شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۲، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸
صفحات ۳۳۸-۳۲۹

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

پریچهر حناچی[۱*]، موژان ملکی[۲]، ، سمانه کربلایی[۳]

۱-دانشیار،گروه بیوتکنولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه الزهرا، تهران ، ایران

۲-دانشجو ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه الزهرا، تهران ، ایران

۳-محقق پسادکتری، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه الزهرا، تهران ، ایران

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۰۹/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۰۵

چکیده

میکروپلاستیک‌ها ذرات کوچک تر از ۵ میلی متر هستند که می توانند 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 کش ها و آلاینده ها، داشته باشند. جذب این ذرات به بدن موجودات زنده به خصوص آبزیان باعث ایجاد تغییراتی در فعالیت آنزیم‌های آن‌ها به خصوص آنزیم های مسیر آنتی اکسیداتیو می شود. 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 µg/L ، ۶ µg/L) ، میکروپلاستیک پلی‌استایرین MPs (µg/L ۳۰ ,۳۰۰ µg/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 معنا داری Pvalue< ۰/۰۵ 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 می شود. فعالیت آنزیم در همه تیمار ها نسبت به شاهد به شدت کاهش پیدا کرد. . فعالیت آنزیم در تیمار μgL^{-1} MPs ۳۰ + μgL^{-1} CPF ۲ و تیمار μgL^{-1} MPs ۳۰۰ + μgL^{-1} CPF ۲ نسبت به تیمار μgL^{-1}CPF ۲ به ترتیب کاهش و افزایش یافت. به طور کلی می توان 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 آنتی اکسیداتیو

نویسنده مسئول، پریچهر حناچی Email: p.hanachi@alzahra.ac.irEmail

Journal of Fisheries
Vol. 72, No. 4, Winter 2020
pp. 329-338

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

Parichehr Hanachi[1*], Mojan Malaki[2], Samaneh Karbalaei[3]

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 μgL^{-1} MPs pesticide and in combination of 30 µg / L microplastic and 2 μgL^{-1}CPF 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

میکروپلاستیک‌ها ذرات پلاستیک کوچکتر از ۵ میلی متر هستند (Karbalaei *et al.*, 2018). این ذرات با فراوانی زیاد در محیط های آبی به خصوص آب های 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). میکروپلاستیک های 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 و یا زیستی پلاستیک‌های رها شده در محیط ایجاد می‌شوند(Prokić *et al.*, 2019). این ذرات از راه‌های مختلفی مانند فضلاب 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 آبزیان 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 قبلا در محیط حضور دارند و جذب سطحی میکروپلاستیک‌ها شده اند مانند انواع فلزات سنگین و آفت کش‌ها نیز می توانند باعث ایجاد آثار شیمیایی شوند(Oliveira *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2017; Granby *et al.*, 2018). مطالعات گذشته روی آبزیان نشان داده است که ترکیب میکروپلاستیک و آلودگی‌های شیمیایی می تواند 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 آبزی 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 می توان با این واقعیت تأیید کرد که مشخص شده است که طیف گسترده‌ای از خوراکی‌ها از جمله ماهی خشک، صدف ، انواعی از ماهی ها و نمک دریایی آلوده به میکروپلاستیک ها 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 آبزی مصرف می شوند، مواد شیمیایی همراه آن‌ها به آسانی تحت شرایط خاص روده حیوانات آزاد می شوند 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 می کنند(Wang *et al.*, 2019).

در بدن تمامی موجودات زنده مسیری تحت عنوان

مسیر آنتی اکسیداتیو وجود دارد. در این مسیر فاکتورهای آنزیمی و غیر آنزیمی مختلفی در جهت بر قراری تعادل بین حذف و تولید رادیکال‌های آزاد مانند $O_2^{\cdot-}$، H_2O_2، $OH^{\cdot}$ و $NO^{\cdot}$ فعالیت می‌کنند (Hanachi, 2007). در خط اول این مسیر سه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز(SOD) ، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) فعالیت می‌کنند. 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 پرکسیداز به مولکول آب تبدیل می شود(Ighodaro andAkinloye, 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 پرکسیداز و گلوتاتیون ترنسفراز را به عهده دارد(Hanachi, 2010).

افت کش کلرپیریفوس(CPF) (O,O- diethyl O-) 3,5,6-Trichloro-2-pyridylphosphorothioate با نام تجاری دورسبان Dursban نوعی افت 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 محیط‌های آبی شده و به دلیل نداشتن هدف اختصاصی وارد بدن موجودات دیگر به خصوص ماهی‌ها 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 پلی‌استایرین بصورت جداگانه و در ترکیب با یکدیگر بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز درکبد، ماهیچه و کلیه ماهی قزل آلای رنگین کمان بود.

