

بررسی اثر مواجهه با مس و کادمیوم بر شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسما و کبد بچه فیل ماهی (*Huso huso*)

سعید زاهدی^۱، علیرضا میرواقفی^{۱*}، باقر مجازی امیری^۱، غلامرضا رفیعی^۱، مهدی هدایتی^۲، چنگیز مخدومی^۳،
موسی زارعی دنگسری^۳ و سعید مهدوی صاحبی^۴
^۱ گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران
^۲ مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
^۳ مرکز بازسازی ذخایر و تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری
^۴ گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۶ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۰/۱۰/۲۰)

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثر غلظت انفرادی و تحت کشنده مس و کادمیوم بر شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسمای خون و کبد بچه فیل ماهی (*Huso huso*) بوده است. به این منظور، در خرداد سال ۱۳۸۷، تعداد ۵۴ عدد بچه ماهی (۴ ماهه با وزن متوسط $55/4 \pm 6/8$ گرم) به ترتیب، در معرض غلظت‌های تحت کشنده ۲۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر لیتر مس و کادمیوم در سیستم آزمایشی نیمه‌ثابت به مدت ۱۴ روز قرار گرفته و اثر غلظت‌های مذکور بر شاخص‌های بیوشیمیایی مورد نظر در روز پایانی آزمایش مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. براساس نتایج حاصله، سطوح گلوکز، پروتئین کل و تری‌گلیسیرید پلاسما و همچنین پروتئین کبدی در ماهیان تحت تیمارهای آزمایشی در روز نمونه‌برداری فاقد هرگونه اختلاف معنی‌دار در مقایسه با ماهیان تیمار شاهد بود. از طرفی، مواجهه با فلزات مذکور، باعث تغییرات معنی‌دار مقادیر هورمون تری‌یودوتیرونین (T3) پلاسما در هر دو تیمار آزمایشی گردید ولی چنین تغییرات معنی‌داری برای هورمون تیروکسین (T4) مشاهده نشد. در مقابل، فقط مواجهه با مس باعث افزایش شدید و معنی‌دار کورتیزول پلاسما گردید. نتایج حاصل از آزمایش نشان‌دهنده فقدان هرگونه اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) کبد می‌باشد. اما تغییرات معنی‌داری در میزان فعالیت SOD بین دو تیمار فلزی مشاهده شد. نتایج حاصله از این مطالعه به خوبی نشان داد که غلظت‌های تحت کشنده مس و کادمیوم بر بچه فیل ماهی اثرگذار بوده‌اند و همچنین، تغییرات هورمونی می‌تواند به عنوان نشانگرهای مناسبی در بررسی مواجهه فیل ماهی با مس در آب شیرین پیشنهاد گردند.

واژه‌های کلیدی: مس، کادمیوم، شاخص‌های بیوشیمیایی، فیل ماهی (*Huso huso*).

مقدمه

باعث اختلالات ترشحاتی سیستم هورمونی درون ریز بین کلیوی (Gravel *et al.*, 2005) و القاء یا بازدارندگی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و ایجاد استرس اکسایشی می‌شود (De la Torre *et al.*, 2000).

دریای خزر، به عنوان یکی از بوم‌سازگان‌های بسته بسیار مهم نیمکره شمالی، مامن و زیستگاه گونه‌های آبی با ارزشی همچون ماهیان خاویاری است (Khodorevskaya *et al.*, 1997). در سال‌های اخیر، شاهد افزایش نگرانی‌ها در اثر ورود مقادیر متنابهی از آلاینده‌ها همچون ارگانوکلرینها و فلزات سنگین به این دریا و تجمع آنها در بدن آبزیان با ارزش آن بوده‌ایم (Karpinsky, 1992; Ecotoxicological Study, 2002 Kajiwara *et al.*, 2003; Moore *et al.*, 2003; Agusa *et al.*, 2004). همچنین گزارش‌های موجود نشان‌دهنده افزایش بیش از حد غلظت این فلزات در رودخانه‌ها (Charkhabi *et al.*, 2005; Saeedi *et al.*, 2006) (Saeedi and Karbassi, 2006; Parizanganeh *et al.*, 2010) (Pourang *et al.*, 2008; Saeedi *et al.*, 2010) (Saeedi *et al.*, 2010) جنوبی این دریا می‌باشد. جالب آنکه شیلات ایران، در راستای رسالت خود در امر بازسازی ذخایر دریا، برخی از این رودخانه‌های مستعد حوزه جنوبی را مورد استفاده قرار می‌دهد. ماهیان تکثیر شده، قبل از ورود به دریا، مراحل حساسی از زندگی خود را در محیط‌هایی می‌گذرانند که در برخی از آنها، به ویژه در ماههای انجام عمل رهاسازی، غلظت آلاینده‌هایی همچون فلزات در آب یا رسوب، بالاتر از حدود مجاز می‌باشد (Saeedi *et al.*, 2006).

فیل ماهی (*Huso huso*) یکی از گونه‌های مهم ماهیان خاویاری دریای خزر است که به دلیل خویار و گوشت با ارزش از اهمیت بسزایی از نظر شیلاتی و بوم‌شناختی برخوردار می‌باشد. امروزه به‌رغم تلاش‌های گسترده شیلات ایران و کشورهای همسایه، نسل این ماهی در آستانه انقراض قرار دارد (Khodorevskaya *et al.*, 1997). کارشناسان، آلودگی‌های محیطی را یکی از عوامل

امروزه ورود مداوم آلاینده‌های زیست‌محیطی به بوم‌سازگان‌های آبی، این محیط‌ها را به شدت آسیب‌پذیر نموده و آنها را به انباری برای این مواد تنش‌زا و خطرناک مبدل ساخته است (Lawrence and Elliott, 2003). یکی از گروه‌های اصلی این آلاینده‌ها، فلزات می‌باشند که به عنوان آلاینده‌های غیرقابل تجزیه، برای مدت‌های طولانی در بوم‌سازگان‌های آبی باقی می‌مانند و تعادل شیمیایی آنها را مختل می‌کنند. غلظت بالای فلزات موجب تهدید حیات آبزیان می‌شود و غلظت‌های پایین نیز با ایجاد تجمع زیستی در بدن انواع موجودات آبی، سلامت و در سطح بالاتر، پایداری جمعیت آنها را به خطر می‌اندازد (Di Giulio and Hinton, 2008).

