University of Tehran

Journal of Fisheries

Home Page: https://jfisheries.ut.ac.ir

Online ISSN: 2423-7809

Assessment of heavy metals Cd and Cr and some enzymes in the liver tissue of Asian seabass (*Lates calcarifer*) cultured in cage in Bushehr province

Siamak Yousefi Siahkalroodi[1*] | Parastoo Mohebi Derakhsh[2] | Mahyar Yousefi Siahkalroodi[3] | Ala Hasan Khalaf[4]

1. Corresponding author, Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Pishva, Iran. Email: siamak.yousefi1@gmail.com
2. Iranian Fisheries Science Research Institute, Agriculture Research Education and Organization (AREEO), Tehran, Iran. Email: mdparastoo1356@yahoo.com
3. Faculty of Veterinary, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Email: mahyaryousefi98@gmail.com
4. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Email: shil.bio.jour@gmail.com

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article History:
Received: 21 May 2024
Revised: 01 July 2024
Accepted: 12 August 2024
Published online: 30 December 2024

Keywords:
Asian sea bass,
Bioaccumulation,
Chromium,
Cadmium,
Liver.

ABSTRACT

This research aimed to investigate and identify the accumulation of heavy metals cadmium and chromium in the liver tissue of Asian seabass (*Lates calcarifer*) cultured in cages and some of its physiological indicators. Sampling for this study was conducted in cages located in Bandar Kangan, Bushehr Province. After transfer to the laboratory, fish biometric indices were measured, including weight in grams using a scale and total length in centimeters using a biometric board. Liver tissue samples were collected from each fish specimen and analyzed using flame atomic absorption spectrophotometry to determine the concentration of each metal. For tissue analysis, liver samples were isolated after dissection. All stages of tissue passage, including dehydration, clearing, and impregnation, were performed using a tissue processor or histokinet under a scheduled program. Samples were stained using the hematoxylin-eosin method, and the effects of each heavy metal were analyzed separately. Superoxide dismutase, catalase, malondialdehyde, and acetylcholinesterase enzymes were measured using commercial kits according to their instructions. The mean concentrations of cadmium and chromium in the liver tissue of the fish samples were 0.13 and 3.13 mg/g, respectively. The mean concentrations of superoxide dismutase, catalase, and malondialdehyde enzymes were 62.33 U/L, 64.33 U/L, and 58.66 U/L, respectively. Liver tissue pathology results showed that all studied fish liver samples were unhealthy. Examination of Asian seabass liver tissue samples revealed severe necrosis of liver cells (hepatocytes) in all samples, extensive congestion and hemorrhage, mild cellular atrophy and fatty degeneration, as well as cellular hypertrophy in the samples. It appears that the observed liver tissue damage and enzymatic changes may be a result of contamination by the heavy metals chromium and cadmium.

Cite this article: Yousefi Siahkalroodi, S., Mohebi Derakhsh, P., Yousefi Siahkalroodi, M., Hasan Khalaf, A. (2024). Assessment of heavy metals Cd and Cr and some enzymes in the liver tissue of Asian seabass (*Lates calcarifer*) cultured in cage in Bushehr province. *Journal of Fisheries*, 77 (4), 347-360. DOI: http//doi.org/ 10.22059/jfisheries.2024.376846.1427

© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.
DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2024.376846.1427

دانشگاه تهران

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

سایت نشریه: https://jfisheries.ut.ac.ir

شاپا الکترونیکی: ۷۸۰۹-۲۴۲۳

سنجش میزان فلزات سنگین کادمیوم ، کروم و برخی آنزیم های کبدی در ماهی سی‌بس آسیایی (*Lates calcarifer*) پرورش یافته در قفس در بوشهر

سیامک یوسفی سیاه‌کلرودی[1*] | پرستو محبی درخش[2] | مهیار یوسفی سیاه‌کلرودی[3] | علا حسن خلف[4]

۱. نویسنده مسئول، گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، پیشوا، ایران. رایانامه:siamak.yousefi1@gmail.com

۲. موسسهٔ تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: mdparastoo1356@yahoo.com

۳. دانشکدهٔ دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه: mahyaryousefi98@gmail.com

۴. گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه:shil.bio.jour@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۰۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۴/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۲۲
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۹/۳۰

کلیدواژه:
سی‌باس آسیایی،
تجمع زیستی،
کروم،
کادمیوم،
کبد.

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی و شناسایی تجمع فلزات سنگین کادمیوم و کروم در بافت کبد ماهی سی‌باس آسیایی *Lates calcarifer* پرورش‌یافته در قفس و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک آن انجام شد نمونه‌برداری این پژوهش در قفس‌های مستقر در بندرکنگان در استان بوشهر انجام شد. شاخص‌های زیست‌سنجی ماهیان پس از انتقال به آزمایشگاه شامل وزن برحسب گرم به‌وسیلهٔ ترازو و طول کل برحسب سانتی‌متر به‌وسیلهٔ تختهٔ زیست‌سنجی اندازه‌گیری شد. سپس از هر قطعه ماهی، از بافت‌های کبد نمونه تهیه شد و توسط دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی شعله، میزان غلظت هر فلز به‌دست آمد. برای ارزیابی آنالیز بافتی، پس از تشریح، نمونهٔ بافت کبد جداسازی و کلیهٔ مراحل پاساژ بافتی شامل آبگیری، شفاف‌سازی و آغشتگی توسط دستگاه پاساژ بافت با هیستوکینت و تحت برنامهٔ زمان‌بندی شده انجام و به‌روش هماتوکسیلین–ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و تأثیر هر یک از فلزات سنگین به‌صورت جداگانه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سنجش آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز،کاتالاز، مالون دی‌آلدئید و استیل‌کولین استراز نیز با استفاده از کیت‌های تجاری و براساس دستورالعمل آنها انجام گردید. نتایج این پژوهش نشان داد میانگین فلز کادمیوم و کروم در بافت کبد ماهی نمونه‌ها به‌ترتیب ۰/۱۳ و ۳/۱۳ میلی‌گرم در گرم و میانگین غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید به‌ترتیب U/L ۶۲/۳۳، ۶۴/۳۳ و ۵۸/۶۶ بود. نتایج آسیب‌شناسی بافت کبد نشان داد که تمامی نمونه کبدهای ماهی مورد مطالعه بافتی ناسالم بوده‌اند. در بررسی نمونهٔ بافت کبد ماهی سی‌باس آسیایی عوارضی همچون نکروزی شدن شدید سلول‌های کبدی (هپاتوسیت) در تمامی نمونه‌ها، پرخونی و خونریزی به‌مقدار زیاد، آتروفی سلولی و دژنرسانس چربی به مقدار کم؛ همچنین هیپرتروفی سلولی نیز در نمونه‌های مورد نظر مشاهده گردید. به‌نظر می‌رسد عوارض ایجاد شده در بافت کبد و تغییرات آنزیمی منتج از آلودگی فلزات سنگین کروم و کادمیوم باشد.

استناد: یوسفی سیاه‌کلرودی، سیامک؛ محبی درخش، پرستو، یوسفی سیاه‌کلرودی، مهیار؛ حسن خلف، علا (۱۴۰۳). سنجش میزان فلزات سنگین کادمیوم ، کروم و برخی آنزیم های کبدی در ماهی سی‌بس آسیایی (*Lates calcarifer*) پرورش یافته در قفس در بوشهر. *نشریهٔ شیلات، مجله منابع طبیعی ایران* ، ۷۷ (۴)، ۳۶۰-۳۴۷. DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2024.376846.1427

© نویسندگان.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.
DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2024.376846.1427

