آترزی اووسیت‌ها در نهایت منجر به مرگ سلولی، توقف فرایند میتوز در سلول‌های لایه‌ی فولیکولی، به ویژه سلول‌های لایه‌ی گرانولوزا می‌گردد، در طی آترزی سلولی و مرگ اووسیت‌ها، سلول‌های فاگوسیتوزی آن‌ها را از بین می‌برند.

یکی از مهم‌ترین ضایعات تخمدانی مشاهده شده در تحقیق حاضر آترزی فولیکول‌ها بود. آترزی فولیکولی یک فرایند تخریبی است که سبب می‌شود فولیکول‌های تخمدانی مهره‌داران یکپارچگی خود را از دست داده و پیش از تخمک‌گذاری حذف شوند (Santos et al. 2008). هر چند که این فرایند به عنوان یک مکانیسم طبیعی و فیزیولوژیک تعریف می‌شود (Santos et al. 2008)، اما گزارش شده که مکانیسم‌های آترزی ممکن است توسط عوامل مختلف از جمله هیپوفیزپریداری، واکنش نوری، فقر غذایی، استرس‌ها و آلودگی‌ها آغاز شود (Wood and Kraak 2002). لازم به ذکر است که آترزی فولیکول‌های تخمدانی در پستانداران و پرندگان و احتمالاً ماهی‌ها یک مکانیسم طبیعی است که در نتیجه‌ی مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول‌های گرانولوزا که حمایت هورمونی را برای اووسیت‌ها فراهم می‌کنند، ایجاد می‌شود (Wood and Kraak 2002).

در مطالعه‌ی Magar و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز نوعی ماهی آب شیرین با نام علمی *Channa punctatus* تحت غلظت‌های زیرکنشده‌ی مالاتیون در بازه‌ی زمانی ۴ روزه قرار گرفت. در مقاطع بافتی تخمدان این ماهی عوارضی از قبیل به هم‌ریختگی بافت تخمدان، نکروز لایه‌های فولیکولی و از بین رفتن فولیکول‌ها دیده شد. مختل کننده‌های اندوکرینی شیمیایی قادرند که به طور مستقیم در فعالیت‌های غده‌ی هیپوتالاموس دخالت کرده و در نتیجه سبب ایجاد تغییراتی در میزان ترشح هورمون‌های آزادکننده‌ی گنادوتروپین (GnRh) و در نهایت تغییر میزان ترشح هورمون‌های گنادوتروپینی (GTH) از هیپوفیز

نتایج نشان داد که بیشترین تعداد فولیکول‌های نارس کروماتین‌نوکلئولوس و آترزی شده و همچنین بیشترین ضخامت بافت همبند بینایی در ایستگاه‌های پتروشیمی و جعفری مشاهده شد. کمترین سطح هورمون‌های ۱۷-بتاسترادیول و تستوسترون و بالاترین غلظت هورمون‌های GTHI و GTHII نیز بدون وجود اختلاف معنی‌دار در این دو ایستگاه ثبت شد. بنابراین بر اساس نتایج هیستومتریک و هورمونی مشاهده شده در ماهی شانک زردباله در ایستگاه‌های مختلف مطابق با الگوی زیر بود: پتروشیمی \leq جعفری \leq مجیدیه \leq غزاله \leq زنگی