فلز ریزمغذی مس اهمیت شایانی برای موجودات زنده دارد و در ساختار آنزیم‌هایی همچون دوپامین بتا-هیدروکسیلاز و سوپراکسید دیسموتاز مس-روی (حذف رادیکال آزاد) وجود دارد (Aaseth and Norseth, 1986). همچنین امروزه این فلز، از کاربردهای قابل توجهی در محیط‌های آبی و صنعت آبی پروری به عنوان ماده درمانی، جلبک‌کش و ... برخوردار شده است (MacKenzie, 1961; Havens, 1994). با این وجود، مس در غلظت‌های فراتر از حد نیاز، اختلالات متعددی را در سطوح مختلف بدن ماهیان ایجاد می‌کند. مس به عنوان آنتاگونیست عنصر حیاتی سدیم، بر فعالیت آنزیم‌های تنظیم‌کننده یونی مثل پمپ سدیم پتاسیم آت‌پ‌آز و در نتیجه غلظت یونی بافت‌ها به ویژه بافت‌های دخیل در امر تنظیم اسمزی اثرگذار است (Pelgrom *et al.*, 1998; Li *et al.*, 1995) و نیز تغییرات بیوشیمیایی و هورمونی پلازما را موجب می‌شود (Gravel *et al.*, 2005).

فلز سنگین کادمیوم نیز که تاکنون هیچ نقشی برای آن در سیستم‌های زنده تعریف نشده است، آنتاگونیست عنصر حیاتی کلسیم تلقی می‌شود. این عنصر در ماهیان علاوه بر ایجاد تجمع زیستی در اندام‌هایی همچون آبشش، کبد، کلیه، روده و ماهیچه (Kim *et al.*, 2004)،

ذخیره‌سازی و مورد پرورش قرار گرفتند. تغذیه ماهیان با استفاده از غذای دستی کارگاه شهید رجایی انجام می‌شد که متشکل از پودر تغذیه آغازین ماهی سفید (SFK)، ماهی کاراس چرخ شده و تخم مرغ، با نسبت ۸۰ درصد SFK، ۲۰ درصد ماهی کاراس و ۱ عدد تخم مرغ به ازای هر کیلوگرم از مخلوط SFK و چرخ کرده کاراس بود. تا شروع آزمایش، غذادهی به بچه ماهیان در حد سیری کامل انجام می‌گرفت. در اواخر خردادماه، ۵۴ عدد بچه ماهی ۴ ماهه با وزن متوسط $55/4 \pm 6/8$ گرم، از گله پرورشی انتخاب و به طور تصادفی، به تیمارهای آزمایشی (هر تیمار با سه تکرار و ۶ عدد ماهی به ازای هر تکرار) منتقل شدند. سازگاری بچه ماهیان تحت سیستم آزمایشی نیمه ساکن (با نصب سیستم هوادهی و تعویض آب هر ۴۸ ساعت یکبار) به مدت ۲ هفته و در داخل ونیروهایی با ۳۰۰ لیتر آب، انجام پذیرفت. رژیم نوری مورد استفاده در کل این آزمایش، رژیم نوری طبیعی بود. طی ۱۴ روز دوره سازگاری و ۱۴ روز مواجهه با فلز، غذادهی به میزان ۳ درصد وزن بدن و در ساعت ۹ صبح انجام گرفت.

ساخت محلول‌های مادر مس و کادمیوم

محلول‌های مادر مس و کادمیوم با انحلال نمک‌های سولفات مس $CuSO_4 \cdot 5(H_2O)$ و کلرید کادمیوم $(CdCl_2 \cdot 2.5H_2O)$ در یک لیتر آب یون‌زدایی شده نیروگاه برق نکاء تهیه شد. غلظت محلول‌های مادر مس و کادمیوم مورد استفاده به ترتیب ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود که این محلول‌ها برای رسیدن به غلظت دلخواه، به مقدار لازم رقیق می‌شدند.

مواجهه بچه ماهیان با فلزات مس و کادمیوم

پس از پایان دوره ۱۴ روزه سازگاری، بچه ماهیان به ترتیب در معرض غلظت عددی ۲۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر لیتر فلزات مس و کادمیوم قرار گرفتند. در طول دوره مواجهه، برای حفظ شرایط کیفی آب، هر ۲۴ ساعت یکبار عمل سیفون نمودن کف مخازن و هر ۴۸ ساعت یکبار عمل تعویض ۹۰ درصد آب صورت می‌گرفت. طی

مهم عدم توفیق در حفظ نسل این ماهی می‌شناسند (Karpinsky, 1992). همچنین، طی سالهای اخیر، علاوه بر بازسازی ذخایر فیل ماهی در دریا، گرایش شدیدی توسط شیلات ایران برای پرورش این ماهی به منظور تولید گوشت و خاویار پرورشی در مناطق ساحلی و زمینهای مجاور آن بوجود آمده است که متأسفانه در برخی از این مناطق، غلظت فلزات در آب و به ویژه رسوب، بالاتر از حدود مجاز توصیه شده می‌باشد. اگرچه غلظت‌های کنونی فلزات در آب بیشتر رودخانه‌ها و عمده سواحل جنوبی، اندک و زیر حد کشنده است ولی این امکان وجود دارد که با توجه به سمیت بالای این فلزات و مدت طولانی تماس، در امر بازسازی ذخایر دریا و یا پرورش این گونه کم نظیر، اخلاص ایجاد نمایند. لذا با توجه به اهمیت گونه فیل ماهی و وجود گزارش‌های متعدد پیرامون آلودگی محیط‌های آبی سواحل جنوبی خزر با مس و کادمیوم، این مطالعه با هدف بررسی آثار غلظت انفرادی و تحت کشنده آنها بر شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسما و کبد بچه فیل ماهی صورت پذیرفت چراکه شاخص‌های بیوشیمیایی به عنوان نشانگرهای زیستی، ابزارهای مناسبی در تشخیص اثر تحت کشنده آلاینده‌ها محسوب می‌شوند (Di Giulio and Hinton, 2008). به همین منظور، محیط آزمایشگاهی انتخاب و بچه ماهیان در مواجهه با غلظت‌هایی قرار داده شدند که تقریباً معادل ۰/۴ (برای عنصر مس) و ۶،۵ (برای عنصر کادمیوم) برابر آخرین غلظت متوسط گزارش شده آب‌های ساحلی بودند (Varedi et al., 2010).