۱. مقدمه

فلزات سنگین به‌عنوان یکی از آلاینده‌های محیط اثرات مختلفی از جمله تغییر رفتار، تغییرات ژنتیکی و مرگ و میر در آبزیان را باعث می‌شوند. جزء آلاینده‌های پایدارند و برخلاف بسیاری از آلاینده‌های آلی توسط میکروارگانیسم تجزیه نشده و در صورتی که فرآیندهای بیولوژیکی بر روی آنها صورت گیرد فقط سبب تغییر حالت آنها می‌گردد و هیچ‌گاه به فلز دیگر تبدیل نمی‌شود. بنابراین فلزات در محیط برای همیشه باقی می‌مانند (Clark, 2001). کروم در نتیجه فعالیت‌های نظیر تهیهٔ آلیاژهای کروم، آبکاری کروم، ترکیبات بازدارندهٔ خوردگی، صنعت نساجی، صنعت چاپ، عکاسی، دباغی و غیره وارد محیط‌زیست می‌گردد. کروم به‌صورت آزاد در خون باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژنی از جمله رادیکال‌های آزاد سوپراکسیداز، آب‌اکسیژنه و درنهایت رادیکال آزاد هیدروکسیل می‌گردد، که همگی به پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلوئیک صدمه می‌رسانند. کادمیوم (Cd)، یک فلز سمی و غیر ضروری، یک تهدید بزرگ برای موجودات رایج در زیست‌بوم‌های آبی است و به‌طور گسترده به‌عنوان یک آلایندهٔ اصلی در آب‌ها در سراسر جهان شناخته شده است. این فلز دارای چندین ویژگی از جمله سمیت محیطی بالا، انباشت آسان و تخریب ضعیف است. برای موجودات، کادمیوم اثرات سمی روی بسیاری از اندام‌ها نشان می‌دهد، آلودگی کادمیوم به‌راحتی یافت نمی‌شود، با این حال، کادمیوم به‌راحتی افزایش می‌یابد و می‌تواند اثرات سمی خود را از طریق زنجیرهٔ غذایی منتقل کند (Satarug, 2010). آلودگی کادمیوم در محیط‌زیست ناشی از توسعه و استفاده از کودهای شیمیایی در کشاورزی، فلزات و مواد معدنی در صنعت و استفاده از برخی محصولات صنعتی حاوی کادمیوم است که ممکن است همراه با فاضلاب در آب رهاسازی شود. حتی اگر غلظت کادمیوم کم باشد، می‌تواند در جلبک‌ها و رسوبات انباشته شود، توسط ماهی، صدف، میگو و خرچنگ در آب جذب، از طریق زنجیرهٔ غذایی متمرکز و در نهایت وارد بدن انسان شود. اثرات کشندهٔ کادمیوم بر گونه‌های مختلف ماهی اثبات شده است (Liu *et al*., 2022). هنگامی که ماهی‌ها به‌دلیل کادمیوم در محیط آبی تحت فشار قرار می‌گیرند، تعداد زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) که فراتر از ظرفیت مهار خود هستند، در بدن ماهی تجمع می‌کنند و در نتیجه منجر به مجموعه‌ای از واکنش‌های آسیب اکسیداتیو می‌شوند (Jiaxin *et al*., 2020). اثر سمی کادمیوم بر روی ماهی عمدتاً در استرس اکسیداتیو ناشی از ROS منعکس می‌شود و تجمع بیش از حد ROS منجر به تغییرات ساختاری در ماکرومولکول‌های بیولوژیکی مانند پروتئین‌ها و DNA، اختلال در همانندسازی و ترمیم DNA و در نهایت تغییرات پاتولوژیک و ایجاد یک سری اختلالات عملکردی و آسیب به بدن می‌شود (Zhang, 2012).

سیستم آنتی‌اکسیدانی بسیاری از موجودات از جمله ماهیان شامل آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسیددیسموتاز dismutase Superoxide(SOD) کاتالاز Catalase (CAT) ردوکتاز گلوتاتیون Glutathione reductase (GR) و پراکسیداز گلوتاتیون Glutathione peroxidase (GPx) هستند که به‌عنوان خنثی‌کنندهٔ رادیکال‌ها عمل می‌کنند. این سیستم شامل واکنش‌های آنزیمی حذف کنندهٔ مواد شیمیایی الکتروفیلیک یا متابولیت‌ها و کاهش پراکسیدهای آلی می‌باشد. سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر تماس با مواد شیمیایی بوده و بنابراین سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌توانند به‌عنوان نشانگرهای زیستی جهت پایش آلودگی‌های زیست‌محیطی مورد استفاده قرار گیرند (Rosa *et al*., 2005). مکانیسم دفاع آنتی‌اکسیدانی در ماهیان شامل سیستم آنزیمی و با وزن ملکولی پایین می‌باشند. سوپراکسیدازدیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز کاتالاز و گلوتاتیون اس‌ترانسفراز سلول‌ها از تخریب اکسیدانی توسط رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند. تجمع زیستی فلزات نه تنها بر جمعیت ماهیان اثر می‌گذارد بلکه بر سطوح دیگر زنجیره و شبکهٔ غذایی مؤثر می‌باشد. در این مطالعه تغییرات بافتی کبد وآنزیم‌های آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، مالون دی‌آلدئید (MDA) و آنزیم استیل‌کولین استراز مورد بررسی قرارگرفته است.

ماهی *Lates calcarifer* یا باس دریایی (سی‌باس آسیایی یا بارموندی) یکی از اعضاء خانوادهٔ بزرگ Latidae است. رژیم غذایی گوشت‌خواری این ماهی سبب ایجاد طعم بسیار مناسب، ارزش غذایی بالا و کیفیت بی‌نظیر گوشت ماهی سی‌باس شده است. سی‌باس به‌دلیل رشد سریع، تکثیر آسان، تحمل شوری بالا و توانایی در پذیرش غذای فرموله، از بهترین ماهیان پرورشی دنیا محسوب شده است. ماهی سی‌باس آسیایی جهت آبزی‌پرروی درکشورهای متعددی معرفی شده است. مهم‌ترین کشورهای

تولیدکننده عبارتند از هنگ کنگ، استرالیا، آمریکا، سنگاپور، مالزی، تایلند و.... طبق گزارش FAO از کل تولید ماهیان دریایی پرورشی در سال ۲۰۲۳ بیش از ۳۰۹ هزار تن مربوط به ماهی سی‌باس آسیایی بوده که این نکته بیانگر بازارپسندی این ماهی در دنیا می‌باشد (FAO, 2024). در ایران نیز با توجه به اهمیت اقتصادی آن و تقاضا برای غذای سالم دریایی، اخیراً در قالب پرورش ماهی در قفس در خلیج فارس و دریای عمان پرورش می‌یابند. به‌علت شرایط خاص و نیمه‌بسته بودن خلیج فارس، وجود منابع مهم اکولوژیک و همچنین گونه‌های حساس موجود در آن، از مناطق بسیار مهم زیستی نه تنها در منطقهٔ خاورمیانه بلکه حتی در جهان، به‌شمار می‌آید. برای حفاظت از این بوم‌سامانهٔ با ارزش، شناسایی دقیق عوامل آلاینده و مقدار آنها، حذف و یا کاهش آلاینده‌های ورودی به خلیج فارس نیاز به اطلاعات دقیقی است تا برای برنامه‌ریزی درست و اعمال مدیریت مناسب مورد استفاده قرار گیرد (Mazej *et al*., 2010).

مطالعهٔ آسیب‌شناسی بافتی به‌عنوان یک ابزار پاراکلینیکی در بررسی وضعیت سلامت فیزیولوژیک ماهی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است (Soldatov, 2005). مواجهه با آلاینده‌های شیمیایی می‌تواند ضایعات و آسیب‌های متعددی را به بافت‌ها و سلول‌های مختلف ماهی وارد نماید. آزمایشات آسیب‌شناسی بافتی، ابزاری مفید به‌منظور ارزیابی میزان آلودگی و بررسی اثرات آلاینده، به‌ویژه اثرات حاد و مزمن بر موجودات زنده می‌باشد. در واقع تغییرات بافتی که در اثر قرار گرفتن موجود زنده در معرض غلظت تحت حاد از یک سم بروز می‌دهد، واکنشی از موجود زنده می‌باشدکه اطلاعاتی در مورد ماهیت مواد سمی را ارائه می‌دهد. گونه‌های مختلف واکنش‌های مختلفی در برابر مواد سمی (بسته به حساسیت) از خود نشان می‌دهند، از این‌رو انجام آزمایش‌های سم‌شناسی برای ماهیان مختلف ضروری است (Finny, 1971).

