



تاثیر میکروپلاستیک پلی استایرین و آفت کش کلرپیریفوس بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

پریچهر حناچی^{۱*}، موژان ملکی^۲، سمانه کربلایی^۳

۱-دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

۲-دانشجو ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

۳-محقق پسادکتری، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۰۵

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۰۹/۲۳

چکیده

میکروپلاستیک‌ها ذرات کوچک تر از ۵ میلی متر هستند که می‌توانند از طریق منابع اولیه و یا ثانویه وارد محیط زیست شوند. این ذرات می‌توانند نقش حامل را برای ترکیبات شیمیایی مختلف موجود در محیط مانند انواع آفت کش‌ها و آلاینده‌ها، داشته باشند. جذب این ذرات به بدن موجودات زنده به خصوص آبزیان باعث ایجاد تغییراتی در فعالیت آنزیم‌های آن‌ها به خصوص آنزیم‌های مسیر آنتی‌اکسیداتیو می‌شود. هدف از انجام این پژوهش، بررسی تاثیر میکروپلاستیک پلی‌استایرین و آفت کش کلرپیریفوس به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در سه بافت کبد، کلیه و ماهیچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بود. در این تحقیق ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان در معرض دو غلظت آفت کش کلرپیریفوس (CPF) (*chlorpyrifos*) (۲ $\mu\text{g/L}$ ، ۶ $\mu\text{g/L}$)، میکروپلاستیک پلی‌استایرین (MPs) (۳۰ $\mu\text{g/L}$) و ترکیب این دو با یکدیگر قرار گرفتند. در پایان دوره آزمایش، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ماهی‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تحلیل نتایج با درجه معناداری $P < 0.05$ نشان داد که در بافت کبد و کلیه ترکیب میکروپلاستیک و کلرپیریفوس باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD و در نتیجه میکروپلاستیک باعث کاهش سمیت کلرپیریفوس می‌شود. فعالیت آنزیم در همه تیمارها نسبت به شاهد به شدت کاهش پیدا کرد. فعالیت آنزیم در تیمار $2 \mu\text{g/L} \text{ CPF} + 30 \mu\text{g/L} \text{ MPs}$ و تیمار $2 \mu\text{g/L} \text{ CPF} + 30 \mu\text{g/L} \text{ MPs}$ نسبت به تیمار $2 \mu\text{g/L} \text{ CPF}$ به ترتیب کاهش و افزایش یافت. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که میکروپلاستیک در بافت کبد و کلیه باعث کاهش دسترسی زیستی آفت کش کلرپیریفوس و در بافت ماهیچه با، غلظت کم میکروپلاستیک پلی‌استایرین، باعث افزایش سمیت و افزایش دسترسی زیستی آفت کش خواهد شد.

واژگان کلیدی: میکروپلاستیک، کلرپیریفوس، پلی‌استایرین، سوپراکسید دیسموتاز، مسیر آنتی‌اکسیداتیو



Effect of polystyrene microplastic and chlorpyrifos pesticide on superoxide dismutase activity in tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Parichehr Hanachi^{1*}, Mojan Malaki², Samaneh Karbalaee³

1. Associate Professor, Biotechnology Dept., Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

2. M.Sc. Graduated student, Biotechnology Dept., Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

3. Post Doc Researcher, Biotechnology Dept., Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
Iran

Received: 13-Des-2019

Accepted: 24-Jan-2020

Abstract

Microplastics are particles smaller than 5 mm that can enter to the environment through primary or secondary sources. These particles can be vector for various chemical compounds in the environment, such as pesticides and pollutants. The absorption of these particles into the body of organisms, especially aquatic organisms, causes changes in the activity of their enzymes, especially antioxidant enzymes. The aim of our study was to investigate the effect of polystyrene microplastic and chlorpyrifos pesticide alone and in combination on the superoxide dismutase (SOD) activity tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish were exposed to two concentrations of chlorpyrifos (2 µg / L, 6 µg / L), polystyrene microplastic (30 µg / L, 300 µg / L), and their combination. Then the superoxide dismutase activity was examined in the liver, kidney and muscle tissues of fish. Analysis of the results with significance level of Pvalue <0.05 showed that in liver and kidney combination of microplastic and pesticide increased SOD activity and consequently microplastic decreased chlorpyrifos toxicity. In muscle enzyme activity increased at combination of 300 µg/L microplastic and 30 µg/L⁻¹ MPs pesticide and in combination of 30 µg / L microplastic and 2 µg/L⁻¹CPF pesticide enzyme activity was decreased. In general, it was concluded that microplastics in liver and kidney decrease the bioavailability of chlorpyrifos pesticide and in muscle increases the toxicity and bioavailability of pesticides.

