**مجله بوم شناسی آبزیان**

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

# تعیین بیومارکرهای بیوشیمیایی سرم خون در ماهی (*Neogobius melanostomus*) برای ارزیابی تأثیر آلودگی سرب در خلیج گرگان

**فخریه امیدی[1*]، حجت الله جعفریان[1]، رحمان پاتیمار[1]، محمد هرسیج[1]، حامد پاک‌نژاد[2]**

*[1] گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران*

*[2] گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران*

**نوع مقاله:**
پژوهشی

**تاریخچه مقاله:**
دریافت: ۹۸/۰۵/۱۲
اصلاح: ۹۸/۱۲/۰۵
پذیرش: ۹۹/۰۱/۱۸

**کلمات کلیدی:**
آلودگی سرب
بیومارکر بیوشیمیایی
خلیج گرگان
*Neogobius*

**چکیده**

تحقیق حاضر، جهت مهیا کردن اطلاعات پایه‌ای از آسیب‌های فیزیولوژیکی (شاخص‌های بیوشیمیایی سرم) گاوماهی لکه‌دار در شرایط آزمایشگاهی و محیطی آلودگی سرب و در نهایت طراحی بیومارکرهای بیوشیمیایی سرم، جهت ردیابی آلودگی سرب در خلیج گرگان در تابستان ۱۳۹۷ انجام شد. در هردو شرایط، تأثیر آلودگی سرب روی پارامترهای بیوشیمیایی سرم گاوماهی لکه‌دار مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر سنجش پارامترهای بیوشیمیایی سرم، غلظت‌های سرب در آب، رسوب و بافت کبد نمونه‌های ماهی نیز، آنالیز گردید. طبق نتایج، پارامترهای گلوگز، کورتیزول و ALT، یک همبستگی مثبت و معنی‌داری و پارامترهای پروتئین کل و ایمنوگلوبین M یک همبستگی منفی و معنی‌داری با آلودگی سرب کبد گاوماهیان در شرایط آزمایشگاهی نشان داد ($P< ۰/۰۵$). در شرایط محیطی، آنزیم ALT یک همبستگی مثبت و معنی‌دار و مقادیر پروتئین کل و گلوکز خون یک همبستگی منفی و معنی‌داری با آلودگی سرب کبد گاوماهیان نشان داد ($P< ۰/۰۵$). در نهایت پارامترهای پروتئین کل و ALT به دلیل همبستگی یکسان با سرب تجمع یافته در کبد در هر دو شرایط، به عنوان مؤثرترین و کارآمدترین بیومارکرهای بیوشیمیایی آلودگی سرب در گاوماهی لکه‌دار معرفی گردید.

## مقدمه

از دیر باز تاکنون، انسان در اندیشه استفاده از پهنه‌های آبی، به خصوص دریاها و اقیانوس‌ها به عنوان مکان دفع زائدات بوده است؛ با پیشرفت تکنولوژی و بالطبع توسعه صنایع مختلف و در پی آن توسعه مناطق کشاورزی و استفاده از کودها و سموم دفع آفات و همچنین آلودگی نفتی موجب شده تا میزان زیادی از فاضلاب‌های صنعتی و شهری که دارای ترکیبات شیمیایی مختلف مخصوصاً فلزات سنگین هستند، وارد اکوسیستم‌های آبی شوند (Al-Ghadban *et al.*, 1996). در بین فلزات سنگین، سرب یک فلز غیرضروری برای حیوانات است که حتی در غلظت‌های کم سمی می‌باشد (Kim and Kang, 2015) و معمولاً در اثر فعالیت‌های انسانی به عنوان مثال صنایع باتری و تولید رنگ، در محیط‌های آبی منتشر می‌شود (Monteiro *et al.*, 2011).

بیومارکرها یا نشانگرهای زیستی شاخص‌های ژنتیکی، بیوشیمیایی، سلولی، بافتی، خون‌شناسی، آنزیمی و جمعیتی هستند که به ردیابی اثرات ثانویه آلاینده‌ها بر آبزیان می‌پردازند و وضعیت فیزیولوژیک آبزی را جهت ارزیابی سلامت آبزیان و نهایتاً اکوسیستم آبی مورد بررسی قرار می‌دهند. از مزایای بیومارکرها می‌توان به تشخیص به موقع اثرات آلاینده‌ها پیش از بروز

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: fakhriyeh.omidi90@ gmail.com



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

آسیب‌های اکولوژیک، سهولت در اجرا، عدم پیچیدگی روش‌ها، نیاز به صرف هزینه کم و اجرا در شرایط مختلف آزمایشگاهی و محیطی نام برد (Holdway, 1996).

این موضوع که خون آسیب‌های به وجود آمده در اثر سمیت فلزات سنگین را قبل از آسیب‌های ظاهری نشان می‌دهد، بسیار شناخته‌شده است؛ همچنین خون در تمام عملکردهای بدن دخالت دارد؛ بنابراین به عنوان یکی از مهم‌ترین پارامترها در تشخیص وضعیت سلامتی موجود قرار گرفته در معرض آلاینده به شمار می‌رود (BelaZutshi *et al*., 2010).

گزارش‌های متعددی در ارتباط با بررسی پارامترهای بیوشیمیایی سرم ماهیان، در معرض فلزات سنگین وجود دارد. Ballesteros و همکاران (۲۰۱۷)، در تحقیقی پاسخ بیومارکرهای بیوشیمیایی سرم در ماهی (*Jenynsia multidentata*) را برای ارزیابی اثر آلودگی‌ها در رودخانه‌هایی با آلودگی محیطی متفاوت، مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج، بیشترین آلودگی‌ها در سایت‌هایی با دست‌کاری انسانی رخ داد. در تحقیقات دیگر، Kim and Kang (۲۰۱۵)، اثر رژیم غذایی حاوی غلظت‌های مختلف سرب بر پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی راک فیش (*Sebastes schlegelii*)، Hassan و همکاران (۲۰۱۸)، اثر غلظت‌های حاد کادمیوم و مس بر پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی (*Catla catla*) و Do و همکاران (۲۰۱۹)، تأثیر غلظت‌های مختلف منگنز را بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهیان سیم دریایی (*Pagrus major*) و راک فیش (*Sebastes schlegelii*) مورد بررسی قرار دادند. در تمامی مطالعات ذکر شده، نتایج نشان داد که فلزات سنگین بر میزان پارامترهای بیوشیمیایی سرم ماهیان تأثیر معنی‌داری داشته است.

مطالعات انجام شده نشان داده است که ماهی گزینه مناسبی برای مطالعه اثرات فلزات سنگین در اکوسیستم آبی می‌باشد؛ زیرا ماهیان در سطوح بالای هرم غذایی قرار دارند. دارای ارزش بیولوژیکی و اکولوژیکی بیشتری بوده و قابلیت اسارت در محیط آزمایشگاه را دارند (Hesp *et al*., 2004). گاوماهیان از رده ماهی‌های استخوانی بوده که با ۲۱۲ جنس و حداقل ۱۹۵۰ گونه شناخته‌شده، جزء بزرگ‌ترین خانواده ماهی‌ها پس از کپورماهیان می‌باشند (Nelson, 2006). گاوماهیان به علت عدم بهره‌برداری و فراوانی گونه‌ای و همچنین جمعیت زیادشان در دریای خزر، در تولید عمومی این دریا نقش مهمی را ایفا می‌کنند. در دریای خزر گونه‌های مختلف این خانواده از ماهیان بسترهای متفاوت مانند سنگی، ماسه‌ای، صدفی، گلی تا لجنی را برای زیست انتخاب می‌کنند (Stepanova, 2001). این خانواده از موجودات کف‌زی به عنوان مثال سخت‌پوستان کوچک و کرم‌ها تغذیه می‌کند (Corkum *et al*., 2004).