با توجه به مجاورت ایستگاه پتروشیمی با کارخانجات کلرآلکالی و صنایع پتروشیمی، میزان زیادی از پساب‌های متعلق به این کارخانجات به این بخش از خور موسی تخلیه می‌شود، پیش از این نیز در مطالعات متعددی منبع اصلی آلودگی خور موسی، تخلیه‌ی پساب صنایع پتروشیمی گزارش شده بود و مقدار آلاینده‌ها در اطراف این کارخانجات مقادیر بالایی را نشان داد (Abdollah pour et al. 2012, 2013, Safahieh et al. 2013). مشاهده‌ی بیشترین تغییرات بافتی در تخمدان و تغییرات هورمونی پلازما ماهی شانک زردباله در ایستگاه پتروشیمی نیز احتمالاً به دلیل آلودگی قابل توجه این ایستگاه توسط پسماند کارخانجات اطراف می‌باشد. نزدیکی خور جعفری به خور پتروشیمی و دریافت بخش وسیعی از آلاینده‌ها از طریق این فاصله‌ی اندک و نیز با توجه به متحرک بودن ماهی و جابجایی میان خورهای نزدیک سبب شده که نمونه‌های تخمدان و پلازما ماهیان شانک زردباله جمع‌آوری شده از ایستگاه جعفری، نیز مانند ایستگاه پتروشیمی و بدون اختلاف معنی‌دار با آن، دارای بیشترین تغییرات بافتی و نوسانات هورمونی باشد. از طرفی اگر چه میزان غلظت هورمون‌های GTHI و GTHII در نمونه‌های پلازما ماهیان شانک زردباله مربوط به ایستگاه مجیدیه با ایستگاه‌های پتروشیمی و جعفری اختلاف معنی‌دار نشان نداد، ولی مقدار تغییرات بافتی تخمدان و نیز میزان هورمون‌های گنادی ۱۷-

نوبه خود باعث کاهش فعالیت فولیکول‌ها و افزایش فولیکول‌های آترزی شده می‌شود (Bone et al. 1995).

در پژوهش حاضر، بر اساس نتایج به دست آمده از سنجش هورمون‌های GTHI و GTHII در پلازما خون ماهیان ایستگاه‌های مختلف خور موسی مشخص گردید که به طور کلی میزان این دو هورمون در ایستگاه‌هایی نظیر ایستگاه پتروشیمی در هر دو گونه ماهی بالاترین غلظت را داشتند. به عبارتی دیگر در کلیه‌ی ایستگاه‌ها غلظت هورمون‌های GTHI و GTHII با غلظت هورمون‌های ۱۷-بتاسترادیول و تستوسترون رابطه‌ی عکس را نشان داد و در ایستگاه‌هایی که کمترین سطوح هورمون‌های گنادوتروپیک ثبت شد، بالاترین غلظت هورمون‌های هورمون‌های استروئیدی از جمله ۱۷-بتاسترادیول بر میزان هورمون‌هایی که توسط محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناده ترشح می‌شود تأثیرگذار بوده و دارای بازخوردهای منفی یا مثبت می‌باشند (Thibaut and Port 2004). در مطالعه‌ی حاضر در ایستگاه‌هایی که میزان هورمون‌های جنسی کاهش یافته بود، سطح هورمون‌های گنادوتروپینی افزایش یافت که دلیل آن کاهش اثر فیدبک منفی هورمون‌های استروئیدی بر هیپوتالاموس بوده که منجر به افزایش ترشح هورمون‌های گنادوتروپینی در پاسخ به کاهش هورمون‌های استروئیدی شد.

در واقع آلاینده‌ها با تأثیر گذاشتن بر سلول‌های گنادوتروپ هیپوفیز در سنتز و ترشح گنادوتروپین نیز اختلال ایجاد می‌نمایند که این امر به نوبه‌ی خود می‌تواند فرایند گامتوژنز و سنتز هورمون‌های جنسی را در ماهی‌ها مختل نماید (Berton et al. 1998). Khan و همکاران و همچنین Thomas و همکاران در سال ۲۰۰۱ با تأثیر آلاینده‌های نفتی بر ماهی (*Ictalurus punctatus*) و بررسی مغز این ماهی مشاهده کردند که سطح انتقال-دهنده‌های عصبی کاهش یافته و باعث افزایش سطح هورمون‌های GTHI و GTHII شده بود.

توجیه است. از طرفی رسوبات جمع‌آوری شده از این خور سیاه و چسبده بود که حاکی از وجود نفت در رسوبات این ایستگاه بوده است. بنابراین فراوانی ضایعات پاتولوژیکی در این خور طبیعی به نظر می‌رسد. علت تشابه تغییرات بافتی و هورمونی محور هیپوفیز-گنادی ماهیان کفشک راستگرد ایستگاه غزاله به ایستگاه مجیدیه، مجاورت این دو خور به یکدیگر می‌باشد.

