

اثرات هیستوپاتولوژیک فلزات سنگین بر بافت آبشش و کبد ماهی

امید کوهکن^{۱*}، نرگس شیبک^۲

۲۰۱- دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی

کد مقاله: ۹۵۰۲

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۳/۲۰

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۲/۰۱

چکیده

فلزات سنگین موجود در محیط در بیشتر بافتهای ماهی تاثیرات بسزایی دارد که اولین تاثیر آن بر روی بافت آبشش ماهی است. چرا که این بافت به راحتی در تماس با آب و آلاینده های موجود در آن است و عوارضی از قبیل جدا شدن اپیتلیوم، هایپرتروفی، هایپرپلازی، پرخونی و موکوس فراوان را نشان می دهد. کبد نیز در متابولیسم اولیه مواد سمی درگیر بوده و صدماتی از جمله پرخونی، نکروز و تورم هیپاتوسیت، خونریزی، آتروفی، تورم ابری می باشد.

کلیدواژه: فلزات سنگین، بافت شناسی، آبشش ماهی، کبد ماهی

* Corresponding author

E-mail address: O.kohkan@cmu.ac.ir

Postal Address: Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

مقدمه

یکی از نگرانی‌های مهم و رو به رشد زیست محیطی بویژه در اکوسیستم‌های آبی، ورود و تأثیر آلاینده‌های مختلف می‌باشد که علی‌رغم وجود قوانین مربوطه، آلودگی محیط‌های آبی با آلاینده‌های شیمیایی و سمی حاصل از فعالیت‌های شهری، کشاورزی، تجاری و صنعتی ادامه دارد (Hossam & Fagr, 2007; White & Rasmussen, 1998). میزان تأثیر یک آلاینده بر محیط زیست به عوامل مختلفی از جمله نوع آلاینده، میزان ورود و مدت زمان حضور آلاینده در محیط و برهمکنش یک آلاینده با آلاینده‌های دیگر و اجزای طبیعی اکوسیستم بستگی دارد. فلزات سنگین به عنوان یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های اکوسیستم‌های ساحلی مطرح می‌باشند که سالیانه رو به افزایش است (Majer et al., 2002). این فلزات به دلیل تجمع بافتی، تجزیه ناپذیری و سمیت زیاد برای آبزیان می‌توانند اثرات مشخص و پایداری بر موجودات داشته باشند. فلزات سنگین آلاینده‌های پایداری (Stable pollution) هستند و از طریق فرآیندهای شیمیایی و زیستی تجزیه نمی‌شوند. نتیجه مهم این پایداری، وسعت زیاد آن در زنجیره غذایی است، بطوریکه مقدار آن در زنجیره‌های غذایی می‌تواند چند برابر مقدار آن در آب و هوا باشد (خدابنده و همکاران، ۱۳۷۹؛ شهریاری، ۱۳۸۴). بررسی اثرات سیتوتوکسیک برخی از فلزات سنگین نشان دهنده این حقیقت بوده است که بصورت بالقوه موتاژن بوده و باعث شکل‌گیری تومور در موجودات مورد آزمایش و افراد مواجه با آن شده است (Garcia-Rodriguez et al., 2001).

ماهی منبع بسیار خوبی از پروتئین در رژیم غذایی انسان است. از مهمترین ویژگی‌های منحصربفرد ماهی با سایر منابع پروتئین حیوانی وجود اسیدهای چرب امگا ۳ مانند اسید لینولیک، دکوزا هگزانوئیک اسید (DHA) و ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) است. DHA باعث افزایش توانایی یادگیری در کودکان و بهبود حافظه در بزرگسالان می‌شود. این اسید چرب برای رشد و نمو جنین نیز ضروری است. اسید چرب امگا برای قلب مفید بوده و با بهبود عملکرد انسولین باعث کنترل دیابت می‌گردد (Lee & Reasner, 2005; Lemos et al., 1994). به همین دلیل باید ماهی در رژیم غذایی انسان حداقل ۱,۳ کیلوگرم در هفته گنجانده شود (FAO, 1989). با این حال، زیستگاه‌های ماهیان بصورت نگران‌کننده‌ای توسط آلاینده‌های آبی آلوده شده است که در این میان فلزات سنگین بیشترین ضرر را برای ماهیان دارند و خطرناکترین آلاینده‌های زیست محیطی محسوب می‌شوند (Al-Attar, 2005; Muthukumaravel & Rajaraman, 2013) و این امر به این دلیل است که فلزات سنگین ممکن است رسوب کنند، توسط رسوب جذب شوند، بصورت محلول یا معلق در آب باقی بمانند و در نهایت توسط جانوران آبی بواسطه آب ورودی به بدن جذب شوند (Puttaiah & Kiran, 2007; Mohamed, 2008; Abalaka, 2015). فلزات پس از ورود از طریق