خلیج گرگان یک خلیج نیمه بسته است که مساحت کلی آن ۴۰۰ کیلومتر مربع می‌باشد، شکل آن سه گوش بوده و طول آن حدود ۶۰ کیلومتر و بیشترین پهنای آن ۱۲ کیلومتر است. خلیج از شرق به غرب کشیده شده و رأس آن در غرب قرار داشته و حاشیه‌ی باریک و دراز میانکاله، آن را از دریا جدا می‌سازد و رودخانه‌های کوچک زیادی که از کوه‌های جنوب شرقی دریای خزر سرچشمه می‌گیرند، به آن می‌ریزد (Gholizadeh and Patimar, 2018).

افزایش جمعیت انسانی و همچنین افزایش فعالیت‌های کشاورزی و صنعتی (صنایع باتری و تولید رنگ) منجر به افزایش آلاینده‌های مختلف شده است که بخش عمده‌ایی از آن‌ها وارد خلیج گرگان می‌شود. در سال‌های آینده انتظار می‌رود که میزان تولید این آلاینده‌ها به صورت چشمگیری افزایش یابد (Rajaei *et al*., 2012). بنابراین در تحقیق حاضر به تعیین بیومارکرهای بیوشیمیایی آلودگی سرب در خلیج گرگان، با استفاده از شاخص‌های اکوفیزیولوژیک (شاخص‌های بیوشیمیایی سرم) گاو ماهی لکه‌دار به عنوان مدل زیستی، پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

### شرایط آزمایشگاهی

**تهیه ماهی:** این تحقیق در تابستان سال ۱۳۹۷، در سالن شهید ناصر فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. برای انجام آزمایش، تقریباً حدود ۴۰۰ قطعه گاوماهی لکه‌دار با میانگین وزنی ۷/۱۶±۳۵ گرم ، از ایستگاه ۱



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

(منطقه‌ای با آلودگی کمتر) در خلیج گرگان، توسط تور صید و به صورت زنده، به وسیله پلاستیک‌های حاوی یک سوم آب و مابقی اکسیژن تزریق شده، به آزمایشگاه منتقل گردیدند. ماهیان به منظور سازش با موقعیت جدید به مدت دو هفته در تانک‌های فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری محتوی آب دریای فیلتر شده و در شرایط نوری طبیعی، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، نگهداری شدند. همچنین ماهیان با استفاده از کیلکای چرخ شده به صورت روزانه (سه درصد وزن بدن)، تغذیه شدند. به منظور حذف متابولیت‌ها و غذای خورده نشده، آب به صورت روزانه تعویض شد و آب مورد نیاز برای تعویض مخازن به وسیله تانکرهای ۲۰۰۰ لیتری، از قسمت‌های غیرآلوده خلیج گرگان، به آزمایشگاه منتقل و بعد از فیلترشدن، مورد استفاده قرار گرفت.

**تعیین غلظت کشندگی متوسط:** جهت انجام این آزمایش، ۸ غلظت در نظر گرفته شد. غلظت‌های اسمی برای نیترات (II) سرب شامل ۱، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰،۸۰،۱۶۰ و۳۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات (II) سرب بود. ۲۴ ساعت قبل از انجام این آزمایش، تغذیه ماهیان متوقف گردید. برای هر غلظت سه تکرار در نظر گرفته شد و در هر مخزن ۲۰ لیتری، ۷ قطعه گاوماهی لکه‌دار، به صورت تصادفی توزیع شد. تلفات ماهیان هر ۲۴ ساعت ثبت و جمع‌آوری گردید و این کار تا انتهای ۹۶ ساعت (چهار روز) انجام پذیرفت. غلظت کشندگی متوسط با استفاده از نرم افزار پروبیت انجام پذیرفت.

**آزمایش سمیت تحت حاد:** این آزمایش به مدت ۱۴روز و با غلظت‌های ۰، ۷/۵، ۱۵ و ۳۰٪ غلظت کشنده از آلاینده نیترات (II) سرب انجام پذیرفت. غلظت‌های تعیین شده، ۰، ۶ ، ۱۲و۲۴ میلی‌گرم بر لیتر نیترات (II) سرب، تعیین شد. به طوری‌که ماده مؤثر سرب موجود در غلظت‌های تعیین شده، ۰، ۳/۷۵، ۷/۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر بود (عدد جرمی سرب ۲۰۷/۲ گرم بر مول و عدد جرمی نیترات سرب ۳۳۱/۲ گرم بر مول). این آزمایش در ۱۲ مخزن ۲۰ لیتری (چهار غلظت متفاوت در سه تکرار)، برای تعیین سمیت تحت کشنده سرب انجام پذیرفت. آزمایش سمیت تحت کشنده به صورت تجدید پذیر بود و تعویض آب در مخازن آزمایش انجام گرفت و غذادهی نیز در زمان‌های متناوب (۱۰ صبح و ۲ بعد ازظهر) و به میزان سه درصد وزن بدن، انجام گرفت. در پایان دوره آزمایش، ابتدا ماهیان با یک PPT، ماده بیهوش‌کننده گل میخک بیهوش شدند و سپس از ماهی-ها، به وسیله سرنگ، خون گرفته شد. نمونه‌های خون به آزمایشگاه منتقل گردید؛ همچنین جهت آزمایش‌های سم‌شناسی، از ماهیان نمونه‌برداری بافت کبد، صورت گرفت.

**سنجش ویژگی‌های بیوشیمیایی سرم:** برای جداسازی سرم، تیوپ‌های حاوی خون بدون ماده ضد انعقاد، به مدت ۲۴ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری و پس از ته نشین شدن لخته، با دور ۳۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس سنجش کمی گلوکز با استفاده از کیت آزمایشگاهی تشخیصی پارس آزمون مطابق با دستور العمل West و همکاران (۱۹۹۳)؛ سنجش کمی پروتئین کل با استفاده از کیت آزمایشگاهی تشخیصی پارس آزمون مطابق با دستورالعمل Olesen و Jorgensen (۱۹۸۶)، اندازه‌گیری ایمنوگلوبین M، از روش Siwick و Anderson (۱۹۹۳) و جهت سنجش هورمون کورتیزول خون از روش الایزای رقابتی (Haussmann *et al*., 2007 ) به وسیله کیت تجاری IBL آلمان استفاده شد.

آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) به روش آنزیمی مطابق دستورالعمل Reitman و Frankel (۱۹۵۷) و آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) نیز به همین روش ، با استفاده از کیت تشخیصی پارس آزمون و اسپکتروفتومتر، سنجش شدند.

**شرایط محیطی**

**زمان و مکان نمونه‌برداری**: این تحقیق در تابستان (۱۳۹۷)، در حوضه جنوب شرقی دریای خزر و خلیج گرگان تا منطقه میان قلعه، واقع در بخش شرقی شبه جزیره میانکاله (منطقه بندر ترکمن) صورت گرفت (شکل۱). منطقه مورد مطالعه با توجه به دسترسی منطقه، میزان صید ماهی و بار آلاینده ورودی، به چند ایستگاه نمونه‌برداری، تقسیم شد. ایستگاه ۱ (شاهد) و ۲ با



