

مطالعه اثرات هیستوپاتولوژیک آلاینده‌های آلی (نفتالن و بوتاکلر) بر گنادهای ماهی حوض (*Carassius auratus*)

فاطمه نظر حقیقی^۱، بهروز حیدری^{۲*}، مریم اقدامی^۳

۱- دکتری اکولوژی دریا، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت

۲- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان

۳- کارشناس ارشد زیست دریا، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد واحد

علوم و تحقیقات تهران

چکیده

امروزه سیستم تولیدمثلی ماهیان به عنوان یک مدل با ارزش جهت بررسی اثرات قابل ملاحظه ترکیبات برهم‌زننده اندوکرینی مورد توجه است. این مطالعه نیز به اثرات هیستوپاتولوژیکی نفتالن و بوتاکلر بر بافت گنادهای ماهی حوض به عنوان مدل زنده مناسب می‌پردازد. بدین منظور ماهیان سالم از مرکز پرورش ماهی تهیه شده، پس از یک هفته سازگاری با شرایط آزمایشگاهی، به مدت ۱۵ روز در معرض نفتالن به میزان $200 \mu\text{g/L}$ و بوتاکلر 60% به میزان $0.28 \mu\text{L/L}$ قرار داده شدند. سپس بافت بیضه و تخمدان در بوئن فیکس شد و پس از طی مراحل معمول بافت‌شناسی، از آن‌ها برش‌های $6 \mu\text{m}$ میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی شد. مهم‌ترین تغییرات قابل مشاهده در بافت بیضه شامل دژنره شدن سلول‌های زاینده، تکثیر و هیپرتروفی سلول‌های سرتولی، توسعه بافت همبند و فیبروزه شدن بافت بیضه، ممانعت از توسعه لوله‌های اسپرم‌ساز، مشاهده لوله‌های منی‌ساز پر از اسپرم‌های رسیده (در تیمار نفتالن) و لوله‌های منی‌ساز فاقد اسپرم (در تیمار بوتاکلر). این علائم به طور عمده در گروه شاهد مشاهده نشدند. مشاهدات میکروسکوپ نوری نشان داد که در تخمدان نمونه‌های شاهد، اووسیت‌های مراحل پیش‌زرده‌سازی و کورتیکال قشری به نسبت تقریباً برابر وجود داشت، اما در تیمار نفتالن بیش‌تر اووسیت‌های تخمدان در مرحله پیش‌زرده‌سازی قرار داشتند و هنوز وارد مرحله بعدی نشده بودند. در تیمار بوتاکلر بخش اعظم اووسیت‌ها در مرحله دوره‌ستکی و کورتیکال قشری قرار داشتند. در مجموع می‌توان بیان کرد که برهم‌زننده‌های اندوکرینی توانایی تغییر در مراحل مختلف رشد گنادهای ماهی حوض را دارند.

واژگان کلیدی: آسیب‌شناسی بافتی، ماهی حوض، تولید مثل.