۲. موادو روش ها

۱.۲. تهیه ماهی

تعداد ۱۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای 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. ماهی‌ها 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 (Charda 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 قزل‌آلا (۵۰ µg/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 میکروپلاستیکPS-MP و سم CPF)، ب: ۳۰ μgL^{-1} MPs، پ: ۳۰۰ μgL^{-1} MPs،

ت: μgL^{-1}CPF ۲، ث: μgL^{-1} CPF ۶، ج: μgL^{-1} +۳۰۰μgL^{-1} MPs ۳۰۰MPs μgL^{-1}CPF+ ۲، چ: ۶ μgL^{-1} CPF ۲ μgL^{-} CPF +۳۰μgL^{-1} MPs ح: و خ: ۳۰ μgL^{-1} MPs μgL^{-1}CPF+ ۶. آب مخازن هر روز به میزان ۷۰ درصد تعویض شد و ماهی‌ها یک بار در روز به اندازه ۵ درصد وزن بدن آنها تغذیه شدند. دمای آب مخازن در طول آزمایش $^{\circ}C$ ۱۴ ±۱,۲ ، PH=۴/۷±۰,۲ ، سختی آب CaCo3 mgL^{-1} ۱۶۷,۲ و اکسیژن محلول mgL^{-1} ۶,۶± ۰/۳ بود. بعد از ۴ روز ماهی ها با قرار گرفتن در معرض روغن میخک (mL/L^{-1} ۰/۲) به مدت ۱۰ دقیقه کشته شد(Karami *et al.*, 2015) و بافت کبد، کلیه و ماهیچه جدا شد. نمونه ها بلافاصله در فریزر ۸۰- 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 ۲میلی لیتر PBS (بافر فسفات سالین) با غلظت ۵۰ میلی مولار و PH= ۷/۸ هموژن شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دورg ۲۰۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتریفیوژ شد و سوسپانسیون حاصل برای سنجش فعالیت آنزیم جداسازی شد. برای تهیه ۱۰۰ میلی لیتر از محلول آزمایش میزان ۰/۰۰۲۱ گرم NBT ،۰/۰۱۹ گرم متیونین و ۰/۰۰۲۸ گرم ریبوفلاوین با ۱۰۰ میلی لیتر بافر فسفات سالین با غلظت ۵۰ میلی مولار و۷ PH= 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 نانومترخوانده 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 الایزا ریدر قرائت شد و فعالیت آنزیم محاسبه شد.

۶.۲. آنالیز آماری

در ابتدا نرمالیته 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 معنا داری P <۰/۰۵ value انجام شد.

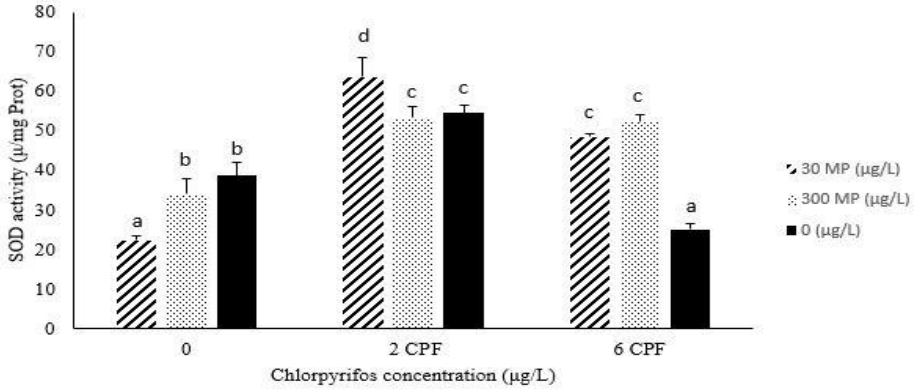
۳. نتایج

نمودار شکل ۱ فعالیت آنزیم SOD در کبد ماهی را نشان می دهد. بررسی نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم در تیمار های μgL^{-1}CPF ۲ ، μgL^{-1} MPs ۳۰ +μgL^{-1}CPF ۶، μgL^{-} CPF +۳۰μgL^{-1} MPs ۲، μgL^{-1} MPs و ۶ μgL^{-1} CPF +۳۰۰μgL^{-1} MPs ۳۰۰ μgL^{-1}CPF+ ۲ نسبت به نمونه کنترل افزایش داشته است. در تیمار ۶μgL^{-1} CPF و μgL^{-1} MPs ۳۰ فعالیت آنزیم نسبت به شاهد کاهش پیدا کرده است. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم در تیمارهای μgL^{-1} MPs۲ μgL^{-} CPF +۳۰μgL^{-1} MPs ۳۰ +۶μgL^{-1}CPF نسبت به زمانی که ماهی در معرض افت کش به تنهایی قرار گرفته است افزایش پیدا کرده است.