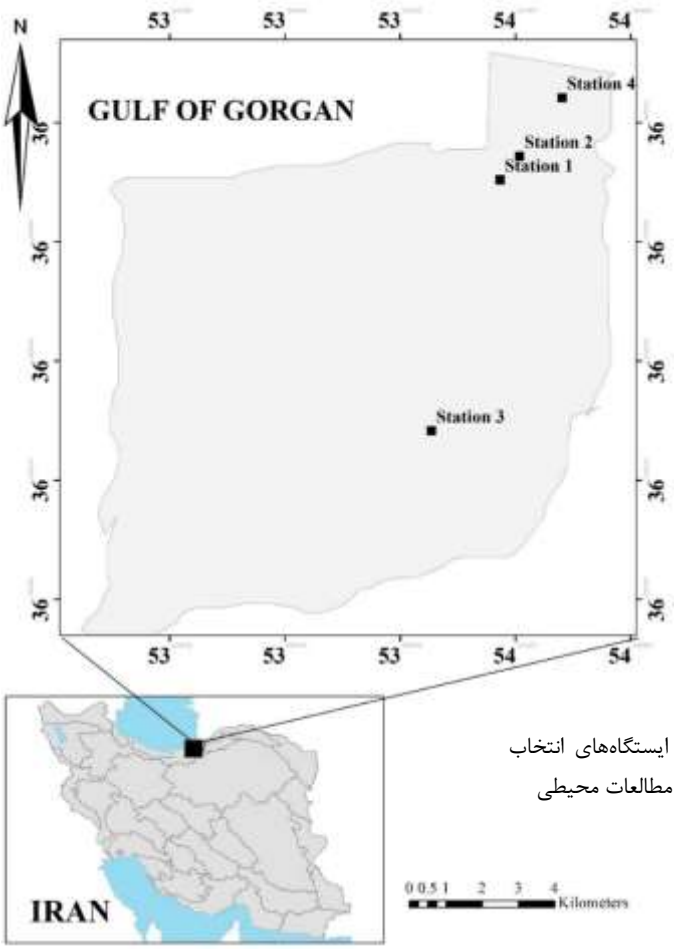
[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

آلودگی کمتر و ایستگاه ۳ و ۴ با آلودگی بیشتر می‌باشد. ایستگاه‌های اول و دوم در مجاورت کانال خزینی قرار داشت و هیچ‌گونه خروجی فاضلابی در مجاورت آن‌ها نبود؛ در حالی‌که ایستگاه‌های سوم و چهارم در مجاورت رودخانه‌های قره‌سو و گرگانرود، که حامل آلودگی به خلیج گرگان بودند، قرار داشت. مختصات جغرافیایی ایستگاه‌ها بین ۳۶ درجه و ۴۹ دقیقه تا ۳۶ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی و ۵۴ درجه و ۱ دقیقه تا ۵۴ درجه و ۲ دقیقه شرقی واقع شده است. مجموعاً ۲۰۰ عدد ماهی با میانگین وزنی ۳/۸۷±۲۸/۶ گرم، از تمامی ایستگاه‌ها صید شد. در هر ایستگاه، بلافاصله پس از صید ماهی، نمونه‌های خون و بافت کبد در سه تکرار به روش توضیح داده شده در بخش شرایط آزمایشگاهی، تهیه و به آزمایشگاه جهت آنالیز بیوشیمیایی خون به روش ذکرشده، منتقل گردید. علاوه بر آن، به همراه نمونه‌ها، نمونه آب و رسوب نیز در سه تکرار از هر ایستگاه نمونه‌برداری، تهیه شد و در مجاورت یخ، جهت سنجش میزان سرب موجود در آب، رسوب و بافت کبد، با استفاده از دستگاه جذب اتمی و روش توصیف شده به وسیله ROPME (۱۹۹۹) به آزمایشگاه منتقل گردید.

**تجزیه و تحلیل داده‌ها**

جهت مشخص کردن نرمال بودن داده‌ها، از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف (Kolmogorov–Smirnov) استفاده شد. سپس، اطلاعات حاصل از آنالیزهای بیوشیمیایی سرم و سم‌شناسی، با انجام آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. در نهایت هم از آزمون همبستگی پیرسون به دلیل نرمال بودن داده‌ها، جهت تعیین همبستگی بین غلظت سرب اندازه‌گیری شده در نمونه‌ها (کبد ماهیان) با میزان شاخص‌های بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده، استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات تحقیق حاضر، از نرم افزار R- 3.5.2 استفاده گردید.




**شکل ۱.** نقشه ایستگاه‌های انتخاب شده جهت انجام مطالعات محیطی



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

## نتایـج

**تعیین غلظت کشندگی متوسط:** پس از ثبت داده‌های مرگ و میر در غلظت‌های موجود و استفاده از نرم افزار پروبیت، میزان غلظت کشندگی متوسط نیترات (II) سرب در محدوده اطمینان ۹۵ درصد، ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد (جدول ۱).

**غلظت سرب در نمونه‌های آب، رسوب و کبد:** دامنه غلظت سرب در آب مناطق نمونه‌برداری بین ۰/۱ تا ۳/۴۵ میکروگرم بر لیتر بود (جدول۲). به جز ایستگاه سوم، مقدار سرب موجود در آب ایستگاه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری با ایستگاه شاهد (ایستگاه ۱) نشان ندادند (P>۰/۰۵). بیشترین سرب آب در ایستگاه ۳ یافت شد. بر خلاف سرب آب، مقادیر سرب موجود در رسوب مناطق مختلف، تفاوت معنی‌داری با منطقه شاهد داشتند (P<۰/۰۵). این نتایج کاملاً منطبق بر فعالیت‌های ساحلی در مجاورت مناطق بود، محدوده غلظت سرب رسوبات نیز ۶۰۰۰ تا ۱۲۰۰۰/۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن خشک رسوبات بود.

**جدول ۱.** میانگین غلظت کشنده نیترات (II) سرب در گاوماهی لکه‌دار در ساعات ( ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶)

| **غلظت کشنده** (میلی‌گرم بر لیتر) | **زمان در معرض گذاری** (ساعت) |
|---|---|
| ۱۳۰/۵۰ | ۲۴ |
| ۱۲۳/۴۰ | ۴۸ |
| ۸۹/۰۰ | ۷۲ |
| ۸۰/۰۰ | ۹۶ |

غلظت سرب در بافت کبد ماهیان ایستگاه‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب ۳۷/۴۴، ۳۳/۸۱، ۶۰/۶۹ و ۵۷/۸۶ میکروگرم بر کیلوگرم وزن خشک بود (جدول ۳). نتایج سنجش غلظت سرب کبد ماهیان در ایستگاه‌های مختلف نشان داد، میزان سرب در کبد ماهیان در ایستگاه‌های آلوده نسبت به ایستگاه شاهد (ایستگاه ۱) افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). بین غلظت سرب در کبد ماهی و رسوب محل صید آن همبستگی معنی‌داری مشاهده گردید (P<۰/۰۱)؛ به طوری که ضریب همبستگی بین غلظت سرب در رسوب و غلظت سرب در کبد ماهیان، مقدار عددی بالایی (۹۰/. =r)، نشان داد. درحالی‌که غلظت سرب در کبد ماهی با آب محل صید آن، ضریب همبستگی کمتری (۶۲/. =r)، نسبت به رسوب داشت. غلظت سرب در کبد ماهیان قرار گرفته در معرض غلظت‌های تحت کشندگی سرب در شرایط آزمایشگاهی، در جدول ۳، نشان داده شده است. تجمع سرب در کبد این ماهیان ۴۵/۱۴، ۴۵/۶۴، ۵۷/۸۴ و ۶۵ /۹۸ میکروگرم برکیلوگرم وزن خشک بود. به طوری که با افزایش غلظت تحت حاد سرب، میزان سرب کبد هم افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵).