Keywords: Cage culture, rainbow trout, Total Organic Matter, anaerobic bacteria, sediment, Caspian Sea.

*Corresponding Author: Parichehr Hanachi

Email: p.hanachi@alzahra.ac.ir

۱. مقدمه

شوند (Oliveira *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2017; Granby *et al.*, 2018). مطالعات گذشته روی آبیان نشان داده است که ترکیب میکروپلاستیک و آلودگی‌های شیمیایی می‌تواند باعث افزایش اثرات جانبی میکروپلاستیک و یا آلاینده همراه آن شود (Rainieri *et al.*, 2018). علاوه بر آلودگی‌های محیط میکروپلاستیک‌ها می‌توانند سطح مناسبی برای کلونیزاسیون میکروارگانیسم‌های مختلف نیز باشند و با انتقال به موجودات زنده علاوه بر اثر شیمیایی آثار زیستی نیز داشته باشند (Prokić *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019).

جذب میکروپلاستیک‌ها و آلودگی‌ها یا میکروارگانیسم‌های همراه آن توسط موجودات آبی مقدمه‌ای برای ورود این مواد به زنجیره غذایی است. در مورد انتقال میکروپلاستیک‌ها به بدن انسان و پیامدهای احتمالی آن برای سلامتی انسان اطلاعات بسیار کمی وجود دارد. از آنجا که انسان مصرف کننده نهایی زنجیره غذایی دریایی است، به دلیل مصرف غذای دریایی حاوی ذرات میکروپلاستیک، این امکان وجود دارد که ذرات وارد بدن انسان شوند. این فرضیه را می‌توان با این واقعیت تأیید کرد که مشخص شده است که طیف گسترده‌ای از خوراکی‌ها از جمله ماهی خشک، صدف، انواعی از ماهی‌ها و نمک دریایی آلوده به میکروپلاستیک‌ها هستند (Ho *et al.*, 2018; Karbalaei *et al.*, 2018). میکروپلاستیک‌های موجود در محیط را می‌توان به عنوان یک کمپلکس پیچیده از سموم مختلف در نظر گرفت که هنگامی که توسط موجودات آبی مصرف می‌شوند، مواد شیمیایی همراه آن‌ها به آسانی تحت شرایط خاص روده حیوانات آزاد می‌شوند و همان طور که گفته شد ممکن است در امتداد زنجیره غذایی منتقل شوند. بحث بر سر این است که چه میزان میکروپلاستیک به تجمع زیستی آلاینده‌های مرتبط با آن کمک می‌کند، اما به طور کلی میکروپلاستیک‌ها مسیری برای قرار گرفتن در معرض این مواد مضر برای انسان را فراهم می‌کنند (Wang *et al.*, 2019).

در بدن تمامی موجودات زنده مسیری تحت عنوان

میکروپلاستیک‌ها ذرات پلاستیک کوچکتر از ۵ میلی متر هستند (Karbalaei *et al.*, 2018). این ذرات با فراوانی زیاد در محیط‌های آبی به خصوص آب‌های شیرین، خشکی و هوا وجود دارند (Auta *et al.*, 2017). از نظر منبع تولید می‌توان این ذرات کوچک را به دو نوع اولیه و ثانویه تقسیم بندی کرد (Karami *et al.*, 2016; Hanachi *et al.*, 2019). میکروپلاستیک‌های اولیه در صنایع مختلفی تولید می‌شوند به عنوان مثال در صنایع آرایشی بهداشتی در ساخت خمیر دندان و شامپوها از میکروپلاستیک‌ها استفاده می‌شود. میکروپلاستیک‌های ثانویه از تجزیه فیزیکی، شیمیایی یا زیستی پلاستیک‌های رها شده در محیط ایجاد می‌شوند (Prokić *et al.*, 2019). این ذرات از راه‌های مختلفی مانند فضاها صنعتی، فاضلاب خانگی، فعالیت کشتی‌ها در اقیانوس‌ها و فعالیت کارگاه‌های صنعتی در مجاورت رودخانه‌ها وارد محیط آبی می‌شوند. لجن فعال حاصل از تصفیه پساب‌ها حاوی مقدار زیادی میکروپلاستیک است و بیشترین میزان میکروپلاستیک‌ها را وارد محیط آبی می‌کند (Karbalaei *et al.*, 2018).