در سال‌های اخیرمطالعات مختلفی در رابطه با تأثیر انواع مختلفی از آلاینده‌های فلزات سنگین روی گونه‌های مختلف ماهیان و آبزیان انجام شده است که در این بخش به بررسی برخی از تحقیقات انجام شده در خارج از ایران اشاره می‌گردد. مطالعهٔ تعیین میزان غلظت فلزات سنگین (سرب، مس، نیکل و کادمیوم) در بافت ماهی هوور *Thunnus tonggol* صید شده در آب‌های ساحلی جزیرهٔ قشم (Dehghani and Farzin, 2015)، بررسی آلودگی فلزات سنگین (نیکل، مس، سرب، کبالت و کادمیوم) در رسوب و بافت‌های کبد و ماهیچه کفشک ماهی *Psettodes erumei* در استان بوشهر (Hosseini *et al*., 2015)، بررسی خطر فلزات سنگین سرب، مس و کادمیوم در بافت عضله و پوست بزماهی زرد جامه (*Upeneus sulphureus*) بندر ماهشهر (Mirzaei *et al*., 2020)، بررسی تغییرات سطوح آنزیم‌های متابولیک تحت تأثیر فلزات سنگین روی و کادمیوم در ماهی سفیدک سیستان *Schizothorax zarudnyi* (Miri and Khandan Barani, 2018) وتجمع زیستی سرب و نیکل و کادمیوم در بافت عضله، کبد و پوست ماهی شوریده و کوتر چشم درشت بررسی شد و نتایج نشان داد که میزان غلظت سرب و کادمیوم در بافت عضله این دو ماهی کمتر از حد مجاز استانداردها بود (Khoshbin and Pourkhabbaz, 2022). هدف از انجام پژوهش بررسی اثرات فلزات سنگین کروم و کادمیوم بر فیزیولوژی ماهی سی‌باس آسیایی با تأکید بر سطوح آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، مالون دی‌آلدئید و تغییرات هیستوپاتولوژییکی بر بافت کبد ماهیان پرورش یافته در قفس بود.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲-۱. تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها

برای انجام این پژوهش، تعداد ۱۵ نمونه ماهی سی‌باس آسیایی در فصل پاییز ۱۴۰۱ به‌صورت کاملاً تصادفی با میانگین وزنی ۲۶۰/۶۴ گرم از قفس‌های پرورشی واقع در استان بوشهر شهرستان کنگان با مختصات جغرافیایی (۵۱,۹۶۹۹۱۱، ۲۷,۸۰۵۹۶۸ و ۵۱,۹۶۹۷۴۴، ۲۷,۸۰۵۴۴۶ و ۵۱,۹۶۹۴۹۶، ۲۷,۸۰۴۸۸۸)(شکل ۱) صید و به‌همراه پودریخ به محل آزمایشگاه محیطزیست و آزمایشگاه تجزیه دستگاهی پژوهشکدهٔ خلیج فارس منتقل گردید. ماهی‌ها ابتدا توسط آب مقطر دوبار شستشو شدند تا عوامل آلاینده، پوشش لزج و ذرات خارجی جذب کنندهٔ فلزات از لایهٔ سطحی آنها رفع گردد و پس از آن مورد زیست‌سنجی قرارگرفتند. وزن ماهی‌ها به‌وسیلهٔ ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ میلی‌گرم و طول آنها با تختهٔ زیست‌سنجی با دقت ۱میلی‌متر اندازه‌گیری و نتایج آن، در جدول ۱ ثبت گردید. سپس بخش‌های اضافی و آلایش آنها (شامل پوست، امعا و احشاء، استخوان و ...) توسط تیغهٔ

کاملاً استریل جدا و قسمت بافت کبد، به‌طور کامل از آن خارج گردید. نمونه بافت‌های بخش کبد، بسته‌بندی و شماره‌گذاری شدند و ۴ گرم از هر نمونه در آون در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شد. و بعد در داخل ارلن مایرهای ml ۱۰۰ ریخته شد و روی هر کدام ۵ میلی لیتر هیدروژن پراکسید (H2O2) و ۱۰ میلی لیتر نیتریک اسید غلیظ (HNO3) اضافه شد. هضم نمونه‌ها در ظروف داغ در دمای ۲۰۰ تا ۲۵۰ درجهٔ سانتی گراد به‌مدت ۴ ساعت و زیر هود تا شفاف شدن نمونه‌ها انجام گردید. سپس با عبور محلول‌های به‌دست آمده از کاغذ صافی، محلول‌های آماده اندازه‌گیری داخل ارلن مایرهای کاملاً تمیز جمع-آوری شدند (Oguzie and Izerbigie, 2009). محلول‌های استاندارد فلزات ذکر شده از نمک‌های نیترات خالص مربوطه ساخت شرکت مرک آلمان تهیه گردید و پس از رسم نمودار کالیبراسیون، توسط دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی شعله (FAAS) ساخت شرکت شیمادزو (Shimadzu) مدل AA670G میزان غلظت هر فلز به‌دست آمد. غلظت نهایی فلزات بر حسب میکروگرم برگرم وزن خشک بیان شد.

۲-۲. بافتی سنجی

برای ارزیابی بافت، پس از تشریح، نمونه بافت کبد جداسازی و نمونه‌های بافتی در محلول تثبیت‌کنندهٔ بوئن قرار داده شدند و پس از ۴۸ ساعت از محلول بوئن خارج و تا زمان انجام مراحل بعدی در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند (Velma and Tchounwou, 2010). کلیهٔ مراحل پاساژ بافتی شامل آبگیری، شفاف‌سازی و آغشتگی توسط دستگاه پاساژ بافت یا هیستوکینت و تحت برنامهٔ زمان‌بندی شده انجام شد. نمونه‌های بافتی با ضخامت ۵-۴ میکرون طبق روش‌های روتین بافت‌شناسی تهیه و با استفاده از محلول‌های هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند، سپس لام‌های بافتی آماده شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکس‌برداری دیجیتال بررسی شدند (Sharifpour *et al*., 2014).

سنجش آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و براساس دستورالعمل کیت پارس آزمون انجام شد. بدین‌منظور سنجش سطح آنزیم‌های فوق نمونه‌های سرم خون به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از ضریب مندرج در کاتالوگ و به روش آنزیمی انجام گردید.

۲-۳. تجزیه وتحلیل آماری داده ها

جهت مقایسهٔ آماری نمونه‌ها از نرم‌افزارهای EXCEL و SPSS نسخهٔ ۲۶ و روش آماری تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده گردید. به‌منظور تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین نتایج بررسی نمونه‌ها از آزمون پارامتریک و پس از تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) با سطح اطمینان ۹۵٪ ($P<۰/۰۵$) استفاده شد. داده‌ها براساس واحد میکروگرم بر گرم وزن خشک (میانگین±انحراف معیار) ($\mu g\ g^{-1}$ d.w) بیان شده است.

شکل ۱- نقشهٔ منطقهٔ مورد مطالعه در استان بوشهر-بندرکنگان

۳. یافته‌های پژوهش

در این پژوهش تعداد ۱۵ قطعه ماهی سی‌باس آسیایی صید و سپس به‌دقت مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده از بررسی آنها در جدول ۱ ارائه شده است. براساس نتایج، نمونه ماهی‌های مورد مطالعه از میانگین طولی ۲/۶۱±۲۶/۸۲ سانتی‌متر و میانگین وزنی ۹۴/۶۴ ±۲۶۰/۶۴ گرم برخوردار بودند.

جدول ۱- نتایج زیست‌سنجی نمونه‌ماهیان سی‌باس آسیایی

متغیر	تعداد	میانگین	خطای استاندارد	کمینه	بیشینه
وزن (گرم)	۱۵	۲۶۰/۶۴	۹۴/۷۰	۱۰۷/۶۹	۴۳۷/۱۸
طول (سانتی متر)	۱۵	۲۶/۸۲	۲/۶۱	۲۲/۰۰	۳۱

نتایج حاصل از سنجش کروم و کادمیوم در بافت کبد ماهی سی‌باس‌آسیایی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله و میزان غلظت هرکدام از فلزات به‌شرح جدول ۲ به‌دست آمد. البته شایان ذکر است که میانگین غلظت کروم در بافت کبد ماهی سی‌باس مورد مطالعه ۲/۸ میکروگرم بر گرم و میانگین غلظت کادمیوم در بافت عضلهٔ ماهی سی‌باس مورد مطالعه ۰/۱ میکروگرم بر گرم محاسبه گردید.

