مجله بوم شناسی آبزیان

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

تأثیر پساب تصفیه‌شده صنایع کاغذسازی پارس (خوزستان) بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی کبد ماهی کولی (*Alburnus mossulensis*)

بهزاد نعمت دوست حقی*، مهدی بنایی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء (ص) بهبهان

نوع مقاله:
کوتاه

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۳/۱۲/۰۵
اصلاح: ۹۴/۰۱/۰۷
پذیرش: ۹۴/۰۳/۱۳

کلمات کلیدی:
پساب
کاغذسازی
ماهی کولی

چکیده

در این مطالعه تأثیرات پساب تصفیه شده کاغذسازی پارس خوزستان (به نسبت ۰/۵ و ۱٪) بر فاکتورهای بیوشیمیایی کبد ماهی کولی (*Alburnus mossulensis*) طی ۲۱ روز بررسی شد. افزایش معنی‌دار ($p <$ ۰/۰۵) سطح آسپارتات آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز و کراتین فسفوکیناز در کبد ماهی‌های در معرض پساب در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. درحالی‌که سطح آلانین آمینوترانسفراز ماهی‌های تحت تیمار پساب ۱٪ و همچنین سطح آلکالین فسفاتاز و پروتئین کل بافت به طور معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۵) کمتر از ماهی‌های گروه کنترل بود. نتایج نشان داد ورود پساب تصفیه شده کاغذسازی پارس به آب‌های سطحی می‌تواند سلامت آبزیان را به خطر اندازد.

مقدمــه

تخلیه پساب صنایع خمیر کاغذ و کاغذسازی حاوی مقادیر متنابهی مواد آلی و معدنی بالا، مشتقات هالوژن‌های آلی، شوینده‌های شیمیایی، ترکیبات اسیدی و بازی، فلزات سنگین، فوران‌ها، دی‌اکسین‌ها، سیانیدها، سولفیدها و همچنین دی‌کلروگویکول، تتراکلروگویکول (Zahrim *et al*., 2007) به آب‌های سطحی می‌تواند سبب مرگ و میر ماهی‌ها (Pathan *et al*., 2009)، تغییرات رفتاری (Mishra *et al*., 2011)، کاهش نرخ تفریخ، تغییرات ریختی در جنین و بچه ماهی‌ها (Tyor *et al*., 2012)، کاهش نرخ رشد (Baer *et al*., 2009)، سرکوب سیستم ایمنی، کم‌خونی و تغییر شاخص‌های خون‌شناسی (Ukagwu *et al*., 2012)، جهش ژنتیکی و اختلالات کروموزومی (Malik *et al*., 2009)، ناهنجاری‌های تولیدمثلی و هورمونی (Sepúlveda *et al*., 2009)، تغییرات آسیب‌شناسی بافتی (Pathan *et al*., 2010) و همچنین تغییر فاکتورهای بیوشیمیایی خون (Jeney *et al*., 2002) گردد.

پساب کارخانه کاغذسازی پارس پس از تصفیه اولیه به آب‌های سطحی منطقه تخلیه می‌شود. اما سطح تصفیه پساب این کارخانجات اختلاف معنی‌داری با استانداردهای بین‌المللی محیط‌زیست دارد (Kamiab and Hasani, 2012; Babaie *et al*., 2008). ازاین‌رو تخلیه پساب این صنایع تحت چنین شرایطی می‌تواند صدمات جبران ناپذیری به محیط‌زیست به‌ویژه به جانوران ساکن در

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: bnematdoost@yahoo.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.15.3]

اکوسیستم‌های آبی وارد کند. لذا این مطالعه به منظور درک بیشتر آسیب‌های بیوشیمیایی وارده به یکی از ماهی‌های بومی رودخانه‌های در معرض آلودگی به فاضلاب صنایع چوب و کاغذ انجام شده است. در این تحقیق سطح تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی کبد ماهی کولی (*Alburnus mossulensis*)، به عنوان یکی از گونه‌های بومی رودخانه‌های خوزستان، در معرض نسبت‌های مختلف پساب کارخانه کاغذسازی پارس خوزستان مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