مواد و روش‌ها

انتقال بچه ماهیان به کارگاه و سازگاری

ابتدا، در اردیبهشت سال ۱۳۸۷، بچه فیل ماهیان از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی استان گلستان به سالن ونیروی پرورش بچه ماهیان خاویاری مجتمع تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری انتقال داده شدند. پس از انتقال، بچه ماهیان در داخل ونیروهایی با جریان آب کافی و تراکم مناسب

انجام آزمایش، خصوصیات کیفی آب متشکل از دما، pH، اکسیژن محلول و سختی، به طور روزانه اندازه‌گیری می‌شد. لازم به ذکر است که در هنگام تعویض آب، آب از مخازن ذخیره تهیه شده به ونیروهای آزمایشی مواجهه منتقل می‌گردید. ماهیان تیمار شاهد طی این مدت در آب کارگاه، بدون افزودن فلزات مس و کادمیوم نگهداری می‌شدند. نمونه‌برداری تصادفی از ماهیان در ساعت ۹ صبح روز چهاردهم آزمایش و از داخل هر ونیرو انجام شد. پس از بیهوش نمودن ماهیان توسط پودر گل میخک^۱، ماهیان توزین و خونگیری از رگ دمی به میزانی نزدیک به یک سی‌سی انجام گرفت که فوراً به یخچال معمولی +۴ منتقل گردید. پس از باز نمودن شکم بچه ماهیان، کبد آنها استحصال که پس از توزین، با سرم فیزیولوژیک انسانی شست‌وشو گردید. سپس، نمونه‌های تهیه شده به پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای مقایسه میانگین متغیرهای آزمایش از تجزیه واریانس یکطرفه ANOVA و برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. برای پردازش داده‌ها از نرم‌افزار Excel و جهت انجام آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ استفاده شد.

نتایج

در این آزمایش، وزن متوسط ماهیان با توزین کل ماهیان وارد شده به هر ونیرو سنجش گردید که از این لحاظ، اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. همچنین، طی مدت انجام آزمایش، تلفاتی در هیچ کدام از گروه‌های آزمایشی وجود نداشت که نشان‌دهنده این است که غلظت‌های عددی ۲۰ میکروگرم بر لیتر مس و ۳۰۰ میکروگرم بر لیتر کادمیوم برای این گونه تحت کشنده بوده است. میانگین دما طی دوره یکماهه آزمایش ۲۱/۷ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۷/۷ میلی‌گرم بر لیتر، pH ۷/۸ و سختی کل ۲۷۸ میلی‌گرم کربنات کلسیم بر لیتر بود.

جدول ۱ نتایج حاصله از سنجش مقادیر گلوکز، پروتئین کل و تری‌گلیسیرید پلاسما خون و همچنین مقادیر پروتئین بافت کبد بچه فیل ماهی را پس از دو هفته مواجهه با غلظت انفرادی مس و کادمیوم نشان می‌دهد. نتایج حاصله از آزمایش، نشان‌دهنده افزایش غلظت گلوکز پلاسما خون در تیمار کادمیومی نسبت به تیمار شاهد

انجام آزمایش، خصوصیات کیفی آب متشکل از دما، pH، اکسیژن محلول و سختی، به طور روزانه اندازه‌گیری می‌شد. لازم به ذکر است که در هنگام تعویض آب، آب از مخازن ذخیره تهیه شده به ونیروهای آزمایشی مواجهه منتقل می‌گردید. ماهیان تیمار شاهد طی این مدت در آب کارگاه، بدون افزودن فلزات مس و کادمیوم نگهداری می‌شدند. نمونه‌برداری تصادفی از ماهیان در ساعت ۹ صبح روز چهاردهم آزمایش و از داخل هر ونیرو انجام شد. پس از بیهوش نمودن ماهیان توسط پودر گل میخک^۱، ماهیان توزین و خونگیری از رگ دمی به میزانی نزدیک به یک سی‌سی انجام گرفت که فوراً به یخچال معمولی +۴ منتقل گردید. پس از باز نمودن شکم بچه ماهیان، کبد آنها استحصال که پس از توزین، با سرم فیزیولوژیک انسانی شست‌وشو گردید. سپس، نمونه‌های تهیه شده به پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل گردید.

سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسما و کبد بچه ماهیان

نمونه‌های خون انتقال یافته به پژوهشکده اکولوژی، سریعاً در دستگاه سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ و پلاسما حاصله در فریزر ذخیره شد. سپس، نمونه‌ها جهت سنجش‌های بیوشیمیایی توسط مخزن نیتروژن مایع به پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز دانشگاه شهید بهشتی تهران منتقل گردید. برای سنجش گلوکز و تری‌گلیسیرید از کیت‌های رنگ‌سنجی آنزیمی (پارس آزمون، تهران، ایران) و برای سنجش مقادیر پروتئین کل در پلاسما و همگن بافت کبد، از کیت‌های رنگ‌سنجی شیمیایی (پارس آزمون، تهران، ایران) استفاده شد. سنجش مقادیر هورمون تری‌یودوتیرونین (T_3)، تیروکسین (T_4) و کورتیزول پلاسما نیز با استفاده از کیت الایزا (Diagnostics Biochem Canada Inc, Ontario, Canada) انجام گرفت. بعلاوه، برای سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ابتدا بافت کبد در بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH ۷/۴) محتوی ۲ میکرومول EDTA و ۱۵۰ KIU/ml آپروتینین با استفاده از دستگاه همگن‌ساز

1. Clove-essence solution

فاقد هرگونه اختلاف معنی‌دار در مقایسه با ماهیان تیمار شاهد می‌باشد. بعلاوه، مقادیر تری‌گلیسیرید پلاسما در اثر مواجهه با فلز در هر دو تیمار آزمایشی مس و کادمیوم افزایش نشان داد که این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

است ولی این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد. گلوکز پلاسما خون بچه ماهیان در این تیمار به بالاترین حد خود طی این مطالعه و به مقدار mg/dl $64/7 \pm 3/88$ رسید. همچنین، تغییرات مقادیر پروتئین کل پلاسما و کبد در ماهیان تحت تیمارهای آزمایشی