تاریخ پذیرش: خرداد ۹۳

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۹۳

* نویسنده مسئول: bheidari@guilan.ac.ir

مقدمه

آلاینده‌های زیست‌محیطی که دارای فعالیت استروژنی و برهم‌زننده سیستم اندوکرینی هستند به علت اثرات بالقوه بر کارایی تولیدمثلی انسان و حیات وحش، در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. برهم‌زننده سیستم اندوکرینی به حضور ترکیبات ساخته دست بشر یا مواد طبیعی در محیط زیست گویند که قابلیت ایجاد اختلال در عملکرد طبیعی این سیستم را دارند (Maxwell and Dutta, 2005; Miles-Richardson et al., 1999). بعضی از حشره کش‌ها، داروها و مواد صنعتی، حاوی ترکیباتی با فعالیت استروژنیک هستند. اگرچه این مواد به لحاظ شیمیایی با استروژن‌های استرادیولی متفاوت هستند اما پژوهش‌ها نشان داده که برخی از آن‌ها قادر هستند که همانند هورمون‌های طبیعی سیستم تولیدمثلی در جانوران آزمایشگاهی عمل کرده، با گیرنده‌های استروژن پیوند یابند و اثرات زیستی برجای گذارند. از جمله ممکن است عملکرد نادرست و تغییر در گنادها اتفاق بیفتد و منجر به بروز اثرات مخربی در افراد و جمعیت‌ها شود (Miles-Richardson et al., 1999). شواهد نشان می‌دهد بسیاری از جانداران آبی مقدار قابل توجهی از ترکیبات شیمیایی سنتزی و طبیعی را به عنوان برهم‌زننده‌های اندوکرینی^۱ (EDCs) دریافت می‌کنند که می‌توانند تهدیدکننده سلامت دستگاه تولیدمثلی جمعیت ماهیان باشند (Hiramatsu et al., 2006). با توجه به این که اکثر زمین‌های کشاورزی در مسیر رودخانه‌ها واقع شده‌اند، زهاب آلوده شده توسط آفت‌کش‌ها می‌تواند بر تولیدمثل و ویژگی‌های فیزیولوژیکی ماهیانی که برای تخم‌ریزی به رودخانه‌ها مهاجرت می‌کنند تأثیرگذار باشد (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱). به همین دلیل سیستم تولیدمثلی ماهیان به عنوان یک مدل با ارزش جهت بررسی اثرات ترکیبات برهم‌زننده اندوکرینی مانند آفت‌کش‌ها مورد توجه قرار گرفته است. (Nicolas, 1999). یکی از این سموم کشاورزی پرمصرف، سم بوتاکلر یا علف‌کش ماچتی است که جهت مبارزه با علف‌های هرز مزارع برنج در استان گیلان مورد استفاده قرار می‌گیرد (خارا و همکاران، ۱۳۸۷).

آسیب‌شناسی بافتی یا تغییرات سلولی در بافت‌ها به عنوان شاخص زیستی ارزیابی اثرات استرس‌های محیطی به کار می‌رود.

1- Endocrine Disrupting Chemicals

گلد فیش یا ماهی حوض مکررا برای اهداف مختلف آزمایشی و مطالعات سمیت‌شناسی مورد استفاده قرار گرفته است (Blazer, 2002). این گونه بومی منطقه شرق آسیا و کشور چین است (Franzle, 2003). در این مطالعه به بررسی اثر بلند مدت نفتالن و بوتاکلر بر اختلالات اندوکرینی در رسیدگی گناد نر و ماده با استفاده از مشاهدات بافت‌شناسی به عنوان قابل دسترس‌ترین شاخص زیستی میزان اثر آلاینده‌ها، پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه‌برداری از ماهی حوض در مرداد ماه ۱۳۹۱ از یک استخر پرورش ماهی در حومه شهر رشت انجام گرفت و نمونه‌ها (وزن $31/47 \pm 100/97$ ، سن 3.2 ± 0.1 و طول $19/14 \pm 2/23$ cm) به آزمایشگاه زیست‌دریا دانشکده علوم دانشگاه گیلان انتقال یافتند. نمونه‌ها بعد از سازگاری با شرایط آزمایشگاهی، به آکواریوم‌های ۷۰ لیتری منتقل شدند. تعداد نمونه‌ها در هر آکواریوم ۱۰-۱۲ قطعه بود. آب آکواریوم‌ها هر سه روز یکبار تعویض و ماهی‌ها توسط غذای آماده تغذیه می‌شدند. طی دوره آزمایش دما و pH هر روز کنترل شدند. ماهیان به مدت ۱۵ روز تحت تیمارهای نفتالن و بوتاکلر قرار گرفتند. بدین ترتیب که نفتالن به میزان $200 \mu\text{g}$ پس از حل شدن در یک لیتر اتانول (Pollino et al., 2009) و بوتاکلر ۶۰٪ به میزان $0/28 \mu\text{L/L}$ (Wany et al., 1992) به آکواریوم‌ها اضافه شدند. لازم به ذکر است که هم‌زمان با تعویض آب، مقادیر فوق مجدداً به محیط آکواریومی اضافه می‌شدند.

