شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۷، شماره ۲، پاییز ۱۳۹۲
ص ۳۲۹-۳۴۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۵

بررسی برخی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداسیون چربی کبد و تغییرات بیوشیمیایی سرم خون ماهی بیاح (*Liza persicus*) در سواحل شمالی خلیج‌فارس (مطالعهٔ موردی: استان بوشهر)

❖ **دارا باقری**: دانشجوی دکتری، گروه شیلات و محیطزیست، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
❖ **باقر مجازی امیری***: استاد گروه شیلات و محیطزیست، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران،کرج، ایران.
❖ **هادی پورباقر**: استادیار گروه شیلات و محیطزیست، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
❖ **حمید فرحمند**: دانشیار گروه شیلات و محیطزیست، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
❖ **افشار بارگاهی**: استادیار مرکز تحقیقات زیست‌فناوری دریایی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران.

چکیده

ترکیبات زنوبایوتیک قادرند در ماهیان تغییرات فیزیولوژیکی نظیر تغییر در تعادل آنزیم‌های بدن و پراکسیداسیون چربی کبد ایجاد کنند لذا، مطالعهٔ حاضر با هدف بررسی برخی نشانگرهای زیستی مرتبط با آلاینده‌ها نظیر سطوح آنزیم‌های ترانس آمیناز خون، گلوتاتیون اس ترانسفراز و گلوتاتیون رداکتاز کبدی، همچنین پراکسیداسیون چربی کبد ماهی بیاح (*Liza persicus*) در سواحل استان بوشهر به منظور بررسی امکان استفاده از این نشانگرها در پایش آثار آلاینده‌ها به ویژه آلاینده‌های نفتی در سواحل خلیج‌فارس انجام شد. برای این منظور هفت ایستگاه مختلف، به نام‌های بنود (ایستگاه کمتر آلوده به‌منزلهٔ ایستگاه کنترل)، هاله (پارک ملی نایبند)، نخل تقی (نزدیکی به مجتمع‌های پتروشیمی و صنایع نفتی)، کنگان (پایین‌دست مجتمع‌های پتروشیمی) و سه ایستگاه در بوشهر (جفره، صلح‌آباد و شغاب به علت نزدیکی به آلاینده‌های شهری و سوخت‌های فسیلی) انتخاب شد. ماهیان *Liza persicus* با میانگین وزنی ۱۱/۷۹±۴۴/۵۳ گرم و میانگین طولی ۱/۵۱±۱۶/۲۱ سانتی‌متر از این ایستگاه‌ها صید شدند. ترکیبات هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی در رسوبات هر ایستگاه به منظور تعیین سطوح آلاینده‌ها با استفاده از کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی سنجش شدند. نشانگرهای تحت بررسی با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که سطوح آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز سرم خون و پراکسیداسیون چربی کبد در ایستگاه نخل تقی افزایش معنی‌داری نسبت به ایستگاه بنود دارد، در حالی که در سطوح آنزیم آلانین ترانسفراز خون بین ایستگاه کنترل با سایر ایستگاه‌ها تفاوتی مشاهده نشد. میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز کبدی در ایستگاه کنترل با ایستگاه‌های هاله، نخل تقی صلح‌آباد و شغاب و سطوح آنزیم گلوتاتیون رداکتاز کبدی بین ایستگاه کنترل با ایستگاه جفره تفاوت معنی‌داری داشت. در مطالعهٔ حاضر ایستگاه کنترل در مقایسه با ایستگاه‌های آلوده تفاوت معنی‌داری با سطوح آنزیم‌های آسپارتات ترانس آمیناز، گلوتاتیون اس ترانسفراز و پراکسیداسیون چربی داشت که نشان‌دهندهٔ امکان استفاده از این نشانگرها به‌منزلهٔ نشانگرهای مرتبط با آلاینده‌ها به ویژه آلاینده‌های نفتی، برای بررسی تأثیرات این آلاینده‌ها در سواحل خلیج‌فارس است.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های ترانس آمیناز خون، پراکسیداسیون چربی، خلیج‌فارس، نشانگرهای زیستی، *Liza persicus*.

* نویسندهٔ مسئول تلفن: ۰۲۶۳-۲۲۲۳۰۴۴، فاکس: ۰۲۶۳-۲۲۲۳۰۴۴
Email: bmamiri@ut.ac.ir

۱. مقدمه

اکوسیستم‌های آبی نیازهای ضروری انسان‌ها نظیر آب و غذا را فراهم می‌کنند و نقش مهمی در حمل و نقل، فرصت‌های اقتصادی، استراحتگاه‌های تفریحی و غیره دارند. از سوی دیگر، بوم‌سازگان‌های آبی اصلی‌ترین محل برای تخلیهٔ آلاینده‌ها در نواحی ساحلی به شمار می‌روند. آلاینده‌های ورودی به محیط‌های آبی از طرق مختلف جذب بدن ماهی می‌شوند که ممکن است با ترکیبات داخلی بدن واکنش دهند و آثار بیولوژیکی مختلفی ایجاد کنند و در نهایت در کیفیت زندگی ماهی و کل اکوسیستم تأثیرگذار باشند. موجودات هوازی دارای سیستم دفاعی توسعه‌یافته و کاملی در برابر آلاینده‌های محیطی‌اند. این سیستم شامل سیستم آنزیمی و سلولی مؤثر در برابر رادیکال‌های اکسیژنی خطرناک تولیدشده در فرایند سم‌زدایی است و از صدمات اکسیداسیونی جلوگیری می‌کند. کبد ماهیان مهم‌ترین بافت در سیستم سم‌زدایی به شمار می‌رود، از این رو این بافت به‌منزلهٔ اصلی‌ترین بافت در مطالعات مربوط به آلاینده‌ها استفاده می‌شود (Van der Oost et al., 2003). ماهیان نیز برای خنثی‌کردن آثار سمی رادیکال‌های آزاد، سیستم آنتی‌اکسیدانی مؤثری دارند (Pandey et al., 2003; Almeida et al., 2002; Zhang et al., 2004). این سیستم شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مختلفی از جمله آنزیم‌های گلوتاتیون رداکتاز و گلوتاتیون اس ترانسفراز است. آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز با کاتالیز واکنش اتصال گلوتاتیون به رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در سیستم سم‌زدایی و افزایش دفع ترکیبات سمی بر عهده دارد (Lawrence and Hamingway, 2003). آنزیم گلوتاتیون رداکتاز به طور مستقیم در سیستم سم‌زدایی ماهیان نقش ندارد، با این حال از طریق کاتالیز واکنش تبدیل گلوتاتیون اکسیدشده (گلوتاتیون دی سولفات) به گلوتاتیون احیاشده در سم‌زدایی ترکیبات آلی نقش مهمی ایفا می‌کند (Lawrence and Hamingway, 2003) و از این طریق در کارایی آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز نقش مهمی دارد (Bompart et al., 1990). تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژنی در ماهیانی که در معرض آلاینده‌ها قرار دارند می‌تواند بیش از ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی طبیعی آن‌ها باشد که در نتیجه این رادیکال‌های آزاد از طریق واکنش با سایر مولکول‌های در سلول نظیر ترکیبات چربی، DNA و پروتئینی سلول سبب ایجاد پراکسیداسیون چربی می‌شوند، مالون دی آلدئید مهم‌ترین محصول جانبی پراکسیداسیون چربی در سلول‌ها به شمار می‌رود (Del Rio et al., 2005). افزایش سطوح مالون دی الدئید در سلول به‌منزلهٔ نشانگری مناسب در ماهیان استفاده می‌شود. علاوه بر این، آسیب‌های وارده بر غشای سلولی می‌تواند به تغییر آنزیم‌های ترانس آمینازی خون در ماهیان منجر شود (Van Malbrouck et al., 2003; der Oost et al., 2003; Agrahari et al., 2007).