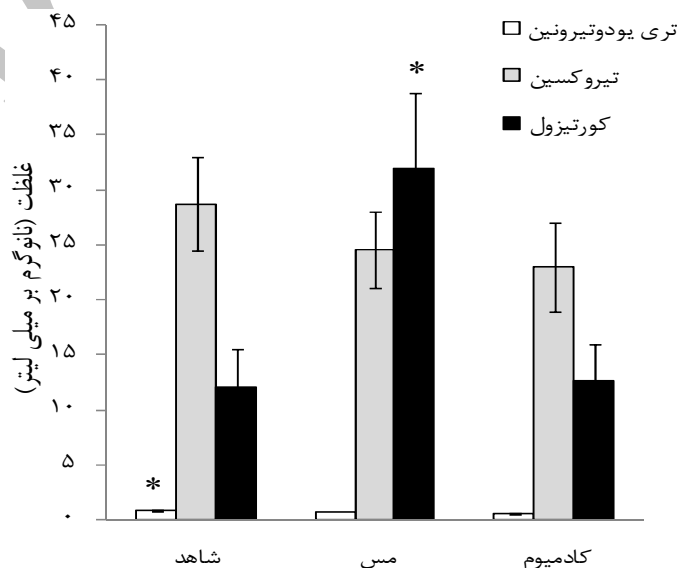
جدول (۱) تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی در پلاسما و کبد بچه فیل ماهی (*H.huso*) طی مواجهه ۱۴ روزه با غلظت انفرادی مس و کادمیوم

شاخص	شاهد	مس	کادمیوم
گلوکز (mg/dl)	$51/30 \pm 11/8$	$42/5 \pm 8/97$	$64/7 \pm 3/88$
پروتئین پلاسما (g/dl)	$1/6 \pm 0/35$	$1/6 \pm 0/23$	$1/87 \pm 0/13$
پروتئین کبد (mg/g)	$0/189 \pm 0/008$	$0/163 \pm 0/034$	$0/134 \pm 0/007$
تری‌گلیسیرید پلاسما (mg/dl)	$134/1 \pm 17/3$	$146 \pm 46/2$	$142/7 \pm 16/4$

داده‌های ارائه شده نشان‌دهنده میانگین \pm خطای استاندارد ۴-۶ داده می‌باشد.

بر اساس نتایج حاصله، مواجهه با فلز مس، باعث افزایش شدید و معنی‌دار هورمون کورتیزول پلاسما می‌شود (شکل ۱) به طوری که بالاترین غلظت هورمون کورتیزول طی آزمایش در این تیمار مشاهده می‌شود ($32 \pm 6/8$ ng/ml) ولی چنین افزایش معنی‌داری برای تیمار کادمیومی قابل مشاهده نیست ($p > 0/05$) و مقدار آن نزدیک به میانگین تیمار شاهد باقی می‌ماند ($12/7 \pm 3/3$ ng/ml).

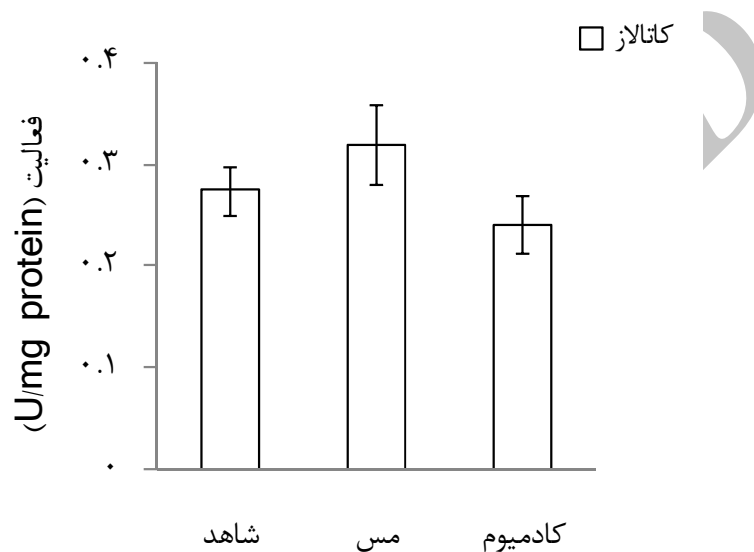
از طرفی، مواجهه با فلز، باعث کاهش معنی‌دار مقادیر هورمون تری‌یودوتیرونین (T_3) پلاسما در تیمارهای مس و کادمیوم گردید (شکل ۱). مقادیر اندازه‌گیری شده این هورمون پس از دو هفته مواجهه با کادمیوم، به کمترین مقدار خود رسید که معادل ng/ml $0/53 \pm 0/007$ بود. این کاهش مشاهده شده در تیمارهای آزمایشی، برای دیگر هورمون تیروئیدی مورد اندازه‌گیری یعنی هورمون تیروکسین (T_4) از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0/05$).



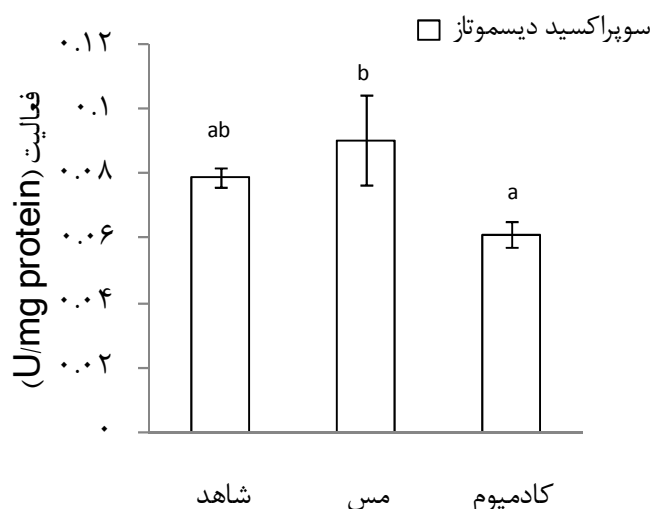
شکل (۱) تغییرات مقادیر هورمون‌های پلاسما در بچه فیل ماهی (*H.huso*) طی مواجهه ۱۴ روزه با غلظت تحت کشنده و انفرادی ۲۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر لیتر مس و کادمیوم. علامت \times نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در روز نمونه‌برداری می‌باشد ($p < 0/05$) (میانگین \pm خطای استاندارد، $n=4-6$).

آنزیم می‌شود (شکل ۳) ولی این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نیست ($p > 0.05$). همچنین، مواجهه با غلظت تحت کشنده کادمیوم، کاهش غیرمعنی‌دار فعالیت این آنزیم را نشان می‌دهد. در مقابل، اختلاف معنی‌داری در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز کبدی بین تیمارهای آزمایشی مس و کادمیوم مشاهده گردید.

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) کبد نشان‌دهنده فقدان هرگونه اختلاف آماری معنی‌دار طی دوره مواجهه ۱۴ روزه است (شکل ۲). طی دوره آزمایش، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) کبدی رفتار متفاوتی را طی مواجهه با مس یا کادمیوم از خود نشان می‌دهد به نحوی که مواجهه ۱۴ روزه با مس باعث افزایش فعالیت این



شکل (۲) تغییرات میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در کبد بچه فیل ماهی (*H. huso*) طی مواجهه ۱۴ روزه با غلظت تحت کشنده و انفرادی ۲۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر لیتر مس و کادمیوم (میانگین \pm خطای استاندارد، $n=4-6$).