مطالعات نشان داده است که میکروپلاستیک‌ها بر سلامت موجودات زنده به خصوص آبیان تاثیر گذار هستند (de Sa *et al.*, 2018). این ذرات می‌توانند به صورت تصادفی از طریق دهان وارد دستگاه گوارش موجودات شده و مانع عبور مواد غذایی شوند (Garrido *et al.*, 2019). میکروپلاستیک‌ها از طریق تنفس و جذب پوستی نیز می‌توانند وارد بدن موجودات زنده شوند (Prokić *et al.*, 2019) و آثار شیمیایی را ایجاد کنند. این آثار به واسطه ترکیباتی که به عنوان افزودنی به هنگام ساخت پلاستیک‌ها برای افزایش کارایی آن‌ها استفاده می‌شود مانند بیس فنول A، الکیل فنول، فتالات ایجاد می‌شود. آلودگی‌های هیدروفوبی که قبلاً در محیط حضور دارند و جذب سطحی میکروپلاستیک‌ها شده اند مانند انواع فلزات سنگین و آفت کش‌ها نیز می‌توانند باعث ایجاد آثار شیمیایی

سوپراکسید دیسموتاز در کبد، ماهیچه و کلیه ماهی قزل آلی رنگین کمان بود.

۲. مواد و روش ها

۱.۲. تهیه ماهی

تعداد ۱۰۰ قطعه ماهی قزل آلی رنگین کمان سالم با وزن تقریبی ۳۳ گرم از یک مزرعه پرورش ماهی در برغان کرج خریداری و به دانشکده منابع طبیعی کرج انتقال داده شد. ماهی ها برای سازگاری با شرایط محیط آزمایش به مدت دو هفته در مخزن های ۲۰۰ لیتری حاوی آب بدون کلر و در دمای ۱۳-۱۴ درجه قرار گرفتند و یک بار در روز تغذیه شدند.

۲.۲. آماده سازی میکروپلاستیک

گلوله های پلی استایرین خالص به وسیله مخلوط کن صنعتی در پژوهشگاه پلیمر ورد آورد کرج خرد و با الک با اندازه ۴۶ تا ۱۵۰ میکرومتر جداسازی شد.

۳.۲. تهیه آفت کش

آفت کش کلرپیریفوس از شرکت (Charada Chemicals Ltd, Lote India) خریداری شد و برای سهولت حل شدن سم در آب آفت کش با استون مخلوط شد. غلظت های انتخاب شده برای تیمارها کمتر از میزان LC50 کلرپیریفوس برای ماهی قزل آلا ($50 \mu\text{g/L}$)، آماده سازی شد (Mojazi et al., 2018).

۴.۲. طراحی آزمایش

سطوح میکروپلاستیک و آفت کش بر اساس مطالعات گذشته انتخاب شد (Karami et al., 2016; Amiri et al., 2018; Tang et al., 2018). ماهی ها به صورت تصادفی در مخازن جداگانه تقسیم شدند. برای هر تیمار یک مخزن در نظر گرفته شد و در هر مخزن ۷ ماهی قرار گرفت. ماهی ها به مدت ۴ روز در معرض تیمار های زیر قرار گرفتند:

الف: کنترل منفی (بدون میکروپلاستیک PS-MP و سم CPF)، ب: $30 \mu\text{gL}^{-1}$ MPs، پ: $300 \mu\text{gL}^{-1}$ MPs

مسیر آنتی اکسیداتیو وجود دارد. در این مسیر فاکتورهای آنزیمی و غیر آنزیمی مختلفی در جهت برقراری تعادل بین حذف و تولید رادیکال های آزاد مانند $\text{O}_2^{\cdot-}$ ، H_2O_2 ، $\text{OH}^{\cdot-}$ و $\text{NO}^{\cdot-}$ فعالیت می کنند (Hanachi, 2007). در خط اول این مسیر سه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) فعالیت می کنند. در ابتدا رادیکال آزاد توسط سوپراکسید دیسموتاز به دو مولکول هیدروژن پرکسید و یک مولکول اکسیژن تبدیل می شود و در ادامه هیدروژن پرکسید که خود یک ماده سمی است و نباید در سلول باقی بماند توسط آنزیم کاتالاز به مولکول اکسیژن، آب و یا با فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز به مولکول آب تبدیل می شود (Ighodaro and Akinloye, 2019). ممکن است در نتیجه گونه های فعال اکسیژن اتواکسیداسیون لیپید های غشاء سلول نیز رخ دهد این مسیر با فعالیت فاکتورهای آنزیمی مانند گلوتاتیون ترنسفراز و گلوتاتیون ردوکتاز و فاکتور های غیر آنزیمی مانند گلوتاتیون مانع از اکسیداسیون لیپیدها و آسیب به آنها شوند. گلوتاتیون ردوکتاز وظیفه تامین گلوتاتیون احیا، همراه با مصرف NADPH به عنوان کوفاکتور، برای ادامه فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ترنسفراز را به عهده دارد (Hanachi, 2010).

