شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۷۱، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷

صفحات ۳۰-۲۲

تاثیر مواجهه ۱۴ روزه با نفت خام و دوره بازیابی فیزیولوژیک بر تغییرات بیوشیمیایی خون در بچه ماهیان باس آسیایی(*Lates calcarifer*)

دارا باقری*[۱]، شهربانو موسوی مطهر[۲]، محمد محیسنی[۳]، محمود نفیسی بهابادی[۴]، امین اوجی فرد[۴]

۱. استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

۳. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران.

۴. دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۱۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۳/۲۱

چکیده

آلاینده‌های نفتی از مهمترین چالش‌ها در توسعه آبزی‌پروری دریایی در خلیج فارس و دریای عمان به‌شمار می روند. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات نفت خام بر برخی پارامترهای خون بچه‌ماهیان سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) انجام پذیرفت. در مرحله اول ماهیان به مدت ۱۴ روز در معرض پنج تیمار آزمایشی شامل، تیمار شاهد، پخش‌کننده شیمیایی، بخش قابل حل نفت در آب، نفت خام پخش‌شده به روش مکانیکی و نفت خام پخش‌شده به روش شیمیایی با سه تکرار قرار گرفتند. در مرحله دوم آزمایش به‌منظور بررسی توانایی بازیابی فیزیولوژیک، ماهیان به‌مدت ۱۴ روز به محیط فاقد آلودگی منتقل شدند. جهت بررسی تغییرات بیوشیمیایی خون، میزان فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، گلوکز، تری‌گلیسرید و پروتئین کل پلاسما اندازه‌گیری شد. نتایج تفاوت معنی‌دار در سطح فعالیت آنزیم ALT و پروتئین کل پلاسمای خون ماهیان در تمام دوره‌های نمونه برداری نشان نداد. میزان AST در تمامی تیمارهای آلوده به نفت خام در روزهای ۷ و ۱۴ افزایش یافت. این افزایش در تیمار پخش‌کننده مکانیکی در دوره ریکاوری نیز ادامه داشت. سطوح گلوکز خون پس از گذشت یک هفته از در معرض قرارگیری در تیمارهای آلوده نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. پس از ۱۴ روز، غلظت گلوکز در تیمارهای پخش‌کننده مکانیکی و پخش‌کننده شیمیایی نفت کاهش قابل توجهی را نسبت به شاهد نشان دادند. میزان تری گلیسرید در تمامی تیمارهای آلوده به نفت خام در همه دوره‌ها نسبت به تیمار شاهد کاهش قابل توجهی داشت. نتایج این مطالعه نشان داد که نفت خام پخش شده در آب سبب ایجاد تغییرات در برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون بچه ماهیان سی‌باس آسیایی است و این اثرات تا ۱۴ روز بعد از پایان در معرض قرارگرفتن ماهی با نفت خام نیز مشاهده می‌گردد.

واژگان کلیدی: خلیج فارس، نفت خام، سی‌باس، فاکتورهای بیوشیمیایی خون.

* نویسنده مسئول: ایمیل: dara.bagheri@pgu.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

۱. مقدمه

آبزی‌پروری در بسیاری از مناطق جهان به سرعت در حال رشد است، محصولات آبزی‌پروری، مواد غذایی مهم با اهمیت اقتصادی بالا را عرضه می‌کنند (Fisheries, 2006). محیط‌های آبی در طول چندین دهه است که به‌عنوان یک مخزن بزرگ ضایعات انسانی، تحت تاثیر آلاینده‌های زیست محیطی قرار گرفته‌اند. در میان انواع مختلف آلاینده‌های دریایی، فرآورده‌های نفتی یکی از بیشترین آلوده کننده‌های بوم سازگان های آبی می‌باشند (Achuba and Osakwe, 2003; Pacheco and Santos, 2001). قرار گرفتن در معرض شرایط حاد و مزمن نفت خام و مشتقات آن می‌تواند انواع علائم مسمومیت در حیوانات آبزی را القا کند، هیدروکربن‌های نفت خام می‌توانند در آبزیان، سبب تولید رادیکال‌های آزاد شده و منجر به بروز تغییرات بیوشیمیایی در اندام‌ها و خون گردد (Achuba and Osakwe, 2003). علاوه براین قرار گرفتن در معرض آلاینده‌ها، عملکرد رفتارهای حیاتی و بقاء آبزیان در اکوسیستم‌های طبیعی را تحت تاثیر قرار داده (Scott and Sloman, 2004) و اثرات فیزیولوژیکی نظیر اختلال در سیستم حسی، هورمونی، عصبی و سیستم سوخت و ساز بدن، را به دنبال دارد.