آبشش، پوست و یا بلعیدن و سیستم گوارش جذب و در بافت های مختلف تجمع می یابند، میزان سمیت فلزات سنگین تحت تاثیر دما، غلظت اکسیژن، pH و سختی آب قرار دارد (Abalaka, 2015). این آلاینده ها نه تنها ماهیان بلکه سلامت انسان ها را نیز از طریق ورود به زنجیره غذایی تهدید می کنند. پاسخ های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، رفتاری، جمعیتی، سلولی و هیستوپاتولوژیکی از فاکتورهایی هستند که به عنوان نشانگرهای زیستی برای تشخیص میزان سلامت محیط استفاده می گردد (Van der oost et al., 2003). بررسی بافت شناسی و وضعیت بافتی از جمله پارامترهای ایمنی شناسی هستند که برای مطالعه ماهیان در معرض آلاینده های محیطی یکار می رود (صادقی و همکاران، ۱۳۹۴؛ Wester et al., 1994).

بافت کبد

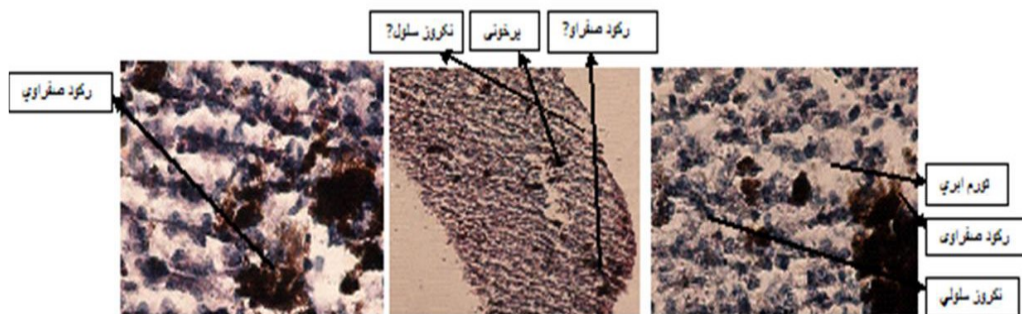
همانطور که گفته شد مطالعه و مشاهده تغییرات هیستوپاتولوژیک و آسیب شناختی راهی مطمئن جهت ارزیابی تاثیرات آلاینده ها و عوامل خارجی بویژه فلزات سنگین می باشد. کبد ارگانی است که متابولیسم مواد غیرزیستی را انجام می دهد و این کار را عمدتاً با ایجاد تغییراتی در ساختار این مواد انجام داده و سم زدایی می نماید. تاثیر فلزات سنگین ممکن است باعث افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم های کبدی و ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک کبدی (تحت حاد) گردد. سلول های کبدی اولین هدف مواد سمی هستند و بیومارکر عالی جهت بررسی آلودگی های محیط آبی هستند. به همین دلیل بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد، شیوه ای دقیق و مطمئن جهت ارزیابی تاثیرات فلزات سنگین در محیط و شرایط آزمایشگاهی است (Figueiredo-Fernandes et al., 2007).

نتایج بسیاری از تحقیقات نشان داده است که میزان تجمع فلزات سنگین در بافت کبد بیشتر از تمام بافتهای دیگر ماهی است و همین امر موجب می گردد که این ارگان نسبت به سایر بخشهای بدن بیشتر دچار تغییرات و صدمات گشته و عوارض را نشان دهد (برامکی یزدی، ۱۳۸۹). این اثرات در کبد به صورت تغییرات هیستوپاتولوژیک از قبیل نکروز، واکوئولاسیون، پرخونی، تشکیل هموسیدرین، مراکز ملانوماکروفاژ، تورم و آماس در هپاتوسیت ها، تغییر در فعالیت آنزیم های کبدی بروز می کند. البته میزان این اثرات به چند عامل مختلف بستگی دارد، به عنوان مثال نوع و غلظت آلاینده، گونه ی ماهی، مدت در معرض آلاینده بودن و سایر فاکتورها. با این وجود بندانی و همکاران (۱۳۸۹) به مطالعه سطح فلزات سنگین سرب، کادمیوم، کروم و روی در عضله و کبد در ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) در استان گلستان پرداختند و مشاهده کردند که میزان این فلزات کمتر از حد استاندارد های جهانی است.