آفت کش کلرپیریفوس (CPF) (O,O-diethyl O-(3,5,6-Trichloro-2-pyridylphosphorothioate) نام تجاری دورسبان Dursban نوعی آفت کش ارگانوفسفره است که کاربرد زیادی در مزارع کشاورزی و مناطق مسکونی دارد (Garrido et al., 2019). این سم از طریق فاضلاب کشاورزی یا خانگی وارد محیط های آبی شده و به دلیل نداشتن هدف اختصاصی وارد بدن موجودات دیگر به خصوص ماهی ها می شود و علاوه بر تاثیر بر سلامت آنها از طریق زنجیره غذایی انتقال پیدا کرده و حتی ممکن است سلامت انسان را نیز به خطر اندازد (Shakerkhatibi et al., 2014). لذا، هدف این پژوهش، بررسی تاثیر آفت کش کلرپیریفوس و میکروپلاستیک پلی استایرین بصورت جداگانه و در ترکیب با یکدیگر بر فعالیت آنزیم

نانومتر خوانده شد تا به فاز خطی برسد. این زمان برای نمونه شاهد ۱۲ دقیقه بود. در لوله آزمایش دیگر میزان ۱ میلی لیتر از محلول آزمایش با ۳۴ میکرولیتر PBS مخلوط شد و پس از یک دقیقه قرار گیری در تاریکی به عنوان شاهد تاریکی و یا Blank استفاده شد. در لوله های آزمایش میزان ۱ میلی لیتر از محلول آزمایش و ۳۴ میکرولیتر از نمونه ها مخلوط شد و به مدت ۱۲ دقیقه در مقابل نور لامپ مهتابی با فاصله ۳۰ سانتی متر قرار گرفت و بلافاصله بعد از تمام شدن زمان آزمایش لوله های آزمایش در تاریکی قرار گرفتند. جذب نمونه ها در ۵۶۰ نانومتر در دستگاه ایزاریدر قرائت شد و فعالیت آنزیم محاسبه شد.

۲.۶. آنالیز آماری

در ابتدا نرمالیتت نتایج آزمایشگاهی با استفاده از نرم افزار SPSS 23.0 با بررسی چولگی و کشیدگی منحنی داده ها و با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک مشخص شد. در نهایت تحلیل نتایج به روش آزمون واریانس یک طرفه و با سطح معناداری $P < 0.05$ انجام شد.

۳. نتایج

نمودار شکل ۱ فعالیت آنزیم SOD در کبد ماهی را نشان می دهد. بررسی نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم در تیمار های $2 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ ، $30 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs}$ ، $2 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF} + 30 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs}$ ، $6 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF} + 30 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs}$ ، $6 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF} + 300 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs}$ نسبت به نمونه کنترل افزایش داشته است. در تیمار $6 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ و $300 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs}$ فعالیت آنزیم نسبت به شاهد کاهش پیدا کرده است. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم در تیمارهای $2 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF} + 30 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs}$ و $6 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF} + 30 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs}$ نسبت به زمانی که ماهی در معرض آفت کش به تنهایی قرار گرفته است افزایش پیدا کرده است. نمودار شکل ۲ فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در

ت: $2 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ ، ث: $6 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ ، ج: $30 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs}$ ، چ: $2 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF} + 30 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs}$ ، ح: $6 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF} + 30 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs}$ ، و خ: $6 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF} + 300 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs}$. آب مخازن هر روز به میزان ۷۰ درصد تعویض شد و ماهی ها یک بار در روز به اندازه ۵ درصد وزن بدن آنها تغذیه شدند. دمای آب مخازن در طول آزمایش $14 \pm 1.2^\circ\text{C}$ ، $\text{PH} = 7.4 \pm 0.2$ ، سختی آب $167.2 \text{ mgL}^{-1}\text{CaCO}_3$ و اکسیژن محلول $6.6 \pm 0.3 \text{ mgL}^{-1}$ بود. بعد از ۴ روز ماهی ها با قرار گرفتن در معرض روغن میخک (0.2 mL/L^{-1}) به مدت ۱۰ دقیقه کشته شد (Karami et al., 2015) و بافت کبد، کلیه و ماهیچه جدا شد. نمونه ها بلافاصله در فریزر -80°C قرار گرفت.