نفت در طبیعت به اشکال مختلف با آب مخلوط می گردد. از این رو در انجام آزمایشات مرتبط با آلاینده‌های نفتی شبیه سازی چگونگی پخش نفت در آب اهمیت بالایی دارد. نفت پخش شده به روش مکانیکی، پراکندگی طبیعی نفت در اثر امواج را شبیه سازی می‌کند، بخش نفت محلول در آب شبیه‌سازی یک لکه نفت پخش‌نشده در آب می‌باشد (Milinkovitch *et al*., 2012) این بخش از ترکیب نفت خام شامل هیدروکربن‌هایی است که میزان انحلال پذیری آن‌ها کم و بسیار پایدار در محیط‌های آبی هستند و همچنین زنجیره هیدروکربنی آن‌ها طویل است (George-Ares and Clark, 2000). امروزه استفاده ترکیبات مختلف شیمیایی در زمان بروز نشت نفت به منظور تسریع در تجزیه نفت خام متداول گردیده است. استفاده از ترکیاتی که منجر به پراکندگی شیمیایی مواد نفتی می گردند، غلظت کل هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAH) و نیز نسبت هیدروکربن های با وزن مولکولی بالا در آب را افزایش می‌دهد (Couillard *et al*., 2005). پخش کننده های شیمیایی نفت می‌تواند تا حد زیادی سمیت نفت خام را در اثر افزایش اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) ناشی از افزایش پخش‌شدن نفت محلول در آب را افزایش دهد (Radniecki *et al*., 2013).

ماهی سی‌باس آسیایی ***(Lates calcarifer)*** یک گونه یوری هالین از خانواده Latidae بوده که محل پراکنش آن در بسیاری از مناطق حاره و نیمه حاره اقیانوس هند و اقیانوس اطلس می‌باشد (Fischer and Bianchi, 1984). از مهم‌ترین ویژگی‌های ماهی سی‌باس آسیایی که باعث شده است تا این گونه جزء بهترین ماهیان پرورشی دنیا محسوب شود شامل رشد سریع، تکثیر آسان، مقاومت بالای این گونه در برابر تغییرات شوری و توانایی در پذیرش غذای تجاری است (Allen *et al*., 2002). در حال حاضر پرورش در قفس این ماهی در ایران رو به گسترش بوده و می‌توان انتظار داشت که این ماهی نقش به‌سزایی در رونق اجتماعی و اقتصادی مناطق ساحلی ایران داشته باشد، از آنجایی که عمده سیستم پرورش در قفس در آب‌های خلیج فارس و دریای عمان طراحی شده است و احتمال نشت نفت و سایر مواد هیدروکربنی آروماتیک در این اکوسیستم وجود دارد، مطالعه حاضر با هدف، شبیه سازی رفتار گسترش واقعی نفت در دریا و برآورد خسارات ناشی از آلودگی‌های نفتی به نشانگرهای زیستی آنزیمی شامل ترانس آمینازهای خون (ALT و AST) و دیگر پارامترهای بیوشیمیایی خون (پروتئین کل، گلوکز و تری‌گلیسرید) و پاسخ این نشانگرها به آلودگی‌ها، انجام شده است.

۲. مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در دانشگاه خلیج فارس بوشهر در بهار ۱۳۹۵ انجام گردید. به این منظور تعداد ۲۲۵ عدد بچه ماهی سی‌باس آسیایی از مرکز تکثیر و پرورش راموز واقع در منطقه چاه پهن بوشهر تهیه گردیدند؛ ماهیان به‌مدت ۲۱ روز درون تانک های پلی-اتیلن محتوی ۲۰۰ لیتر آب و با تراکم ۴۵ عدد بچه ماهی در هر تانک به‌منظور سازگاری با شرایط آزمایشی، نگهداری شدند. در طی این دوره بچه ماهیان

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- اندازه‌گیری شرایط فیزیک و شیمی آب بچه‌ماهیان در معرض نفت خام.

ردیف	نوع آزمایش	واحد اندازه‌گیری	میانگین اندازه ثبت شده
۱	دما	درجه سانتی‌گراد	۲۶/۲۴ ±۰/۴۲
۲	اکسیژن محلول	میلی‌گرم در لیتر	۵/۶۱±۰/۲۱
۳	pH	pH	۷/۴±۰/۱۹
۴	شوری	گرم در لیتر	۴۶/۶۶±۰/۳

با غذای تجاری اکسترودر ۲ میلی‌متر ساخت شرکت ۲۱ بیضاء در سه نوبت در روز (صبح، ظهر و عصر) تا حد سیری، غذادهی شدند، روزانه ۷۰ درصد از آب موجود در تانک‌ها پس از دو بار عبور از فیلتر شنی و سیستم تهویه، تعویض گردید. پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، اکسیژن، pH و شوری به‌صورت روزانه اندازه گیری شدند. بعد از گذشت دوره ۲۱ روزه آداپتاسیون، زیست‌سنجی بچه ماهیان با استفاده از ترازوی دیجیتال AND مدل HL1000، ساخت کشور ژاپن با دقت ۰/۰۱ گرم و خط‌کش استاندارد با دقت ۰/۱سانتی‌متر انجام شد.