جدول ۲- حداقل و حداکثر غلظت فلز کروم و کادمیوم بررسی شده به‌همراه میانگین و انحراف معیار آنها درکبد ماهی سی‌باس آسیایی

نام فلز	حداقل غلظت میکروگرم بر گرم	حداکثر غلظت فلز میکروگرم بر گرم	میانگین± انحراف معیار
کروم	۲/۸	۳/۶	۳/۱۳±۰/۰۵۷۷
کادمیوم	۰/۱	۰/۲	۰/۱۳۳±۰/۰۴۱۶

۳-۱. نتایج سطح آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و مالون دی‌آلدئید (MDA)

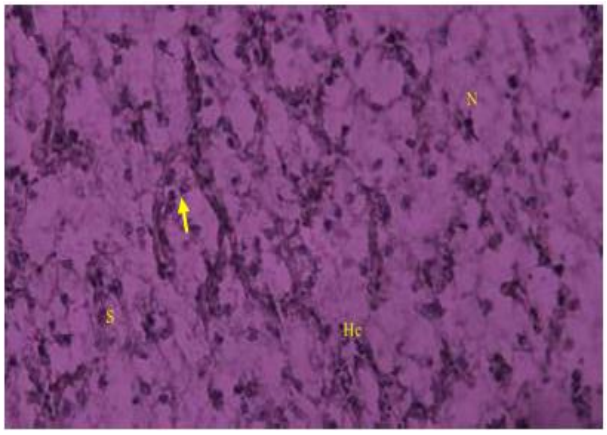
نتایج سنجش سطح آنزیمی آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و مالون دی‌آلدئید (MDA) به‌همراه میانگین و انحراف معیار آنها در کبد ماهی سی‌باس آسیایی در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳- سطح آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و مالون دی‌آلدئید (MDA) در کبد ماهی سی‌باس آسیایی

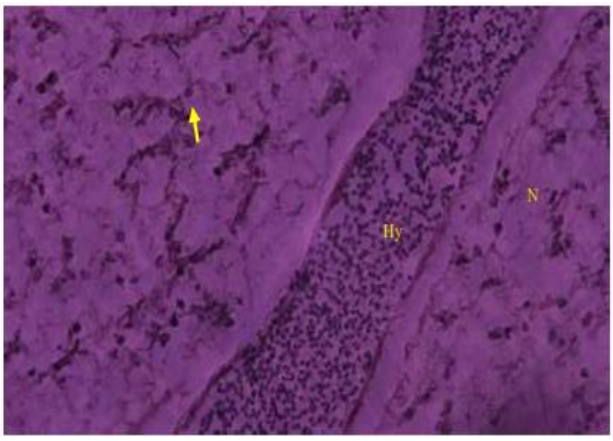
نام آنزیم	حداقل غلظت فلز (U/L)	حداکثر غلظت فلز (U/L)	میانگین± انحراف معیار
سوپراکسید دیسموتاز	۵۴	۶۸	۶۲/۳۳±۴/۲۸
کاتالاز	۵۲	۶۵	۵۸/۶±۴/۱۷
مالون دی‌آلدئید	۵۷	۷۱	۶۴/۲±۴/۳۲

۳-۲. نتایج بافت‌شناسی

نتایج مطالعهٔ بافت کبد نشان داد تمامی نمونه‌های مورد مطالعه ناسالم بوده‌اند و در بررسی‌های صورت گرفته بر روی بافت کبد ماهیان عوارضی همچون نکروزی شدن شدید سلول‌های کبدی (هپاتوسیت) در تمامی نمونه‌ها، پرخونی و خون‌ریزی به مقدار زیاد، آتروفی سلولی و دژنرسانس چربی به‌مقدار کم؛ همچنین هیپرتروفی سلولی نیز در نمونه‌های مورد نظر مشاهده شد (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲- مشاهدهٔ سلول‌های هپاتوسیت (پیکان)، مویرگ‌های کبدی یا سینوزوئید (S) و نکروزی شدن سلول (N) و خون‌ریزی (He) در کبد (40X ، H&E)



شکل ۳- مشاهدهٔ سلول‌های هپاتوسیت (پیکان) و نکروزی شدن سلول (N) و پر خونی (Hy) در کبد ماهی (40X ، H&E)

۳-۲. نتایج بررسی مقایسهٔ آماری نمونه‌ها

متغیرهای مورد استفاده در این تحقیق شامل متغیرهای وابسته و متغیرهای مستقل می‌باشند که متغیرهای مستقل این تحقیق غلظت فلزات سنگین کروم و کادمیوم می‌باشد و متغیر وابسته سطوح آنزیم‌های بافتی شامل آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید در ماهی سی‌باس آسیایی است. در ابتدا جهت اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، آزمون کولوموگروف-اسمیرنوف اجراء شد، سپس جهت تعیین سطح تغییرات معنی‌دار سطوح آنزیمی و ارتباط آنها با میزان غلظت فلزات سنگین کروم و کادمیوم از آزمون واریانس یک‌طرفه استفاده شد ($P<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که توزیع داده‌ها نرمال است (جدول ۴). نتایج آزمون نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین آنزیم‌ها در ارتباط با غلظت کادمیوم و کروم مشاهده نشد (جدول های ۵ و ۶). نتایج آزمون همبستگی بین غلظت فلزات کادمیوم و کروم در بافت کبد و میزان سطح آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین متغیرهای مستقل با متغیرهای وابسته مشاهده نشد ($P<۰/۰۱$) (جدول ۷).

جدول ٤- نتایج آماری آزمون نرمال بودن داده‌ها

آنزیم‌ها	کروم	کولوموگروف-اسمیرنوف			شاپیر-ویلک		
		دادهٔ نرمال	درجه آزادی	سطح معنی‌داری	دادهٔ نرمال	درجه آزادی	سطح معنی‌داری
سوپراکسید دیسموتاز	۲/۸۰	۰/۲۳	۵	۰/۲۰۰*	۰/۸۷۹	۵	۰/۳۰۴
	۳/۰۰	۰/۳۶۷	۵	۰/۰۲۶	۰/۶۸۴	۵	۰/۰۰۶
	۳/۶۰	۰/۳۹۴	۵	۰/۰۱۱	۰/۷۱۰	۵	۰/۰۱۲
کاتالاز	۲/۸۰	۰/۴۱۶	۵	۰/۰۰۵	۰/۶۷۲	۵	۰/۰۰۵
	۳/۰۰	۰/۳۶۷	۵	۰/۰۲۶	۰/۶۸۴	۵	۰/۰۰۶
	۳/۶۰	۰/۲۴۵	۵	۰/۲۰۰*	۰/۸۷۱	۵	۰/۲۶۹
مالون دی آلدئید	۲/۸۰	۰/۲۴۵	۵	۰/۲۰۰*	۰/۸۷۱	۵	۰/۲۶۹
	۳/۰۰	۰/۲۶۱	۵	۰/۲۰۰*	۰/۸۶۲	۵	۰/۲۳۶
	۳/۶۰	۰/۲۴۵	۵	۰/۲۰۰*	۰/۸۷۱	۵	۰/۲۷۲

* نشان‌دهندهٔ معنی‌داری بین داده‌ها است.

جدول ۵- نتایج آماری تجزیه واریانس یک‌طرفه ارتباط بین کادمیوم و آنزیم‌ها

		مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آمارهٔ F	سطح معنی‌داری
سوپراکسید دیسموتاز	بین گروه‌ها	۱۵۴/۱۳۳	۱	۱۵۴/۱۳۳	۱۶/۵۳۲	۰/۰۰۱
	داخل گروه‌ها	۱۲۱/۲۰۰	۱۳	۹/۳۲۳		
	کل	۲۷۵/۳۳۳	۱۴			
کاتالاز	بین گروه‌ها	۱۴۵/۲۰۰	۱	۱۴۵/۲۰۰	۱۶/۲۱۶	۰/۰۰۱
	داخل گروه‌ها	۱۱۶/۴۰۰	۱۳	۸/۹۵۴		
	کل	۲۶۱/۶۰۰	۱۴			
مالون دی آلدئید	بین گروه‌ها	۱۵۸/۷۰۰	۱	۱۵۸/۷۰۰	۱۶/۵۹۲	۰/۰۰۱
	داخل گروه‌ها	۱۲۱/۷۰۰	۱۳	۹/۳۶۲		
	کل	۲۸۰/۴۰۰	۱۴			

جدول ٦- نتایج آماری تجزیه واریانس یک‌طرفه ارتباط بین کروم و آنزیم‌ها

		مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آمارهٔ F	سطح معنی‌داری
سوپراکسید دیسموتاز	بین گروه‌ها	۱۸۶/۵۳۳	۲	۹۳/۲۶۷	۱۲/۶۰۴	۰/۰۰۱
	داخل گروه‌ها	۸۸/۸۰۰	۱۲	۷/۴۰۰		
	کل	۲۷۵/۳۳۳	۱۴			
کاتالاز	بین گروه‌ها	۱۷۷/۶۰۰	۲	۸۸/۸۰۰	۱۲/۶۸۶	۰/۰۰۱
	داخل گروه‌ها	۸۴/۰۰۰	۱۲	۷/۰۰۰		
	کل	۲۶۱/۶۰۰	۱۴			
مالون دی‌آلدئید	بین گروه‌ها	۲۱۱/۶۰۰	۲	۱۰۵/۸۰۰	۱۸/۴۵۳	۰/۰۰۰
	داخل گروه‌ها	۶۸/۸۰۰	۱۲	۵/۷۳۳		
	کل	۲۸۰/۴۰۰	۱۴			