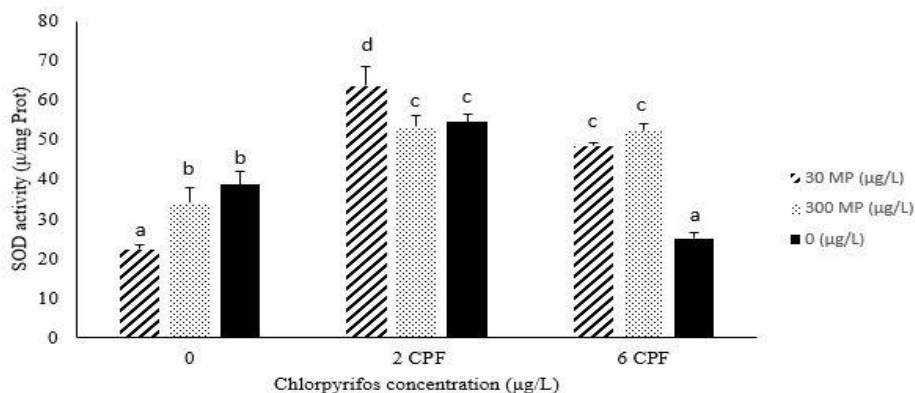
۵.۲. اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در دمای آزمایشگاه با استفاده از اندازه گیری مهار احیای نوری NBT (نیتروپلوزولیوم) در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری شد (Charles Beauchamp, 1971).

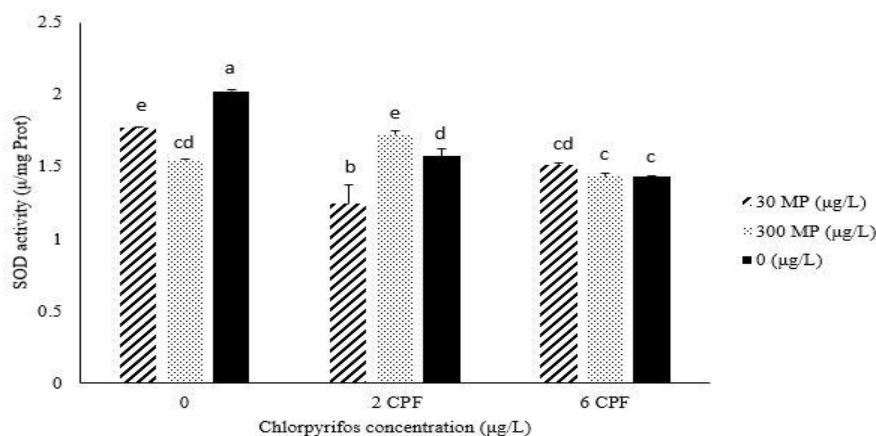
میزان ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم از هر یک از بافت ها وزن شد و با ۲ میلی لیتر PBS (بافر فسفات سالین) با غلظت ۵۰ میلی مولار و $\text{PH} = 7.8$ هموزن شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور 20000 در دمای ۴ درجه سانتیگراد و سوسپانسیون حاصل برای سنجش فعالیت آنزیم جداسازی شد. برای تهیه ۱۰۰ میلی لیتر از محلول آزمایش میزان 0.021 گرم NBT، 0.19 گرم متیونین و 0.028 گرم ریبوفلاوین با ۱۰۰ میلی لیتر بافر فسفات سالین با غلظت ۵۰ میلی مولار و $\text{PH} = 7$ مخلوط شده و در تاریکی قرار گرفت. برای تهیه شاهد روشنایی در یک لوله آزمایش میزان ۱ میلی لیتر از محلول آزمایش با ۳۴ میکرولیتر بافر فسفات سالین مخلوط شد و در معرض روشنایی لامپ مهتابی به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. سپس جذب نمونه در فواصل ۱ دقیقه در طول موج ۵۶۰

کرده است و فعالیت SOD در تیمار $2 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ نسبت به کنترل کاهش داشته است. فعالیت آنزیم در تیمارهای $30 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs} + 30 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ و $300 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs} + 30 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ نسبت به تیمار $30 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs} + 2 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ افزایش پیدا کرده است هم چنین در تیمار $300 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs} + 2 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ نسبت به تیمار $300 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs} + 6 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ افزایش یافته است.