بررسی آثار آنتاگونیستی و سینرژیستی آلاینده‌ها با انجام آنالیزهای شیمیایی امکان‌پذیر نیست، از این رو نشانگرهای زیستی به‌منزلهٔ ابزاری حساس برای تعیین سریع آثار زیان‌آور آلاینده‌ها در آبزیان به کار می‌روند (Van der Oost et al., 2003). با این حال نشانگر ویژه‌ای برای اندازه‌گیری آثار مخرب عوامل محیطی معرفی نشده است که این مشکل را می‌توان با به کارگیری مجموعه‌ای وسیع‌تر از نشانگرهای شناخته‌شده حل کرد (Triebskorn et al., 2001

(Galloway et al., 2004). همچنین، شاخص یکپارچه‌سازی نشانگرهای زیستی به‌منزلهٔ شاخص مناسب در مطالعات مربوط به نشانگرهای زیستی به ویژه مطالعات میدانی به منظور ترکیب‌کردن پاسخ‌های نشانگری و تسهیل در تفسیر نتایج مطالعات میدانی استفاده شده است. این شاخص نشانگرهای مختلف را با یکدیگر ترکیب و ابزاری مناسب برای مقایسهٔ ایستگاه‌های مختلف یا پاسخ‌های نشانگری در فصول مختلف فراهم می‌کند (Beliaeff and Burgeot, 2002; Broeg and Lehtonen, 2006).

از مهم‌ترین بوم‌سازگان‌های آبی کشور که تحت تأثیر آلاینده‌ها قرار دارد خلیج‌فارس است (Agah et al., 2009; De Mora, et al., 2010). این بوم‌سازگان آبی در دهه‌های گذشته با احداث مجتمع‌های متعدد نفت، گاز و پتروشیمی در کنار سواحل و دریا به میزان زیادی در معرض آلاینده‌ها قرار گرفته است که به افزایش سطوح آلودگی‌های نفتی و پتروشیمی به ویژه ترکیبات هیدروکربنهٔ نفتی از طریق نشت نفت از نفت‌کش‌ها، تخلیهٔ فاضلاب و غیره در آن منجر شده است (De Mora et al., 2005; 2010). متأسفانه آثار آلاینده‌ها در ماهیان و در نتیجه کاهش تولیدات آبزیان و به خصوص پتانسیل تکثیر و پرورش ماهی در این اکوسیستم به ندرت ارزیابی شده است. با توجه به اهمیت و ارزش شیلاتی اکوسیستم آبی خلیج‌فارس و نزدیکی به منابع آلاینده‌ساز به ویژه آلاینده‌های نفتی بررسی مداوم این اکوسیستم برای مدیریت شیلاتی و استفاده از این منبع آبی در جهت تکثیر و پرورش آبزیان لازم و ضروری است.

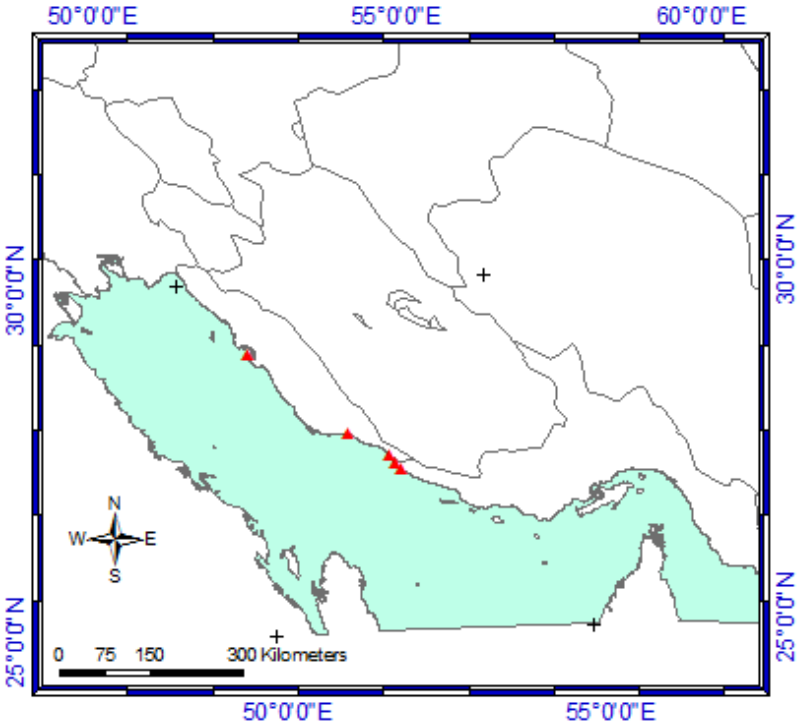
ماهیان خانوادهٔ Mugilidae از ماهیان کرانه‌ای محسوب می‌شوند، زیستگاه آبی این ماهیان آب‌های کم‌عمق ساحلی است و عمدتاً از مواد دیتریتی و بی‌مهرگان کفزی تغذیه می‌کنند (Carpenter, 1997). گونه‌های جنس Liza به علت داشتن دامنهٔ تحمل بالا نسبت به تغییرات شوری و دمایی، توزیع جغرافیایی وسیع، توانایی در تجمع زیستی بالا به‌منزلهٔ کاندید مناسب در مطالعات پایش زیستی معرفی شده‌اند. این گونه‌ها در سواحل دریاهای سیاه (Bozcaarmutlu et al., 2009)، آدریاتیک (Boglione et al., 2006)، سواحل شرقی اقیانوس اطلس (Fernandes et al., 2008; Oliveira, et al., 2009)، خلیج بوهای در شمال چین (An et al., 2011) به‌منزلهٔ شاخص زیستی آلاینده‌های شیمیایی در اکوسیستم‌های ساحلی و مطالعات آزمایشگاهی (Cionna et al., 2006; Milinkovitch et al., 2011) استفاده شده‌اند. برای مثال، عنوان شده است که ماهی *Liza aurata* به علت داشتن رژیم غذایی کفزی‌خوار شاخص زیستی مناسبی برای پایش آلاینده‌های موجود در رسوبات به شمار می‌رود (Oliveira et al., 2010). به همین علت به نظر می‌رسد که ماهی *Liza persicus* با توجه به چرخهٔ زیستی، نوع تغذیه، کفزی‌خواربودن و محتوای چربی بالا، توزیع گسترده در اکوسیستم آبی خلیج‌فارس، صید نسبتاً آسان و حضور در محیط‌های آلوده و غیرآلوده از گونه‌های مناسب و باارزش برای بررسی آثار آلاینده‌های تجمع‌یافته در رسوبات بستر و آب در مطالعات پایش زیستی به شمار رود.

۲. مواد و روش‌ها

در مطالعهٔ حاضر، تغییرات نشانگرهای زیستی شامل تغییرات آنزیم‌های ترانسامینازی خون و آنتی‌اکسیدانی کبدی نظیر گلوتاتیون رداکتاز و گلوتاتیون اس ترانسفراز، همچنین پراکسیداسیون چربی کبدی در ماهی بیاح در سواحل استان بوشهر بررسی شد.