۱.۲. آماده سازی تیمارهای آزمایشی

پس از گذشت دوره آداپتاسیون ماهیان با میانگین وزنی۱/۴±۷/۲ گرم و میانگین طولی آنها ۳/۴±۸/۴ سانتی‌متر در معرض تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. به‌این منظور میزان ۲۵۰ گرم نفت خام تهیه شده از حوزه نفتی آزادگان، در زیر نور آفتاب بدون هواده قرار داده شد به طوری که تحت تاثیر اشعه UV نور خورشید ۵ درصد از وزن نفت کاهش یافت، از این نفت برای تهیه تیمارهای آزمایشی استفاده گردید (Milinkovitch *et al*., 2011).

این آزمایش در پنج تیمار و سه تکرار مجموعاً در ۱۵ تانک و در دو مرحله انجام پذیرفت. در مرحله اول، تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد، پخش کننده شیمیایی به‌عنوان شاهد مثبت، بخش قابل حل نفت در آب، نفت خام پخش‌شده به‌روش مکانیکی و نفت خام پخش‌شده به روش شیمیایی بود. تیمار شاهد شامل آب فیلتر شده دریا و تیمار شاهد مثبت با ریختن ۰/۴ گرم از پخش کننده (Oil spill eater II) تهیه گردید، بخش نفت محلول در آب با ریختن ۲۰ گرم نفت خام بر روی پارچه توری نازک متصل شده به انتهای یک ظرف دایره‌ای شکل بر روی سطح آب تهیه شد. این تیمار در طول دوره در معرض قرارگیری، بدون مخلوط کردن باقی مانده و ماهی‌ها تنها در معرض بخش محلول نفت در آب قرار گرفتند، تیمار نفت پخش شده به روش مکانیکی با ریختن ۲۰ گرم از نفت خام آماده شده به داخل قیف مخلوط کننده متصل به پمپ تهیه گردید و تیمار نفت پخش شده به روش شیمیایی با ریختن ۲۰ گرم از نفت و ۰/۴ گرم از پخش کننده شیمیایی (Oil spill eater II) به درون قیف مخلوط کننده با آب به دست آمد (Milinkovitch *et al*., 2011).

۲۴ ساعت پس از تهیه تیمارهای آزمایشی، تعداد پانزده عدد بچه ماهی به روش استاتیک در معرض هر یک از تیمارهای آزمایشی قرار داده شدند، در این مرحله غذادهی و تعویض آب قطع گردید. شرایط فیزیکوشیمیایی آب به‌طور روزانه بررسی و ثبت گردید (جدول ۱)، پس از گذشت ۷ و ۱۴ روز از در معرض گذاری نمونه برداری از خون بچه ماهیان انجام شد.

در مرحله دوم آزمایش، پس از دو هفته از در معرض قرارگیری، ماهیان به‌منظور بررسی میزان برگشت به شرایط فیزیولوژیک طبیعی، به‌مدت دو هفته در محیط آبی بدون حضور آلاینده قرار داده شدند. در این مرحله غذادهی و تعویض آب به‌صورت روزانه انجام گرفت. پس از دوره ریکاوری از ماهیان در تیمارهای آزمایشی خونگیری انجام شد.

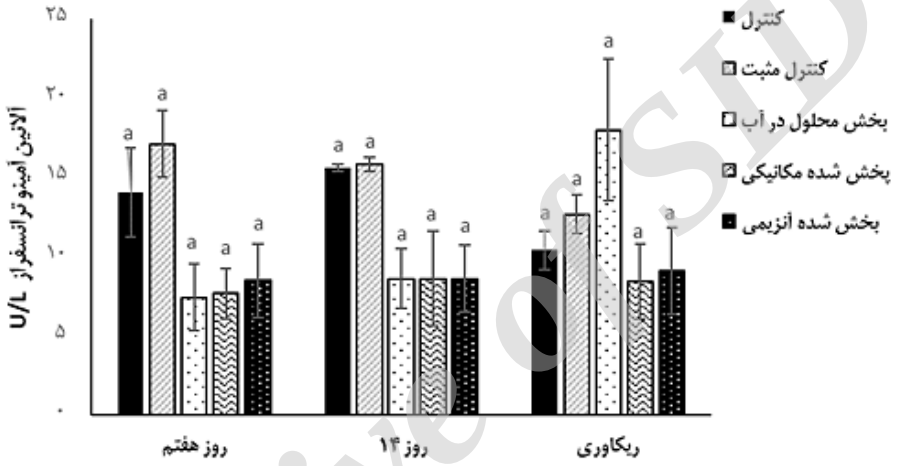
نمونه‌های خونی که در یخ نگهداری شده بودند، در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شدند. پلاسمای خون با استفاده از سانتریفوژ کردن نمونه‌های خون ماهیان در ۵۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تهیه گردید (Bagheri *et al*., 2014). پس از آن نمونه‌های پلاسما تا زمان انجام آنالیزهای بیوشیمیایی مربوطه در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. فاکتورهای مورد بررسی در این تحقیق شامل آنزیم‌های ترانس آمینازی خون (آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارت آمینو ترانسفراز)، گلوکز، تری‌گلیسرید و

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- سطوح گلوکز، تری‌گلیسرید و پروتئین پلاسمای خون ماهیان سی باس آسیایی قرار گرفته در معرض تیمارهای آزمایشی. حروف نامشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (*P*>۰/۰۵).