**جدول ۲.** میزان سرب موجود در آب و رسوبات ایستگاه‌های نمونه‌برداری خلیج گرگان

| **مناطق** | **سرب در آب** (میکروگرم بر لیتر) | **سرب در رسوبات** (میکروگرم بر کیلوگرم) |
|---|---|---|
| ایستگاه ۱ | ۰/۱۰ ± ۰/۰۰$^{b}$ | ۶۰۰۰/۰۰ ± ۱۰۰۰$^{c}$ |
| ایستگاه ۲ | ۰/۵۰ ± ۰/۴۰$^{b}$ | ۸۰۰۰/۰۰ ± ۰/۰۰$^{b}$ |
| ایستگاه ۳ | ۳/۴۵ ± ۰/۳۵$^{a}$ | ۱۲۰۰۰/۵۰۰ ± ۵۰۰$^{a}$ |
| ایستگاه ۴ | ۰/۴۰± ۰/۱۰$^{b}$ | ۱۱۰۰۰/۵۰۰ ± ۵۰۰$^{a}$ |

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح (P< ۰/۰۵) می‌باشد

**سنجش پارامترهای بیوشیمیایی سرم در غلظت‌های تحت کشنده سرب:** غلظت‌های آزمایشگاهی سرب سبب تغییر معنی‌داری در تمامی پارامترهای بیوشیمیایی شد (P<۰/۰۵). نتایج حاکی از این بود که مقادیر گلوگز، کورتیزول ،ALT و AST یک روند افزایشی معنی‌داری در غلظت‌های تحت حاد سرب نسبت به گروه شاهد نشان داد؛ در حالی‌که، مقادیر پروتئین کل و ایمنوگلوبین M یک روند کاهشی و معنی‌داری در غلظت‌های تحت حاد سرب نسبت به گروه شاهد نشان داد. آنزیم



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

ALP هم ابتدا یک روند افزایشی و سپس یک روند کاهشی نسبت به گروه شاهد نشان داد. در حالی که روند کاهشی آن نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود. (جدول ۴).

**جدول ۳.** میزان سرب موجود در کبد ماهیان در شرایط محیطی و آزمایشگاه

| | **شرایط آزمایشگاه** | **شرایط محیطی** | |
|---|---|---|---|
| تیمارها | غلظت سرب کبد (میکروگرم بر کیلوگرم) | ایستگاه‌ها | غلظت سرب کبد (میکروگرم بر کیلوگرم) |
| شاهد (۰ میلی‌گرم بر لیتر) | ۴۵/۶۴ ±۰ /۴۹$^{c}$ | ایستگاه ۱ | ۳۷/۴۴±۱ /۰۰$^{b}$ |
| تیمار ۱ (۳/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) | ۴۵/۱۴± ۱/۰۰$^{c}$ | ایستگاه ۲ | ۳۳/ ۸۱± ۳/۶۱$^{b}$ |
| تیمار ۲ (۷/۵ میلی‌گرم بر لیتر) | ۵۷/۸۴ ±۱/۵۰ $^{b}$ | ایستگاه ۳ | ۶۰/۶۹±۱ /۳۱$^{a}$ |
| تیمار ۳ ( ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر) | ۹۸/۶۵± ۲/۶۵$^{a}$ | ایستگاه ۴ | ۵۷/۸۶± ۴/۱۴$^{a}$ |

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح (P< ۰/۰۵) می‌باشد.

طبق نتایج همبستگی غلظت‌های سرب بافت کبد با شاخص‌های بیوشیمیایی سرم گاوماهی لکه‌دار در شرایط آزمایشگاهی (جدول ۵)، پارامترهای گلوگز، کورتیزول و ALT، یک همبستگی مثبت و معنی‌دار و پارامترهای پروتئین کل و ایمنوگلوبین M یک همبستگی منفی و معنی‌دار با آلودگی سرب کبد گاوماهیان در شرایط آزمایشگاهی نشان داد. این پارامترها می‌توانند، کاندیدی برای بیومارکر پارامترهای بیوشیمیایی سرب باشد.

**جدول ۴.** اثرات غلظت‌های مختلف سرب بر پارامترهای بیوشیمیایی بعد از ۱۴روز در معرض گذاری

| | **پارامترها** | | | |
|---|---|---|---|---|
| **غلظت‌ها** | شاهد | تیمار ۱ | تیمار ۲ | تیمار ۳ |
| | ۰ mg/l | ۳/۷۵ mg/l | ۷/۵ mg/l | ۱۵ mg/l |
| گلوکز (mg/dl) | ۸۷/۷۴ ±۰ /۱۹$^{b}$ | ۹۰/۶۶ ± ۲/۷۲$^{ab}$ | ۸۹/۴۹ ± ۱/۱۶$^{ab}$ | ۹۲/۶۰ ± ۱/۵۵$^{a}$ |
| پروتئین کل (g/dl) | ۶/۳۸ ± ۰/۱۹$^{a}$ | ۶/۰۶ ± ۰/۰۰۵$^{ab}$ | ۵/۷۲ ± ۰/۳۳$^{bc}$ | ۵/۴۷ ± ۰/۵۰$^{c}$ |
| کورتیزول (ng/ml) | ۲۱/۷۵ ± ۲/۲۵$^{b}$ | ۱۷/۰۰ ± ۲/۰۰$^{b}$ | ۲۳/۲۵ ± ۳/۷۵$^{b}$ | ۷۵/۰۰ ± ۹/۰۰$^{a}$ |
| ایمنوگلوبین M (g/dl) | ۳/۱۰ ± ۰/۱۶$^{a}$ | ۲/۷۵ ± ۰/۰۷$^{b}$ | ۲/۸۵± ۰/۰۱$^{b}$ | ۲/۳۷± ۰/۰۷$^{c}$ |
| ALP (U/L) | ۵۱/۰۰ ± ۱/۳۷$^{b}$ | ۶۸/۵۰ ± ۹/۳۳$^{a}$ | ۵۹/۷۳ ± ۵/۵۱$^{ab}$ | ۵۷/۵۰ ± ۰/۴۰$^{b}$ |
| ALT (U/L) | ۸/۶۰± ۱/۳۲$^{b}$ | ۱۲/۸۳ ± ۲/۶۵$^{b}$ | ۱۲/۲۳± ۲/۹۷$^{b}$ | ۱۷/۹۸ ± ۱/۶۹$^{a}$ |
| AST (U/L) | ۱۴/۵۶± ۵/۳۰$^{b}$ | ۴۴/۶۶ ± ۵/۶۲$^{a}$ | ۳۹/۰۳ ± ۲/۶۴$^{a}$ | ۴۲/۲۳± ۲/۱۰$^{a}$ |

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح P< ۰/۰۵ می‌باشد.

**سنجش پارامترهای بیوشیمیایی در شرایط محیطی:** در شرایط محیطی تمامی پارامترهای بیوشیمیایی سرم ماهی تفاوت معنی‌داری نشان داد (P< ۰/۰۵). نتایج، گویای کاهش مقادیر گلوگز و پروتئین کل سرم و ALP در ایستگاه‌های آلوده نسبت به ایستگاه شاهد بود. در حالی که مقادیر کورتیزول و ALT یک روند افزایشی در ایستگاه‌های آلوده نسبت به ایستگاه شاهد داشت و سایر پارامترهای دیگر در مواجهه با غلظت سرب روند خطی یکنواختی نشان ندادند (جدول ۶). طبق نتایج

**جدول ۵.** همبستگی پارامترهای بیوشیمیایی سرم گاوماهی با غلظت‌های سرب بافت کبد در شرایط آزمایشگاهی

| | گلوکز | پروتئین کل | کورتیزول | ایمنوگلوبین M | ALP | ALT | AST |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| همبستگی (r) پیرسون | ۰/۶۵* | -۰/۷۱** | ۰/۹۷** | -۰/۸۲** | -۰/۱۳ | ۰/۸** | ۰/۳۸ |
| sig (p) | ۰/۰۲ | ۰/۰۱ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰۱ | ۰/۷ | ۰/۰۰۲ | ۰/۲۱ |

*همبستگی در سطح ۰/۰۵، ** همبستگی در سطح ۰/۰۱



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

(جدول۷)، آنزیم ALT یک همبستگی مثبت و معنی‌داری با آلودگی سرب کبد گاوماهیان در شـرایط محیطـی نشـان داد. در حالی که مقادیر پروتئین کل و گلوکز سرم یک همبستگی منفی و معنـی‌داری بـا آلـودگی سـرب کبـد گاوماهیـان در شـرایط محیطی داشت.