۱.۲. ایستگاه‌ها

برای انجام این مطالعه در سواحل استان بوشهر ایستگاه‌هایی با منابع آلایندهٔ متفاوت انتخاب شدند که شامل سواحل روستای بنود (N – ۵۲° ۴۲′ ۰۰/۰۰″ E)، منطقهٔ حفاظت‌شده نایبند (هاله E ۲۷° ۱۷′ ۲۷/۰۰″)، بندر نخل تقی (N – ۵۲° ۳۹′ ۵۵/۲۶″ E ۲۷° ۲۳′ ۵۸/۸۴″)، کنگان (N – ۵۲° ۳۵′ ۸/۲۱″ E ۲۷° ۲۹′ ۳۰/۹۲″) و سه ایستگاه در بندر بوشهر، شامل اسکلهٔ ماهیگیری جفره (N – ۵۲° ۳′ ۱۴/۷۵″ E ۲۷° ۵۰′ ۱/۵۰″)، صلح‌آباد (N – ۵۰° ۴۹′ ۲۱/۵۴″ E ۲۸° ۵۸′ ۲۳″)، و شغاب (N – ۵۰° ۵۱′ ۰/۰۰″ E ۲۸° ۵۸′ ۴۰/۳۰″) بودند. ایستگاه‌ها با توجه به جریانات آبی خلیج‌فارس و منابع آلاینده انتخاب شدند. ایستگاه بنود با توجه به سنجش ترکیبات PAH در رسوبات ایستگاه‌ها و موقعیت جغرافیایی، جریانات سطحی آب‌های خلیج‌فارس (از سواحل شمالی خلیج‌فارس از سمت دریای عمان به سمت سواحل استان خوزستان (Reynolds, 1993) و فاصلهٔ بیشتر نسبت به سایر ایستگاه‌ها، از منابع آلاینده‌ساز صنعتی و شهری به‌منزلهٔ ایستگاه کنترل (با آلودگی کمتر) در نظر گرفته شد (شکل ۱). ایستگاه هاله، به دلیل قرارگرفتن در پارک ملی نایبند، بندر نخل تقی با توجه به نزدیکی به تأسیسات نفتی و مجتمع‌های پتروشیمی، ایستگاه‌های بندر بوشهر به دلیل نزدیکی به اسکله‌های صیادی، دریافت فاضلاب شهری و صنعتی، همچنین ترکیبات نفتی ناشی از سیستم سوخت‌رسانی در اسکله‌های ماهیگیری به‌منزلهٔ ایستگاه‌های آلوده در نظر گرفته شدند. در اولین مرحله فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی اندازه‌گیری شد که شامل: دما، pH و شوری آب بود (جدول ۱)، سپس نسبت به نمونه‌برداری از رسوبات و صید ماهی اقدام شد.



شکل ۱. موقعیت ایستگاه‌های مورد مطالعه روی نقشه

۲. ۲. نمونه‌برداری

تعداد ۱۰۳ ماهی بیاح (*Liza persicus*) با استفاده از روش‌های سنتی و میانگین ± انحراف معیار وزنی ۱۱/۷۹±۴۴/۵۳ گرم و میانگین ± انحراف معیار طولی ۱/۵۱±۱۶/۲۱ سانتی‌متر از ایستگاه‌هایی در سواحل خلیج‌فارس در استان بوشهر صید شد.

ماهیان بلافاصله پس از صید وزن و در اندازه‌های تقریباً یکسان برای سنجش نشانگرهای زیستی در هر ایستگاه انتخاب شدند. خونگیری از ساقهٔ دمی با استفاده از سرنگ انسولین انجام شد. نمونه‌های خونی در یخ نگهداری و در سریع‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از خونگیری، بلافاصله پس از تشریح ماهی بدون اینکه آسیبی به کیسهٔ صفرا وارد شود با دقت از کبد ماهیان نمونه‌برداری شد. نمونه‌های کبدی بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفتند و پس از انتقال به آزمایشگاه تا زمان سنجش آنزیمی در فریزر ۸۰- نگهداری شدند.

همزمان با نمونه‌برداری ماهیان در هر ایستگاه، سطوح اکسیژن محلول و دما با استفاده از دستگاه اکسیژن‌متر قابل‌حمل مدل WTW cell ox 235 و میزان شوری آب ایستگاه‌های مورد مطالعه با استفاده از شوری‌سنج چشمی مدل ATAGOs/Mill اندازه‌گیری شدند. نمونه‌های آب هر ایستگاه برای سنجش قلیاییت با استفاده از بطری‌های تیره در یخ به آزمایشگاه منتقل شدند و میزان قلیاییت آب با به کارگیری pH متر مدل Metrohm 744 اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

جدول ۱. شاخصه‌های فیزیکوشیمیایی آب در ایستگاه‌های مورد مطالعه

ایستگاه	اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)	قلیاییت	شوری (گرم در لیتر)	دما (درجهٔ سانتی‌گراد)
بنود	۷/۹۵	۸/۱۵	۴۲	۲۹
هاله	۷/۳۵	۸/۰۹	۴۲	۲۶
نخل تقی	۶/۵۵	۷/۹۵	۴۲	۲۸
کنگان	۷/۴۶	۸/۰۸	۴۱	۲۸
بوشهر (جفره)	۷/۵	۸/۰۹	۴۲	۲۵
بوشهر (صلح‌آباد)	۷/۶۸	۸/۰۸	۴۱	۲۶
بوشهر (شغاب)	۷/۶	۸/۰۸	۴۲	۲۵

۲. ۳. آنالیزهای بیوشیمیایی

سرم خون با استفاده از سانتریفوژکردن نمونه‌های خونی در ۵۰۰۰ دور و دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد در ۵ دقیقه به دست آمد. سپس، نمونه‌های سرم خون تا زمان سنجش آنزیمی در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. پس از تشریح ماهیان، از کبد نمونه‌برداری و بلافاصله در ازت مایع قرار داده و به آزمایشگاه منتقل شد، نمونه‌های کبد در آزمایشگاه وزن و با استفاده از محلول بافر فسفات سرد شستشو، سپس با قرارگرفتن روی ظرف یخ و افزودن بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH ۷/۴) به نسبت ۵:۱ با استفاده از دستگاه هموژنایزر هموژن شدند. محلول به‌دست‌آمده با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد و دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و لایهٔ رویی برای سنجش آنزیم‌های سیتوسولی استفاده شد (Oliveira et al., 2010; Regoli et al., 2011).

آنزیم‌های آلانین ترانسفراز، آسپارتات ترانسفراز سرم خون با استفاده از کیت تجاری (پارس آزمون) سنجش شدند.

سنجش آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز (GST) بر اساس روش (Habig et al., 1974) انجام شد. در این روش میزان اتصال بین GSH و 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) در طول موج ۳۴۰ نانومتر در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۵- ۱۰ دقیقه محاسبه می‌شود.

برای سنجش سطوح آنزیم گلوتاتیون رداکتاز (GR) از روش (Cohen and Duvel, 1988) استفاده شد. در این روش کاهش میزان جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر در مدت ۵- ۱۰ دقیقه محاسبه و نتایج بر اساس nmol protein mg/min/ بیان می‌شود.

میزان پراکسیداسیون چربی کبد بر اساس روش (Ringwood et al., 2003) اندازه‌گیری شد. در این روش میزان تولید مالون دی آلدئید در حضور تیوباربیتوریک اسید در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد که نتایج به صورت nmol MDA/g wet weight بیان می‌شود.

۲. ۴. سنجش پروتئین

میزان پروتئین کل با استفاده روش Biuret و با استفاده از کیت تجاری ELITech ساخت فرانسه انجام شد.