جدول ۷- نتایج همبستگی بین غلظت فلز کروم و میزان سطوح آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید در سرم خون ماهیان سی‌باس آسیایی

		سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	مالون دی الئید	کروم
سوپراکسید دیسموتاز	ضریب همبستگی پیرسون	۱	۰/۹۶۱**	۰/۹۶۱**	۰/۷۶۶**
	معیار تصمیم		۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱
	تعداد	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
کاتالاز	ضریب همبستگی پیرسون	-۰/۹۶۱**	۱	-۰/۹۶۳**	-۰/۷۷۰**
	معیار تصمیم	۰/۰۰۰		۰/۰۰۰	۰/۰۰۱
	تعداد	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
مالون دی آلئید	ضریب همبستگی پیرسون	۰/۹۶۱**	-۰/۹۶۳**	۱	۰/۸۳۵**
	معیار تصمیم	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰		۰/۰۰۰
	تعداد	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
کروم	ضریب همبستگی پیرسون	۰/۷۶۶**	-۰/۷۷۰**	۰/۸۳۵**	۱
	معیار تصمیم	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	
	تعداد	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵

** نشان‌دهندهٔ همبستگی معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ می‌باشد..

۴. بحث

هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثرات فلزات سنگین کروم و کادمیوم بر فیزیولوژی ماهی سی باس آسیایی با تاکید بر سطوح آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، مالون دی الدئید و تغییرات هیستوپاتولوژییکی بافت کبد ماهیان پرورش یافته در قفس بود. تحقیق اخیر نشان داد که غلظت کروم و کادمیوم در سرم خون ماهی سی‌باس آسیایی بالاتر از استانداردهای WHO و FAO بود (جدول ۸) که دلیل آن می‌تواند ورود این فلزات سنگین از طریق شیرابه‌های حاوی کامیوم و ورود کودهای شیمیایی مورد

استفاده در صنایع کشاورزی باشد.کروم از طریق پساب صنایع آبکاری، نساجی و چاپ وارد اکوسیستم‌های آبی می‌گردد و موجب افزایش گونه‌های فعال اکسیژنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسیداز دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید می‌گردد. رژیم گوشت‌خواری ماهی سی‌باس آسیایی و خاصیت تجمع‌پذیری کادمیوم در بافت کبد به‌دلیل عملکرد سم-زدایی بافت کبد، می‌تواند دلیل بالا بودن غلظت فلزات سنگین کادمیوم و کروم در سرم خون ماهی فوق باشد. میزان تجمع کادمیوم در ماهی ارتباط قوی با نوع تغذیهٔ ماهی دارد. در زنجیرهٔ غذایی آبزیان، یک اثر تقویت‌کننده مرحله به مرحله، با افزایش سطوح تغذیه‌ای، برای تجمع کادمیوم مشاهده می‌شود. با توجه به اثرات تجمعی مختلف کادمیوم بر روی ماهیان با تغذیهٔ مختلف، میانگین ضریب تجمع کادمیوم در بافت ماهی را می‌توان به‌طورکلی به‌صورت همه‌چیزخوار>گوشتخوار> گیاهخوار مرتب کرد. میانگین ضریب تجمع کادمیوم، از بزرگ‌ترین تا کوچک‌ترین، در بافت ماهی‌هایی که در لایه‌های آبی مختلف زندگی می‌کنند، عموماً ماهی‌های پایین، ماهی‌های میانی و پایینی و ماهی‌های کف‌زی و سطح‌زی و بالایی است مانند موقعیت ماهی‌ها در زنجیرهٔ غذایی و ظرفیت متابولیک آنها به‌عنوان مثال، ماهی‌های گیاه‌خوار بیش‌تر در لایه‌های بالایی و میانی آب زندگی می‌کنند و عمدتاً از فیتوپلانکتون‌ها یا گیاهان آبزی تغذیه می‌کنند. تجمع کادمیوم عمدتاً از هضم غذای روده‌ای حاصل می‌شود. ماهیان همه‌چیزخوار و گوشت‌خوار بیش‌تر در لایه‌های میانی و تحتانی آب زندگی می‌کنند و از ماهی‌های کوچک، حشرات آبزی و میگو تغذیه می‌کنند، بنابراین تجمع کادمیوم در ماهی‌های همه‌چیزخوار و گوشت‌خوار بیش‌تر است. زیرا ممکن است مقادیر زیادی رسوبات حاوی کادمیوم را در حین تغذیه در آب مصرف کنند. مسیر تغذیهٔ عامل مهم دیگری است که بر تجمع و توزیع کادمیوم در ماهی تأثیر می‌گذارد (Hyyat *et al*., 2012). کادمیوم با آب یا غذا جذب می‌شود و از طریق گردش خون در بافت‌ها و اندام-های مختلف ماهی منتقل می‌شود. کادمیوم پس از جذب آب و انتقال از طریق گردش خون، عمدتاً در اندام‌های سم‌زدایی مانند کلیه و کبد غنی می‌شود، اما زمانی‌که با غذا خورده می‌شود، به‌دلیل هضم و جذب در روده، عمدتاً در بافت‌های روده غنی می‌شود (Junejo *et al*., 2019). با این‌حال، همراه با مهاجرت و توزیع در ماهی، تجمع کادمیوم که هم با آب و هم با غذا جذب می‌شود، کاهش تدریجی را در اندام‌ها یا بافت‌های مختلف نشان می‌دهد. وقتی با آب جذب می‌شود، یون‌های کادمیوم مستقیماً توسط آبشش‌ها در حالت محلول جذب می‌شوند و تجمع کادمیوم در بافت‌های مختلف عموماً به‌ترتیب نزولی زیر است: کلیه، کبد، روده، آبشش و ماهیچه در حالی که با غذاها جذب می‌شوند، توسط دستگاه گوارش جذب می‌شوند و تجمع Cd در بافت‌های مختلف به‌طورکلی به‌ترتیب زیر است، از زیاد به پایین: روده، کلیه، کبد، آبشش و ماهیچه (Liu, *et al*., 2022). نتایج مشابه مطالعهٔ حاضر در بررسی فلزات سنگین ماهی شیربت (*Barbus grypus*) در اروندرود؛ میزان غلظت فلز کادمیوم در عضله و آبشش این ماهی به‌ترتیب ۸۳/۲ و ۷۹/۲ میکروگرم برگرم به‌دست آمد که میزان فلز کادمیوم در بافت عضلهٔ ماهی در مقایسه با استانداردهای FDA، WHO و NHMRC بالاتر بود (Dadolahi Sohrab *et al*., 2009).

پژوهش مشابه این تحقیق در خصوص آلودگی فلزات سنگین (نیکل، مس ، سرب ، کبالت و کادمیوم) در رسوبات و بافت‌های کبد و ماهیچه کفشک ماهی *Psettodes erumei* در استان بوشهر انجام شد. Hosseini و همکاران (۲۰۱۵) نتیجه گرفتندکه میزان کادمیوم موجود در کبد ماهی *Psettodes erumei* از استانداردهای FAO و WHO بالاتر بوده است و دلیل آن را رژیم غذایی کف‌زی‌خوار ماهی کفشک و خاصیت تجمع پذیری فلز کادمیوم در بافت‌های ماهی به‌ویژه بافت کبد به‌دلیل دارا بودن متالوپروتئین بالا که در تنظیم و دفع سمیت ناشی از آلاینده‌ها نقش دارد و همچنین به‌دلیل انجام سم‌زدایی بدن، عمل کردن به-عنوان سایت متابولیسم، از مهم‌ترین محل تجمع آلاینده‌ها در ماهی است، عنوان کردند (Pourang *et al*., 2005; Safahieh *et al*., 2011; Chen *et al*., 2012). Emadi و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای مشابه تحقیق حاضر به بررسی فلزات سنگین (سرب و کادمیوم) در بافت‌های عضله و کبد سنگسر معمولی *Pomadasys kaakan* آب‌های جزیرهٔ هرمز خلیج فارس پرداختند و نتیجه گرفتند که غلظت فلزات سنگین سرب و کادمیوم در بافت عضله ماهی سنگسر معمولی در منطقهٔ مورد مطالعه پایین‌تر از حد مجازاستانداردهای سازمان بهداشت جهانی، سازمان غذا و کشاورزی، مرکز ملی بهداشت و پزشکی استرالیا، وزارت کشاورزی شیلات و غذای انگلستان و سازمان غذا و داروی آمریکا بود. اختلاف نتایج در سنجش میزان فلزات سنگین در بافت‌ها به‌طور اساسی تابع عادات غذایی گونه، مدت زمان قرارگیری و مواجهه با فلزات، میزان و نوع مواد آلی در آب و pH، دمای آب ، سن و