به منظور انجام این تحقیق، ۱۸۰ قطعه ماهی کولی (*A. mossulensis*) با میانگین وزنی ۱/۶۰±۷/۳۶ گرم از رودخانه مارون صید و در ۹ آکواریوم ۸۰ لیتری مجهز به هواده توزیع شدند. پس از سازگاری ماهی‌ها با شرایط آزمایشگاهی (دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد، pH:۷/۴± ۰/۲، دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و با نرخ تعویض ۴۰ درصد در روز)، ماهی‌ها در قالب ۳ تیمار (هر یک با ۳ تکرار) شامل گروه کنترل، دو گروه آزمایشی که به ترتیب حاوی ۰/۵٪ و ۱٪ (معادل نسبت ۱۰ و ۲۰ درصد دامنه‌ای از غلظت LC_{50} ۹۶ ساعت پساب صنایع خمیر و کاغذ سازی (Mishra *et al*., 2011)) از پساب تصفیه‌شده کارخانه کاغذسازی پارس خوزستان، به مدت ۲۱ روز تحت آزمایش قرار گرفتند. ماهی‌ها در دوره سازگاری و نیز دوره آزمایش با جیره تجاری مخصوص ماهی‌های آکواریومی و نیز کرم خونی (شیرونومیده) به نسبت برابر و معادل ۲ درصد وزن بدن ماهی‌ها، تغذیه گردیدند. ماهی‌ها در پایان دوره آزمایشی صید شدند و پس از کالبد شکافی کبد آنها خارج گردید. پس از شستشوی کبد ماهی‌ها با سرم فیزیولوژی، نمونه‌ها همراه با بافر فسفات (۰/۰۴۱ مول بر لیتر فسفات سدیم و ۰/۰۲۶ مول بر لیتر فسفات پتاسیم، با pH: ۷/۴) به نسبت ۱ به ۱۰ هموژن گردید. سپس نمونه‌های هموژن شده در دمای ثابت ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی جهت آنالیز بیوشیمیایی جمع‌آوری و تا زمان آزمایش در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

فاکتورهای بیوشیمیایی

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی با استفاده از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون و با دستگاه اسپکتروفتومتری UV/Vis (مدل ۲۱۰۰ یونیکو آمریکا) صورت گرفت. سطح فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز بر اساس مقدار مصرف NADPH و تبدیل آن به +NAD در طول موج ۳۴۰ نانومتر، سطح لاکتات دهیدروژناز بر اساس تبدیل پیروات به لاکتات در طول موج ۳۴۰ نانومتر، سطح آلکالین فسفاتاز بر اساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نیتروفنول و فسفات و در طول موج ۴۰۵ نانومتر، سطح کراتین فسفوکیناز نیز بر اساس تبدیل کراتین‌فسفات به کراتین در طول موج ۳۴۰ نانومتر تعیین و بر اساس میزان جذب نوری OD و فرمول ارائه‌شده در دستورالعمل کیت‌ها محاسبه گردید (Moss and Henderson, 1999). سطح فعالیت آنزیم‌ها در نهایت بر اساس گرم پروتئین بافت بیان‌شده است. سطح پروتئین تام بر اساس واکنش بایوره و در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Johnson *et al*., 1999).

تجزیه و تحلیل آماری

آزمون نرمال بودن داده‌ها بر اساس آزمون شاپیرو - ویلک با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22 انجام شد. تجزیه تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ (α = ۰/۰۵) صورت گرفت.

نتایـج

در طول دوره آزمایش مرگ و میری در بین ماهی‌های تحت تیمار پساب تصفیه‌شده کارخانه کاغذسازی پارس و گروه کنترل مشاهده نگردید؛ اما میل و رغبت ماهی‌های تحت تیمار پساب به سمت غذا کاهش یافت.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.15.3]

در این مطالعه سطح آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز و کراتین‌فسفوکیناز در کبد ماهی‌های در معرض ۰/۵٪ و ۱٪ پساب به طور معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۵) افزایش نشان داد. در حالی‌که سطح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در ماهی‌های تحت تیمار ۱٪ پساب تصفیه‌شده کارخانه کاغذسازی پارس به طور معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۵) کمتر از سطح این آنزیم در کبد ماهی‌های گروه کنترل است. تماس ماهی‌ها با پساب تصفیه‌شده کارخانه کاغذسازی پارس سبب کاهش معنی‌دار ($p <$ ۰/۰۵) سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز و پروتئین کل بافت کبد گردید (جدول ۱).