میانگین تغییرات پاتولوژیکی، هیستومتری و هورمونی تخمدان ماهیان کفشک راستگرد در ایستگاه‌های جعفری و زنگی بسیار پایین بود و اختلاف معنی‌داری بین این دو ایستگاه مشاهده نشد، که احتمالاً به دلیل وابستگی زیاد این گونه به بستر و تغذیه از موجودات بتیک می‌باشد و از طرفی اگر چه خور جعفری در نزدیکی خور پتروشیمی و در مجاورت کارخانه‌ی کلرآلکالی قرار دارد، ولی بنا به گزارش Abdollah pour و همکاران در سال‌های ۲۰۱۲ و ۲۰۱۳ و Safahieh و همکاران در سال ۲۰۱۳، میزان آلودگی‌هایی نظیر جیوه در رسوبات خور جعفری کم‌تر از سایر خورها و تقریباً همسان با خور زنگی است.

به نظر می‌رسد تحلیل و ارزیابی نتایج حاصل از تغییرات محور هیپوفیز-گنادی ماهی کفشک راستگرد بدون در نظر گرفتن ارتباط معنی‌دار موجود میان میزان آلودگی رسوب ایستگاه‌ها و بیولوژی این گونه امکان‌پذیر نباشد. ماهیان کفزی به دلیل سازگاری با بستر و وابستگی تغذیه‌ای به موجودات کفزی پتانسیل بیشتری برای تجمع و انتقال آلاینده‌ها دارند (McConnaughey and Smith 2000). کفشک ماهیان از ماهیان کم‌تحرك و ساکن بستر بوده، به طور مداوم در تماس مستقیم با رسوبات بستر می‌باشند و از موجودات کفزی ساکن بستر تغذیه می‌کنند. در صورت آلودگی رسوبات امکان انتقال آلاینده‌ها به این ماهی‌ها بسیار محتمل است (McConnaughey and Smith 2000).

بنااسترادیول و تستوسترون در این ایستگاه به طور معنی‌داری از دو ایستگاه پتروشیمی و جعفری کم‌تر بود ($P < 0/05$). به طور کلی در بسیاری از فاکتورهای هیستومتریک بررسی شده در تخمدان ماهی شانک زردباله اختلاف معنی‌داری بین ایستگاه‌های مجیدیه و غزاله مشاهده نشد. همچنین ماهیان شانک زردباله ایستگاه زنگی و غزاله به ترتیب سطوح نسبتاً طبیعی هورمونی (بالاترین سطح غلظت هورمون‌های گنادی و پایین‌ترین سطح هورمون‌های گنادوتروپینی) و کم‌ترین ضایعات تخمدانی را نشان دادند. تغییرات اندک بافتی و هورمونی ماهیان ایستگاه شانک زردباله‌ی خورهای مجیدیه و غزاله نشان‌دهنده‌ی کم‌تر بودن غلظت کلی آلاینده‌های موجود در این خورها می‌باشد. خورهای مجیدیه و غزاله از جمله خورهای انتهایی در منطقه‌ی خور موسی بوده و احتمالاً جریان‌های آبی حاوی آلاینده‌ها کم‌تر به این خورها راه می‌یابند. با توجه به این که ماهی شانک زردباله یک ماهی متحرک بوده و در نزدیکی کف ساکن است و از نظر عادات غذایی گوشتخوار بوده و اصولاً از سخت پوستان، نرم‌تنان، خارپوستان و کرم‌ها تغذیه می‌کند، به نظر می‌رسد که تغییرات محور هیپوفیز-گنادی این گونه بیش‌تر متأثر از بار آلودگی آب بخش‌های مختلف خور موسی باشد.