وزن می‌باشد. فلزات سنگین اندام هدف خود را براساس میزان فعالیت متابولیک آن انتخاب می‌کنند (Filazi *et al*., 2003). Ashja Ardalan و همکاران (۲۰۰۹)، میزان فلزات سنگین مس، سرب، روی و جیوه را در بافت عضله و کبد ماهی سوف حاجی‌طرخان در دو منطقهٔ آبکنار و شیجان مورد مطالعه قراردادند. نتایج تحقیق نشان داد که غظت این فلزات در بافت کبد بیشتر از بافت عضله می‌باشد. در تحقیقی مشابه پژوهش حاضر، Aghaei و همکاران (۲۰۱۵) میزان فلزات سنگین Cd، Pb، Cuو Znرا در بافت عضله و کبد ماهی کوتر *Sphyraena* sp. مورد بررسی قراردادند که میزان کادمیوم در بافت کبد به‌طور معنی‌داری در بالاتر از حد استانداردهای WHO و FAO بود. که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

آزمایشات متعدد نشان داده‌اند که غلظت عناصر سنگین در بدن موجودات آبزی در مناطق مختلف به‌دلیل شرایط محیطی متفاوت (دما، شوری، بستر متفاوت و وجود فعالیت‌های صنعتی) متفاوت است (Dural *et al*., 2007). تفاوت مقادیر فلزات سنگین در ماهی سی‌باس آسیایی خلیج فارس با سایر گونه‌ها در کشورهای مختلف ممکن است به عوامل مختلفی از جمله شرایط جغرافیایی، محیطی و کیفیت منابع تأمین‌کنندهٔ آب، صنایع مجاور در حاشیهٔ سواحل و مقررات دفع پساب، نوع گونه‌های ماهی و بافت‌های مورد آزمایش، شرایط متفاوت فعالیت‌های آزمایشگاهی و... وابسته باشد. وجود واحدهای لنج‌سازی و همچنین اسکلهٔ صیادی در بندر بوشهر از واحدهای آلاینده‌های دریا می‌باشد. یکی دیگر از مهم‌ترین آلوده‌کننده‌های خلیج فارس در این منطقه آب‌شیرین‌کن‌ها می‌باشد، برداشت آب دریا برای شیرین‌سازی و تخلیهٔ پساب‌های ناشی از فرآیندهای شوری‌زدایی به‌داخل دریا می‌توانند اثرهای مخربی را برای اکوسیستم و منطقهٔ دریایی داشته باشد. پساب‌ها می‌توانند موجب برهم خوردن تعادل آب دریا در محل خروجی‌ها از نظر میزان شوری، درجه حرارت و غلظت شود (Dural *et al*., 2007) و با توجه به جهت جریان آب منطقهٔ خلیج فارس که در امتداد سواحل ایران به سمت غرب پیش می‌رود و اینکه در غرب خلیج فارس واقع است؛ بدیهی است که مسیر پراکنش و انتشار آلودگی‌های حاصل از منابع آلاینده در بندرعباس به سمت سواحل کنگان باشد.

نتایج مطالعهٔ حاضر همچنین نشان داد که میانگین سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید در ماهی سی‌باس آسیایی به‌ترتیب ۶۲/۳۳، ۵۸/۶ و ۶۴/۲ U/L بود. ماهیان همانند سایر جانوران مستعد اثرپذیری از Ro در نتیجه فرآیند اکسیداسیونی در طی متابولیسم هستند. درشرایط نرمال فیزیولوژیکی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌تواند RO را حذف کند (Romeo) (*et al*., 2000; Asagba *et al*., 2008 در شرایط استرس‌زا مانند مواجهه با فلزات سنگین، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (سطح آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز) در ماهی سی‌باس آسیایی افزایش یافته است که می‌تواند به‌دلیل تجمع فلزات سنگین و تخریب بافت‌ها و اختلال در عملکرد بدن ماهی در اثر تولید RO مانند هیدروژن پراکسید و لیپیدپراکسید باشد (Firat *et al*., 2009).

در تحقیق حاضر سطح بالای فعالیت کاتالاز در اثر پاسخ تطبیقی سلول‌ها برای کاهش سمیت فلزات سنگین می‌باشدکه با نتایج تحقیقVinodhini و Narayanan (۲۰۰۹) و Li و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت دارد. مواد RO در اثر استرس منجر به استرس اکسیداتیو در چندین هدف سلولی می‌شود. استرس ایجاد شده منجر به تولید لیپید پراکسید و تولید بالای آنزیم مالون دی‌آلدئید در کبد می‌گردد که در نهایت منجر به پارگی غشاهای کبد شده و مایعات و آنزیم‌ها به خارج از سلول‌ها نشت می‌گردد از این‌رو سطح آنزیم‌ها در سرم خون افزایش می‌یابد (Dalkilic, 2001). در مواجهه ماهی کپور معمولی با فلزات سنگین در مدت ۳۲ روز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون s- ترانسفراز افزایش یافته است دلیل این افزایش، عملکرد سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و مکانیسم تطبیقی سلول‌ها در برابر سمیت ناشی از رادیکال‌های آزاد گزارش شد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد (Vinodhini and Narayanan, 2009).

نتیجه مشابه در ماهی *Oreochromis niloticus* نشان داد که در مناطق آلوده رودخانه، فعالیت‌های آنزیمی (ALP, ALT, AST, AST و CK) در این ماهی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با استانداردهای WHO و FAO بالاتر بود. افزایش میزان فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند به‌دلیل ضایعات در کبد و کلیه در پاسخ به تجمع زیستی فلزات سنگین باشد (Shahnawaz Khan *et al*., 2020). باتوجه به اینکه بافت کبد ماهی نقش اصلی در سم‌زدایی بدن ماهی دارد اطمینان از سلامت گوشت ماهی به لحاظ فلزات سنگین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. نتایج بافت‌شناسی در این مطالعه عوارض و آسیب‌های نکروزی شدن شدید

سلول‌های کبدی (هپاتوسیت) در تمامی نمونه‌ها، پرخونی و خون‌ریزی به مقدار زیاد، آتروفی سلوی و دژنرسانس چربی به مقدار کم همچنین هیپرتروفی سلولی را نشان داد. نکروز نوعی مرگ زودرس بافتی است که توسط سلول‌های داخلی تنظیم می‌شوند به‌عنوان یک مکانیسم محافظ در برابر بیماری و عوامل دیگر عمل می‌کنند. سلول‌های نکروز از نظر ریخت‌شناختی با بزرگ شدن اندامک‌ها مانند شبکهٔ آندوپلاسمی و میتوکندری، پارگی غشای پلاسما و لیز سلولی مشخص می‌شوند. نکروز سلول‌های کبدی در اثر عوامل مختلفی از جمله عفونت‌های ویروسی، اختلالات خود ایمنی و قرار گرفتن در معرض سموم ایجاد می‌شود. ادم، تورم ناشی از مایع اضافی حبس شده در بافت‌های بدن است. اِدم زمانی اتفاق می‌افتد که مایع از رگ‌های خونی کوچک بدن (مویرگ‌ها) نشت می‌کند. این مایع در بافت‌های اطراف جمع می‌شود و منجر به تورم می‌شود. ادم در واقع تجمع غیرطبیعی آب و مایعات میان بافتی موجود در پلاسما در فضای میان بافتی، زیر پوست و حفره‌های بدن و به‌علت انتقال آنها از درون رگ‌ها به محل‌های یاد شده می‌باشد. در واقع هایپرتروفی (Hypertrophy) سلول به‌دلیل افزایش جذب آب متورم به‌دنبال تغییرات در غشاء و فرآیندهای غشای نفوذپذیری همراه است. یک پاسخ سازش‌پذیری است که در آن افزایش در اندازهٔ سلول مشاهده می شود (Isangedighi and David, 2019). دلیل آسیب‌های باقتی ایجاد شده در بافت کبد می‌تواند در نتیجه حضور فلزات سنگین کروم و کادمیوم در آب و زنجیرهٔ غذایی ماهی سی‌باس آسیایی و نقش این عضو به‌عنوان ذخیره‌کننده و توزیع‌کننده در بدن باشد. مطالعهٔ مشابهی با هدف ارزیابی غلظت فلزات سنگین در سد تیگا، نیجریه از نظر تجمع زیستی و تغییرات هیستوپاتولوژیک در گونهٔ *Auchenoglanis occidentalis* انجام شد. غلظت فلزات سنگین روی، کادمیوم، سرب و آهن در آب سد و بدن ماهی مورد بررسی قرار گرفت. عوامل تجمع زیستی در آبشش، کبد و کلیهٔ ماهی نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تغییرات هیستوپاتولوژیک نشان داد که غلظت فلزات به‌طور معنی‌داری بین آب سد و کبد ماهی نمونه‌برداری شده متفاوت است. نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت سرب، کادمیوم، روی و آهن در کبد این ماهی بالاتر از آب سد بود که می‌تواند به‌دلیل آلودگی محیطی و سرعت بلع و دفع ماهی در معرض فلزات سنگین باشد (Abalaka, 2015).