**جدول ۶.** وضعیت پارامترهای بیوشیمیایی سرم گاوماهی از ایستگاه‌های نمونه‌برداری در خلیج گرگان

| پارامترها | ایستگاه‌ها | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ایستگاه ۱ | ایستگاه ۲ | ایستگاه ۳ | ایستگاه ۴ |
| گلوکز (mg/dl) | ۲۲۷/۵۴±۷۲/۹۱$^{a}$ | ۲۰۰/۴۶ ± ۸۹/۳۵$^{a}$ | ۱۲۸/۹۳ ±۴۱/۴۳$^{ab}$ | ۶۹/۹۰ ± ۵/۰۹$^{b}$ |
| پروتئین کل (g/dl) | ۵/۱۶ ± ۰/۸۷$^{a}$ | ۱/۷۶±۰/۳۶$^{b}$ | ۱/۰۳ ± ۰/۰۹۷$^{bc}$ | ۰/۷۸ ± ۰/۰۸$^{c}$ |
| کورتیزول (ng/ml) | ۲۰/۰۰ ± ۰/۰۰$^{b}$ | ۲۴/۰۰ ± ۰/۰۰$^{b}$ | ۲۲/۶۶ ± ۲/۳۰$^{b}$ | ۸۰/۳ ± ۰/۵۸$^{a}$ |
| ایمنوگلوبین M (g/dl) | ۱/۵۰ ± ۰/۲۳$^{a}$ | ۰/۵ ± ۰/۱۳$^{b}$ | ۱/۶۰ ± ۰/۴۵$^{a}$ | ۰/۵۰ ± ۰/۰۸$^{b}$ |
| ALP (U/L) | ۴۹۳/۰۴ ± ۷۸/۸۰$^{a}$ | ۳۰۷/۴۰ ±۱۱/۴۸$^{b}$ | ۳۴۴/۶۲ ± ۷۸/۱۱$^{b}$ | ۳۰۵/۳۳ ± ۶۲/۷۲$^{b}$ |
| ALT (U/L) | ۲۹/۲۸ ± ۰/۵۰$^{d}$ | ۴۱/۹۰ ± ۵/۰۸$^{c}$ | ۵۳/۵۹±۰/۰۰۲$^{b}$ | ۵۹/۴۰ ± ۰/۱۷$^{a}$ |
| AST (U/L) | ۴۰/۶۹ ± ۲/۹۸$^{c}$ | ۲۳/۱۵۹ ± ۰/۰۰$^{d}$ | ۷۹/۳۵ ±۰/۰۵$^{a}$ | ۵۵ /۵۸ ± ۰/۰۰۴$^{b}$ |

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح P< ۰/۰۵ می‌باشد.

مقایسه نتایج همبستگی پارامترهای بیوشیمیایی سرم با مقادیر سرب تجمع یافته در کبد گاوماهیان در شرایط آزمایشـگاهی و محیطی نشان داد که پارامتر پروتئین کل در هردو شرایط محیطی و آزمایشـگاه یـک همبسـتگی منفـی و معنـی‌دار بـا سـرب تجمع یافته در کبد ماهیان دارد؛ درحالی‌که آنزیم ALT یک روند و همبستگی مثبتی با آلودگی سرب کبد در هـر دو شـرایط نشان داد. بنابراین، می‌توان این دو پارامتر را به عنوان بیومارکرهای بیوشیمیایی سرب در خلیج گرگان معرفی نمود. قابل ذکـر است که هر چند مقادیر گلوکز در دو محیط معنی‌دار بود؛ ولی در هر دو شرایط روند خطی یکسـانی بـا آلـودگی سـرب نشـان ندادند. بنابراین، زمانی می‌توان گلوکز را به عنوان بیوماکر بیوشیمیایی پیشنهاد داد که در هردو شـرایط رونـد یکسـانی داشـته باشد.

**جدول ۷.** همبستگی پارامترهای بیوشیمیایی گاوماهی با غلظت‌های سرب بافت کبد در شرایط محیطی

| | گلوکز | پروتئین کل | کورتیزول | ALP | ALT |
|---|---|---|---|---|---|
| همبستگی پیرسون (r) | -۰/۶۱* | -۰/۶۳* | ۰/۵۰ | ۰/۲۹ | ۰/۷۹** |
| sig (p) | ۰/۰۳ | ۰/۰۳ | ۰/۱ | ۰/۴ | ۰/۰۰۲ |

*همبستگی در سطح ۰/۰۵، ** همبستگی در سطح ۰/۰۱

## بحث

بین غلظت سرب در کبد ماهی و رسوب محل صید آن همبستگی معنی‌داری مشاهده شد؛ به طوری که ضریب همبستگی بین غلظت سرب در رسوب و غلظت سرب در کبد ماهیان، مقدار عددی بالایی نشان داد؛ درحالی‌که غلظت سرب در کبد ماهی با آب محل صید آن، ضریب همبستگی کمتری نسبت به رسوب داشت. این یافته مؤید آن است که بررسی غلظت سرب در رسوب می‌تواند به عنوان شاخص مناسبی جهت تجمع زیستی آلاینده‌ها در بدن گاوماهی لکه‌دار باشد؛ به طور کلی به دلیل همبستگی بالا بین غلظت‌های سرب کبد ماهیان و غلظت‌های سرب موجود در آب در شرایط آزمایشگاهی (r=۰/۹۴ و همبستگی در سطح ۰/۰۱) و همچنین به دلیل همبستگی بالا بین غلظت‌های سرب کبد ماهیان و غلظت‌های سرب موجود در رسوبات در شرایط محیطی (r=۰/۹ و همبستگی در سطح ۰/۰۱) و از طرف دیگر به دلیل ناپایدار بودن عنصر سرب در آب، جریان داشتن آب و احتمال ته نشین شدن سرب موجود در آب در شرایط محیطی، در این مطالعه از پارامتر غلظت‌های سرب



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

کبد ماهیان، که در هر دو شرایط محیطی و آزمایشگاهی وجود داشت، جهت تعیین همبستگی با پارامترهای فیزیولوژیکی گاوماهی لکه‌دار (شاخص‌های بیوشیمیایی سرم) در هر دو شرایط محیطی و آزمایشگاه و در نهایت تعیین بیومارکرهای بیوشیمیایی آلودگی سرب در خلیج گرگان استفاده شد.

در این مطالعه سطوح گلوکز سرم به عنوان نشانگر استرس ایجاد شده توسط سرب سنجیده شد. به دلیل شکستن گلیکوژن، مقادیر گلوکز در طول اولین فاز استرس اغلب افزایش می‌یابد (Wendelaar Bonga, 1977). در مطالعه حاضر با افزایش غلظت سرب در شرایط آزمایشگاهی، مقدار گلوکز گاوماهی لکه‌دار افزایش یافت. افزایشی مشابه تحقیق حاضر توسط Kim و Kang (۲۰۱۵)، در ماهی راک فیش (*Sebastes schlegelii*)، تحت سمیت سرب مشاهده شد. گلوکز سرم ماهی (*Catla catla*)، پس از در معرض گذاری حاد کادمیوم و مس نیز، افزایش مشابهی نشان داد (Hassan *et al*., 2018). دلیل اصلی هایپرگلایسمیا در مطالعات توکسیکولوژی، احتمالاً کاهش انسولین و افزایش گلوکز است (Gad, 2007).