بافت‌شناسی گناد

به منظور بررسی‌های بافتی، گناد نر و ماده بعد از تشخیص جنسیت برداشته شده، در محلول بوئن به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت فیکس شدند. سپس نمونه‌ها تا انجام سایر مراحل بافت‌شناسی به الکل ۷۰٪ انتقال یافتند. از قطعات ۲-۳ سانتی‌متری بافت‌های فیکس شده، پس از انجام مراحل معمول بافت‌شناسی (آب‌گیری، شفاف‌سازی، نفوذ پارافین، قالب‌گیری) برش‌هایی با ضخامت ۶

میکرون تهیه و با روش همتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی شد. اسلایدهای تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی و به کمک دوربین دیجیتال عکس‌برداری شدند.

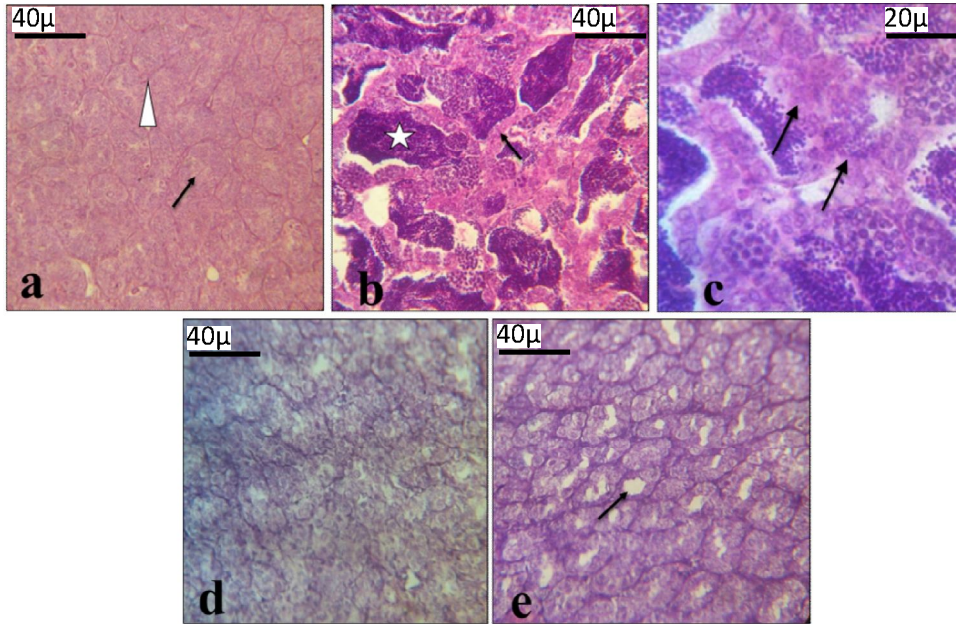
نتایج

بافت‌شناسی بیضه

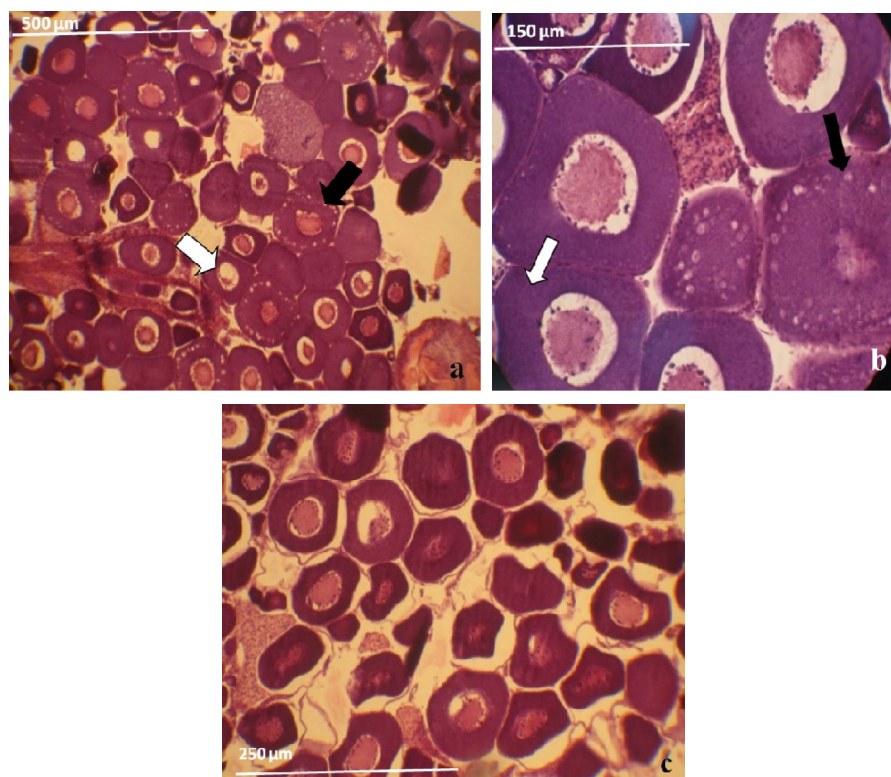
پس از انجام آزمایش و بررسی میکروسکوپی لام‌های تهیه شده از مقاطع مختلف بیضه، نتایج نشان داد که در گروه شاهد ساختار طبیعی بیضه قابل مشاهده