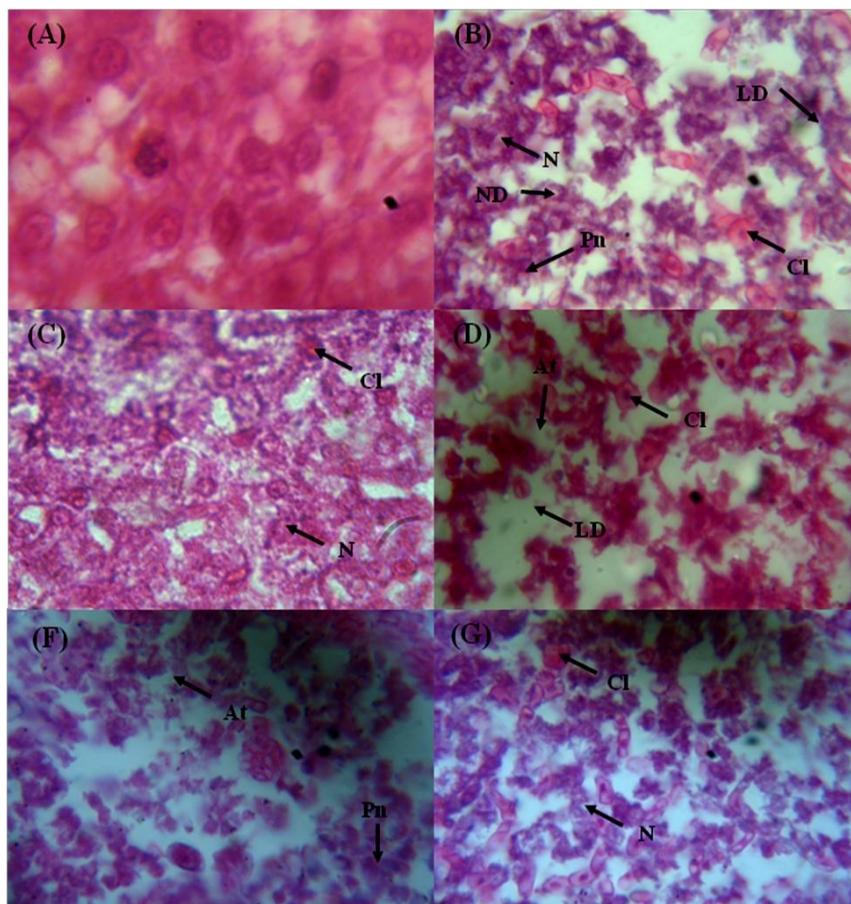
کبد ماهیان آب شور در حضور کادمیوم و آرسنیک عوارضی از قبیل نکروز، واکوئولاسیون، تورم و هایپرتروفی هپاتوسیت ها را نشان می دهد. همچنین مواردی از پیکنوز هسته ای در این سلولها گزارش

شده است. در مورد ماهیان آب شیرین نیز فلزات سنگین صدماتی از قبیل تورم ابری و آتروفی همچنین نکروز هسته با درجه متوسط و دنژانس چربی رخ می‌دهد (آریایی و همکاران، ۱۳۹۳). البته مواردی از پرخونی، خونریزی، نشت لنفوسیتی و افزایش فاگوسیت‌ها در کبد ماهیان مواجه شده با کادمیوم گزارش شده است (رستمی بضمن و همکاران، ۱۳۷۹). سرب (Pb) از مهمترین آلاینده‌هایی است که امروزه با افزایش میزان فعالیت بشری، بویژه تجهیزات مصرف‌کننده محصولات نفتی رو به افزایش است. طی مطالعه عابدینی و همکاران در سال ۱۳۹۱ که به بررسی اثرات سرب بر کبد ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) پرداختند عوارضی شامل پرخونی، خونریزی، رکورد صفاوی، نکروز سلولی، تورم ابری، آتروفی سلولی و دنژانس چربی مشاهده گردید. همچنین سرب در کبد ماهی باعث تورم هپاتوسیت و تغییرات دنژراتیو در هپاتوسیت می‌شود.