نگهداری گلوکز اضافی خون در کبد ماهیان استخوانی، ناکافی است، زیرا انسولین و گیرنده‌های انسولین در کبد ماهیان بسیار کم بوده و قدرت ذخیره گلوکز را کاهش می‌دهد. به همین خاطر در مواجهه با گلوکز، ماهیان استخوانی را با انسان‌های دیابتی مقایسه می‌کنند (Schlenk and Benson, 2001). بنابراین، دلیل کاهش معنی‌دار گلوگز در تست محیطی طولانی مدت، احتمالاً به دلیل مصرف سریع ذخیره انرژی (گلوکز) و تأمین همئوستازی بدن توسط سیستم عصبی مرکزی است ( Nelson and Cox, 2005). این نتایج با نتایج Ciftci و همکاران (۲۰۰۸)، که تأثیر فلز سرب را روی گلوگز مارماهی ( *Anguilla anguilla*)، بررسی کردند، هم سو بود. به طورکلی گلوگز خون یک شاخص قابل قبول برای ارزیابی استرس‌های زیست محیطی در ماهی می‌باشد.

تغییرات مقادیر هورمون کورتیزول پلاسما شاخص پاسخ اولیه به استرس در ماهیان است (Wu *et al*., 2007). عموماً سطوح کورتیزول پلاسما چند دقیقه پس از مواجهه با استرس حاد، سریعاً افزایش می‌یابد و برگشت به سطوح نرمال نیز یک تا چند ساعت به طول می‌انجامد. در خصوص استرس‌های مزمن نیز سطوح کورتیزول افزایش می‌یابد و ممکن است مدت بیشتری در مقادیر بالا باقی بماند (Bonga, 1997). به طوری که در مطالعه حاضر در دو شرایط محیطی و آزمایشگاهی تحت استرس آلودگی سرب، مقدار کورتیزول خون در گاوماهی لکه‌دار افزایش یافت. چنین افزایش مشابهی توسط Karaytug و همکاران (۲۰۱۰)، در ماهی *Clarias gariepinus* ، تحت استرس کادمیوم در غلظت‌های بالا (۰/۲۵ و ۰/۵ پی پی ام) و توسط Do و همکاران ( ۲۰۱۹)، در ماهیان سیم دریایی (*Pagrus major*) و راک فیش (*Sebastes schlegelii*)، تحت غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر منگنز، مشاهده شده است.

در شرایط نامساعد و تحت استرس (داخلی یا خارجی) هورمون‌های کاتکول آمین، آدرنالین و نورآدرنالین توسط سلول‌های کرومافین به خون ترشح می‌شوند (Reid *et al*., 1988). این هورمون‌ها به همراه کورتیزول باعث تحریک و افزایش تولید گلوکز از طریق فرآیند گلیکوژنزیز می‌شود تا انرژی مورد نیاز سلول‌های تحت استرس، فراهم شود (Iwama *et al*., 1999).

به طور کلی، تغییرات هورمون کورتیزول هم راستا با تغییرات گلوکز خون می‌باشد که در مطالعه حاضر نیز، این موضوع نمایان بود. این مسئله بر نقش هورمون کورتیزول در افزایش آمادگی بدنی ماهی برای مقابله با استرس تحمیلی تأکید می‌کند (Pratap and Wendelaar Bonga, 1990; Wendelaar Bonga, 1997).

تعیین پروتئین در پلاسمای خون یک شاخص خوب، برای استرس‌های اکولوژیکی، هموستازی فیزیولوژیکی و آلودگی آبزیان می‌باشد (Sharaf-Eldeen and Abdel-Hamid, 2002). به طوری که تغییر در سنتز پروتئین یکی از متداول‌ترین پاسخ‌ها به آسیب سلولی می‌باشد. لذا با سنجش میزان پروتئین می‌توان به میزان آسیب سلولی پی برد (Canli, 1996). در مطالعه حاضر در هر دو شرایط محیطی و آزمایشگاه مشخص گردید، که مواجهه گاوماهی لکه‌دار با سرب، منجر به کاهش مقدار پروتئین کل



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

یا هایپوپروتئینمیا می‌گردد. این مسئله بیانگر کاهش تولید یا افزایش مصرف پروتئین (Sakr and Al lail, 2005; Do *et al*., 2019) در گاوماهی لکه‌دار می‌باشد.

با تداوم استرس و کاهش کربوهیدرات و لیپید، پروتئین می‌تواند به عنوان منبع انرژی مورد مصرف قرار گرفته و کاهش یابد. به بیان دیگر، افزایش کورتیزول خون می‌تواند موجب افزایش فعالیت آنزیم‌هایی شود، که نقش مهمی در کاتابولیسم آمینواسید دارند (مانند گلوتامات دهیدروژناز، آمینواسید اکسیداز و گزانتین اکسیداز)، که در نهایت موجب کاهش میزان پروتئین و در مقابل باعث افزایش غلظت گلوکز می‌شود (Sastry and Rao, 1984). عوامل دیگری نظیر خونریزی و آسیب‌های ترشحی نیز می‌تواند دلیل کاهش پروتئین کل (آلبومین، گلوبولین و ...) باشد (Gad, 2007).

ایمنوگلوبین M، تنها ایمنوگلوبین مهم شناخته‌شده در ماهیان است که آنتی‌بادی اصلی در پاسخ اولیه در مهره‌داران بالاتر می‌باشد (Khalesi *et al*., 2016). در مطالعه حاضر، در شرایط آزمایشگاهی ایمنوگلوبین سرم گاوماهی لکه‌دار، در معرض آلودگی سرب کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد؛ ولی در شرایط محیطی روند یکسانی نسبت به آلودگی سرب مشاهده نشد. کاهش ایمنوگلوبین سرم، نشان‌دهنده سرکوب سیستم ایمنی ماهی است که در این شرایط ماهی مستعد ابتلا به هر عامل عفونی می‌شود. این کاهش سطح ایمنوگلوبین ممکن است به علت افزایش ترشح کورتیزول باشد که با نتایج Zaki و همکاران (۲۰۱۰) که اثر تغییرات آب و هوا و کادمیوم را روی ایمنوگلوبین ماهی تیلاپیا *(Tilipia Nilotica)* بررسی کردند هم سو بود.

از تغییرات آنزیمی به عنوان نشانگر آلودگی اکوسیستم‌های دریایی، بسیار استفاده شده است (Kim *et al*., 2008). آنزیم ALP در تمامی بافت‌های ماهی‌ها یافت می‌شود (Agrahari and Gopal, 2009). این آنزیم در اپیتلیوم مجاری صفراوی، سلول‌های کبدی، مخاط روده و کلیه‌ها وجود دارد و در زمانی که انسداد مجاری صفراوی داخل و خارج کبدی، سیروزی و اختلالات کبدی (نکروز) رخ می‌دهد، موجب آزاد شدن این آنزیم از سلول‌های آسیب دیده و افزایش سطح این آنزیم در خون و بافت کبد می‌گردد (Banaee *et al*., 2008; El-Sayed and Saad, 2008; Saha and Kaviraj, 2009). از طرفی ممکن است سیستم فیزیولوژیک بدن در پاسخ به وجود مواد و ترکیبات سمی و به منظور غلبه کردن بر اثرات مضر، سطح این آنزیم را در بافت کبد افزایش دهد تا از طریق واکنش‌های زیستی اثرات کشنده و مخرب این ترکیبات را خنثی کرده و در مقابل تأثیرات آن، پایداری ماهی را باعث گردد. به طوری که در مطالعه حاضر نیز افزایش سطح آنزیم ALP گاوماهی لکه‌دار در معرض آلودگی سرب در شرایط آزمایشگاهی، ممکن است به دلیل اختلال در سوخت و ساز بدن و یا آسیب بافتی باشد که با نتایج Do و همکاران (۲۰۱۹)، که تأثیر فلز منگنز بر سطح آنزیم ALP ماهیان راک فیش و سیم دریایی را بررسی کردند، هم راستا بود. در صورتی که Kim و Kang (۲۰۱۵)، تفاوت معنی‌داری در میزان ALP ماهی راک فیش در معرض رژیم حاوی غلظت-های سرب، مشاهده نکردند.