VanDyk و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که یکی از اثرات آلودگی‌های فلزی به‌ویژه کادمیوم در کبد تغییر وضعیت سلول‌های کبدی از جمله افزایش حجم این سلول‌هاست که می‌تواند به‌علت اختلال در فعالیت آنزیم ATPase و تغییر در تنظیمات یونی سلول‌ها در اثر قرارگیری در معرض کادمیوم باشد. در چنین شرایطی با افزایش غلظت کادمیوم، وزن کبد افزایش می‌یابد. نتایج این تحقیق با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد. در تحقیقی مشابه Bibi و همکاران (۲۰۲۱) تغییرات هیستوپاتولوژی ایجاد شده توسط فلزات سنگین (کادمیوم، نیکل، کروم، نقره) را در گونه‌های مختلف بررسی کردند و مشخص شد که کروم، جیوه، نیکل و کادمیوم باعث تغییرات هیستوپاتولوژیک و چندین بیماری در ماهیان مختلف پاکستان می‌شود. تغییرات گستردهٔ هیستوپاتولوژیک در آبشش، کبد، کلیه و پوست ماهیان مختلف زمانی مشاهده شد که ماهیان در معرض فلزات سنگین قرار گرفتند.

جدول ۸- مقایسه میانگین کلی فلزات سنگین کروم و کادمیوم در بافت کبد ماهی سی‌باس آسیایی با استانداردهای بین المللی

استاندارد	کروم (میکرو بر گرم وزن خشک)	کادمیوم (میکروگرم بر گرم وزن خشک)	منبع
WHO[1]	۰/۳	۰/۲	Pourang *et al*., 2005 ; WHO,1995
FDA[2]		۲	Chen and Chen, 2001
FAO	۰/۳	۰/۲	
USEPA		۰/۲	Mishra *et al*., 2007
NHMRC[3]		۱/۵	Darmono and Denton,1990
UK (MAFF)[4]		۰/۲	Franklin and Jones, 1995
تحقیق حاضر	۳/۱۳	۰/۱۳	تحقیق حاضر

[1]Word Health Organization
[2]Food and Drug Administration
[3]National Health and Medical Research Council
[4]Ministry of Agriculture Fisheries and Food

۵. نتیجه‌گیری نهایی

نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر نشان داد که میزان غلظت فلزات سنگین کروم و کادمیوم مورد مطالعه در بافت کبد ماهی سی‌باس آسیایی از حد استاندارد تعیین شده توسط FAO و WHO بالاتر بود. اثراتی را که ماهیان در اثر آلودگی با کادمیوم نشان می‌دهند عبارتند از: کاهش رشد، کاهش تنفس، کوتاه شدن دوره تخم‌ریزی، تغییر فعالیت آنزیمی و غیر عادی شدن انقباضات عضلانی. از سوی دیگر، وجود غلظت‌هایی از کادمیوم در محصولات شیلاتی سبب ایجاد ریسک برای مصرف‌کننده‌ها می‌شود (WHO, 2000). بالابودن تجمع این عناصر نسبت به حد مجاز اندازه‌گیری شده بیانگر لزوم توجه به احتمال ورود پیوستهٔ منابع تولیدکنندهٔ این عوامل آلاینده همانند پساب‌های حاصل فعالیت‌های انسانی (باقی‌ماندهٔ ناشی از سوخت‌های فسیلی و نفت‌کش‌ها) است.

براساس نتایج به‌دست آمده پیشنهاد می‌شود:

- جهت پی بردن به تجمع زیستی فلزات سنگین در سایر ماهی‌های اقتصادی برای تشخیص سلامتی غذا، پایش پروفایل آنزیمی انجام شود.
- مطالعات بیشتری در مورد اثرات مسمومیت حاد، آسیب‌های بافت شناسی و سلولی ناشی از آلودگی فلزات سنگین کروم و کادمیوم در این گونه مورد نیاز است.
- تاثیر فصول مختلف و دوره‌های پرورش در تجمع زیستی فلزات سنگین در این گونه مورد بررسی قرار گیرد.
- بررسی اثرات ناشی از حضور فلزات سنگین در زنجیره غذایی آبزیان.
- بررسی تاثیر فلزات سنگین بر بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی

تشکر و قدردانی

از جناب آقایان دکتر وحید مرشدی عضو هیات علمی پژوهشکدهٔ خلیج فارس دانشگاه بوشهر و دکتر علی حلاجیان محقق محترم انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری که در انجام این پروژه همکاری داشتند، کمال تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

References

Abalaka, E.S., 2015. Heavy metals bioaccumulation and histopathological changes in *Auchenoglanis occidentalis* fish from Tiga dam, Nigeria. *Journal of Environmental Health Science & Engineering* 13, 67. DOI: 10.1186/s40201-015-0222-y

Aghaei, S., Ashjae Ardalan, A., Moraki, N., Darvish Bastami, K., Mola Mohieddin, N., 2015. Nutritive value and trace elements accumulation (Zn, Cu, Pb, Cd) in muscle and liver tissues of *Barracuda Sphyraena* SP. in Bandarabbas (2013-2014). Journal of Marine Science & Technology Research 9(4), 1-9. (In Persian)

Asagba, S.O., Eriyamremu, G.E., Igberaese, M.E., 2008. Bioaccumulation of cadmium and its biochemical effecton selected tissues of the catfish (*Clarias gariepinus*). *Fish physiology and biochemistry* 34(1), 61-69.

Ashja Ardalan, A., Sohrabi, M.R., Mirheydari, S.M., Abdollah Beigi, H., 2009. Determination of Hg, Pb, Zn, Cu in muscle and liver of tissue of European perch (*Perca fluviatilis*) in areas of Abkenar and Sheyjan of Anzali Lagoon in spring. *Journal of Marine Science & Technology Research* 4(2), 47-60. (In Persian)

Bibi, S., Naz, S., Saeed, S., Chatha, A.M.M., 2021. A Review on Histopathological Alterations Induced by Heavy Metals (Cd, Ni, Cr, Hg) in Different Fish Species, Punjab University. *Journal of Zoology* 36(1), 81-89. DOI: 10.17582/journal.pujz/2021.36.1.81.89

Chen, W.Y., Lin, C.J., Yun, R.J., Tsai, J.W., Liao, C.M., 2012. Assessing the effects of pulsed waterborne copper toxicity on life-stage tilapia populations. *Science of the Total Environment* 101(4), 129-137. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2011.12.043

Chen, Y.C., Chen, M.H., 2001. Heavy metal concentrations in nine species of fishes caught in coastal waters off Ann-Ping, S.W. Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis* 9, 107-114. DOI: 10.38212/2224-6614.2803

Clark, R.B., 2001. Marine Pollution. 5th Edition, Oxford University Press, 237 p.

Dadolahi Sohrab, A., Nabavi, S.M.B., Kheivar, N., 2009. The relationships between biometric characteristics of *Barbus grypus* with heavy metals levels in tissues (muscle and gill) from Arvand River, Iran. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 17(4), 34-43. (In Persian)

Dalkiliç, N., 2001. The role of foreign language classroom anxiety in English speaking courses. *Çukurova Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi* 8(8).

Darmono, D., Denton, G.R.W., 1990. Heavy metal concentrations in the banana prawn (*Penaeus merguiensis*) and leader prawn (*P. monodon*) in the Townsville region of Australia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 44, 479-486. DOI: 10.1007/BF01701233.