مشخص شده است که افزایش پروتئین‌های پلاسمایی به دلیل تولید متالوتیونین‌ها در کبد و آزادسازی آنها در خون برای اتصال با یون‌های فلز سنگین روی (Zn^{2+}) ارتباط دارد (سلطانی و خوشباوری، ۱۳۸۱). با افزایش فلزات سنگین محیطی و ایجاد شرایط تنش‌زا، میزان هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی بالا رفته و در نتیجه کاتابولیسم پروتئینی، جذب اسیدهای آمینه توسط کبد و فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز و سایر آنزیم‌های موثر در چرخه‌ی بازسازی گلوکز در کبد افزایش می‌یابد (قوتی و همکاران، ۱۳۹۰). از طرفی کاهش در برخی از آنزیم‌های کبدی بیانگر تاثیر سوء فلزات سنگین بر روی سیستم ایمنی و فیزولوژیکی ماهیان می‌باشد (قوتی و همکاران، ۱۳۹۰). آسیب‌های کبدی از قبیل نکروز و واکوئولاسیون پیشرونده و مراکز ملانوماکروفاژی گسترده، صدمات کبدی است که در *Labeo rohita* تیمار شده با کروم مشاهده گردید (Muthukumaravel and Rajaraman, 2013). کروم همچنین باعث ایجاد واکوئولاسیون، نکروز و بی‌نظمی سلولی در کبد ماهیان انگشت قد *Labeo rohita* گردیده است (Muthukumaravel and Rajaraman, 2013). صدمات بافتی گسترده و تغییر در هپاتوسیت‌های کبدی شامل دنژره شدن عروق خونی، هایپرتروفی، واکوئولاسیون، نکروز و هسته‌های پیکنوتیک در ماهی *Hypophthalmichthys molitrix* مواجه شده با نیکل مشاهده گردید (Athikesavan et al., 2006).



شکل ۱- ضایعات هیستوپاتولوژیک ناشی از فلز روی (Zn) در کبد بچه ماهی اوزون برون (*Cypenser stellatus*) (عابدینی و همکاران، ۱۳۹۱)



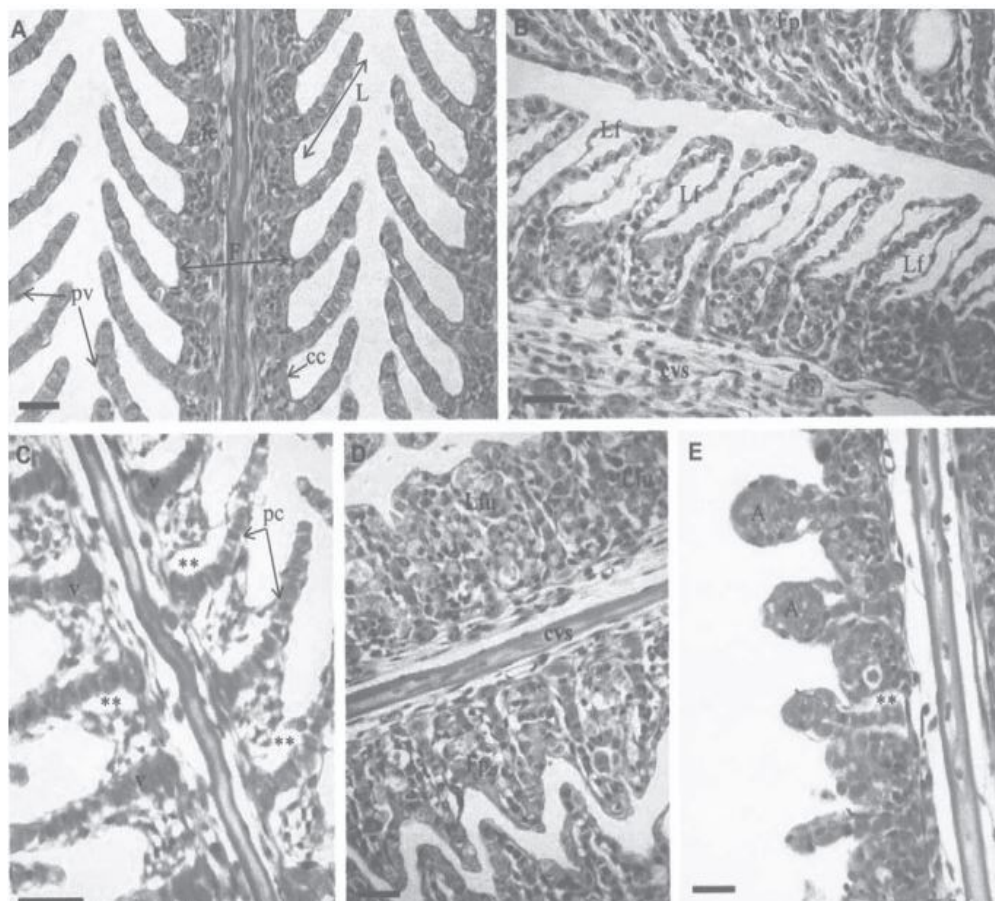
شکل ۲- آسیب های بافتی ناشی از غلظت های مختلف کادمیوم و آرسنیک در کبد ماهی گورخری (*Aphanius sophiae*). Pn: پیکنوز هسته ای، At: آتروفی، N: نکروزه شدن هپاتوسیت ها، CV: واکنش سیتوپلاسمی، ND: نکروزه شدن هسته ای، Cl: تورم ابری (آریایی و همکاران، ۱۳۹۳)