آنزیم ALP، در تست محیطی طولانی مدت، کاهش معنی‌داری نسبت به منطقه شاهد نشان داد که ممکن است به دلیل آسیب احتمالی در سیستم انتقال غشایی باشد که در ماهی *Salmo trutta* در آب‌های آلوده نیز ذکر شده است (Bernet *et al*., 2001). علاوه بر آن، این کاهش در بافت و سرم ماهی *O. niloticus*، بعد از در معرض گذاری با فلزات هم مشاهده شده است (Atli and Canli, 2007; Canli and Canli, 2015; Oner *et al*., 2008). به‌طورکلی کاهش‌های ALP در ماهیان ممکن است به دلیل اختلال در مکانیسم‌های عملکردی و فیزیولوژیکی باشد (Atli *et al*., 2015).

آمینوترانسفرازها دسته مهمی از آنزیم‌های کبدی هستند که علی‌رغم کاربردهای زیاد سلولی، به‌عنوان شاخص آسیب کبدی مطرح می‌باشند (Teles *et al*., 2003). آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز به طور طبیعی در انواع مختلف بافت‌ها از قبیل کبد، قلب، ماهیچه، کلیه و مغز قرار دارد. برخلاف AST ، قسمت عمده‌ی آلانین آمینوترانسنفراز به‌طور طبیعی در کبد یافت می‌شود. اگر چه نمی‌توان گفت که این آنزیم منحصراً در کبد قرار دارد؛ اما کبد جایی است که در برگیرنده بیشترین غلظت این آنزیم است (Di Giulio and Hinton, 2008).



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

در مطالعه حاضر مشاهده شد که در هر دو شرایط طبیعی و آزمایشگاه مقادیر آنزیم ALT در گاوماهی لکه‌دار افزایش یافت که با مطالعات پیشین که افزایش مشابهی در ماهیان تحت استرس فلزات مشاهده کردند، هم‌خوانی داشت (Abdel-Warith *et al*., 2020; Atli *et al*., 2015; Do *et al*., 2019). علت این افزایش ممکن است به علت آسیب به کبد، کلیه، قلب و بافت‌های دیگر در اثر معرض گذاری با فلزات و افزایش ترشح آن‌ها به پلاسما باشد ( Mekkawy *et al*., 2011; Sadeghi *et al*., 2017). درحالی‌که ادامه این روند ممکن است سبب کاهش سطح این آنزیم‌ها در بافتهای مختلف از جمله کبد گردد ( Smet and Blust, 2001)، که این امر ممکن است بیانگر آسیب وارده به سلول‌ها و یا اختلال در روند سنتز این آنزیم‌ها در سلول‌ها باشد. به طوری که در مطالعه حاضر مقادیرAST ، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد در شرایط آزمایشگاهی، نشان داد و در شرایط محیطی روند یکنواختی نسبت به آلودگی سرب مشاهده نشد. این نتایج با نتایج Crestani و همکاران (۲۰۰۶)، که کاهش معنی‌داری در میزان AST سرم گربه‌ماهی پس از ۹۲ ساعت مشاهده کردند. هم سو بود.

به طورکلی، پارامترهای گلوگز، کورتیزول و ALT، یک همبستگی مثبت و معنی‌دار و پارامترهای پروتئین کل و ایمنوگلوبین M یک همبستگی منفی و معنی‌دار با آلودگی سرب کبد گاوماهیان در شرایط آزمایشگاهی نشان داد و در شرایط محیطی، آنزیم ALT یک همبستگی مثبت و معنی‌داری با آلودگی سرب کبد گاوماهیان در حالی که مقادیر پروتئین کل و گلوکز خون یک همبستگی منفی و معنی‌داری با آلودگی سرب کبد گاوماهیان نشان داد. در نهایت پارامترهای پروتئین کل و ALT به دلیل همبستگی یکسان با سرب تجمع یافته در کبد در هر دو شرایط، به عنوان بیومارکرهای بیوشیمیایی آلودگی سرب در گاوماهی لکه‌دار معرفی گردید.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مقاله، تقدیر و تشکر صمیمانه خود را از مسئولین محترم آزمایشگاه بخش آبزی پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان اعلام می‌دارند.

## منابع

Abdel-Warith, A.A., Younis, E.M., Al-Asgah, N.A., Rady, A.M., Allam, H.Y. 2020. Bioaccumulation of lead nitrate in tissues and its effects on hematological and biochemical parameters of *Clarias gariepinus*. Saudi Journal of Biological Sciences. In Press.

Agrahari, S., Gopal, K. 2009. Fluctuations of certain biochemical constituents and markers enzymes as a consequence of monocrotophos toxicity in the edible freshwater fish, *Channa punctatus*. Pesticide Biochemistry and Physiology. 94: 5-9.

Al-Ghadban, A.N., Massoud, M.S., Al-Abdali, F. 1996. Bottom sediments of the Persian Gulf: I. sedimentological characteristics. Kuwait Journal of Science & Engineering. 23(1): 69-87.

Atli, G., Ariyurek, S.Y., Kanak, E.G., Canli, M. 2015. Alterations in the serum biomarkers belonging to different metabolic systems fish (*Oreochromis niloticus*) after Cd and Pb exposures. Environmental Toxicology and Pharmacology. 40(2): 508-515.

Atli, G., Canli, M. 2007. Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish *Oreochromis niloticus*. Comparative Biochemistry and Physiology. 145(2): 282-287.

Ballesteros, M.L., Rivetti, N.G., Morillo, D.O., Bertrand, L., Ame, M.V., Bistoni, M.A. 2017. Multi-biomarker responses in fish (*Jenynsia multidentata*) to assess the impact of pollution in rivers with mixtures environmental contaminants. Science of the Total Environment. 595: 711-722.

Banaee, M., Mirvagefei, A., Rafei, G., Majazi Amiri, B. 2008. Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. International Journal of Environmental Research. 2(2): 189-198.

BelaZutshi, S.G., RaghuPrasad, R. 2010. Alteration in hematology of *Labeo rohita* under stress of pollution from Lakes of Bangalore, Karnataka, India. Environmental Monitoring and Assessment. 168(1-4): 11-19.



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

Bernet, D., Schmidt, H., Wahli, T., Burkhardt-Holm, P. 2001. Effluent from a sewage treatment works causes changes in serum chemistry of brown trout (*Salmo trutta L.*). Ecotoxicology and Environmental Safety. 48(2): 140-147.

Bonga, W.S.E. 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews. 77(3): 591-625.

Canli, E.G., Canli, M. 2015. Low water conductivity increases the effects of copper on the serum parameters in fish (*Oreochromis niloticus*). Environmental Toxicology and Pharmacology. 39(2): 606-613.

Canli, M. 1996. Effects of mercury, chromium, and nickel on glycogen reserves and protein levels in tissues of *Cyprinus carpio*. Turkish Journal of Zoology. 20(2): 161-168.

Ciftci, N., Cicik, B., Erdem, C., Ay, O. 2008. Effects of lead concentrations on sera parameters and hematocrit levels in *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758). Fish Science Journal. 2(4): 616-622.

Corkum, L.D., Sapota, M.R., Skora, K.E. 2004 .The round goby, *Neogobius melanostomus*, a fish invader on both sides of the Atlantic Ocean. Biological Invasions. 6(2): 173-181.

Crestani, M., Menezes, C., Glusczak, L., Miron, D., Lazzari, R., Duarte, M.F., Morsch, V.M., Pippi, A.L., Vieira, V.P. 2006. Effects of Clomazone Herbicide on hematological and some parameters of protein and carbohydrate metabolism of silver catfish *Rhamdia quelen*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 65(1): 48-55.

Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. 2008. The Toxicology of Fishes. CRC Press. 1101 p.

Do, J.W., Saravanan, M., Nam, S.E., Lim, H.J., Rhee, J.S. 2019. Waterborne manganese modulates immunity, biochemical, and antioxidant parameters in the blood of red seabream and black rockfish. Fish and Shellfsh Immunology. 88: 546-555.