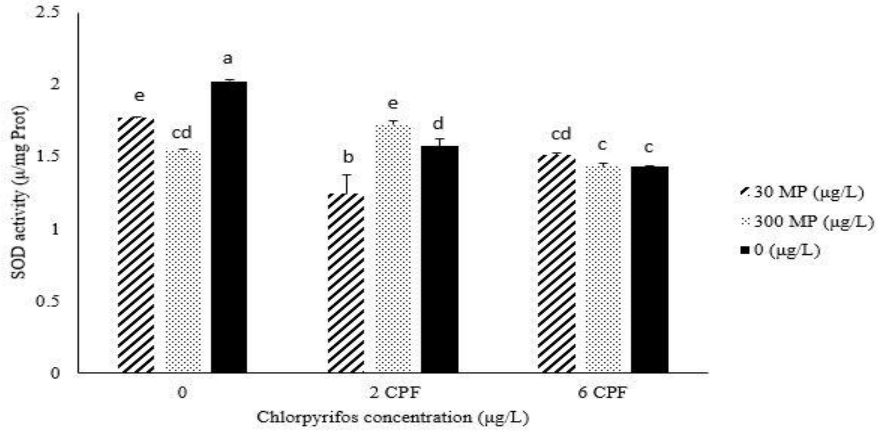
نمودار شکل ۲ فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در

ماهیچه را نشان میدهد. همان طورکه مشاهده می کنید فعالیت آنزیم در همه تیمار ها نسبت به شاهد به شدت کاهش پیدا کرده است. در تیمار μgL^{-1} MPs ۳۰+ μgL^{-1} CPF ۲ و تیمار μgL^{-1} MPs ۳۰۰ μgL^{-1} CPF ۲+ نسبت به تیمار μgL^{-1}CPF ۲ به ترتیب کاهش و افزایش یافته است.

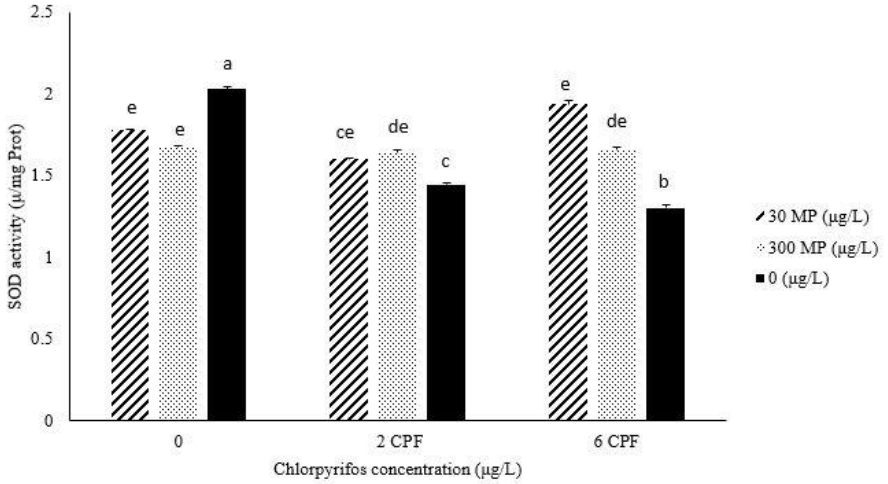
همان طور که در نمودارشکل ۳ مشاهده می‌کنید، بررسی نتایج در بافت کلیه نشان داد که فعالیت SOD در تمامی تیمارها نسبت به نمونه کنترل کاهش پیدا کرده است و فعالیت SOD در تیمار μgL^{-1}CPF ۲ نسبت به کنترل کاهش داشته است. فعالیت آنزیم در تیمار های μgL^{-1} MPs ۳۰۰+ μgL^{-1} CPF ۶ و μgL^{-1} MPs ۳۰ +μgL^{-1}CPF ۶ نسبت به تیمار μgL^{-1} CPF ۶ افزایش پیدا کرده است هم چنین در تیمار μgL^{-1} MPs ۳۰۰+ μgL^{-1} CPF ۲ فعالیت آنزیم نسبت به تیمار μgL^{-1} CPF ۲ افزایش یافته است.



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



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



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

۴. بحث

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز که در این پژوهش به عنوان بیومارکر انتخاب شد، یکی از آنزیم های مهم مسیرآنتی 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 آلاینده‌های 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 آلودگی‌های شیمیایی 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 غلظت‌های مختلف میکروپلاستیک و افت کش به بررسی تاثیر هریک به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت یک نوع بیومارکر آنزیم مسیرآنتی اکسیداتیو پرداخته شد. آفت کش کلرپیریفوس که در این مطالعه استفاده شد، یکی از آفت کش‌های 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. درپژوهشی روی میکروجلبک، *Isochrysis*

galbana) تاثیر میکروپلاستیک پلی اتیلن بر سمیت آفت کش کلرپیریفوس بعد از ۷۲ ساعت قرار گرفتن در معرض میکروجلبک موردمطالعه 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 می شود(Wen *et al.*, 2018) و یا در مطالعه ای دیگری روی نوعی صدف به نام *Corbicula fluminea*، نشان داده شد میکروپلاستیک ها می توانند 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 شده اند. هم چنین 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 پژوهش های پیشین می توان این طور نتیجه گرفت که حضور میکروپلاستیک لزوما باعث افزایش دسترسی زیستی و سمیت آفت کش 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 می شود. هم چنین 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 غلظت۳۰۰ میکرو گرم در لیتر میکروپلاستیک سمیت و دسترسی زیستی کلرپیریفوس را کاهش خواهد داد.

۱.۴. سپاس گزاری

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. این پروژه با حمایت مالی مرکز مطالعات همکاری های علمی بین المللی علوم و تحقیقات و فناوری انجام شده است.

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.