بافت آبشش

آبشش از اندامهای مهم و حیاتی ماهی است که به دلیل تماس مستقیم با آلاینده های محیطی و نقش در مکانیسم های تنظیم یونی، سریعتر از سایر بخشها دچار ضایعه و صدمه می شود (کوهکن و همکاران، ۱۳۹۵). بنابراین می تواند در زمینه ارزیابی وضعیت بهداشتی آب و سلامت عمومی ماهی به عنوان یک شاخص زیستی مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به ساختار آبشش و بافت بسیار پرخون و نازک این اندام

گسترده‌گی و شدت ضایعات آن به مراتب بیشتر از سایر اندامهاست بطوریکه در بررسی اثرات حاد مخرب فلزات سنگین بر بافت آبشش، سلول‌های اپیتلیال دچار هیپرپلازی و تورم شده و با افزایش غلظت فلز میزان هیپرپلازی افزایش می‌یابد. در برخی موارد سلولهای اپیتلیال چروکیده شده و در سلول‌های کلراید نیز تغییر شکل مشاهده می‌شود. این آسیب‌ها با افزایش غلظت شدت بیشتری نشان می‌دهند. در غلظت‌های بالاتر ضایعات بسیار شدیدتر بوده و صدماتی از قبیل جداسازی بافت پوششی (Epithelial Lifting)، نکروز سلولی، بهم چسبیدگی رشته‌های آبششی، هایپرپلازی و هایپرتروفی سلولهای کلراید و سلولهای ترشچی، پرخونی و در نهایت از بین رفتن رشته‌ها ممکن است دیده شود. تمام این صدمات هم در لاملای اولیه وهم در لاملای ثانویه ایجاد خواهند شد و تنها شدت آنها متفاوت است.

کادمیوم یک فلز سنگین بوده و برای ماهی غیر ضروری می‌باشد و در صورت ورود به بدن ماهی اولین ارگان هدف آن آبشش بوده، در نتیجه صدمات زیادی را به آن وارد می‌کند (Gardner and Yevich, 1970). تماس آبشش با کادمیوم باعث جداسدن لایه‌های مخاطی، هایپرتروفی و هایپرپلازی اپیتلیوم خواهد گردید (Holmes, 1996). در تحقیقی که رستمی بضمن و همکاران در سال ۱۳۷۹ در مورد فلزات سنگین (سولفات‌های مس، روی، جیوه و کلرور کادمیوم) انجام دادند عوارض ناشی از این سموم در بافت آبشش را شامل چسبندگی لاملاها، هیپرپلازی سلول‌های اپیتلیالی، پرخونی و ایجاد حوضچه‌های خونی فراوان در قاعده برانشی‌ها، ادم و تورم لاملاهای ثانویه بیان کردند. همچنین در مطالعه‌ای دیگر هدایتی و همکاران (۱۳۹۲) آسیب‌های ناشی از قرار گرفتن ماهی کاراس طلایی در مواجهه با غلظت‌های کشنده کلرید کادمیوم بر روی آبشش این ماهی را شامل وجود موکوس، چسبندگی لاملای ثانویه، جداسدن بافت اپیتلیوم، کروی و کوتاه شدن لاملاها، افزایش سلولهای کلرایدی، شکستگی و نازک شدن لاملاها بیان کردند.