پس از خور پتروشیمی بیش‌ترین تغییرات پاتولوژیکی و هورمونی ماهی کفشک راستگرد به ترتیب در خورهای مجیدیه و غزاله مشاهده شد و میانگین فاکتورهای هیستومتریک تخمدان و غلظت هورمون‌های گنادی و گنادوتروپینی این دو خور با خور پتروشیمی تفاوت معنی‌داری نداشت. Abdollah pour و همکاران در سال‌های ۲۰۱۲ و ۲۰۱۳ و Safahieh و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش نمودند که با توجه به وجود اسکله‌ی صادرات نفت و تردد کشتی‌ها در این خور، آلودگی نفتی این خور و اندازه‌گیری مقادیر بالای جیوه امری قابل

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله‌ی حاضر از مسئولین و کارکنان ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی واقع در بندر ماهشهر به دلیل حمایت مادی و معنوی، سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

- Abdolahpur Monikh, F.; Peery, S.; Karami, O.; Hosseini, M.; Abdi Bastami, A. and Ghasemi, A. (2012). Distribution of Metals in the Tissues of Benthic, *Euryglossa orientalis* and *Cynoglossus arel* and Benthic-Pelagic, *Johnius belangerii*, Fish from Three Estuaries, Persian Gulf. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89: 489-494.
- Abdolahpur Monikh, F.; Karami, O.; Hosseini, M.; Karami, N.; Abdi Bastami, A. and Ghasemi, A. (2013). The effect of primary producers of experimental aquatic food chains on mercury and PCB153 biomagnification. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 94: 112-115.
- Anderson, M.J.; Miller, M.R. and Hinton, D.E. (1996a). In vitro modulation of 17 β -estradiol induced vitellogenin synthesis: effects of cytochrome P4501A1 inducing compounds on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver cells. *Aquatic Toxicology*, 34: 327-350.
- Anderson, M.J.; Olsen, H.; Matsumura, F. and Hinton, D.E. (1996b). In vivo modulation of 17 β -estradiol induced vitellogenin synthesis and estrogen receptor in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver cells by b-naphthoflavone. *Toxicologic and Applied Pharmacology*, 137: 210-218.
- Banayi, M.; Mirvaghefi, A.; Ahmadi, K. and Ashori, R. (2013). The effect of diazinon on histopathological changes of testis and ovaries of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Marine Biology*, 12: 14-25.
- Bone, Q.; Marshall, N.B. and Blaxter, J.H.S. (1995). *Biology of fishes*, 2nd Chapman and Hall. London.
- Breton, B.; Govoroun, M. and Mikolajczyk, T. (1998). GTH I and GTH II Secretion Profiles during the Reproductive Cycle in Female Rainbow Trout: Relationship with Pituitary Responsiveness to GnRH-A Stimulation. *General and Comparative Endocrinology*, 111(1): 38-50.
- Hecker, M.; Thomas Sanderson, J. and Karbe, L. (2007). Suppression of aromatase activity in populations of bream (*Abramis brama*) from the river Elbe, Germany. *Chemosphere*, 66: 542-552.
- Hesp, S.A.; Potter, I.C. and Hall, N.G. (2004). Reproductive biology and protandrous hermaphroditism in *Acanthopagrus latus*. *Environmental Biology of Fishes*, 70: 252-272.
- James, M.O. (2010). Steroid catabolism in marine and freshwater fish. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127 (3-5): 167- 175.
- Karels, A.; Markkula, E. and Oikari, A. (2001). Reproductive, biochemical, physiological, and population responses in perch (*Perca fluviatilis* L.) and roach (*Rutilus rutilus* L.) downstream of two elemental chlorine-free pulp and paper mills. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(7): 1517-1527.
- Khan, I.A. and Thomas, P. (2001). Disruption of neuroendocrine control of luteinizing hormone secretion by aroclor 1254 involves inhibition of hypothalamic tryptophan hydroxylase activity. *Biology of Reproduction*, 64(3): 955-964.
- McConnaughey, R.A. and Smith, K.R. (2000). Associations between flatfish abundance and surficial sediments in the eastern Bering Sea. *Can. Journal of Fish Aquatic Science*, 57: 2410-2419.
- Magar, R.S. and Bias, U.E. (2013). Histopathological impact of malathion on the ovary of the fresh water fish *Channa punctatus*. *International Research Journal of Environment Sciences*, 2(3): 59-61.
- Mohamed, F.A.S. (2009). Histopathological studies on *Tilapia zillii* and *Solea vulgaris* from Lake Qarun, Egypt. *World Journal of Fish and Marine Science*, 1(1): 29-39.
- Safahieh, A.; Babadi, S.; Nabavi, M.B.; Ronagh, M.T. and Ghanemi, K. (2013). Assessment of mercury intake through consumption of yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) from Mussa estuary. *Journal of Life Science and Technology*, 1 (2): 142-146.