است با ذکر این نکته که بافت بیضه شاهد در مراحل ابتدایی رسیدگی قرار داشت و بیضه پر از اسپرماتوگونی قابل تشخیص بود (شکل ۱-۲). اما ساختار گناد در تیمارهای نفتالن و بوتاکلر تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای را در مقایسه با بافت گناد در نمونه‌های شاهد نشان داد. در تیمار نفتالن دژنره شدن سلول‌های زاینده، تکثیر و هیپرتروفی سلول‌های سرتولی، توسعه بافت همبند و فیبروزه شدن بافت بیضه به وضوح قابل تشخیص بود (شکل ۱-۲ b و c). همچنین مشاهده لوله‌های منی‌ساز پر از اسپرم‌های رسیده در تیمار نفتالن از دیگر نتایج این مطالعه بود. ممانعت از توسعه لوله‌های اسپرم‌ساز و لوله‌های منی‌ساز فاقد اسپرم در تیمار بوتاکلر از عوارض عمده قابل تشخیص در این تیمار بود. دژنره شدن سلول‌های زاینده، تکثیر و هیپرتروفی سلول‌های سرتولی و دژنره شدن دیواره لوله‌های منی‌ساز نیز در تیمار بوتاکلر قابل مشاهده بود (شکل ۱-۲ d, e و f).