شکل ۳- آسیب های بافتی ناشی از غلظت های مختلف مس در آبشش ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*). ستاره ها: ادم درون اپیتلیومی، F: فیلامنت، L: لاملا، Lf: اپیتلیال لیفتینگ، FP: هایپرپلازی، V: وازودلیشن، Lfu: فیوژن تیغه های مجاور، A: آنوریسم لاملایی، cc: سلول کلراید، cvs: سینوس مرکزی، fe: اپیتلیوم فیلامنتی، pc: سلول پشתיبان (Figueiredo-Fernandes et al., 2007)

عوارض ناشی از فلز روی (Zn) شامل نکروز بافتی، ملانیزه شدن سلول و تخریب اپیتلیوم در ماهی کپور گزارش شده است (قوتی و همکاران، ۱۳۹۰). اثرات سرب بر آبشش شامل پرخونی از درجات ضعیف تا شدید، ادم، افزایش سلولهای موکوسی، نکروز سلولهای پوششی و هایپرپلازی سلولهای پوششی است (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۶). در مواجهه با کروم آبشش ماهی *Channa punctatus* فیوژن، نکروز، هایپرتروفی و هایپرپلازی، جداسدن اپیتلیوم از غشای پایه مشاهده گردید (Mishra & Mohanty, 2008).

El-Dahshan و Kaoud (۲۰۱۰) هایپرپلازی شدیدی را در تیغه ثانویه آبششی ماهی *Oreochromis niloticus* بیمار شده با مس، کادمیوم، سرب و جیوه مشاهده کردند که در تیمارهای بالاتر منجر به اتصال تیغه‌های مجاور به هم گردید. همچنین Hemalatha و Banerjee (۱۹۹۷) و Al-Attar (۲۰۰۷) نیز در ماهیان *Heteropneustes fossilis* و *Oreochromis niloticus* مواجه شده با کلرید روی و نیکل صدمات آبششی مشابه را گزارش کردند.

نتیجه گیری

محرک های محیطی به واسطه ایجاد آشفستگی در سطح سازمان مولکولی منجر به ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک در اندام می شوند. لذا مطالعه آسیب شناسی بافتی به عنوان یک شاخص و معیار می تواند وضعیت سلامت ماهی و اثرات ناشی از مواجهه ماهی با آلاینده های محیطی را نشان دهد. اثرات دراز مدت آلاینده ها و فلزات سنگین در نهایت منجر به ایجاد وضعیت نامطلوب بافتی در اندامهای حیاتی از جمله کبد و آبشش می شود که اگر منجر به مرگ ماهی نگردد، قطعاً بر رشد و زندگی ماهی تاثیر داشته و در نهایت می تواند این آلودگی ها را به سطوح بالاتر زنجیره غذایی از جمله انسان منتقل کند. از آنجا که بالا بودن میزان این آلاینده ها در بدن ماهی منجر به ایجاد تغییرات و آسیب بافتی گردیده است، مصرف این ماهیان برای انسان خطرناک بوده و بر لامت افراد تاثیرگذار است.

منابع

- آریایی، م.، حمیدیان، الف.ح.، ایگدری، س.، پورباقر، ه.، و اشرفی، س.، ۱۳۹۳. تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد ماهی گورخری (*Aphanis sophiao*) در اثر آرسینک و کادمیوم. مجله بوم شناسی آبزیان، (۳): ۴-۳۱-۴۰.
- برامکی یزدی، ر.، ۱۳۸۹. مقایسه تجمع زیستی کادمیوم، سرب و روی در دو گونه ماهی تالاب انزلی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه بیرجند، ۹۴ صفحه.
- بندانی، غ.، خوشباور رستمی، ح.، یلقی، س.، شکرزاده، م. و نظری، ح.، ۱۳۸۹. سطح فلزات سنگین (سرب، کادمیوم، کروم و روی) در بافت عضله و کبد ماهی کپور (سواحل استان گلستان. مجله علمی شیلات ایران، ۱۹(۴): ۱-۱۰.
- خدابنده، ص.، طلائی، ر. و قیومی، ر.، ۱۳۷۹. تجمع فلزات سنگین در رسوبات و آبزیان دریای خزر. مجله آب و فاضلاب، ۳۹: ۳۸-۴۲.