اندازه‌گیری کلیهٔ آنزیم‌ها و میزان پراکسیداسیون چربی و پروتئین کل با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (Biotek, Synergy 2) انجام شد.

۲. ۵. یکپارچه‌سازی پاسخ‌های نشانگری (Integrated biomarker responses)

برای یکپارچه‌سازی پاسخ‌های نشانگری ابتدا استانداردسازی مربوط به داده‌های به‌دست‌آمده در هر ایستگاه و هر نشانگر با تفریق هر داده از میانگین کل و تقسیم‌کردن بر انحراف معیار داده‌ها انجام و یکپارچه‌سازی پاسخ‌های نشانگری بر اساس روش (Beliaeff and Burgeot, 2002) انجام شد.

۲. ۶. آنالیزهای آماری

نرمال‌بودن داده‌ها و همگنی واریانس به ترتیب با استفاده از آزمون‌های کولموگروف- اسمیرنوف (Kolmogrov-smirnov) و Levene سنجش شد.

اختلاف معنی‌دار بین ایستگاه‌های مختلف از نظر تغییرات آنزیمی با استفاده از ANOVA بررسی و برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون Duncan (α= ۰۵/۰) استفاده شد که نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان می‌شوند. کلیهٔ تجزیه‌های آماری و آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS 19 انجام شد.

۳. نتایج

۳. ۱. هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی

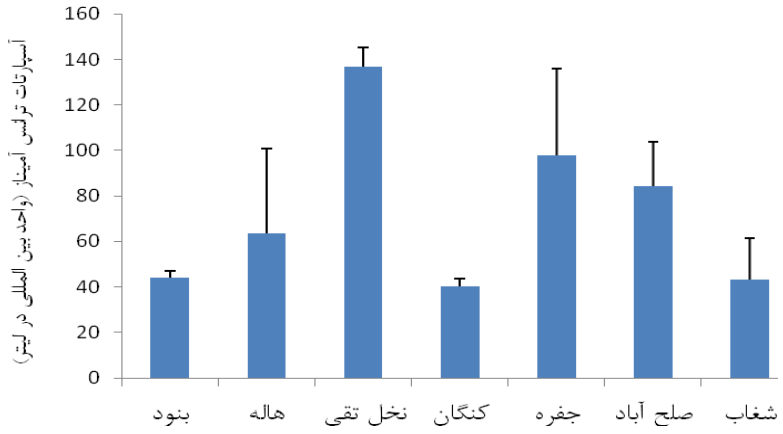
نتایج اندازه‌گیری سطوح هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی و آروماتیک حلقوی آلکیله‌شده در جدول ۲ نشان داده شده است. سطوح هیدروکربن‌های آروماتیک در تمام ایستگاه‌ها از ایستگاه کنترل بالاتر بود.

۳. ۲. آنزیم‌های ترانس آمینازی سرم خون

نتایج اندازه‌گیری میزان آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز خون نشان داد که سطوح این آنزیم در ایستگاه نخل تقی تفاوت معنی‌داری با ایستگاه کنترل (بنود) دارد (P=۰/۰۲۶؛ F=۳/۱۸۳). علاوه بر این، سطوح آنزیم ترانس آمیناز خون در ایستگاه نخل تقی با ایستگاه‌های کنگان و شغاب تفاوت معنی‌داری داشت، در حالی که در سطوح این آنزیم بین ایستگاه کنترل با سایر ایستگاه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود (شکل ۲).

جدول ۲. سطوح هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی و آروماتیک حلقوی آلکیله‌شده (نانوگرم در گرم وزن خشک) در رسوبات ایستگاه‌های مورد مطالعه

ایستگاه	PAH	Alkylated PAH	درصد کربن آلی
بنود	۱۶/۶۷ ± ۲/۱۹	۱۲/۸۲ ± ۰/۶۸	۰/۲۳
هاله	۱۶/۰۷ ± ۱/۸۲	۱۳/۴۳ ± ۰/۶۳	۰/۱۵
نخل تقی	۳۵/۶۶ ± ۴/۰۹	۲۶/۵۶ ± ۱/۳۳	۰/۱۸
کنگان	۳۰/۴۶ ± ۲/۸۷	۱۷/۴۲ ± ۰/۸۴	۰/۱۳
جفره	۷۵۳/۷۹ ± ۴۶/۴۲	۵۷۱۵/۵۷ ± ۶۲۴/۲۶	۰/۵۶
صلح‌آباد	۹۱۹/۱۱ ± ۳۲/۱۷	۲۳۳۲/۰۳ ± ۲۶۶/۱۳	۰/۶۳
شغاب	۳۶/۶۵ ± ۴/۳۶	۳۲/۲۸ ± ۱/۹۲	۰/۱۳

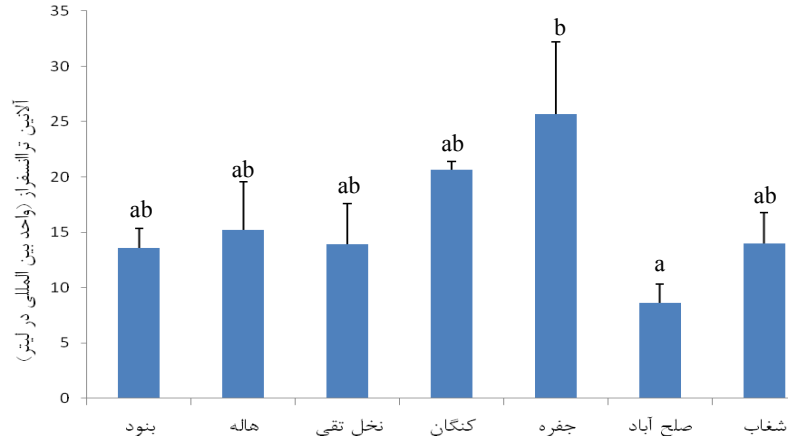


شکل ۲. میانگین ± خطای استاندارد سطوح آنزیم ترانس آسپارتات آمیناز خون ماهی *Liza persicus* در بین ایستگاه‌های مورد مطالعه. حروف اختصاری نشان می‌دهند که بین ایستگاه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری است.

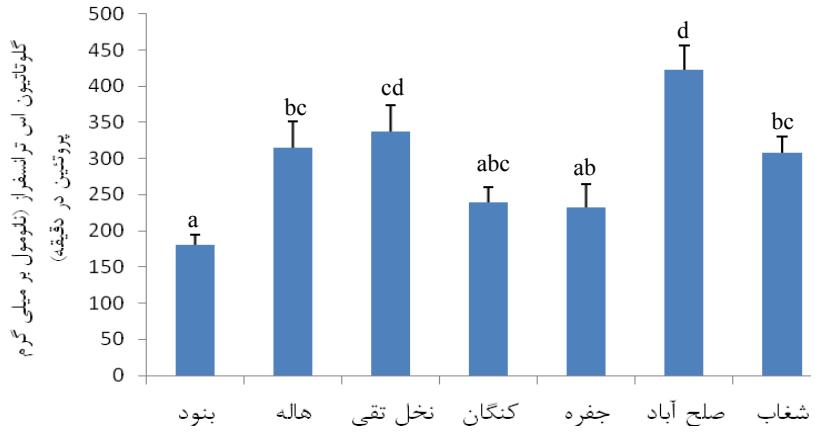
نتایج مربوط به سطوح آنزیم آلانین ترانس آمیناز خون ماهی بیاح در ایستگاه‌های مورد مطالعه در شکل ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج آزمون Duncan، در سطوح آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز خون در بین ایستگاه‌های مورد مطالعه با ایستگاه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود (P=۰/۱۲۶؛ F=۱/۹۵۷) و فقط بین ایستگاه‌های جفره و صلح‌آباد اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود (شکل ۳).