عامل	دوره	شاهد	شاهد مثبت	بخش محلول در آب	پخش‌کننده مکانیکی	پخش‌کننده شیمیایی
گلوکز	۷ روز	۱۰۵±۱۲/۷^{a}	۶۰/۳±۱۱/۹^{ab}	۳۷/۳±۱۴/۵^{b}	۳۴/۶±۲/۴ ^{b}	۲۶/۳±۲/۸^{b}
	۱۴ روز	۵۱±۱۰^{ab}	۶۲±۹/۵^{a}	۳۵±۴/۵^{ab}	۲۶±۱/۷^{b}	۲۲/۳±۲^{b}
	ریکاوری	۹۸/۶±۱۸/۹^{a}	۵۹/۶±۶/۱^{ab}	۳۴/۳±۹/۳^{b}	۲۱/۳±۲/۴^{b}	۴۲±۱۶^{ab}
تری‌گلیسرید	۷ روز	۶۷۳/۳±۸۹/۱^{a}	۴۴۵/۳±۶۳/۸^{ab}	۸۱/۶±۳/۹^{c}	۲۲۲/۶±۲۳/۳^{bc}	۱۷۳/۳±۵۲/۳^{c}
	۱۴ روز	۳۰۸/۶±۱۷/۴^{a}	۳۴۳±۶۶/۷^{a}	۱۱۶/۳±۴۰/۲^{b}	۸۱±۱۸^{b}	۵۶±۴/۹^{b}
	ریکاوری	۳۳۱±۷۹/۲^{a}	۳۵۱/۳±۵۰/۹^{a}	۸۶±۴/۷^{b}	۸۹/۶±۱۲/۹^{b}	۸۵/۶±۱۲^{b}
پروتئین کل	۷ روز	۵۷/۶±۶/۴^{a}	۵۲/۳±۴/۶^{a}	۴۹±۴/۱^{a}	۵۲±۴/۱^{a}	۵۰/۶±۴^{a}
	۱۴ روز	۵۱±۴/۵^{a}	۵۱/۳±۲/۹^{a}	۵۱/۳±۳/۸^{a}	۵۱/۶±۲/۹ ^{a}	۵۰/۶±۲/۶^{a}
	ریکاوری	۵۱/۳±۳/۴^{a}	۴۹±۳^{a}	۴۸/۶±۵/۲^{a}	۴۶/۶±۴/۳^{a}	۴۶/۶±۳/۱^{a}



شکل ۱ - سطوح آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز پلاسمای خون ماهیان سی باس آسیایی قرار گرفته در معرض تیمارهای آزمایشی.

پروتئین کل بود. کلیه فاکتورها با استفاده از کیت تجاری پارس آزمون و به روش اسپکتروفتومتری مورد سنجش قرار گرفتند.

۲.۲. آنالیز آماری

پژوهش حاضر با پنج تیمار و سه تکرار، در قالب طرح آزمایشی کاملا تصادفی صورت گرفت. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت. وجود اختلاف معنی‌دار، از نظر تغییرات بیوشیمیایی پلاسمای خون بین تیمارها در یک دوره نمونه برداری و نیز بین دوره بازیابی فیزیولوژیک و روزهای هفتم و چهاردهم مواجهه با نفت خام با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه مورد بررسی قرار گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی در سطح پنج درصد (α = ۰/۰۵) استفاده گردید (Quinn and Keough, 2002). نتایج به صورت میانگین ± خطای میانگین‌ها بیان شد و کلیه آنالیزهای آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. تمامی نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید.

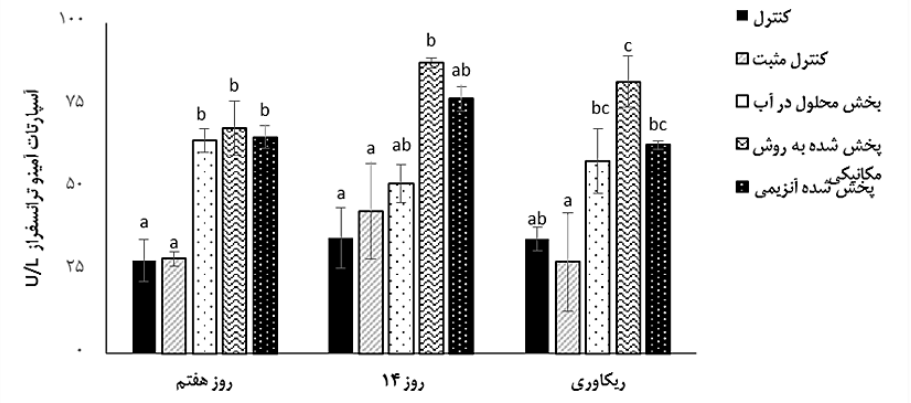
۳. نتایج

۲.۲. آنزیم های آمینو ترانسفرازی ALT و AST

نتایج حاصل از اندازه‌گیری آنزیم ALT پلاسمای خون بچه ماهیان پس از ۷ و ۱۴ روز از در معرض قرارگرفتن با تیمارهای آزمایشی و همچنین پس از طی دوره ریکاوری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۱). نتایج نشان داد که دوره ۱۴ روزه بازیابی فیزیولوژیک تاثیری بر سطوح این آنزیم در بین تمامی تیمارهای آزمایشی نداشت.