شکل (۳) تغییرات میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در کبد بچه فیل ماهی (*H. huso*) طی مواجهه ۱۴ روزه با غلظت تحت کشنده و انفرادی ۲۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر لیتر مس و کادمیوم. حروف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در روز نمونه‌برداری می‌باشد ($p < 0.05$) (میانگین \pm خطای استاندارد، $n=4-6$).

بحث

نتایج حاصله از این آزمایش بیانگر فقدان تغییرات معنی‌دار مقادیر گلوکز پلاسما طی دوره ۱۴ روزه مواجهه است (جدول ۱). ماهیان به تأمین مقادیر بالایی از انرژی برای مقابله با استرس وارده نیاز دارند و گلوکز توسط ماهیان به عنوان ماده انرژی‌زا، برای مقابله با استرس تحمیلی مورد مصرف قرار می‌گیرد (De la Torre *et al.*, 2000). به همین دلیل، افزایش سریع مقادیر گلوکز خون طی شرایط استرسی به ویژه مواجهه با فلزات مس و کادمیوم در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است (Dethloff *et al.*, 1999; Cicik and Engin, 2005). مطالعه‌ای در تیلاپای موزامبیک *Oreochromis mosambicus* طی مواجهه با غلظت ۱۰ میکروگرم بر لیتر کادمیوم، افزایش موقتی غلظت گلوکز پلاسما را در روزهای آغازین مواجهه نشان داد ولی مقادیر مذکور در روز چهاردهم به حدود آغازین آزمایش و مشابه تیمار شاهد رسید (Pratap and Wendelaar Bonga, 1990). همچنین مطالعه‌ای که توسط Zahedi *et al.* (2011) روی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) مواجهه شده با مس و کادمیوم صورت پذیرفت، تغییرات شدید و معنی‌دار گلوکز پلاسما را در روز اول مواجهه نشان داد ولی گذشت زمان باعث گردید که چنین افزایش معنی‌داری، در روزهای ۷ و ۱۴ نمونه‌برداری مشاهده نگردد. همچنین Ricard *et al.* (1998) تغییرات غیرمعنی‌دار گلوکز خون در قزل‌آلای رنگین‌کمان را پس از ۳۰ روز مواجهه با فلز کادمیوم گزارش نمودند. بر خلاف این مطالعات، Hontela *et al.* (1996) در قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان دادند که مقادیر گلوکز خون حتی پس از گذشت یک هفته از آغاز مواجهه با کادمیوم همچنان بالا باقی می‌ماند. با توجه به مطالب عنوان شده، پاسخ غیرمعنی‌دار مشاهده شده در مقادیر گلوکز خون، طی مواجهه با مس و کادمیوم در این مطالعه را می‌توان اینطور توجیه نمود که فاصله طولانی نمونه‌برداری (۱۴ روز)، به دلیل کوتاه بودن دوره ایجاد پاسخ استرسی و ایجاد تطابق در طی زمان، مانع از مشاهده تغییرات

معنی‌دار گلوکز خون در روز نمونه‌برداری شده است. اگرچه هنوز اثر کادمیوم بر مقادیر گلوکز پلاسما تا حدودی مشهود است ولی این مقادیر بالاتر، نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نمی‌باشد. مواجهه با غلظت انفرادی و تحت کشنده مس و کادمیوم، تغییرات معنی‌دار مقادیر پروتئین کل پلاسما و کبد را در بچه ماهیان تیمارهای آزمایشی نشان نداد (جدول ۱). لازم به ذکر است که در آبزیان، محتوای پروتئین بافتی به عنوان شاخص استرسی ایجاد شده در اثر ترکیبات خارجی در نظر گرفته می‌شود (Singh and Sharma, 1998). بررسی منابع علمی موجود پیرامون اثرات مس و کادمیوم بر مقادیر پروتئین پلاسما و بافت‌هایی همچون کبد، روند مشخصی را از خود نشان نمی‌دهد که قطعا شرایط آزمایشی، تفاوت‌های گونه‌ای، نوع فلز چالش شده و شرایط فیزیولوژیک گونه مورد مطالعه، در حصول چنین نتایج متناقضی بی‌تأثیر نبوده است (Ricard *et al.*, 1998; Dethloff *et al.*, 1999; Beaumont *et al.*, 2000; De la Torre *et al.*, 2000; Almeida *et al.*, 2001). با توجه به نتایج حاصله می‌توان چنین عنوان داشت که غلظت‌های کوچک مورد استفاده در این مطالعه در حدی نبوده است که بتواند بر مقادیر شاخصی همچون پروتئین کل در پلاسما و کبد اثر گذارد. محققین کربوهیدرات‌ها را پیش‌سازهای اصلی و فوری تأمین انرژی در ماهیان حین مواجهه با استرس می‌دانند درحالی‌که این اعتقاد وجود دارد که پروتئین‌ها طی دوره زمانی مواجهه مزمن با آلاینده بکارگیری می‌شود (Umminger, 1970). شایان ذکر است که مطالعات سم‌شناسی اندکی در ماهیان، به مطالعه تغییرات مقادیر ترکیبات چربی پلاسما همچون تری‌گلیسیرید و کلسترول پرداخته‌اند. با توجه به نقش حیاتی ترکیبات چربی در تأمین انرژی به ویژه طی شرایط استرسی حاصله از مواجهه با فلزات و مقابله با استرس، این جنبه از مطالعات جوان می‌نماید. در این مطالعه، مقادیر هورمون‌های T_3 و کورتیزول پلاسما در روز نمونه‌برداری، تغییرات معنی‌داری را از خود نشان داد (شکل ۱). چنین روندی برخلاف روند مشاهده

فلزات از طریق القاء ساخت سیتوزولی این مولکول هموستاز و خورنده فلزات سنگین، به ویژه در بافت‌هایی همچون کبد و آبشش اشاره دارد و متالوتیونین باعث افزایش مقاومت سلول‌ها نسبت به فلزات سمی می‌شود (Wu *et al.*, 2007). در پایان، بایستی عنوان نمود که کورتیزول و هورمون‌های تیروئیدی نقش بسزایی در تنظیم مواد متابولیکی دارند و به همین جهت، اختلال در هموستازی گلوکز، در تغییرات آنها طی مواجهه با فلزات مهم بوده است. به طور کلی، تغییرات هورمون کورتیزول هم راستا با تغییرات گلوکز خون می‌باشد که این موضوع بر نقش هورمون کورتیزول در افزایش آمادگی بدنی ماهی برای مقابله با استرس تحمیلی تأکید می‌کند (Pratap and Wendelaar Bonga, 1990; Wendelaar Bonga, 1997).

همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، فعالیت آنزیم کاتالاز کبدی طی مواجهه با دو فلز مس و کادمیوم تغییرات مشابه و معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. چنین روندی برای دیگر آنزیم آنتی‌اکسیدان کبدی یعنی سوپراکسید دیسموتاز نیز قابل مشاهده است با این تفاوت که در اینجا، تغییرات معنی‌داری را بین دو تیمار فلزی در روز نمونه‌برداری مشاهده می‌کنیم (شکل ۳). بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در ماهی خاویاری *Acipenser naccari* در کبد نسبت به سایر بافت‌های مطالعه شده به اثبات رسیده بود (Trenzado *et al.*, 2006). کبد ماهیان، به دلیل متابولیسم و نیز مصرف اکسیژن بالا، مکان انجام واکنش‌های اکسایشی و تولید رادیکال‌های آزاد و مهمتر از همه، نشان‌دهنده وضعیت دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی است (Wilhelm-Filho, 1996). به همین جهت در این مطالعه، جهت بررسی پاسخ آنزیمی، کبد به عنوان مهمترین اندام و مناسب‌ترین انتخاب، مورد بررسی قرار گرفت. در ماهیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان توسط فلز مس و کادمیوم هم القاء و هم بازداشته می‌شود که این موضوع بر حسب دوز، گونه و شیوه مواجهه ماهی متفاوت است. القاء فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در کبد ماهیان در تیمار مس

شده در قزل‌آلای رنگین‌کمان مواجهه شده با کادمیوم بود که طی مواجهه یک هفته‌ای، مقادیر T_3 پلاسما ثابت ماند ولی برای دیگر هورمون تیروئیدی یعنی T_4 پلاسما کاهش معنی‌داری مشاهده گردید (Hontela *et al.*, 1996). هورمون‌های تیروئیدی نقش‌های مهمی را در ماهیان در فرایندهای مهمی همچون تنظیم نمو، رشد، اسمولتیفیکیشن، تولیدمثل و به ویژه مواجهه با مواد سمی بازی می‌کنند (Plisetskaya *et al.*, 1983; Hontela *et al.*, 1995). همچنین، هورمون T_4 که به T_3 شکل فعال هورمون غده تیروئید، تبدیل می‌شود، بر ترشح هورمون کورتیزول توسط غده بین‌کلیوی اثرگذار است (Young and Lin, 1988). همچنین، افزایش سریع و معنی‌دار هورمون کورتیزول پلاسما در تیمار فلزی، پاسخی بود که در مطالعات متعدد دیگر نیز گزارش گردیده است (Pratap and Wendelaar Bonga, 1990; Munoz *et al.*, 1991; Gill *et al.*, 1993; Tort *et al.*, 1996). نکته جالب این است که برخلاف این مطالعات، افزایش معنی‌دار مشاهده شده در تیمار مس، حتی پس از ۲ هفته مواجهه همچنان معنی‌دار می‌باشد که چنین پاسخی، کمتر گزارش شده است. البته (Hontela *et al.*, 1996) چنین روندی را برای قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از یک هفته تماس با کادمیوم محلول در آب گزارش نموده‌اند. تغییرات مقادیر هورمون کورتیزول پلاسما شاخص پاسخ اولیه به استرس در ماهیان است (Wu *et al.*, 2007). مواجهه ماهیان با فلزات موجب افزایش سریع مقادیر کورتیزول پلاسما می‌شود که این پاسخ به عنوان بخشی از پاسخ استرسی غیر اختصاصی تلقی می‌شود (Dethloff *et al.*, 1999). به طور کلی، مواردی همچون متابولیسم انرژی، تنظیم تعادل یونی و اسمزی، نمو سلول‌های کلریدی، حفظ هموستاز بدنی، سرکوب ایمنی، تقویت پاسخ دفاعی و القاء متالوتیونین از جمله دلایل ذکر شده برای توجیه افزایش غلظت کورتیزول پلاسما طی مواجهه با فلزات می‌باشند (Veillette and Yong, 1998; Ricard *et al.*, 2004). القاء متالوتیونین توسط کورتیزول به نقش حساس این هورمون در رفع سمیت

افزایش معنی‌دار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز کبدی را در غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به تیمار شاهد و غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر نشان داد. ترکیبات خارجی (زنوبیوتیک‌ها) می‌توانند تولید رادیکال‌های اکسیژنی همچون پراکسید هیدروژن و سوپراکسید را بیفزایند که این ترکیبات فعال، مسوول آسیب سلولی و بافتی و ایجاد استرس اکسایشی می‌باشند. عوامل آنزیمی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مثل کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز اهمیت شایان ذکری برای ماهیان دارند و آنها را از خطر رادیکال‌های آزاد تولید شده طی استرس اکسایشی و سایر عوامل اخلاگر رها می‌سازند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه بخوبی نشان می‌دهد که غلظت‌های انفرادی و تحت کشنده فلزات مس و کادمیوم بر بچه فیل ماهی اثرگذار بوده و باعث ایجاد تغییراتی در شاخص‌های بیوشیمیایی آنها حتی پس از گذشت ۲ هفته گردیده است. با توجه به تغییرات مشاهده شده در این مطالعه، پاسخهای هورمونی، به عنوان نشانگرهای مناسب، برای فهم مواجهه با فلز مس در بازه‌های زمانی مشابه و در آب شیرین توصیه می‌شوند.