۳. ۳. گلوتاتیون اس‌ترانس فراز کبدی

سطوح آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز کبد ماهی در بین ایستگاه‌های مورد مطالعه در شکل ۴ نشان داده شده است. سطوح آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز کبدی در تمام ایستگاه‌ها نسبت به ایستگاه کنترل افزایش یافته است و در سطوح این آنزیم بین ایستگاه کنترل با ایستگاه‌های هاله، نخل تقی، صلح‌آباد و شغاب افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱؛ F=۵/۹۵۲).



شکل ۳. میانگین ± خطای استاندارد سطوح آنزیم آلانین ترانس امیناز خون ماهی *Liza persicus* در بین ایستگاه‌های مورد مطالعه. حروف اختصاری نشان می‌دهند که بین ایستگاه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری است.



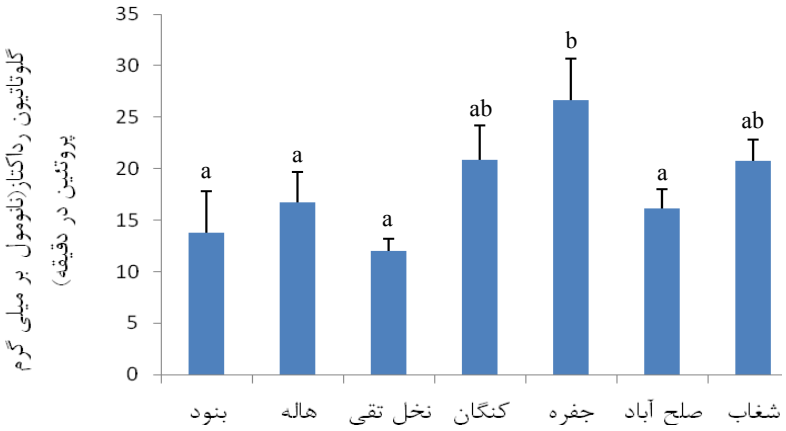
شکل ۴. میانگین ± خطای استاندارد سطوح آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز ماهی *Liza persicus* در بین ایستگاه‌های مورد مطالعه. حروف اختصاری نشان می‌دهند که بین ایستگاه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری است.

۳. ۴. گلوتاتیون رداکتاز کبدی

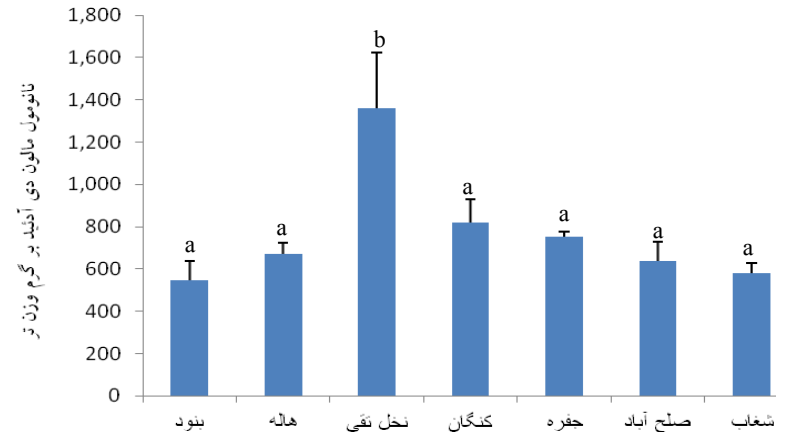
نتایج اندازه‌گیری سطوح آنزیم گلوتاتیون رداکتاز کبدی نشان داد که سطوح این آنزیم در ایستگاه جفره تفاوت معنی‌داری با ایستگاه کنترل دارد (شکل ۵). همچنین، بین سطوح این آنزیم در ایستگاه جفره با ایستگاه‌های نخل تقی، هاله و صلح‌آباد تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود (F=۳/۱۶۴ ؛P=۰/۰۱۱).

۳. ۵. پراکسیداسیون چربی کبد

نتایج پراکسیداسیون چربی کبد در بین ایستگاه‌های مورد مطالعه در شکل ۶ نشان داده شده است. بر اساس این نتایج بین ایستگاه نخل تقی با ایستگاه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود، در حالی که سایر ایستگاه‌ها با ایستگاه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان ندادند (F=۵/۲۱۵ ؛P=۰/۰۰۲).



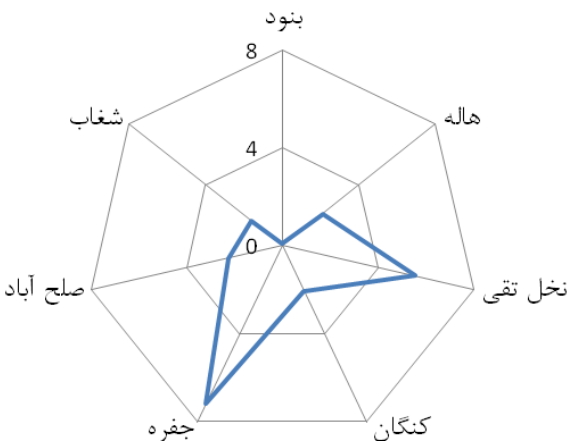
شکل ۵. میانگین ± خطای استاندارد سطوح آنزیم گلوتاتیون رداکتاز کبدی در ماهی *Liza persicus* در بین ایستگاه‌های مورد مطالعه. حروف اختصاری نشان می‌دهند که بین ایستگاه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری است.



شکل ۶. میانگین ± خطای استاندارد سطوح پراکسیداسیون چربی کبد در ماهی *Liza persicus* در بین ایستگاه‌های مورد مطالعه. حروف اختصاری نشان می‌دهند که بین ایستگاه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری است.

۳. ۶. یکپارچه‌سازی پاسخ‌های نشانگری

یکپارچه‌سازی پاسخ‌های نشانگری مشخص کرد که ایستگاه جفره در بوشهر بیشتر از سایر ایستگاه‌های مورد مطالعه تحت تأثیر آلاینده‌ها قرار دارد. بر اساس نتایج یکپارچه‌سازی پاسخ‌های نشانگری به ترتیب ایستگاه‌های جفره، نخل تقی، صلح‌آباد، هاله، کنگان، شغاب و بنود بیشترین تأثیرپذیری را از شرایط محیطی داشته‌اند (شکل ۷).



شکل ۷. نتایج یکپارچه‌سازی نشانگرهای زیستی در ماهی *Liza persicus* در ایستگاه‌های مورد مطالعه.

۴. بحث

بررسی سطوح هیدروکربن‌های نفتی در رسوبات ایستگاه‌های مورد مطالعه نشان داد که آلوده‌ترین ایستگاه‌ها به ترتیب جفره، صلح‌آباد، شغاب، نخل تقی، کنگان، هاله و بنود بودند. از آنجا که سطوح هیدروکربن‌های نفتی در رسوبات ارتباط مستقیمی با میزان کربن آلی و دانه‌بندی رسوبات دارند (Qiu et al., 2009; Lubecki and Kowalewska, 2010)، به نظر می‌رسد میزان جذب این آلاینده‌ها در نمونهٔ رسوب‌های شنی در ایستگاه‌های هاله، نخل تقی و کنگان کمتر از میزان آلودگی واقعی است.