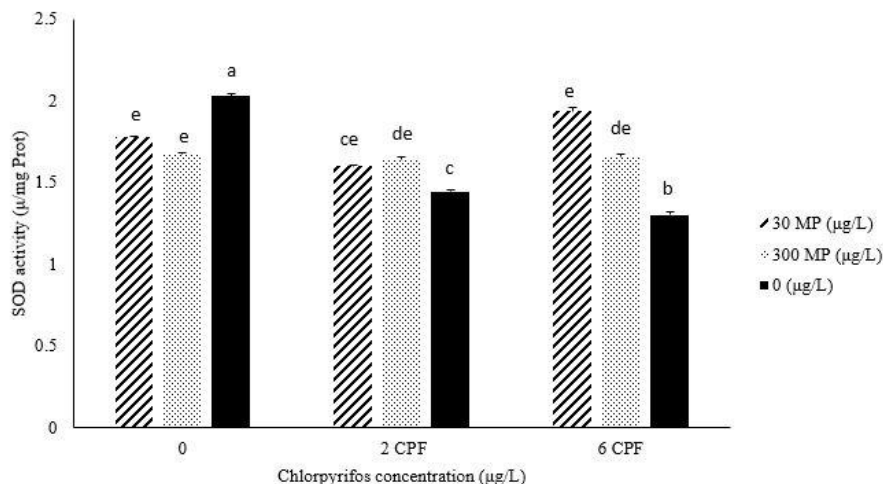
ماهیچه را نشان میدهد. همان طور که مشاهده می کنید فعالیت آنزیم در همه تیمارها نسبت به شاهد به شدت کاهش پیدا کرده است. در تیمار $30 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs} + 2 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ و تیمار $300 \mu\text{gL}^{-1}\text{MPs} + 2 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ نسبت به تیمار $2 \mu\text{gL}^{-1}\text{CPF}$ به ترتیب کاهش و افزایش یافته است. همان طور که در نمودار شکل ۳ مشاهده می کنید، بررسی نتایج در بافت کلیه نشان داد که فعالیت SOD در تمامی تیمارها نسبت به نمونه کنترل کاهش پیدا



شکل ۱- نمودار میزان فعالیت آنزیم SOD در تیمارهای مختلف میکروپلاستیک پلی استایرین PS-MP و آفت کش کلرپیریفوس CPF در کبد ماهی قزل آلا. حروف کوچک انگلیسی نشان دهنده تفاوت قابل ملاحظه بین گروهها است ($p < 0.05$).



شکل ۲- نمودار میزان فعالیت آنزیم SOD در تیمارهای مختلف میکروپلاستیک پلی استایرین PS-MP و آفت کش کلرپیریفوس CPF در ماهیچه ماهی قزل آلا. حروف کوچک انگلیسی نشاندهنده تفاوت قابل ملاحظه بین گروهها است ($p < 0.05$).



شکل ۳ - نمودار میزان فعالیت آنزیم SOD در تیمارهای مختلف میکروپلاستیک پلی استایرین PS-MP و آفت کش کلرپیریفوس CPF در کلبه ماهی قزل آلا. حروف کوچک انگلیسی نشان دهنده تفاوت قابل ملاحظه بین گروهها است ($p < 0.05$).

موجود بر سطح میکروپلاستیکها به بدن موجودات زنده باعث ایجاد مشکلاتی برای سلامت آنها می شود. در این مطالعه با قرار دادن ماهیها در معرض غلظت های مختلف میکروپلاستیک و آفت کش به بررسی تاثیر هر یک به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت یک نوع بیومارکر آنزیم مسییراننتی اکسیداتیو پرداخته شد. آفت کش کلرپیریفوس که در این مطالعه استفاده شد، یکی از آفت کش های پرمصرف در مزارع ایران به خصوص مزارع برنج شمال کشور است و همچنین میکروپلاستیک پلی استایرین یکی از انواع پلاستیک های پلیمری است که در تهیه ظروف پلاستیکی یک بار مصرف از آن استفاده می شود.

در این پژوهش مشخص شد که میکروپلاستیک به تنهایی می تواند در هر سه بافت کبد، کلیه و ماهیچه باعث مهار فعالیت آنزیم SOD شود. قرار گرفتن ماهیها در معرض دو غلظت کم باعث افزایش و در غلظت زیاد آفت کش کلرپیریفوس باعث مهار فعالیت آنزیم در کبد شد، در بافت ماهیچه و کلیه نیز باعث مهار آنزیم شد. همچنین میکروپلاستیک در بافت کبد و کلیه باعث مهار سمیت آفت کش کلرپیریفوس و در بافت ماهیچه در غلظت بالای میکروپلاستیک باعث کاهش سمیت و در غلظت کم تشدید سمیت آفت کش شد. در پژوهشی روی میکروجلبک، (*Isochrysis*