نسبت به کادمیوم، نشان‌دهنده ایجاد استرس اکسایشی توسط فلز مربوطه در بچه ماهیان مورد آزمایش می‌باشد هرچند که این تغییر دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نبود. پاسخ‌های مختلف فعالیت آنزیم کاتالاز، در ارتباط با نوع فلز، بافت، غلظت و نوع موجود زنده می‌باشد. برخلاف نتایج حاصله از این تحقیق، Siraj Basha and Usha Rani (2003) در مطالعه‌ای که روی تیلاپیای موزامبیک طی مواجه نمودن ماهیان با غلظت تحت کشنده معادل ۱۰ درصد LC_{50} ۴۸ ساعته فلز کادمیوم (۵ میلی‌گرم بر لیتر) بصورت نمک کلرید کادمیوم انجام دادند، مشاهده کردند که در روزهای ۱، ۷ و ۱۵ و ۳۰ پس از تماس، فعالیت آنزیم کاتالاز کبد، افزایش معنی‌داری را از روز هفتم به بعد نشان می‌دهد که این روند تا روز ۱۵ام آزمایش حفظ می‌شود ولی پس از آن تا روز ۳۰ام کاهش می‌یابد. در مقابل، در مطالعه‌ای روی تیلاپیای نیل تحت مواجهه با غلظت‌های مختلف تحت کشنده مس و کادمیوم طی ۱۴ روز، تغییرات معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده نگردید (Atli and Canli, 2007). همچنین، مطالعه‌ای توسط Asagba et al. (2008) روی گربه ماهی *Clarias gariepinus*، پس از ۲۱ روز مواجهه با کادمیوم،

References

- Aaseth, J., Norseth, T., 1986. Copper. In: Friberg, L., Nordberg, G.F., Vouk, V.B. (Eds.), Handbook on the toxicology of metals. Second edition. Volume II: specific metals. Elsevier, New York, pp. 233-254.
- Agusa, T., Kunito, T., Tanabe, S., Pourkazemi, M., Aubrey, D.G., 2004. Concentrations of trace elements in muscle of sturgeons in the Caspian Sea. Marine Pollution Bulletin. 49, 789-800.
- Almeida, J.A., Novelli, E.L.B., Dal Pai Silva, M., Alves Junior, R., 2001. Environmental cadmium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Environmental Pollution. 114, 169-175.
- Asagba, S.O., Eriyamremu, G.E., Igberaese, M.E., 2008. Bioaccumulation of cadmium and its biochemical effects on selected tissues of the catfish (*Clarias gariepinus*). Fish Physiology and Biochemistry. 34, 61-69.
- Atli, G., Canli, M., 2007. Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish, *Oreochromis niloticus*. Comparative Biochemistry and Physiology. 145 C, 282-287.
- Beaumont, M.W., Butler, P.J., Taylor, E.W., 2000. Exposure of brown trout, *Salmo trutta*, to a sub-lethal concentration of copper in soft acidic water: effects upon muscle metabolism and membrane potential. Aquatic Toxicology. 51(2), 259-72.
- Charkhabi, A.H., Sakizadeh, M., Rafiee, G., 2005. Seasonal fluctuation of heavy metals pollution in Iran's Siahrood River. Environmental Science and Pollution Research. 12, 264-270.
- Cıcık, B., Engin, K., 2005. The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758). Turkish Journal of Veterinary and Animal

- Sciences. 29, 113-117.
- De la Torre, F.R., Salibian, A., Ferrari, L., 2000. Biomarkers assessment in juvenile *Cyprinus carpio* exposed to waterborne cadmium. *Environmental Pollution*. 109, 277-282.
 - Dethloff, G.M., Schlenk, D., Khan, S., Bailey, H.C., 1999. The effects of copper on blood and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 36, 415-423.
 - Di Giulio, R.T., Hinton, D.E., 2008. *The toxicology of fishes*. CRC Press (Taylor & Francis Group), New York, 1071 pp.
 - Ecotoxicological Study, 2002. Investigation into toxic contaminant accumulation and related pathology in the Caspian sturgeon, seal and bony fish (ECOTOX Study), 17 pp.
 - Gill, T.S., Leitner, G., Porta, S., Epple, A., 1993. Responses of plasma cortisol to environmental cadmium in the eel, *Anguilla rostrata* Lesueur. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 104, 489-495.
 - Gravel, A., Campbell, P.G.C., Hontela, A., 2005. Disruption the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in 1⁺ yellow perch (*Perca flavescens*) chronically exposed to metals in the environment. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 62(5), 982-990.
 - Havens, K.E., 1994. An experimental comparison of the effects of two chemical stressors on a freshwater zooplankton assemblage. *Environmental Pollution*. 84, 245-251.
 - Hontela, A., Daniel, C., Ricard, A.C., 1996. Effects of acute and subacute exposures to cadmium on the interrenal and thyroid function in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Toxicology*. 35, 171-182.
 - Hontela, A., Dumont, P., Duclos, D., Fortin, R., 1995. Endocrine and metabolic dysfunction in yellow perch, *Perca flavescens*, exposed to organic contaminants and heavy metals in the St. Lawrence River. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 14, 725-731.
 - Kajiwara, N., Ueno, D., Monirith, I., Tanabe, S., Pourkazemi, M., Aubrey, D.G., 2003. Contamination by organochlorine compounds in sturgeons from Caspian Sea during 2001 and 2002. *Marine Pollution Bulletin*. 46, 741-747.
 - Karpinsky, M.G., 1992. Aspects of the Caspian Sea benthic ecosystem. *Marine Pollution Bulletin*. 24, 389-394.
 - Khodorevskaya, R.P., Dovgopol, G.F., Zhuravleva, O.L., Vlasenko, A.D., 1997. Present status of commercial stocks of sturgeons in the Caspian Sea basin. *Environmental Biology of Fishes*. 48, 209-219.
 - Kim, S.G., Jee, J.H., Kang, J.C., 2004. Cadmium accumulation and elimination in tissues of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* after sub-chronic cadmium exposure. *Environmental Pollution*. 127, 117-123.
 - Lawrence, A.J., Elliott, M., 2003. Introduction and conceptual model. In: Lawrence, A., Hemingway, K. (Eds.), *Effects of Pollution on Fish: Molecular Effects and Population Responses*. Oxford, UK, Blackwell Science Ltd, pp. 1-13.
 - Li, J., Quabius, E.S., Wendelaar Bonga, S.E., Flik, G., Lock, R.A.C., 1998. Effect of water borne copper on branchial chloride cells and Na⁺/K⁺-ATPase activities in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Aquatic Toxicology*. 43, 1-11.
 - MacKenzie, C.L., 1961. A practical chemical method for killing mussels and other oyster competitors. *Commercial Fisheries Review*. 23(3), 15-19.
 - Moore, M.J., Mitrofanov, I.V., Valentini, S.S., Volkov, V.V., Kurbskiy, A.V., Zhimbey, E.N., Eglinton, L. B., Stegeman, J.J., 2003. Cytochrome p4501A expression, chemical contaminants and histopathology in roach, goby and sturgeon and chemical contaminants in sediments from the Caspian Sea, Lake Balkhash and the Ily River Delta, Kazakhstan. *Marine Pollution Bulletin*. 46, 107-119.
 - Munoz, M.J., Carballo, M., Tarazona, J.V., 1991. The effect of sublethal levels of copper and cyanide on some biochemical parameters of rainbow trout along subacute exposition. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 100C, 577-582.
 - Parizanganeh, A., Lakhan, V.C., Jalalian, H., Ahmad, S.R., 2008. Contamination of near shore surficial sediments from the Iranian coast of the Caspian Sea. *Soil and Sediment Contamination*. 17, 19-28.
 - Pelgrom, S.M.G.J., Lock, R.A.C., Balm, P.H.M., Wendelaar Bonga, S.E., 1995. Integrated physiological responses of tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to sub-lethal copper exposure. *Aquatic Toxicology*. 32, 303-320.
 - Plisetskaya, E., Woo, N.Y.S., Murat, J.C., 1983. Thyroid hormones in cyclostomes and fish and their role