بافت‌شناسی تخمدان

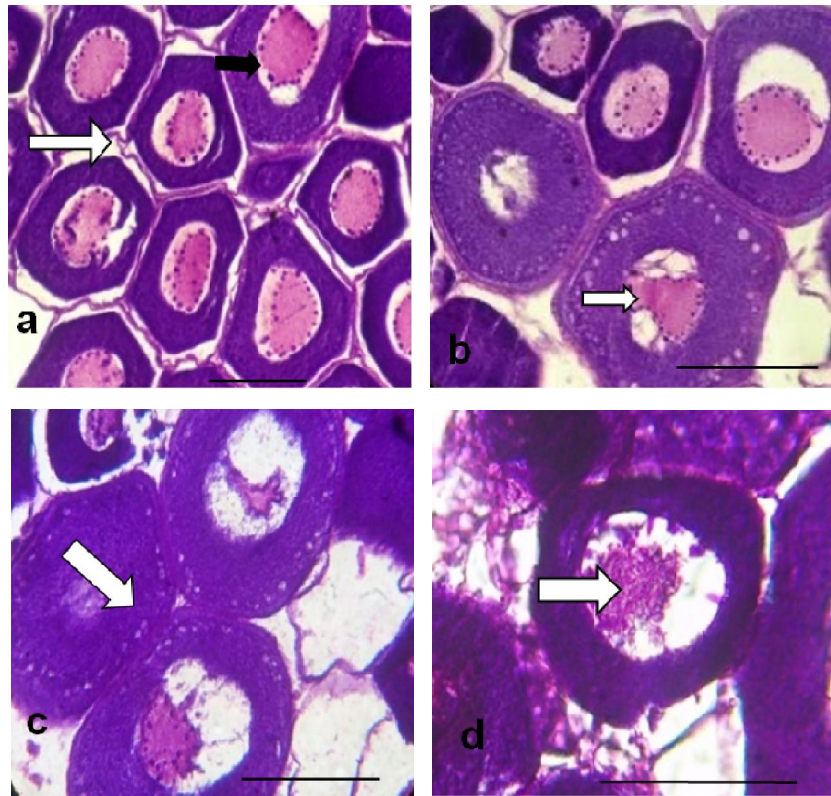
بررسی میکروسکوپی لام‌های تهیه شده از مقاطع مختلف تخمدانی نیز نشان داد که در گروه شاهد اووسیت‌های مرحله پیش‌زرده‌سازی و کورتیکال قشری به نسبت تقریباً برابر اما به نفع تعداد اووسیت‌های قرارگرفته در مرحله کورتیکال قشری قابل مشاهده بودند (شکل ۲-۱ a و b). بررسی لام‌های تهیه شده از تخمدان‌های تیمار نفتالن نیز نشان داد که بیش‌تر اووسیت‌های تخمدان در مرحله پیش‌زرده‌سازی قرار داشتند و هنوز وارد مرحله زرده‌سازی نشده بودند (شکل ۲-۱ c). همچنین بررسی تیمار بوتاکلر نشان داد که درصد برابری از اووسیت‌ها در مراحل دوره‌ستکی و واکوئول قشری قرار داشت (شکل ۲-۱ a, b و c).



شکل ۱: (a) ساختار بافت گناد نر در نمونه شاهد، لوله‌های اسپرم‌ساز حاوی اسپرم‌هایی در مراحل اولیه تکامل (پیکان) با دیواره مشخص (نوکل پیکان) ($\times 100$)؛ (b) لوله‌های منی‌ساز پر از اسپرم‌های رسیده (ستاره) و توسعه بافت همبند و فیبروزه شدن آن (پیکان) در تیمار نفتالن ($\times 100$)؛ (c) تکثیر و هیپرتروفی سلول‌های سرتولی در تیمار نفتالن (پیکان) ($\times 400$)؛ (d) لوله‌های منی‌ساز فاقد اسپرم در تیمار بوتاکلر به همراه دژنره شدن دیواره این لوله‌ها ($\times 100$)؛ (e) دژنره شدن سلول‌های زاینده در تیمار بوتاکلر (پیکان) ($\times 100$).



شکل ۲: (a و b) بافت‌شناسی تخمدان شاهد حاوی اووسیت‌های در مرحله پیش‌هستکی (پیکان سفید) و واکوئل قشری (پیکان تیره)؛ (b) تخمدان شاهد حاوی اووسیت‌هایی در مرحله واکوئل قشری (پیکان سفید)؛ (c) برش عرضی بافت تخمدان در تیمار نفتالن که بیش‌تر اووسیت‌ها در مرحله پیش زرده‌سازی قرار دارند و مرحله واکوئل قشری در آن‌ها دیده نمی‌شود.



شکل ۴: بافت‌شناسی تخمدان تیمار بوتاکلر؛ (a) اووسیت‌ها در مرحله دور هستگی (پیکان تیره)؛ (b) اووسیت‌ها در مرحله دور هستگی (پیکان سیاه) و واکوئل قشری (پیکان سفید)؛ (c) اووسیت‌های مرحله واکوئل قشری با هسته‌هایی با پروتوپلاسم تجمع یافته (پیکان سفید)؛ (d) اووسیت‌ها در مرحله دور هستگی با هسته در حال تخریب (پیکان سفید)؛ خط مقیاس: 100µm.