سطوح آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز پلاسمای خون ماهیان در روز هفتم در معرض قرار گیری در

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۲ - سطوح آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز پلاسمای خون ماهیان سی باس آسیایی قرار گرفته در معرض تیمارهای آزمایشی. حروف نامشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

کلیه تیمارهای نفت تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد از خود نشان دادند ($P<۰/۰۵$). غلظت این آنزیم در روز ۱۴ در معرض قرارگیری در تیمار نفت پخش شده به روش مکانیکی با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری از خود نشان داد ($P<۰/۰۵$) درحالی که سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P>۰/۰۵$)، این روند در مرحله دوم آزمایش پس از ۱۴ روز دوره اصلاح آب نیز مشاهده گردید (شکل ۲). نتایج تفاوت معنی‌داری در تیمارهای مورد مطالعه بین دوره بازیابی فیزیولوژیک و روزهای هفتم و چهاردهم مواجهه را نشان نداد.

۲.۲. گلوکز، تری‌گلیسرید و پروتئین کل

پس از گذشت ۷ روز از در معرض قرارگیری ماهیان با تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری در سطوح گلوکز پلاسمای خون بین تمامی تیمارها با گروه شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۱). در حالی‌که پس از طی ۱۴روز از در معرض قرارگیری تنها تیمار شاهد مثبت با شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$) و بین سایر تیمارهای نفت با تیمار شاهد تفاوتی مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). پس از طی دوره ریکاوری نیز تیمارهای نفت پخش شده به روش مکانیکی و بخش محلول در آب تفاوت معنی‌داری را با گروه شاهد نشان داده و همچنان از گروه کنترل پایین تر بودند ($P<۰/۰۵$) (جدول ۲).

نتایج حاصل از آنالیز تری‌گلیسرید پلاسمای خون نشان داد که یک هفته پس از در معرض قرار گرفتن ماهیان با تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی، بخش نفت محلول در آب و نفت پخش شده به‌روش شیمیایی با گروه‌های شاهد ایجاد شد ($P<۰/۰۵$). این روند در مواجهه ۱۴ روزه با تیمارهای آزمایشی نیز ادامه یافت ($P<۰/۰۵$)، انتقال ماهیان به‌مدت دو هفته به آب سالم نیز تفاوتی در این روند ایجاد نکرده و همچنان اختلاف معنی‌دار بین تیمارها باقی ماند ($P<۰/۰۵$) (جدول ۲). سطوح پروتئین کل پلاسمای خون ماهیان در هر دو مرحله آزمایش تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P<۰/۰۵$) (جدول ۲).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

تاثیر آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های آبی را می‌توان با اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی که به‌طور خاص به درجه و نوع آلودگی پاسخ می‌دهند، مورد ارزیابی قرار داد (Petřivalský *et al*., 1997). مطالعات نشان داده‌اند که حضور آلاینده‌های محیطی منجر به بروز تغییرات فیزیولوژیکی در یک یا تعدادی از پارامترهای خونی آبزی می‌گردند (Van Vuren, 1986). بنابراین، کیفیت آب یکی از عوامل عمده، مسئول تغییرات بیوشیمیایی در خون ماهیان است (Casillas and Smith, 1977). افزایش تغییرات بیوشیمیایی ناشی از مواجهه ماهیان با هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک منجر به اختلال در شرایط طبیعی بدن مانند مهار آنزیم، عقب ماندگی رشد و کاهش در باروری و طول عمر ارگانیسم‌ها می‌شود (DeGraeve *et al*., 1982). آنزیم‌های ترانس آمینازی، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) در تشخیص آسیب‌های ناشی از آلاینده‌ها در بافت‌های کبد، عضله و آبشش ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرند (De la Torre *et al*., 2000).

Archive of SID

www.SID.ir

در پژوهش حاضر سطوح آنزیم ALT پس از ۷ و ۱۴ روز از در معرض قرار گرفتن با نفت خام و همچنین در دوره ریکاوری بعد از آلودگی نفتی هیچ گونه تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). هیچ تغییر قابل توجهی در فعالیت ALT سرم خون تاس ماهی اتریشی از دو محل سایت مرجع و سایت آلوده به نفت مشاهده نشد، این محققین عدم تغییرات آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز خون را ناشی از عدم آسیب بافتی در تاس‌ماهی اتریشی جمع‌آوری شده از سایت آلوده به نفت در رودخانه دانوب، مرتبط دانستند (Stanic *et al*., 2006). از این رو به‌نظر می‌رسد که نتایج به‌دست آمده در این پژوهش می‌تواند نشان دهنده توانایی ماهی سی باس آسیایی در مواجهه میان مدت با ترکیبات نفتی باشد.