رستمی بшمن، م.، سلطانی، م.، و ساسانی، ف.، ۱۳۷۹. مطالعه اثرات هیستوپاتولوژی برخی از فلزات سنگین و سولفات مس، سولفات روی و سولفات جیوه- کلرور کادمیوم بر بافتهای ماهی کپور معمولی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۴)۵۵: ۱-۳

سلطانی، م. و خوش باور رستمی، ح.، ۱۳۸۱. بررسی تاثیر سم دیازینون بر روی شاخص های خونی ماهی شپ و تعیین میزان LC50. دومین همایش ملی منطقه ای ماهیان خاویاری، رشت، ششم آبان ۱۳۸۱.

شاهسونی، د.، موقتی، الف.ر. و امیدظهیر، ش.، ۱۳۸۸. تاثیر حفاظتی تیمین روی ضایعات ناشی از مسمومیت تجربی با سرب در ماهی حوض (Carassius auratus). مجله تحقیقات دامپزشکی، (۳)۶۴: ۲۳۷-۲۴۲.

شهریاری، ع.، ۱۳۸۴. اندازه گیری مقادیر فلزات سنگین کادمیوم، کروم، سرب و نیکل در بافت خوراکی ماهیان شوریده و سرخو خلیج فارس در سال ۱۳۸۲. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، ۲: ۶۷-۶۵.

صادقی، پ.، سواری، الف.، موحدی نیا، ع.الف.، صفاهیه، ع.ر. و اژدری، د.، ۱۳۹۴. بررسی تغییرات هورمون اریتروپوئیتین و ضایعات پاتولوژیک بافت کلیه هامورماهی لکه زیتونی منقوط (Epinephelus stoliczkae) در پاسخ به آلاینده کروم. مجله اقیانوس شناسی، (۲۲)۶: ۱-۹.

طراوتی، س.، عسکری ساری، الف.، و جواهری بابل، م.، ۱۳۹۱. بررسی و مقایسه غلظت فلز کادمیوم در اندامهای مختلف بنی وحشی (Barbus sharpeyi) (تالاب شادگان) و پرورشی (مجتمع پرورش ماهی آزادگان). فصلنامه علمی پژوهشی اکوبیولوژی تالاب، (۳)۱۱: ۲۹-۳۸.

عابدینی لاکسار، ن.، زمینی، ع.، وهاب زاده رودسری، ح. و پژند، د.، ۱۳۹۱. تعیین میزان LC50 سرب و روی در بچه ماهی ازون برون و اثرات هیستوپاتولوژیک آنها بر روی بافتهای کبد و آبشش. مجله آبیان و شیلات، (۱۲)۳: ۵۷-۶۶.

عروجعلی، م.، پیکان حیرتی، ف.، درافشان، س.، و محبوبی صوفیانی، ن.، ۱۳۹۲. اثر غلظت های کشنده کادمیوم بر برخی تغییرات بافتی در آبشش تاس ماهی استرلیاد پرورشی. مجله علمی شیلات ایران، (۲)۲۲: ۷۱-۸۲.

قوتی، ن.، محمدی، س. و محمدی، و.، ۱۳۹۰. مقایسه و بررسی تغییرات سختی و قلیالیت با مسمومیت فلز سنگین در ماهی کپور معمولی. مجله تالاب، (۲)۸: ۲۱-۲۸.

کوهکن، ا.، عبدی، ر.، سلیقه زاده، ر. و جادی، ی.، ۱۳۹۳. آسیب شناسی بافتی ناشی از مسمومیت تحت حاد علف کش پاراکوات در بافت کبد ماهی بنی انگشت قد (Barbus sharpeyi): مجله پاتوبیولوژی مقایسه ای، (۱)۱۱: ۱۱۶۷-۱۱۷۲.

هدایتی، ع.، خلیلی، م. و غفاری فارسانی، ح.، ۱۳۹۲. بررسی آسیب شناسی بافت آبشش ماهی کاراس طلائی قرار گرفته در معرض غلظت های تحت کشنده کلرید کادمیوم. پژوهش های ماهی شناسی کاربردی، (۲)۲: ۴۰-۳۳.