El-Sayed, Y.S., Saad, T.T. 2008. Subacute intoxication of deltamethrin-based preparation (Butox® 5% EC) in monosex Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus L*. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. 102(3): 293-299.

Gad, S.C. 2007. Animal models in toxicology. CRC Press. 950 p.

Gholizadeh, M., Patimar, R. 2018. Ecological risk assessment of heavy metals in surface sediments from the Gorgan Bay, Caspian Sea. Marine Pollution Bulletin. 37: 662-667.

Hassan, W., Abdullah, S., Afzal, M., Hussain, M. 2018. Assessment of acute metals toxicity in *catla catla* through hematological and biochemical blood markers. Pakistan Journal of Agricultural Science. 55(2):449-454.

Haussmann, M.F., Vleck, C.M., Farrar, E.S. 2007. A laboratory exercise to illustrate increased salivary cortisol in response to three stressful conditions using competitive ELISA. Advances in Physiology Education. 31(1): 110-115.

Hesp, S.A., Potter, I.C., Hall, N.G. 2004. Reproduction biology and protandrous hermaphroditism in *Acanthopagrus latus*. Environmental Biology of Fishes. 70(3): 252-272.

Holdway, D.A. 1996. The role of biomarkers in risk assessment. Human and Ecological Risk Assessment. 2(2): 263-267.

Iwama, G.K., Vijayan, M.M., Forsyth, R.B., Ackerman, P.A. 1999. Heat shock proteins and physiological stress in fish. American Zoologist. 39(6): 901-909.

Karaytug, S., Karayakar, F., Ciftci, N., Cicik, B. 2010. Effects of cadmium on sera glucose and cortisol levels in *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). Journal of Animal and Veterinary Advances. 9(16): 2159-2162.

Khalesi, M.K., Abedi, Z., Behrouzi, S., Kohestani Eskandari, S. 2016. Original article Hematological, blood biochemical and histopathological effects of sublethal cadmium and lead concentrations in Common Carp. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. 1(2): 2-10.

Kim, J.H., Kang, J.H. 2015. The lead accumulation and hematological findings in juvenile rock fish *Sebastes schlegelii* exposed to the dietary lead (II) concentrations. Ecotoxicology and Environmental Safety. 115: 33-39 .

Kim, S.G., Park, D.K., Jang, S.W., Lee, J.S., Kim, S.S., Chung, M.H. 2008. Effects of dietary benzo[a]pyrene on growth and hematological parameters in juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 81(5): 470-474.

Mekkawy, I.A.A., Mahmoud, U.M., Wassif, E.T., Naguib, M. 2011. Effects of cadmium on some haematological and biochemical characteristics of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

dietary supplemented with tomato paste and vitamin E. Fish Physiology and Biochemistry. 37(1): 71-84.

Monteiro, V., Cavalcante, D.G.S.M., Vilela, M.B.F.A., Sofia, S.H., Martinez, C.B.R. 2011. In vivo and in vitro exposures for the evaluation of the genotoxic effects of lead on the neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*. Aquatic Toxicology. 104: 291-298.

Nelson J. 2006. Fishes of the world. department of biological sciences. University of Alberta, Edmonton. Alberta, T6G2E9, Canada. 601p.

Nelson, D.L., Cox, M.C. 2005. Lehninger principles of biochemistry. 4th edition., W.H. Freeman and Company. New York. 1013 p.

Olesen, N., Jand Jorgensen, P.E.V. 1986. Quantification of serum immunoglobulin in Rainbow trout *Salmo gairdneri* under various environmental conditions. Diseases of Aquatic Organisms. 1: 183-189.

Oner, M., Atli, G., Canli, M. 2008. Changes in serum biochemical parameters of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures. Environmental Toxicology and Chemistry. 27(2): 360-366.

Pratap, H.B., Wendelaar Bonga, S.E.W. 1990. Effects of waterborne cadmium on plasma cortisol and glucose in the cichlid fish, *Oreochromis mossambicus*. Comparative Biochemistry and Physiology PartC:Comparative Pharmacology. 95(2): 313-317.

Rajaei, Q., Hasanpour, M., Mehdinejad, M.H. 2012. Heavy metals concentration (zinc, lead, chrome and cadmium) in water and sediments of Gorgan Gulf and estuarine Gorganroud River, Iran. Health System Research. 8(5): 748-756. (in Persian).

Reid, S.G., Bernier, N.J., Perry, S.F. 1988. The adrenergic stress response in fish: control of catecholamine storage and release. Comparative Biochemistry and Physiology Part C. 120(1): 1-27.

Reitman, S., Frankel, S. 1957. A colorimetric method for the determination ofoxaloacetic acid glutmic pyruvic transaminase. American Journal of Clinical Pathology. 28: 53-56.

ROPME, Manual of Oceanographic Observation and Pollutant Analysis Methods (MOOPAM). Regional Organization for the Protection of the Marine Environment, Kuwait, 1999.

Sadeghi, P., Attaran Fariman, G., Kasalkhe, N. 2017. Evaluation the effects of sub-lethal concentrations of zinc chloride on hepatic enzymes activity in grey mullet (*Mugil Cephalus*) in vitro. Journal of Aquatic Ecology. 6(4):117-123. (in Persian)

Saha, S., Kaviraj, A. 2009. Effects of cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation of ascorbic acid in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. Chemosphere. 74(9): 1254-1259.

Sakr, S.A., Al lail, J.S.M. 2005. Fenvalerate induced histopathological and histochemical changes in the liver of the catfish *Clarias Gariepinus*. Journal of Applied Sciences Research. 1(3): 263-267.

Sastry, K.V., Rao, D.R. 1984. Effects of mercuric chloride on some biochemical and physiological parameters of the freshwater murrel *Channa punctatus*. Environmental Research. 34(2): 343-350.

Schlenk, D., Benson,W. 2001. Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts.Volume 2. Taylor & Francis. 225p.

Sharaf-Eldeen, K.h, Abdel-Hamid, N. 2002. Sublethal effects of copper sulfate, malathion and paraquat on protein pattern of *Oreochromis niloticus.* Egyptian Journal Aquatic Biology. 6(2): 167-182.

Siwicki, A.K., Anderson, D.P. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish II; Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. Wydawnictwo Instytutu Rybactwa Strodladowegos, Olsztyn, Poland. pp: 105-112.

Smet, H., Blust, R. 2001. Stress responses and changes in protein metabolism in carp *Cyprinus carpio* during Cadmium Exposure. Ecotoxicology and Environmental Safety. 48(3): 255-262.

Stepanova, T.G. 2001. Some feature of repruduction and growth of gobies in the northern Caspian. In: Ecology of young fish and problems of caspian fish reproduction. VNIRO, Moscow, pp: 268-276.



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]

Teles, M., Pacheco, M., Santos, M.A. 2003. *Anguilla anguilla* L. liver EROD, GST, erythrocytic nuclear abnormalities and endocrine responses to naphthalene and β-naphthoflavone. Ecotoxicology and Environmental Safety. 55(1): 98-107.

Wendelaar Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews. 77(3): 591-625.

West, T.G., Arthur, P.G., Suarez, R.K., Doll, C.J., Hochachka, P.W. 1993. Invivo utilization of glucose by heart and locomotory muscles of exercising rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The Journal of Experimental Biology. 177: 63-79.

Wu, S.M., Shih, M.J., Ho, Y.C. 2007. Toxicological stress response and cadmium distribution in hybrid tilapia (*Oreochromis sp.*) upon cadmium exposure. Comparative Biochemistry and Physiology Part C. 145(2 ): 218-226.

Zaki, M.S., Fawzi, O.M., Mostafa, S.O, Awad, I., Fawzy, M. 2010. Biochemical studies on *Tilipia Nilotica* exposed to climate change and cadmium sulphate (0.50 ppm). New York Science Journal. 3(4): 90-95.

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.1.8.4 ]