سطوح آنزیم AST در تیمار پخش‌کننده مکانیکی نفت در زمان ۷ و ۱۴ روز و نیز زمان ریکاوری، افزایش قابل توجهی را نسبت به گروه شاهد نشان داد، افزایش فعالیت AST پلاسما در ماهی کپور در معرض دلتامترین (یک ترکیب شیمیایی است) نیز مشاهده شده است (Balint *et al*., 1995)، این روند در کفشک ماهیانی که در معرض رسوبات آلوده بودند نیز گزارش شده است (Beyer *et al*., 1996). این نتایج می‌تواند بیان کننده این باشد که آنزیم AST نشانگر مناسبی برای بررسی اثر آلاینده‌ها بر روی این ماهیان می‌باشد و افزایش این آنزیم نشان دهنده افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژنی در اثر آلاینده‌های نفتی و به طبع آن تغییرات آنزیم رها شده در خون باشد، همچنین تیمار نفت پخش‌شده به روش مکانیکی با تولید بیشتر متابولیت‌های آزاد شده ناشی از استرس شیمیایی وابسته به شدت و مدت زمان استرس اعمال شده به عنوان تیماری که بیشترین تاثیر را روی بچه‌ماهیان سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) داشت. با توجه به عدم تغییر روند فعالیت آنزیم AST پس دوره بازیابی فیزیلوژیک، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که انتقال ماهیان به آب فاقد آلودگی به مدت دو هفته، منجر به بهبود شرایط فیزیولوژیک ماهی نخواهد شد.

سطح قند خون می‌تواند یک شاخص زیستی استرس ناشی از آلاینده‌ها در آبزیان به شمار رود (Eraslan *et al*., 2007; Banaee *et al*., 2014). افزایش شرایط هیپوکسی در ماهیان منجر به کاهش سطوح گلوکز خون می‌گردد (Dhavale and Masurekar, 1986). نتایج مطالعه حاضر، کاهش سطح گلوکز پلاسمای خون را در تیمارهای آلوده نسبت به شاهد در روز ۷ و ۱۴ مواجهه با نفت نشان داد ($P<۰/۰۵$)، این روند پس از دو هفته بازیابی نیز مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). به‌نظر می‌رسد که کاهش سطوح گلوکز پلاسمای خون به دلیل استفاده از آن به عنوان منبع تامین انرژی برای مقابله با اثر استرس ناشی از آلودگی و تخلیه سریع کربوهیدرات‌های ذخیره شده باشد. کاهش سطح قند خون آبزی پس از در معرض قرار گرفتن ماهیان با عوامل استرس‌زا به این دلیل است که آبزی برای جلوگیری از اعمال تغییرات فیزیولوژیک ناشی از استرس ایجاد شده، از انرژی قند خون جهت بهبود سیستم دفاعی بدن استفاده کرده و کم کم سطح قند خون سیر نزولی را طی می‌کند.

در مطالعه حاضر میزان تری‌گلیسرید خون بچه ماهیان پس از گذشت ۷ و ۱۴ روز از در معرض قرار گرفتن با نفت خام و نیز دوره ریکاوری در تیمارهای بخش نفت محلول در آب، پخش‌کننده مکانیکی و پخش‌کننده شیمیایی نفت کاهش قابل توجهی را نسبت به گروه شاهد داشت ($P<۰/۰۵$)، به‌نظر می‌رسد این روند ناشی از شکستن تری‌گلیسریدها و به مصرف رساندن انرژی حاصله از آن‌ها در برابر استرس ناشی از آلودگی باشد، همچنین سطح تری‌گلیسرید در بچه ماهیان تیمار شده با آنزیم زیستی نسبت به شاهد تفاوتی را نشان نداد ($P>۰/۰۵$)، این نتایج با نتایج کار Hedayati و Jahanbakhshi (۲۰۱۲) که کاهش سطح تری‌گلیسرید در خون فیل ماهی (*Huso huso*) در معرض نفت خام دیزل را نشان دادند، همبستگی مثبت داشت.