Abalaka. S.E. 2015. Heavy metals bioaccumulation and histopathological changes in Auchenoglanis occidentalis fish from Tiga dam, Nigeria. Journal of Environmental Health Science & Engineering. 13(10): pp 1-8.

- Al-Attar. A.M. 2007. The influences of nickel exposure on selected physiological parameters and gill structure in the teleost fish, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Biological Science*. 7(1): pp 77-85.
- Athikesavan. S. Vincent. S. Ambrose. T. and Velmurugan. B. 2006. Nickel induced histopathological changes in the different tissues of freshwater fish, *Hypophthalmichthys molitrix* (Valencienes). *Journal of Environmental Biology*. 27: pp 391-395.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 1989. The state of food and agriculture: Evaluation of certain food additives and contaminants. No: 22. p. 188.
- Figueiredo-Fernandes. A. Ferreira-Cardoso. J.V. Garcia-Santos. S. Monteiro. S.M. Carrola. J. Matos. P. Fontainhas-Fernandes. A. 2007. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. 27 (3): pp 103-109.
- Garcia-Rodriguez. M.C. Lopez-Santiago. V. and Altamirano-Lozano. M. 2001. Effect of chlorophyll in on chromium trioxide-induced micronuclei in polychromatic erythrocytes in mouse peripheral blood. *Mutation Research* 496: pp 145-151.
- G.R and Yevich. P.P. 1970. Hitological and Hamatological responses of an estuarineteleost to cadmium. *Journal of the fisheries Research Board of Canada*. 27: pp 2185-21960.
- Hemalatha. S. and Banerjee. T.K. 1997. Histopathological analysis of sublethal toxicity of zinc chloride to the respiratory organs of the air breathing catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Biological Research*. 30: pp 11-21.
- Holmes. S. 1996. South African water Quality Guide line. Published by Department of water Affaris and forestry. 16: pp 19-40.
- Hossam. H.A. and Fagr. K.A. 2007. Study the effect of hexavalent chromium on some biochemical, citotoxicological and histopathological aspects of the *Oreochromis* spp. *Fish. Pakistan journal of biological sciences*. 10(22): pp 3973-3982.
- Kaoud. H.A. and El-Dahshan. A.R. 2010. Bioaccumulation and histopathological alterations of the heavy metals in *Oreochromis niloticus* fish. *Nature Science*. 8(4): pp 147-154.
- Lee. N A and Reasner. C A. 1994. Beneficial effect of chromium supplementation on serum triglycerides levels in *Cyprinus carpio*. *Diabets Care*. 17: pp 1449-1452.
- Lemos. N.G. Dias. A.L. Silva-Souza. A.T. and Mantovani. M.S. 2005. Evaluation of environmental waters using the comet assay in *Tilapia rendalli*. *Environmental toxicology and pharmacology*. 19: pp 197-201.
- Majer. B.J. Tschërko. D. Paschke. A. Wennrich. R. Kundi. M. Kandeler. E. and Knasmüller. S. 2002. Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. *Mutation research*. 515: pp 111-124.

- Mishra. AK. And Mohanty. B. 2008. Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 26: pp 136-141.
- Mohamed. F.A.S. 2008. Bioaccumulation of selected metals and histopathological alterations in tissues of *Oreochromis niloticus* and *Lates niloticus* from Lake Nasser, Egypt. *Global Veterinary*. 2(4): pp 205–18.
- Muthukumaravel. K. Rajaraman. P. 2013. A Study on the toxicity of chromium on the histology of gill and liver of freshwater fish *Labeo rohita*. *Journal of Pure Applied Zoology*. 1(2): pp 122-126.
- Puttaiah. E.T. and Kiran. B.R. 2008. Heavy metal transport in a sewage fed Lake of Karnataka, India. In: Edited by Sengupta M, Dalwani R. *Proceedings of Taal 2007. The 12th World Lake Conference; Jaipur, India 2008*.
- Van der Oost. R. Beyer. J. and Vermeulen. N.P.E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 13: pp 57–149.
- Wester. P.W. Vethaak. D. van Muiswinkel. W.B. 1994. Fish as biomarkers in immunotoxicology. *Toxicology*. 86: pp 213-232.
- White. P.A. and Rasmussen. R. 1998. The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. *Mutation research*. 410: pp 223-236.