بحث

آسیب‌های بافتی بالاترین سطح پاسخی است که تغییرات قبلی در عملکرد فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی موجود زنده را منعکس می‌کند (Nero et al., 2006). نتایج حاصل از بررسی بافت

گناد نر در تیمارها و مقایسه آن با نمونه شاهد در جنس نر ماهی حوض نشان می‌دهد که نفتالن سبب پیشرفت مراحل تکوینی در ماهیان این تیمار شده است در حالی که در اکثر ماهیان نر شاهد، اسپرمها در مراحل ابتدایی رسیدگی قرار داشتند. آلاینده بوتاکلر در جنس نر ماهی حوض سبب القای رسیدگی جنسی نشده اما نشانه‌های دژنره شدن و تحلیل سلول‌های دیواره لوله‌های اسپرم‌ساز به وضوح مشخص است.

بررسی‌ها نشان داده‌اند که قرارگیری در معرض برهم‌زننده‌های اندوکرینی (EDC) می‌تواند میزان استروئیدهای جنسی را تغییر دهد (Chang et al., 2013). هیدروکربن‌های آروماتیک مانند نفتالن می‌توانند فعالیت آنتی استروژنی داشته باشند و با استروژن‌ها در اتصال به گیرنده رقابت کنند (Scholza and Mayer, 2008). بوتاکلر نیز دارای ترکیب شیمیایی نزدیک به استروژن‌ها است، به طوری که می‌تواند بر سیستم تولیدمثلی ماهیان اثرات مخربی داشته باشد (Lasheidani et al., 2008). در هر دو تیمار این آزمایش عارضه نکروز اسپرم‌ها، تکثیر بی‌رویه سلول‌های سرتولی و سلول‌های تشکیل دهنده دیواره لوله‌های اسپرم‌ساز و تحلیل رفتن محسوس آن‌ها به ویژه در تیمار بوتاکلر قابل تشخیص است که حاکی از اثرات مشابه این ترکیب شبه استروژنی است. دژنره شدن یا نکروز اسپرم‌ها بعد از قرارگیری در معرض ترکیبات استروژنی در بررسی‌های محیطی و آزمایشگاهی در مطالعات مختلفی مشاهده شده است. هیپرپلازی یا تکثیر بی‌رویه و هیپرتروفی سلول‌های سرتولی نیز به دلیل قرارگیری در معرض ترکیبات استروژنی، در ماهیان استخوانی گوناگونی دیده شده است (Blazer, 2002). محققین معتقدند که افزایش نکروزه شدن سلول‌های اسپرمی توسط ترکیباتی که سبب وقفه در بلوغ سلول‌های زاینده نیز می‌شوند، با تکثیر سلول‌های سرتولی مرتبط است (Miles-Richardson, et al. 1999).

همان طور که ذکر شد هیدروکربن‌های آروماتیک می‌توانند فعالیت آنتی استروژن داشته باشند و با استروژن‌ها در اتصال به گیرنده رقابت کنند. به علاوه می‌توانند از بیان ژن‌های مربوط به آنزیم آروماتاز (ژن P450 A19) جلوگیری به عمل آورده، در نتیجه از فعالیت این آنزیم که سبب القاء حلقه آروماتیک در هورمون‌های آندروژن و تبدیل آن‌ها به ۱۷-بتا استرادیول می‌شود، جلوگیری کنند (Scholza and Mayer, 2008). نتیجه این فرآیند کاهش ۱۲-بتا استرادیول در پلاسما و به تبع آن به تاخیر افتادن رسیدگی تخمک و کاهش ویتلوژنین و در ماهیان است. همچنین

آسیب‌های وارده به اووسیت‌ها در اثر این قبیل آلاینده‌های آلی می‌تواند بر قابلیت این سلول‌ها در تولید استرادیول و تحریک چرخه رسیدگی تخمک‌ها تأثیر داشته باشد (Maxwell and Dutta, 2005). نتایج این مطالعه نیز نشان داد که نفتالن به عنوان یکی از ترکیبات برهم‌زننده سیستم اندوکرینی آبزیان قادر است با جذب شدن از محیط و ورود به محیط داخلی بدن سبب بروز تغییر در رسیدگی جنسی تخمدان ماهیان ماده تیمار شده با آن شود و از سوی دیگر با ایجاد آسیب‌های بافتی نیز بر شدت عوارض حاصل بیفزاید.