پروتئین کل پلاسما به‌عنوان یک شاخص عمومی سلامت ماهی استفاده می شود، با این حال این پارامتر ممکن است توسط رژیم غذایی نیز تحت تاثیر قرار گیرد (Zsigmond *et al*., 2002). نتایج حاصل از این تحقیق هیچ گونه تغییر قابل توجهی را در میزان پروتئین کل پلاسمای خون بچه ماهیان سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) در طول ۷ و ۱۴ روز در معرض قرار گرفتن با نفت خام و دوره ریکاوری بعد از آن نیز، نشان نداد ($P>۰/۰۵$)، تغییر نکردن پروتئین کل پلاسما شاید به این دلیل بوده است که آبزیان

Archive of SID

www.SID.ir

انرژی مورد نیاز خود برای مقابله با استرس را از طریق گلوکز و تریگلیسرید خون به‌دست آورده‌اند. با این حال Sarhadizadeh و همکاران (۲۰۱۴) اعلام کردند پروتئین کل ماهی گل‌خورک (*Periophthalmus waltoni*) با غلظت پلی‌آروماتیک‌های هیدروکربنی (PAHs) همبستگی منفی قابل توجهی دارد و اظهار داشتند گونه‌های ماهی ممکن است برای مقابله با شرایط استرس، میزان انرژی بالایی را مصرف کنند. مکانیسم فیزیولوژیکی با نقش مهم خود در کاهش محتوای پروتئین کل، باعث تخریب و یا نکروز عملکرد سلول و اختلال در ترکیب پروتئین می‌شود (David *et al*., 2004).

نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی سی باس آسیای نشان داد که دوره ۱۴ روزه بازیابی فیزیولوژیک قادر به بهبود تغییرات ایجاد شده در ماهیان نیست. بررسی بازیابی فیزیولوژیک در ماهیان *Astyanax altiparanae* که در معرض سطوح تحت کشنده گازوئیل قرار گرفته بودند، مشخص ساخت که این ترکیب دارای اثرات فیزیولوژیک طولانی مدت است (Galvan *et al*., 2016). بررسی تاثیرات ترکیب شیمیایی ساپرمترین و کربوفوران بر فاکتورهای خون‌شناسی ماهی *Labeo rohita* نیز مشخص ساخت که از بین رفتن تغییرات ایجاد شده در خون این ماهیان نیازمند گذشت یک دوره طولانی مدت است (Adhikari *et al*., 2004). بررسی تاثیرات حاد سولفات مس بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون در گربه ماهی *Heteropneustes fossilis*، نیز عدم توانایی ماهی در بهبود شرایط فیزیولوژیک در طی دوره کوتاه پس از پایان آلودگی را نشان داد (Singh and Reddy, 1990).

به‌طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد در معرض قرار گرفتن ماهیان سی باس آسیایی با نفت خام می‌تواند تغییراتی در برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون از جمله تغییرات در آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز، گلوکز و تری گلیسرید را ایجاد کند. نتایج نشان دهنده تأثیرپذیری ماهی از شرایط محیطی می‌باشد و علاوه بر این متابولیت‌های آزاد شده در نتیجه تجزیه شیمیایی نفت باعث تغییر در فعالیت آنزیم‌های بیوشیمیایی خون آبزی شدند. این تغییرات می تواند پیامدهای فیزیولوژیک در سطوح فردی داشته و میزان تولیدات آبزی‌پروری را تخت تاثیر قرار دهد. علاوه بر این نتایج حاصل از این تحقیق مشخص ساخت که مواجهه با ترکیب نفت خام و پس از آن دوره بازیابی فیزیولوژیک دو هفته ای قادر به بهبود تغییرات بیوشیمیایی خون ناشی از مواجهه بچه ماهیان سی باس آسیایی با ترکیب نفت خام نیست.

References

Achuba, F., Osakwe, S., 2003. Petroleum–induced free radical toxicity in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Fish Physiology and Biochemistry* 29, 97-103.

Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C., Ayyappan, S., 2004. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their *recovery in a freshwater teleost, Labeo* rohita (Hamilton). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 58, 220-226

Allen, G.R., Midgley, S.H., Allen, M., 2002. Field guide to the freshwater fishes of Australia. Western Australian Museum.

Bagheri, D., Majazi Amiri, B., Porbagher, H., Farahmand, H., Bargahi, A., 2014. Study on the liver antioxidant response, lipid peroxidation and blood aminotransferase activity in Liza persicus in the northern Persians Gulf (case study: the Boushehr Province). *Journal Of Fisheries* 67(3), 329-345

Balint, T., Szegletes, T., Szegletes, Z., Halasy, K., Nemcsok, J., 1995. Biochemical and subcellular changes in carp exposed to the organophosphorus methidathion and the pyrethroid deltamethrin. *Aquatic Toxicology* 33, 279-295.

Banaee, M., Haghi, B.N., Ibrahim, A.T.A., 2014. Sub-lethal toxicity of chlorpyrifos on Common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758): Biochemical response. *International Journal of Aquatic Biology* 1, 281-288.

Beyer, J., Sandvik, M., Hylland, K., Fjeld ,E., Egaas, E., Aas, E., Skåre, J.U., Goksøyr, A., 1996. Contaminant accumulation and biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus* L.) and Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) exposed by caging to polluted sediments in Sørfjorden, Norway. *Aquatic Toxicology* 36, 75-98.

Casillas, E., Smith, L.S., 1977. Effect of stress on blood coagulation and haematology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Fish Biology* 10, 481-491.

Couillard, C.M., Lee, K., Légaré, B., King, T.L., 2005. Effect of dispersant on the composition of the water-accommodated fraction of crude oil and its toxicity to larval marine fish. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24, 1496-1504 .