Dehghani, M. and Farzin, M., 2015. Investigating and determining the concentration of heavy metals (lead, copper, nickel and cadmium) in the tissue of hoover fish (*Thunnus tonggol*) caught in the coastal waters of Qeshm Island. *Journal of Aquatic animals & Fisheries* 6(23), 25-35. (In Persian)

Durale, M., Goksu, M.Z.L., Ozak, A.A., 2007. Investigation of heavy metal levels in economically important fish fish species captured from the Tuzla lagoon. *Food Chemistry* 102, 415-421. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.03.001

Emadi, Y., Khatami, Sh., Kerdegari, M., 2015. Investigate of the heavy metal (Pb, Cd) from muscle and liver in *Pomadasys kaakan*, in Hormuz Island, Persian Gulf. *Journal of Animal Environment* 11(4), 111-116. DOR: 20.1001.1.27171388.1398.11.4.16.2 (In Persian)

FAO. 2024. Globefish Highlights International markets for fisheries and aquaculture products. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome.

Filazi, A., Baskaya, R., Kum, C., 2003. Metal concentration in tissues of the black sea fish Mugil auratus from Sinop -Icliman, Turkey. *Human, Experimental Toxicology* 22, 85-87.

Finney, D., 1971. Probit analysis, a statistical treatment of the sigmoid response curve. Cambridge, 256 p.

Firat, Ö., Cogun, H.Y., Aslanyavrusu, S., Kargın, F., 2009. Antioxidant responses and metal accumulationin tissues of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd and Zn+ Cd exposures. *Journal of Applied Toxicology* 29(4), 295-301. DOI: 10.1002/jat.1406

Franklin, A., Jones, J., 1995. Monitoring and surveillance of non-radioactive contaminants in the aquatic environment and activities regulating the disposal of wastes at sea.1994. *Science Series Aquatic Environment Monitoring Report* 47, 59.

Hyatt, M.W., Anderson, P.A., O'Donnell, P.M., Berzins, I.K., 2012. Assessment of acid–base derangements among bonnethead (*Sphyrna tiburo*), bull (*Carcharhinus leucas*), and lemon (*Negaprion brevirostris*) sharks from gillnet and longline capture and handling methods. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: *Molecular & Integrative Physiology* 162(2), 113-120. DOI: 10.1016/j.cbpa.2011.05.004

Hosseini, M., Nabavi, S.B., Golshani R., Nabavi S.N., Raeesi Sarasiab, A., 2015. The heavy metals pollution (Cd, Co, Pb, Cu and Ni) in sediment, liver and muscles tissues of flounder *Psettodes erumei* from Busheher Province, Persian Gulf. *Journal of Animal Research* 28(4), 444-449. DOR: 20.1001.1.23832614.1394.28.4.6.7 (In Persian)

Isangedighi, I.A., David, G.S., 2019. Heavy Metals Contamination in Fish: Effects on Human Health. *Journal of Aquatic Science and Marine Biology* 2(4), 7-12. DOI: 10.22259/2638-5481.0204002

Jiaxin, S., Shengchen, W., Yirong, C., Shuting, W., Shu, L., 2020. Cadmium exposure induces apoptosis, inflammation and immunosuppression through CYPs activation and antioxidant dysfunction in common carp neutrophils. *Fish & Shellfish Immunology* 99, 284-290. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.02.015

Junejo, S.H., Baig, J.A., Kazi, T.G., Afridi, H.I., 2019. Cadmium and Lead Hazardous Impact Assessment of Pond Fish Species. *Biological Trace Element Research* 191, 502-511. DOI: 10.1007/s12011-018-1628-z

Khoshbin, A., Pourkhabbaz, A.R., 2022. Bioaccumulation of lead, nickel and cadmium in the muscle, liver and skin of *Otolithes ruber* and *Sphyraena forsteri*. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 11(4), 111-116. DOI: 10.22092/ISFJ.2022.127149 (In Persian)

Li, X., Liu, Y., Song, L., Liu, J., 2003. Responses of antioxidant systems in the hepatocytes of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to the toxicity of microcystin-LR. *Toxicon* 42, 85-89. DOI: 10.1016/s0041-0101(03)00104-1

Liu, Y., Chen, Q., Li, Y., Bi, L., Peng, R., 2022. Toxic Effects of Cadmium on Fish. *Toxicon* 10(10), 622. DOI: 10.3390/toxics10100622

Mazej, Z.S., Sayegh-Petkovšek, A.L., Pokorny, B., 2010. Heavy metal concentrations in food chain of lake Velenjskojezero, Slovenia: an artificial lake from mining. *Archives of environmental contamination and toxicology* 58, 998-1007. DOI: 10.1007/s00244-009-9417-5

Miri, M., Khandan Barani, H., 2018. Determination of aluminium bioaccumulation in liver, gill and muscle tissues of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Animals Nutrition* 3(6), 1-12. DOI: 10.22124/JANB.2018.3163 (In Persian)

Mirzaei, M., Valinassab, T., Haji Seyed Mohammad Shirazi, R., 2020. Risk assessment of heavy metals (Lead, Copper, Cadmium) in muscle and skin of *Upeneus sulphureus* in Mahshahr port. *Journal of Animal Environment* 12(3), 139-144. DOI: 10.22034/aej.2020.113053 (In Persian)

Mishra, P., Socolich, M.A., Graves, J., Wang, Z.F., Ranganathan, R., 2007. Dynamic scaffolding in a G protein-coupled signaling system. *Call* 131(1), 80-92. DOI: 10.1016/j.cell.2007.07.037

Oguzie, F.A., Izerbigie, A.A., 2009. Heavy Metals concentration in the organs of the silver Catfish, *Chrysichthys nigrodigitatus* (Lacèpéde) caught upstream of the Ikpoba River and the reservoir in Benin City. *Bioscience Research Communication* 21(4), 189-197. DOI: 10.12691/ijebb-4-3-2

Pourang, N., Dennis, J.H., Ghourchian, H., 2005. Distribution of heavy metalsin *Penaeus semisulcatus* from Persian Gulfand possible role of metallothionein in their redistribution during storage. *Environmental Monitoring and Assessment* 100(1-3), 71-88. Doi: 10.1007/s10661-005-7061-8

Romeo, M., Siau, Y., Sidoumou, Z., Gnassia-B arelli, M., 1999. Heavy metal distribution in different fish species from the Mauritania coast. *Sci. Total Enviroment* 232(1), 169-175. DOI: 10.1016/s0048-9697(99)00099-6

Rosa, M.M., Amila, E.M., Ana, S., 2005. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Review in fish Biology and fisheries* 15, 75-88. DOI:10.1007/s11160-005-7846-4

Safahieh, A., Abdolahpur Monikh, F., Savari, A., 2011. Heavy metals contamination in sediment and Sole fish (*Euryglossa orientalis*) from Musa estuary (Persian Gulf). *World Journal of Fish and Marine Sciences* 3(4), 290-297.

Satarug, S., Garrett, S.H., Sens, M.A., Sens, D.A., 2010. Cadmium, environmental exposure, and health outcomes. Environ. *Health Perspect* 118, 182-190. DOI: 10.1289/ehp.0901234

Shahnavaz Khan, M., Javed, M., Rahman, M.D., Iresh Ahmed, M.D., 2020. Heavy metal pollution and risk assessment by the battery of toxicity tests. *Scientific Reports* 10, 16593. DOI: 10.1038/s41598-020-73468-4

Sharifpour, A., Halajian, A., Kazemi, R., 2013. Laboratory methods of aquatic histology. *Iranian Fisheries Science Research Institute* 347 p. (In Persian)

Soldatov, A.A., 2005. Peculiarities of organization and functioning of the fish red blood system. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology* 41(3), 272-281. DOI: 10.1007/s10893-005-0060-0

Van Dyk, J.C., Pieterse, G.M., van Vuren, J.H.J., 2007. Review: Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66, 432-440. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2005.10.012

Velma, V., Tchounwou, P.B., 2010. Chromium-induced biochemical, genotoxic and histopathologic effects in liver and kidney of goldfish, *Carassius auratus*. *Mutation Research* 698, 43-51. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2010.03.014

Vinodhini, R., Narayanan, M., 2009. Biochemical changes of antioxidant enzymes in common carp (*Cyprinus carpio* L.) after heavy metal exposure. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences* 33(4), 273-278. DOI: 10.3906/vet-0711-18

World Health Organization (WHO). 2000. Health risks from marine pollution in Mediterranean. Part I implications for policy makers. 255 p.

World Health Organization (WHO). 1995. Health risks from marine pollution in Mediterranean. Part I implications for policy makers. 255 p.

Zhang, D., Gao, J., Zhang, K., Liu, X., Li, J., 2012. Effects of chronic cadmium poisoning on Zn, Cu, Fe, Ca, and metallothionein in liver and kidney of rats. *Biological Trace Element Research* 149, 57-63. DOI: 10.1007/s12011-012-9394-9.