در مطالعهٔ حاضر در سطوح آنزیم‌های آسپارتات ترانس آمیناز خون در ایستگاه نخل تقی نسبت به سایر ایستگاه‌ها افزایش معنی‌داری مشاهده شد، در حالی که در سطوح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز بین ایستگاه بنود و سایر ایستگاه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. به طور مشابه در مطالعه‌ای که در ماهی *Liza saliens* انجام شده نیز افزایش سطوح آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز سرم خون در ایستگاه آلوده نسبت به ایستگاه کنترل گزارش شده، در حالی که بین سطوح آنزیم آلانین ترانس آمیناز خون در این ماهی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است (Fernandes et al., 2008). Beyer و همکاران (۱۹۹۶) بین سطوح آنزیم آسپارتات و هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی ارتباط معنی‌داری را گزارش دادند. افزایش سطوح آنزیم‌های ترانس آمینازی خون در ماهیانی که در شرایط آزمایشگاهی در معرض فلزات سنگین قرار گرفته‌اند نیز مشاهده شده است (Varanka et al., 2001; Oluah, 1999; Levesque et al., 2002). از آنجا که سطوح این آنزیم‌ها در مایعات درون‌سلولی بالاتر از مایعات خارج‌سلولی و خون است، افزایش فعالیت آنزیمی در مایعات خارج‌سلولی یا سرم خون به‌منزلهٔ شاخص آسیب بافتی در ماهی به شمار می‌رود (Van der Fernandes et al., 2008; Oost et al., 2003). بنابراین، بالابودن سطوح آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز سرم در ایستگاه نخل تقی می‌تواند نشان‌دهندهٔ تأثیرپذیری ماهی از شرایط محیطی در این ایستگاه باشد. به عبارت دیگر، افزایش آنزیم‌های ترانس آمینازی که نقش مهمی در فرایندهای متابولیکی بدن نظیر تولید اسید آمینه‌های غیرضروری و تولید گلوکز

از منابع غیرکربوهیدراتی دارد می‌تواند نشان‌دهندهٔ پاسخ‌های تطبیقی ماهی به آلاینده‌های محیطی ناشی از حضور مجتمع‌های پتروشیمی در سواحل ایستگاه نخل تقی باشد.

بر اساس نتایج مطالعهٔ حاضر، سطوح آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز کبد در تمامی ایستگاه‌ها در مقایسه با ایستگاه کنترل افزایش یافت. اما تنها با ایستگاه‌های نایبند، نخل تقی و صلح‌آباد تفاوت معنی‌داری مشاهده شده است، به طور مشابه در مطالعه‌ای که روی ماهیان *Mugil soiuy*، *Mugil cephalus* و *Liza aurata* سواحل دریای سیاه در ترکیه در سه سال متوالی انجام شده است در میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز کبدی در ایستگاه‌های آلوده نسبت به ایستگاه کنترل که در بالادست سواحل این دریا انتخاب شده افزایش دو تا چهار برابری مشاهده شده است (Bozcaarmutlu et al., 2009). Napierska و همکاران (۲۰۰۹) نیز افزایش میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز کبد و آبشش را در تمام ایستگاه‌ها نسبت به ایستگاه کنترل گزارش دادند. با وجود این، برخی محققان کاهش میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در اثر در معرض آلاینده قرارگرفتن را گزارش کرده‌اند. برای مثال، در ماهیان *Liza aurata* که ۴۸ ساعت در معرض ترکیب نفت خام قرار داشتند، در سطوح آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز کبد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است (Milinkovitch et al., 2011). علاوه بر این، کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در ماهی *Liza aurata* در ایستگاه‌های آلوده نسبت به ایستگاه کنترل گزارش شده است (Oliveira et al., 2010). این در حالی است که سطوح این آنزیم در بافت کلیه و آبشش این ماهی در ایستگاه‌های آلوده نسبت به ایستگاه کنترل افزایش نشان داده است (Oliveira, et Oliveira et al., 2009; al., 2010). با توجه به نتایج مطالعهٔ حاضر و بررسی مطالعات انجام‌شده به نظر می‌رسد که اختلاف در پروفیل آنزیمی در آبزیانی که در معرض آلاینده‌ها قرار دارند می‌تواند در اثر تفاوت در نوع آلاینده، بافت تحت بررسی و مدت زمان در معرض قرارگیری باشد (Cotou et Oliveira et al., 2008; al., 2013). از آنجا که سیستم آنتی‌اکسیدانی مکانیسم دفاعی مؤثر در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژنی به شمار می‌رود، افزایش در القای این آنزیم‌ها نشان‌دهندهٔ سازگاری ماهی نسبت به شرایط استرسی در استرس‌های کوتاه‌مدت و بلندمدت است (Oliveira et al., 2010). از طرف دیگر، کاهش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهیان ایستگاه آلوده در مقایسه با ایستگاه کنترل می‌تواند به علت کاهش توانایی ماهی در تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانی باشد (Tsangaris et al., 2011). از آنجا که آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در سم‌زدایی ترکیبات زنوبایوتیک به ویژه پراکسیدهای آلی نقش دارد (Stephensen et al., 2002)، افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانس فراز در ایستگاه‌ها می‌تواند سلول‌ها را از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد مصون نگه دارد. از این رو به نظر می‌رسد افزایش این آنزیم در مطالعهٔ حاضر نشان‌دهندهٔ توانایی انطباق‌پذیری ماهیان بیاح با استرس‌های محیطی است. از سوی دیگر، کاهش میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در ماهیان ایستگاه جفره می‌تواند نشان‌دهندهٔ اثر سطوح بالای آلاینده‌های این

ایستگاه در فرایند تولید آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز باشد. با توجه به نتایج مطالعهٔ حاضر و مطالعات انجام‌شده از سوی سایر محققان به نظر می‌رسد آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز می‌تواند به‌منزلهٔ نشانگر مناسب در استرس‌های محیطی در ماهی بیاح به شمار رود.

میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز در ایستگاه جفره نسبت به ایستگاه کنترل تغییر معنی‌داری داشت در حالی که در سایر ایستگاه‌ها از جمله ایستگاه نخل تقی از نظر آنزیم گلوتاتیون رداکتاز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. نتایج این مطالعه از طریق مطالعات القای فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز در ماهیانی که در معرض آلاینده‌ها به ویژه آلاینده‌های آلی در اکوسیستم‌های آبی قرار داشتند تأیید شده است برای مثال، افزایش سطوح این آنزیم در ماهیان *Liza aurata* و *Mugil soiuy*، در ایستگاه‌های آلوده به ترکیبات PAH نسبت به ایستگاه کنترل گزارش شده است، در حالی که از نظر این آنزیم در ماهی *Mugil cephalus* تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است (Bozcaarmutlu, et al., 2009). همچنین، افزایش در میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز کبدی در ماهی کفال قرمز (*Mullus barbatus*) در ایستگاه‌های آلوده نسبت به ایستگاه کمتر آلوده گزارش شده است (Regoli, et al., 2002). مقایسهٔ فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهی *Myoxocephalus scorpius* بین بنادر آلوده و غیرآلوده نشان داد که در ماهیان صیدشده در بنادر آلوده میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز بالاتر است (Stephensen et al., 2000). گلوتاتیون رداکتاز در تکمیل عملکرد آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز و گلوتاتیون پراکسیداز از طریق تأمین میزان این آنزیم‌ها نقش مهمی ایفا می‌کند (Bompart et al., 1990)، افزایش سطوح آنزیم گلوتاتیون رداکتاز در ایستگاه جفره می‌تواند نشان‌دهندهٔ افزایش میزان اکسیداسیون گلوتاتیون در نتیجهٔ افزایش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی از سطوح بالای آلاینده‌های نفتی در این ایستگاه در مقایسه با سایر ایستگاه‌های مورد مطالعه باشد.