۴. بحث

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز که در این پژوهش به عنوان بیومارکر انتخاب شد، یکی از آنزیم های مهم مسییراننتی اکسیداتیو است. وجود ترکیبات سمی و آلاینده های مختلف در محیط زندگی و یا غذای موجودات زنده باعث ایجاد گونه های فعال اکسیژن یا نیتروژن و یا به طور کلی رادیکال های آزاد می شود. این مسیر وظیفه حذف رادیکال های آزاد ایجاد شده و یا سمیت زدایی از ترکیبات حاصل از حضور رادیکال های آزاد ایجاد شده را دارد (Parichehr Hanachi, 2010). افزایش ترکیبات سمی در محیط باعث افزایش تولید رادیکال های آزاد و اختلال در عملکرد این مسیر برای ایجاد تعادل بین تولید و حذف رادیکال های آزاد می شود. میکروپلاستیکها و آفت کشها جزء آلاینده های محیط هستند (Prokić *et al.*, 2019) و حضور میکروپلاستیک در محیط می تواند باعث افزایش و یا کاهش دسترسی زیستی و انباشتگی زیستی آلاینده های دیگر از جمله آفت کش کلرپیریفوس شود و بر میزان سمیت این آلایندهها بر موجود زنده موثر باشد (Garrido *et al.*, 2019). مطالعات گذشته نشان داده است که ورود ذرات میکروپلاستیک به محیط زیست و در نهایت جذب آنها و آلودگی های شیمیایی

نمی‌شود و حتی ممکن است باعث کاهش دسترسی زیستی آفت کش شود و این بستگی به میکروپلاستیک و آفت کش دارد (Rainieri et al., 2018). تاثیر میکروپلاستیک بر سمیت آفت کش و سلامت موجود زنده وابسته به عوامل مختلفی است. نتایج این پژوهش نشان داد که میکروپلاستیک باعث کاهش دسترسی زیستی آفت کش کلرپیریفوس در بافت کبد و کلیه می‌شود. هم‌چنین غلظت ۳۰ میکرو گرم در لیتر میکروپلاستیک پلی استایرین در آب محیط پرورش ماهی در بافت ماهیچه باعث افزایش سمیت و افزایش دسترسی زیستی آفت کش شد و غلظت ۳۰۰ میکرو گرم در لیتر میکروپلاستیک سمیت و دسترسی زیستی کلرپیریفوس را کاهش خواهد داد.

۱.۴. سپاس‌گزاری

از دانشگاه الزهرا به لحاظ فراهم آوردن بودجه و دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران و هم‌چنین از تمامی کسانی که در انجام این پژوهش همکاری نمودند، قدردانی می‌گردد.

(galbana) تاثیر میکروپلاستیک پلی اتیلن بر سمیت آفت کش کلرپیریفوس بعد از ۷۲ ساعت قرار گرفتن در معرض میکروجلبک مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که میکروپلاستیک باعث کاهش سمیت و دسترسی زیستی آفت کش خواهد شد (Carrido et al., 2019). مشخص شده است که در ماهی (*Symphysodon aequifasciatus*) حضور میکروپلاستیک باعث کاهش تجمع کادمیوم می‌شود (Wen et al., 2018) و یا در مطالعه ای دیگری روی نوعی صدف به نام *Corbicula fluminea*، نشان داده شد میکروپلاستیک‌ها می‌توانند دسترسی زیستی جیوه را کاهش دهند (Oliveira et al., 2018). به طور کلی میکروپلاستیک دسترسی زیستی سم را در بافت کبد و کلیه کاهش داده و باعث افزایش فعالیت آنزیم در این بافت‌ها شده‌اند. هم‌چنین در بافت ماهیچه غلظت زیاد میکروپلاستیک باعث کاهش دسترسی زیستی و غلظت کم آن باعث افزایش دسترسی زیستی شده است. با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش و پژوهش‌های پیشین می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که حضور میکروپلاستیک لزوماً باعث افزایش دسترسی زیستی و سمیت آفت کش

۵. منابع

References

- Amiri, B.M., Xu, E.G., Kupsco, A., Giroux, M., Hoseinzadeh, M., Schlenk, D., 2018. The effect of chlorpyrifos on salinity acclimation of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic toxicology* 195, 97-102.
- Auta, H.S., Emenike, C.U., Fauziah, S.H., 2017. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environment international* 102, 165-176.
- Charles Beauchamp, I.F., 1971. Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels. *Analytical Biochemistry* 44, 276-287.
- Chen, Q., Yin, D., Jia, Y., Schiwy, S., Legradi, J., Yang, S., Hollert, H., 2017. Enhanced uptake of BPA in the presence of nanoplastics can lead to neurotoxic effects in adult zebrafish. *Analytical biochemistry* 609, 1312-1321.
- De Sa, L.C., Oliveira, M., Ribeiro, F., Rocha, T.L., Futter, M.N., 2018. Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: What do we know and where should we focus our efforts in the future. *Science of the Total Environment* 45, 1029-1039.