- Santos, J.E.; Padilha, G.E.V.; Bomcompagni-Junior, O.; Santos, G.B.; Rizzo, E. and Bazzoli, N. (2008). Ovarian follicle atresia is mediated by heterophagy, autophagy, and apoptosis in *Prochilodus argenteus* and *Lepronus taeniatus* (Teleostei : Characiformes). *Theriogenology*, 70: 1449-1460.
- Spies, R.B.; Stegeman, J.J.; Hinton, D.E.; Woodin, B.; Smolowitz, R.; Okihiro, M. and Shea, D. (1996). Biomarkers of hydrocarbon exposure and sublethal effects in embiotocid fishes from a natural petroleum seep in the Santa Barbara Channel. *Aquatic Toxicology*, 34: 195-219.
- Thibaut, R. and Porte, C. (2004). Effects of endocrine disrupters on sex steroid synthesis and metabolism pathways in fish. *Journal Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 92: 484-494.
- Thomas, P. and Budiantara, L. (1995). Reproductive life history stages sensitive to oil and naphtalen in Atlantic croaker. *Marine Environmental Research*, 39(1): 147-150.
- Ulloa-Aguirre, A.; Midgley, A.R.; Beitins, I.Z. and Padmanabhan, V. (1995). Follicle-stimulating isohormones: characterization and physiological relevance. *Endocrine Reviews*, 16(6): 765-787.
- Wood, A.W. and van Der Kraak, G. (2002). Inhibition of apoptosis in vitellogenic ovarian follicles of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by salmon gonadotrophin, epidermal growth factor and 17 β -estradiol. *Molecular Reproduction and Development*, 61: 511-518.

Histometrical and histophysiological evaluation of female gonad in two fish species yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) and sole (*Euryglossa orientalis*) from the Mussa creek

Khalifi, Kh.¹; Salamat, N.²; Movahedinia, A.³ and Parviz Salati, A.⁴

Received: 29.05.2018

Accepted: 23.01.2019

Abstract

This study aimed to investigate the gonadal tissue structure and sexual hormones in the yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) and sole (*Euryglossa orientalis*) collected from the Mussa creek. For this purpose, about 1200 fish (10fish/species/station) were collected from five selected stations in Mussa creek including Petrochemical, Gafari, Majidieh, Ghazaleh and Zangi stations and Genaveh Port station (as control). After the biometrical assay, bleeding was conducted from the fish caudal vein and blood samples were moved to heparinized microtubes and serum was separated after centrifuging. Also, tissue samples were taken from the ovary and fixed in formalin. Tissue samples passed through a routine histological process and the tissue sections were prepared and stained with H&E. later, histological sections were studied under light microscope and microphotographs were prepared using Dino lite with Dinocapture software. The steroid hormones including 17- β estradiol (E2) and testosterone (T) were measured using the radioimmunoassay (RIA) method and gonadotropin hormones (GTHI and GTHII) were also measured by IRMA method. The most follicles observed in the ovarian samples of both species from different stations were in previtellogenic stages including chromatin-nucleolus, prenucleolus and cortical alveoli follicles. Also an increase in the interstitial connective tissue and atretic follicles were recorded in the ovarian samples from some stations especially Petrochemical station. The results showed that the level of steroids (E2 and T) was lower in fish from the Petrochemical station than others, while GTHs reached the highest level in these fish. Generally, the most alterations in gonadal tissue structure in both fish species were recorded in the petrochemical station, probably due to waste waters released into the water in this station from various petrochemical and color alkali industries surrounded this station.

Key words: *Acanthopagrus latus*, *Euryglossa orientalis*, 17- β estradiol, Mussa creek, Ovary, Testosterone

1- MSc Graduated of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

2- Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

3- Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

4- Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

Corresponding Author: Salamat, N., E-mail: salamatnegin@yahoo.com