سطوح پراکسیداسیون چربی کبد در ایستگاه نخل تقی که نزدیک‌ترین ایستگاه به تأسیسات نفتی و مجتمع‌های پتروشیمی به شمار می‌رود به طور معنی‌داری از سایر ایستگاه‌ها بالاتر بود، این امر نشان‌دهندهٔ بالابودن میزان استرس اکسیداتیو در میان ماهیان این ایستگاه است. همچنین، سطوح پراکسیداسیون چربی کبد در این ایستگاه نتایج مربوط به آنزیم اسپارتات ترانس آمیناز سرم خون را به‌منزلهٔ نشانگر آسیب بافتی تأیید می‌کند. افزایش سطوح مالون دی آلدئید کبد در ماهی *Mugil cephalus* در ایستگاه‌هایی که در معرض آلاینده‌ها به ویژه فلزات سنگین قرار داشتند مشاهده شده است (Padmini et al., 2009). ماهیان *Liza aurata* از ایستگاه‌های مختلف در لاگون Ria de Aveiro در کشور پرتغال صید شده بودند که سطوح پراکسیداسون چربی در کبد ماهیان مربوط به ایستگاه‌هایی که به منابع آلاینده نزدیک‌تر بودند افزایش معنی‌داری با ایستگاه کنترل داشتند (Oliveira et al., 2010). افزایش میزان پراکسیداسیون چربی کبد از طریق تغییر تعادل رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند به کاهش میزان آنزیم گلوتاتیون رداکتاز منجر شود (Lawrence and Hamingway, 2003)، این وضعیت در

خصوص ایستگاه نخل تقی به روشنی نمودار است (اشکال ۴ و ۵).

به منظور مقایسهٔ وضعیت سلامت و تغییرات فیزیولوژیک ماهی *Liza persicus*، همچنین ترکیب نشانگرهای مختلف بررسی‌شده در ایستگاه‌های مورد مطالعه از شاخص یکپارچه‌سازی نشانگرهای زیستی استفاده شده است. بر اساس این شاخص به ترتیب ایستگاه جفره و نخل تقی به‌منزلهٔ ایستگاه‌های تأثیرپذیر از آلاینده‌ها به شمار می‌روند که این امر با شرایط جغرافیایی این مناطق و نزدیکی به منابع آلاینده همگون است. سایر محققان از این شاخص در مطالعات مربوط به نشانگرهای زیستی استفاده کرده‌اند (Oliveira et Broeg and Lehtonen, 2006 ;al., 2009). همچنین، این شاخص نشان می‌دهد که میزان تأثیرپذیری ماهی بیاح در ایستگاه‌های صلح‌آباد، هاله، کنگان و شغاب بسیار نزدیک است. بر اساس نتایج مطالعهٔ حاضر ماهی *Liza persicus* در ایستگاه نخل تقی به علت بالابودن سطوح نشانگرهای زیستی مرتبط با آسیب‌های بافتی (آسپارتات آمینو ترانسفراز و پراکسیداسیون چربی کبد) تحت تأثیر آلاینده‌های ناشی از مجتمع‌های پتروشیمی و سایر فعالیت‌های صنعتی قرار گرفته است، با این حال به نظر می‌رسد این ماهی توانایی بالایی در سازگاری با شرایط مختلف محیطی و پروفایل‌های متفاوت آلودگی دارد. بنابراین، استفادهٔ مداوم از نشانگرهای زیستی در تعیین آثار آلاینده‌ها با توجه به شرایط جغرافیایی خلیج‌فارس به منظور مدیریت و جلوگیری از آسیب ذخایر آبزیان در این اکوسیستم و ارزیابی پتانسیل تکثیر و پرورش آبزیان در خلیج‌فارس پیشنهاد می‌شود.

References

[1]. Agah, H., Leermakers, M., Elskens, M., Fatemi, S.M.R., Baeyens, W., 2009. Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf. Environmental Monitoring and Assessment 157, 499-514.

[2]. Agrahari, S., Pandey, K.C., Gopal, K., 2007. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). Pesticide Biochemistry and Physiology 88, 268-272.

[3]. Almeida, J., Diniz, Y., Marques, S., Faine, L., Ribas, B., Burneiko, R., Novelli, E., 2002. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. Environment International 27, 673-679.

[4]. An, L., Hu, J., Yang, M., Zheng, B., Wei, A., Shang, J., Zhao, X., 2011. CYP1A mRNA expression in redeye mullets (*Liza haematocheila*) from Bohai Bay, China. Marine Pollution Bulletin, 718-725.

[5]. Beliaeff, B., Burgeot, T., 2002. Integrated biomarker response: a useful tool for ecological risk assessment. Environmental Toxicology and Chemistry 21, 1316-1322.

[6]. 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.

[7]. Boglione, C., Costa, C., Giganti, M., Cecchetti, M., Dato, P.D., Scardi, M., Cataudella, S., 2006. Biological monitoring of wild thicklip grey mullet (*Chelon labrosus*), golden grey mullet (*Liza aurata*), thinlip mullet (*Liza ramada*) and flathead mullet (*Mugil cephalus*) (*Pisces: Mugilidae*) from different Adriatic sites: meristic counts and skeletal anomalies. Ecological Indicators 6, 712-732.

[8]. Bompart, G.J., Prévot, D.S., Bascands, J.-L., 1990. Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase, and S-transferase activity: application to cisplatin-induced toxicity. Clinical Biochemistry 23, 501-504.

[9]. Bozcaarmutlu, A., Sapmaz, C., Aygun, Z., Arin , E., 2009. Assessment of pollution in the West Black Sea Coast of Turkey using biomarker responses in fish. Marine Environmental Research 67, 167-176.

[10]. Broeg, K., Lehtonen, K.K., 2006. Indices for the assessment of environmental pollution of the Baltic Sea coasts: integrated assessment of a multi-biomarker approach. Marine Pollution Bulletin 53, 508-522.

[11]. Carpenter, K.E., 1997. Living marine resources of Kuwait, eastern Saudi Arabia, Bahrain, Qatar, and the United Arab Emirates. Food & Agriculture Organization of the UN (FAO), p.

[12]. Cionna, C., Maradonna, F., Olivotto, I., Pizzonia, G., Carnevali, O., 2006. Effects of nonylphenol on juveniles and adults in the grey mullet, Liza aurata. Reproductive Toxicology 22, 449-454.

[13]. Cohen, M.B., Duvel, D.L., 1988. Characterization of the inhibition of glutathione reductase and the recovery of enzyme activity in exponentially growing murine leukemia (11210) cells treated with 1, 3-bis (2-chloroethyl)-1-nitrosourea. Biochemical Pharmacology 37, 3317-3320.

[14]. Cotou, E., Tsangaris, C., Henry, M., 2013. Comparative study of biochemical and

immunological biomarkers in three marine bivalves exposed at a polluted site. Environmental Science and Pollution Research 20, 1812-1822.

[15]. De Mora, S., Fowler, S.W., Tolosa, I., Villeneuve, J.P., Cattini, C., 2005. Chlorinated hydrocarbons in marine biota and coastal sediments from the Gulf and Gulf of Oman. Marine Pollution Bulletin 50, 835-849.