- in regulation of intermediary metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 74 A, 179-187.
- Pourang, N., Richardson, C.A., Mortazavi, M.S., 2010. Heavy metal concentrations in the soft tissues of swan mussel (*Anodonta cygnea*) and surficial sediments from Anzali wetland, Iran. *Environmental Monitoring and Assessment*. 163, 195-213.
 - Pratap, H.B., Wendelaar Bonga, S.E.W., 1990. Effects of waterborne cadmium on plasma cortisol and glucose in the cichlid fish, *Oreochromis mossambicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 95C, 313-317.
 - Ricard, A.C., Daniel, C., Anderson, P., Hontela, A., 1998. Effects of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 34, 377-381.
 - Saeedi, M., Abesi, O., Jamshidi, A., 2010. Assessment of heavy metal and oil pollution of sediments of south eastern Caspian Sea using indices. *Journal of Environmental Studies* 36, 21-38 (In Persian)
 - Saeedi, M., Karbassi, A., 2006. Heavy metal pollution and speciation in sediments of the southern part of Caspian Sea. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 9(4), 733-740
 - Saeedi, M., Karbassi, A., Nabi Bidhendi, G., Mehrdadi, N., 2006. Effect of human activities on heavy metal accumulation in Tadjan River water in Mazandaran province. *Journal of Environmental Studies* 40, 41-50. (In Persian)
 - Singh, R.K., Sharma, B., 1998. Carbofuran induced biochemical changes in *Claria batrachus*. *Pesticide Science*. 53, 285-290.
 - Siraj Basha, P., Usha Rani, A., 2003. Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in fresh water teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 56, 218-221.
 - Tort, L., Kargacin, B., Torres, P., Giralt, M., Hidalgo, J., 1996. The effect of cadmium exposure and stress on plasma cortisol, metallothionein levels and oxidative status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 114 C, 29-34.
 - Trenzado, C., Hidalgo, M.C., Garcia-Galleno, M., Morales, A.E., Furne, M., Domezian, A., Domezian, J., Sanz, A., 2006. Antioxidant enzymes and lipid prooxidation in sturgeon, *Acipenser naccari* and trout *Oncorhynchus mykiss*: A comparative study. *Aquaculture*. 254, 758-767.
 - Umminger, B.L., 1970. Physiological studies on super cooled killifish (*Fundulus heteroclitus*). Carbohydrate metabolism and survival at sub zero temperature. *Journal of Experimental Zoology*. 173, 159-174.
 - Varedi, S.E., Gholamipoor, S., Rezaei, M., 2010. The heavy metals concentrations in water column of 5, 10 and 50m in the southern part of the Caspian Sea. The 1st national-regional conference on ecology of the Caspian Sea (FCECS2010), Sari, Iran. (In Persian)
 - Veillette, P.A., Young, G., 2004. Temporal changes in intestinal Na⁺, K⁺-ATPase activity and *in vitro* responsiveness to cortisol in juvenile Chinook salmon. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 138 A, 297-303.
 - Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*. 77, 591-625.
 - Wilhelm Filho, D.W., 1996. Fish antioxidant defenses-a comparative approach. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 29, 1735-1742.
 - Wu, S.M., Shih, M.J., Ho, Y.C., 2007. Toxicological stress response and cadmium distribution in hybrid tilapia (*Oreochromis sp.*) upon cadmium exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 145 C, 218-226.
 - Young, G., Lin, R.J., 1988. Response on the interrenal to adrenocorticotrophic hormone after short term thyroxine treatment of coho salmon (*Oncorhynchus kisulch*). *Journal of Experimental Zoology*. 245, 53-58.
 - Zahedi, S., Mirvaghefi, A., Rafiee, G., Mojazi Amiri, B., Hedayati, M., Makhdoomi, C., Zarei Dagesaraki, M., 2011. The effects of exposure to sub-lethal copper and cadmium concentrations on biochemical factors of one year old Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 20, 61-72. (In Persian)

The Effects of Copper and Cadmium Exposure on Biochemical Factors of Plasma and Liver in Beluga Sturgeon, *Huso huso* (Linnaeus, 1758)

S. Zahedi³, A. R. Mirvaghefi^{1*}, B. Mojazi Amiri¹, Gh. Rafiee¹, M. Hedayati²,
Ch. Makhdoomi³, M. Zarei Dagesaraki³ and S. Mahdavi Sahebi⁴

¹Department of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

² Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Shahid Rajaee Sturgeon Hatchery Center, Sari, Mazandaran, Iran

⁴ Department of Fisheries Sciences, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

(Received: 26-12-2010 - Accepted: 09-01-2012)

Abstract

This study was undertaken to evaluate the effects of single sub-lethal copper (Cu) and cadmium (Cd) exposure on biochemical factors of plasma and liver in juveniles beluga sturgeon, *Huso huso*. A total of 54 fish (weight: 55.4±6.8 g; age: +4 months) were exposed to 20 and 300 µg/l of Cu and Cd in semi-static conditions for 14 days on June (2008), respectively. Then, the effects of these sub-lethal metal concentrations on selected biochemical factors were assessed during 14 days. Results showed that there were no significant differences in plasma glucose, total protein, triglyceride as well as liver protein levels among groups on day 14. Also, metal exposure had significant effects on plasma triiodothyroxine (T₃) but not on thyroxine (T₄) levels. In contrast, plasma cortisol levels increased significantly compared to the controls only in Cu exposure. No significant differences were observed in liver catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities between experimental groups and controls, but there was significant difference in SOD activities between two metal treatments. This study demonstrated that sub-lethal doses of Cu and Cd were effective on beluga sturgeon. Moreover, it showed that hormonal changes were appropriate biomarkers for Cu exposure in fresh water in beluga sturgeon.

Keywords: Copper, Cadmium, Biochemical factors, Beluga sturgeon (*Huso huso*)