تاکنون مطالعات مختلفی در جهان راجع به میزان سموم کشاورزی در اکوسیستم‌های آبی و اثرات آن‌ها بر جانوران آبی صورت گرفته است. بسیاری از ترکیبات شیمیایی تولید شده در قرن اخیر توانایی تأثیر بر سیستم نورواندوکرینی مهره‌داران را که تنظیم‌کننده فرآیندهای حیاتی مانند، رشد، متابولیسم و تولیدمثل است، دارند (Hiramatsu et al., 2006). بررسی‌ها نشان داده است که قرارگیری در معرض EDCها می‌تواند میزان استروئیدهای جنسی را تغییر دهد و از این طریق بر کیفیت تخم‌ها در طول گامتوزن تأثیر بگذارد. در مطالعه اثر بوتاکلر بر ماهی گورخری نر و ماده مشخص شد که این ترکیب با غلظت $100 \mu\text{g/L}$ در نرها سبب بالارفتن سطح ویتلوژنین در پلاسمای خون شده، در حالی که در ماده‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد (Chang et al., 2013). در مطالعه قبل، تعداد اووسیت‌های وارد شده به مرحله شروع زرده‌سازی در تیمار بوتاکلر نسبت به شاهد افزایش یافت که می‌تواند مربوط به اثر شبه استروژنی بوتاکلر در تولید زرده باشد. همچنین مشخص شد که این ترکیب سبب کاهش نرخ باروری، کاهش تعداد تخم‌ها در هر تخم‌ریزی و نیز کاهش وقوع عمل تخم‌ریزی می‌شود (Chang et al., 2013).

در مجموع به نظر می‌رسد که EDCها نه تنها به لحاظ هورمونی می‌توانند سبب ایجاد تغییراتی در فعالیت سلول‌های جنسی شوند بلکه می‌توانند در مراحل مختلف تکوین این سلول‌ها حتی از ابتدای تکوین هم تأثیرگذار باشند. انجام بررسی‌ها و کسب نتایجی از این دست حاکی از حساسیت بالای محیط آبی به عنوان پذیرنده نهایی آلودگی‌های حاصل از فعالیت‌های بشر در کلیه عرصه‌ها است و بر اهمیت توجه روزافزون مدیران این حوزه در کنترل آن صحنه می‌گذارد.

منابع

- اسماعیلی ساری ع.، ۱۳۸۱. آلاینده‌ها، بهداشت و استاندارد در محیط زیست. انتشارات نقش مهر.
- خارا ح.، آملی سالار ج.، مظلومی ح.، نظامی ش.، زلفی نژاد ک.، خداپرست س.ج.، حسن ج.، اکبرزاده ا.، محمدی س.، پورقلی س.، احمدنژاد م.، احمدزاده ت.، قلی‌پور ز.، تقی‌زاده م.، ۱۳۸۷. بررسی و اندازه‌گیری فصلی سموم کشاورزی (هینوزان، ماچتی و دیازینون) در آب رودخانه اشک (شرق گیلان)، مجله علوم زیستی واحد لاهیجان، سال دوم، شماره ۱، ۲۹-۴۳.
- Blazer V.S. 2002.** Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26: 85–101.
- Chang J., Liub S., Zhouc S., Wanga M. and Zhub G. 2013.** Effects of butachlor on reproduction and hormone levels in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65: 205–209.
- Franzle O. 2003.** Bioindicators and environmental stress assessment. Bioindicators and biomonitors. In: Bioindicators and Biomonitors . Markert B.A., Breure A.M., Zechmeister H.G., (Eds). Elsevier Science Ltd, pp: 41–84.
- Hiramatsu N., Matsubara T., Fujita T., Sullivan C.V. and Hara A., 2006.** Multiple piscine vitellogenins: Biomarkers of fish exposure to estrogenic endocrine disruptors in aquatic environments. *Marine Biology*, 149:35–47.
- Lasheidani M.F., Balouchi S.N., Keyvan A., Jamili S. and Falakrou K. 2008.** Effects of butachlor on density, volume and number of abnormal sperms in Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*, Kamenskii 1901). *Research Journal of Environmental Sciences*, 2(6): 474–482.
- Maxwell L.B. and Dutta H.M. 2005.** Diazinon-induced endocrine disruption in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 21–27.
- Miles-Richardson S.R., Kramer V.J., Fitzgerald S.D., Render J.A., Yamini B., Barbee S.J. and Giesy J.P. 1999.** Effects of waterborne exposure of 17 b-estradiol on secondary sex characteristics and gonads of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Aquatic Toxicology*, 47: 129–145.
- Nero V., Farwell A., Lister A., van Der Kraak G., Lee L.E.J., van Meer T., MacKinnin M.D. and Dixon D.G. 2006.** Gill and liver histopatological