- Garrido, S., Linares, M., Campillo, J.A., Albentosa, M., 2019. Effect of microplastics on the toxicity of chlorpyrifos to the microalgae *Isochrysis galbana*, clone t-ISO. *Ecotoxicology and environmental safety* 173, 103-109.
- Granby, K., Rainieri, S., Rasmussen, R.R., Kotterman, M.J.J., Sloth, J.J., Cederberg, T.L., Barranco, A., Marques, A., Larsen, B.K., 2018. The influence of microplastics and halogenated contaminants in feed on toxicokinetics and gene expression in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Environmental research* 164, 430-443.
- Hanachi, P., Karbalaei, S., Walker, T.R., Cole, M., Hosseini, S.V., 2019. Abundance and properties of microplastics found in commercial fishmeal and cultured common carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental Science and Pollution Research* 26, 2377-2378.
- Ho, B.T., Roberts, T.K., Lucas, S., 2018. An overview on biodegradation of polystyrene and modified polystyrene: the microbial approach. *Critical reviews in biotechnology* 38, 308-320.
- Ighodaro, O.M., Akinloye, O.A., 2019. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* 54, 287-293.
- Karami, A., Romano, N., Galloway, T., Hamzah, H., 2016. Virgin microplastics cause toxicity and modulate the impacts of phenanthrene on biomarker responses in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Environmental research* 151, 58-70.
- Karami, A., Teh, S.J., Zakaria, M.P., Courtenay, S.C., 2015. Ploidy-, gender-, and dose-dependent alteration of selected biomarkers in *Clarias gariepinus* treated with benzo[a]pyrene. *Journal of Environmental Sciences (China)* 38, 95-102.
- Karbalaei, S., Hanachi, P., Walker, T.R., Cole, M., 2018. Occurrence, sources, human health impacts and mitigation of microplastic pollution. *Environmental Science and Pollution Research* 25, 36046-36063.
- Oliveira, M., Ribeiro, A., Hylland, K., Guilhermino, L., 2013. Single and combined effects of microplastics and pyrene on juveniles (0+ group) of the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae). *Ecological Indicators* 34, 641-647.
- Oliveira, P., Barboza, L.G.A., Branco, V., Figueiredo, N., Carvalho, C., Guilhermino, L., 2018. Effects of microplastics and mercury in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* (Muller, 1774): Filtration rate, biochemical biomarkers and mercury bioconcentration. *Ecotoxicology and environmental safety* 164, 155-163.
- Parichehr Hanachi, A.S., 2010. The antioxidant enzymes activities in blood of physical education students after eccentric and concentric training activities. *Agriculture & Environmental Sciences* 7, 501-504.
- Parichehr Hanachi, Z.G., Khosro Sadeghniyat, Abolfazl Golestani, 2007. Comparison of oxidative stress effects on enzymatic and non-enzymatic indices in patients with mild and severe obstructive sleep apnea. *Payavard Salamat* 12, 193-200.

- Prokić, M.D., Radovanović, T.B., Gavrić, J.P., Faggio, C., 2019. Ecotoxicological effects of microplastics: Examination of biomarkers, current state and future perspectives. *Trends in Analytical Chemistry* 111, 37-46.
- Rainieri, S., Conlledo, N., Larsen, B.K., Granby, K., Barranco, A., 2018. Combined effects of microplastics and chemical contaminants on the organ toxicity of zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental research* 162, 135-143.
- Shakerkhatibi, M., Mosaferi, M., Asghari Jafarabadi, M., Lotfi, E., Belvasi, M., 2014. Pesticides residue in drinking groundwater resources of rural areas in the northwest of Iran. *Health promotion perspectives* 4, 195-205.
- Tang, J., Ni, X., Zhou, Z., Wang, L., Lin, S., 2018. Acute microplastic exposure raises stress response and suppresses detoxification and immune capacities in the Scleractinian coral *Pocillopora damicornis* *Environmental Pollution* 243, 66-74.
- Wang, W., Gao, H., Jin, S., Li, R., Na, G., 2019. The ecotoxicological effects of microplastics on aquatic food web, from primary producer to human: A review. *Ecotoxicology and environmental safety* 173, 110-117.
- Wen, B., Jin, S.R., Chen, Z.Z., Gao, J.Z., Liu, Y.N., Liu, J.H., Feng, X.S., 2018. Single and combined effects of microplastics and cadmium on the cadmium accumulation, antioxidant defence and innate immunity of the discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*). *Environmental pollution* 243, 462-471.