[16]. De Mora, S., Tolosa, I., Fowler, S.W., Villeneuve, J.P., Cassi, R., Cattini, C., 2010. Distribution of petroleum hydrocarbons and organochlorinated contaminants in marine biota and coastal sediments from the ROPME Sea Area during 2005. Marine Pollution Bulletin 60, 2323-2349.

[17]. Del Rio, D., Stewart, A.J., Pellegrini, N., 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases 15, 316-328.

[18]. Fernandes, C., Fontaínhas-Fernandes, A., Rocha, E., Salgado, M., 2008. Monitoring pollution in Esmoriz–Paramos lagoon, Portugal: Liver histological and biochemical effects in Liza saliens. Environmental Monitoring and Assessment 145, 315-322.

[19]. Ferrando, S., Maisano, M., Parrino, V., Ferrando, T., Girosi, L., Tagliafierro, G., 2006. Gut morphology and metallothionein immunoreactivity in Liza aurata from different heavy metal polluted environments. Italian Journal of Zoology 73, 7-14.

[20]. Galloway, T.S., Brown, R.J., Browne, M.A., Dissanayake, A., Lowe, D., Jones, M.B., Depledge, M.H., 2004. A multibiomarker approach to environmental assessment. Environmental Science & Technology 38, 1723-1731.

[21]. Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974. Glutathione S-transferases. Journal of Biological Chemistry 249, 7130.

[22]. Lawrence, A.J., Hamingway, K., 2003. Effects of pollution on fish: molecular effects and population responses. Wiley-Blackwell, 362 p.

[23]. Levesque, H., Moon, T., Campbell, P., Hontela, A., 2002. Seasonal variation in carbohydrate and lipid metabolism of yellow perch (*Perca flavescens*) chronically exposed to metals in the field. Aquatic Toxicology 60, 257-267.

[24]. Lubecki, L., Kowalewska, G., 2010. Distribution and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in recent sediments from the Gulf of Gdańsk (SE Baltic). Oceanologia, 669-703.

[25]. Malbrouck, C., Trausch, G., Devos, P., Kestemont, P., 2003. Hepatic accumulation and effects of microcystin-LR on juvenile goldfish Carassius auratus Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 135, 39-48.

[26]. 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.

[27]. Napierska, D., Baršienė, J., Mulkiewicz, E., Podolska, M., Rybakovas, A., 2009. Biomarker responses in flounder *Platichthys flesus* from the Polish coastal area of the Baltic Sea and applications in biomonitoring. Ecotoxicology 18, 846-859.

[28]. Oliveira, M., Ahmad, I., Maria, V., Pacheco, M., Santos, M., 2010. Antioxidant Responses Versus DNA Damage and Lipid Peroxidation in Golden Grey Mullet Liver: A Field Study at Ria de Aveiro (Portugal). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1-10.

[29]. Oliveira, M., Maria, V., Ahmad, I., Serafim, A., Bebianno, M., Pacheco, M., Santos, M., 2009. Contamination assessment of a coastal lagoon (Ria de Aveiro, Portugal) using defence and damage biochemical indicators in gill of Liza aurata - An integrated biomarker approach. Environmental Pollution 157, 959-967.

[30]. Oliveira, M., Pacheco, M., Santos, M., 2008. Organ specific antioxidant responses in golden grey mullet (*Liza aurata*) following a short-term exposure to phenanthrene. Science of the Total Environment 396, 70-78.

[31]. Oluah, N., 1999. Plasma aspartate aminotransferase activity in the catfish *Clarias albopunctatus* exposed to sublethal zinc and mercury. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 63, 343-349.

[32]. Padmini, E., Rani, M.U., Geetha, B.V., 2009. Studies on antioxidant status in *Mugil cephalus* in response to heavy metal pollution at Ennore estuary. Environmental Monitoring and Assessment 155, 215-225.

[33]. Pandey, S., Parvez, S., Sayeed, I., Haque, R., Bin-Hafeez, B., Raisuddin, S., 2003. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish Wallago attu (Bl. & Schn.). The Science of the Total Environment 309, 105-115.

[34]. Qiu, Y.-W., Zhang, G., Liu, G.-Q., Guo, L.-L., Li, X.-D., Wai, O., 2009. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the water column and sediment core of Deep Bay, South China. Estuarine, Coastal and Shelf Science 83, 60-66.

[35]. Regoli, F., Bocchetti, R., Filho, D.W., 2011. Spectrophotometric Assays of Antioxidants, in Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems. In: D. Abele., J. P. Vázquez-Medina ., Zenteno-Savín., T. (Eds.), Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems. John Wiley & Sons, Chichester, UK. , pp. 367-380.

[36]. Regoli, F., Pellegrini, D., Winston, G.W., Gorbi, S., Giuliani, S., Virno-Lamberti, C., Bompadre, S., 2002. Application of biomarkers for assessing the biological impact of dredged materials in the Mediterranean: the relationship between antioxidant responses and susceptibility to oxidative stress in the red mullet (*Mullus barbatus*). Marine Pollution Bulletin 44, 912-922.

[37]. Reynolds, M., 1993. Physical oceanography of the Gulf, Strait of Hormuz, and the Gulf of Oman--Results from the Mt Mitchell expedition. Marine Pollution Bulletin 27, 35-59.

[38]. Ringwood, A., Hoguet, J., Keppler, C., Gielazyn, M., Ward, B., Rourk, A., 2003. Cellular biomarkers (lysosomal destabilization, glutathione and lipid peroxidation) in three common estuarine species: a methods handbook. Marine Resources Research Institute, 46.

[39]. Stephensen, E., Sturve, J., Förlin, L., 2002. Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 133, 435-442.

[40]. Stephensen, E., Svavarsson, J., Sturve, J., Ericson, G., Adolfsson-Erici, M., Förlin, L., 2000. Biochemical indicators of pollution exposure in shorthorn sculpin (Myoxocephalus scorpius), caught in four harbours on the southwest coast of Iceland. Aquatic Toxicology 48, 431-442.

[41]. Triebskorn, R., Böhmer, J., Braunbeck, T., Honnen, W., Köhler, H.R., Lehmann, R., Oberemm, A., Schwaiger, J., Segner, H., Schüürmann, G., 2001. The project VALIMAR (VALIdation of bioMARkers for the assessment of small stream pollution): objectives, experimental design, summary of results, and recommendations for the application of biomarkers in risk assessment. Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery (Formerly Journal of Aquatic Ecosystem Health) 8, 161-178.

[42]. Tsangaris, C., Vergolyas, M., Fountoulaki, E., Nizheradze, K., 2011. Oxidative Stress and Genotoxicity Biomarker Responses in Grey Mullet (*Mugil cephalus*) From a Polluted Environment in Saronikos Gulf, Greece. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1-9.

[43]. Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in

environmental risk assessment: a review. Environmental Toxicology and Pharmacology 13, 57-149.

[44]. Varanka, Z., Rojik, I., Varanka, I., Nemcsók, J., Ábrahám, M., 2001. Biochemical and morphological changes in carp (*Cyprinus carpio* L.) liver following exposure to copper sulfate and tannic acid. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 128, 467-477.

[45]. Zhang, J., Wang, X., Guo, H., Wu, J., Xue, Y., 2004. Effects of water-soluble fractions of diesel oil on the antioxidant defenses of the goldfish, *Carassius auratus*. Ecotoxicology and Environmental Safety 58, 110-116.