Archive of SID

www.SID.ir

David, M., Mushigeri, S., Shivakumar, R., Philip, G., 2004. Response of *Cyprinus carpio* (Linn) to sublethal concentration of cypermethrin: alterations in protein metabolic profiles. *Chemosphere* 56, 347-352.

De la Torre, F., Salibian, A., Ferrari, L., 2000. Biomarkers assessment in juvenile *Cyprinus carpio* exposed to waterborne cadmium. *Environmental Pollution* 109, 277-282.

DeGraeve, G., Elder, R., Woods, D., Bergman, H., 1982. Effects of naphthalene and benzene on fathead minnows and rainbow trout. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 11, 487-490.

Dhavale, D., Masurekar, V., 1986. Variations in the glucose and glycogen content in the tissues of *Scylla serrata* (Forskal) under the influence of cadmium toxicity. *Geobios* 13, 139-142.

Eraslan, G., Bilgili, A., Essiz, D., Akdogan, M., Sahindokuyucu, F., 2007. The effects of deltamethrin on some serum biochemical parameters in mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 87, 123-130.

Fischer, W., Bianchi, G., 1984. FAO species identification sheets for fishery purposes: Western Indian Ocean (Fishing Area 51).

Fisheries, F., 2006. Department A. The state of world fisheries and aquaculture, 164 p.

Galvan, G.L., Lirola, J.R., Felisbino, K., Vicari, T., Yamamoto, C.I., Cestari, M.M., 2016. Genetic and hematologic endpoints in Astyanax altiparanae (Characidae) after exposure and recovery to Water-Soluble Fraction of Gasoline (WSFG). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 97, 63-70.

George-Ares, A., Clark, J., 2000 .Aquatic toxicity of two Corexit® dispersants. *Chemosphere* 40, 897-906.

Hedayati, A., Jahanbakhshi, A., 2012. RETRACTED: Biochemical changes in the Beluga *Huso huso* exposed to acute crude diesel oil. *Toxicology and Industrial Health* 0748233711434958.

Milinkovitch, T., Lucas, J., Le Floch, S., Thomas-Guyon, H., Lefrançois, C., 2012. Effect of dispersed crude oil exposure upon the aerobic metabolic scope in juvenile golden grey mullet (*Liza aurata*). *Marine Pollution Bulletin* 64, 865-871.

Milinkovitch, T ,.Ndiaye, A., Sanchez, W., Le Floch, S., Thomas-Guyon, H., 2011. Liver antioxidant and plasma immune responses in juvenile golden grey mullet (*Liza aurata*) exposed to dispersed crude oil. *Aquatic Toxicology* 101, 155-164.

Pacheco, M., Santos, M.A., 2001. Biotransformation, endocrine, and genetic responses of *Anguilla anguilla* L. to petroleum distillate products and environmentally contaminated waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 49, 64-75.

Petřivalský, M., Machala, M., Nezveda, K., Piačka, V., Svobodová, Z., Drábek, P., 1997. Glutathione-dependent detoxifying enzymes in rainbow trout liver: Search for specific biochemical markers of chemical stress. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16, 1417-1421.

Quinn, G.P., Keough, M.J., 2002. Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge University Press.

Radniecki, T.S., Schneider, M.C., Semprini, L., 2013. The influence of Corexit 9500A and weathering on Alaska North Slope crude oil toxicity to the ammonia oxidizing bacterium, *Nitrosomonas europaea*. *Marine Pollution Bulletin* 68, 64-70.

Sarhadizadeh, N ,.Afkhami, M., Ehsanpour, M., Cheraghi, M., 2014. Assessment of PAHs pollution effects on blood metabolic factors of *Periophthalmus waltoni* from northern coast of the Persian Gulf. *European Journal of Experimental Biology* 4, 13-18.

Scott, G.R., Sloman, K.A., 2004. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. *Aquatic Toxicology* 68, 369-392.

Singh, H., Reddy, T., 1990. Effect of copper sulfate on hematology, blood chemistry, and hepato-somatic index of an Indian catfish, Heteropneustes fossilis (Bloch), and its recovery. *Ecotoxicology And Environmental Safety* 20, 30-35

Stanic, B., Andric, N., Zoric, S., Grubor-Lajsic, G., Kovacevic, R., 2006. Assessing pollution in the Danube River near Novi Sad (Serbia) using several biomarkers in sterlet (*Acipenser ruthenus* L.). Ecotoxicology and Environmental Safety 65, 395-402.

Van Vuren, J., 1986. The effects of toxicants on the haematology of Labeo umbratus (Teleostei: Cyprinidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology* 83, 155-159

Zsigmond, J., Valtonen, E., Jeney, G., Jokinen, E., 2002. Effects of pulp and paper mill effluent (BKME) on physiological parameters of roach (*Rutilus rutilus*) infected by the digenean Rhipidocotyle fennica. *Folia Parasitologica* 49, 103-108.

Archive of SID

www.SID.ir