changes in yellow perch (*Perca flavescens*) and gold fish (*Carasius auratus*) exposed to oil sands process-affected water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63: 365–377.

Nicolas J.M. 1999. Vitellogenesis in fish and the effects of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminants. *Aquatic Toxicology*, 45: 77–90.

Pollino C.A., Georgiades E., and Holdway D.A. 2009. Physiological changes in reproductively active rainbowfish (*Melanotaeni afluviatilis*) following exposure to naphthalene. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1265–1270.

Scholza S. and Mayer I. 2008. Molecular biomarkers of endocrine disruption in small model fish *Molecular and Cellular. Endocrinology*, 293: 57–70.

Wany Y.S., Jaw C.G., Tang H.C., Lin T.S. and Chen Y.L., 1992. Accumulation and release of herbicides Butachlor, Thiobencarb, and Chlomethoxyfen by fish, clam, and shrimp. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 48: 474–480.

Histopathological effect of organic pollutant on male and female gonads of Goldfish (*Carassius auratus*)

Fatemeh Nazarhaghighi¹, Behrooz Heidari^{2*}, Maryam Eghdami

1- Ph.D. in Marine Biology, Department of Microbiology, Faculty of Science, Science and Research Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Assistant Professor in Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.

3- M.Sc. in Marine Biology, Department of Biology, Science and Research Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: May 2013

Accepted: Jun 2014

Abstract

Today, the reproductive systems of fish as a valuable model to study the effects of the significant components of the vile endocrine disruption have been considered. This study was inspected the testis and ovary histopathological change in *Carassius auratus* (Goldfish) as a suitable alive model, exposed to two common pollutants Naphthalene, Butachlor. The fishes received Naphthalene, Butachlor (with doses of 200 µg/l, 0.28 µg/l respectively) during 15 days including control treatment (without the chemicals). At the end of experiment gonad tissue was examined after fixed by fixative, processed, and embedded in paraffin as sectioned at 6µ thickness. Further stained by Hematoxylin-Eosin general method. Histopathological lesions observed in the testes included degenerated germ cells, proliferation and hypertrophy of Sertoli cells, development of connective tissue, fibrosis and inhibited development of lobules, filled seminiferous tubules with fertile sperm (at Naphthalene treatment), seminiferous tubules with no fertile sperm in it (at Butachlor treatments). These markers weren't observed in control group and indicate that environmental contaminants can disrupt reproductive system of the aquatic animals. Histopathological lesions observed in the ovary included degenerated oocytes, cytoplasmic retraction, adhesion of the oocytes, karyoplasmic clumping and its retraction within the oocytes and anucleated oocytes. In the ovary of control treatment, most of oocytes were at vitellogenesis stage, but in Naphthalene treatment the majority of the oocytes observed at previtellogenesis. In general it can be concluded that endocrine disruption has ability to change various stages of gonadal development and gamete development stages of males and females fish.

Key words: Histopathology, Goldfish, Reproduction.

*Corresponding Author: bheidari@guilan.ac.ir