جدول ۱. تغییر فاکتورهای بیوشیمیایی کبد ماهی کولی تحت تیمار پساب تصفیه‌شده کارخانه کاغذسازی پارس خوزستان

فاکتورهای بیوشیمیایی کبد	گروه‌های مختلف آزمایشی		
	گروه کنترل	۰/۵٪ پساب	۱٪ پساب
آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد بین‌المللی بر گرم پروتئین بافت)	۲/۲۳±۰/۲۹	۳/۹۰±۱/۲۷*	۴/۵۰±۱/۳۸*
آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (واحد بین‌المللی بر گرم پروتئین بافت)	۰/۶۶±۰/۱۰	۰/۵۹±۰/۱۵	۰/۴۳±۰/۰۹*
آنزیم لاکتات دهیدروژناز (واحد بین‌المللی بر گرم پروتئین بافت)	۲/۷۴±۰/۶۱	۳/۴۹±۰/۵۸*	۳/۸۲±۰/۷۷*
آنزیم آلکالین فسفاتاز (واحد بین‌المللی بر گرم پروتئین بافت)	۱۳/۱۴±۱/۸۵	۶/۷۲±۲/۲۹*	۸/۸۰±۲/۹۷*
آنزیم کراتین فسفوکیناز (واحد بین‌المللی بر گرم پروتئین بافت)	۴/۶۵±۱/۰۲	۶/۳۶±۱/۶۴*	۶/۵۳±۱/۲۳*
پروتئین بافت (گرم بر دسی‌لیتر)	۹/۵۸±۱/۲۶	۷/۸۶±۱/۶۰*	۷/۷۵±۱/۴۵*

- اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مختلف آزمایشی با گروه کنترل با ستاره (*) مشخص شده است.

بحث

افزایش سطح آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در کبد ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف پساب تصفیه‌شده، ممکن است حاکی از افزایش ترانس‌آمیناسیون و افزایش نرخ تجزیه پروتئین بافت کبد به منظور تأمین انرژی (تولید ATP) جهت مقابله با تأثیرات سمی ترکیبات بازمانده در پساب تصفیه شده باشد. افزایش فعالیت این آنزیم، نقش مؤثری در استفاده از اسیدهای آمینه در فرایند اکسیداسیون یا گلیکوژنز بازی می‌کند (Murray *et al*., 2003). افزایش سطح آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در بافت کبد ماهی *Channa punctatus* و پلاسمای *Rutilus rutilus* ساکن آب‌های آلوده به پساب کارخانه کاغذسازی گزارش شده است (Jeney *et al*., 2002; Shahi *et al*., 2013).

کاهش معنی‌دار سطح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در ماهی‌های در معرض بیشترین سطح پساب ممکن است نشان‌دهنده کاهش سطح سنتز این آنزیم و نیز افزایش نرخ مرگ سلولی باشد. زیرا در چنین شرایطی در اثر استرس پراکسیداسیون لیپیدی، ممکن است غشای سلولی از بین رفته و بخش اعظم آنزیم‌های درون‌سلولی آزاد شده و وارد خون یا مایع بین سلولی گردد. از سوی دیگر در اثر مرگ سلول‌ها نیز ممکن است سطح سنتز آنزیم‌ها در بافت هدف کاهش چشمگیری یابد. کاهش سطح آلکالین فسفاتاز ممکن است بیانگر آسیب وارد به سلول‌های مجاری صفراوی باشد. تخریب سلول‌های مجاری صفراوی می‌تواند دفع سموم از طریق صفرا را نیز تحت تأثیر قرار دهد. این در حالی است که سطح آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در بافت کبد ماهی

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.15.3]

C. punctatus و در پلاسمای ماهی *R. rutilus* تحت تیمار آب‌های آلوده به پساب کارخانه کاغذسازی به طور معنی‌داری افزایش یافته است (Jeney *et al*., 2002; Shahi *et al*., 2013).

افزایش سطح آنزیم لاکتات دهیدروژناز شاخصی از قرار داشتن موجود در شرایط استرس‌زا تلقی است. در چنین شرایطی تنفس هوازی سلولی به تنهایی نمی‌تواند نیاز سلول‌ها به انرژی جهت برقراری هموستازی و تعادل بیوشیمیایی سلولی را مرتفع نماید. به همین دلیل سلول تلاش می‌کند تا از طریق بی‌هوازی روند کاتابولیسم گلیکوژن و گلوکز را به سمت تشکیل لاکتات پیش برد تا از این طریق بخشی از نیاز خود را به انرژی تأمین کند. از این‌رو افزایش لاکتات زمینه را برای افزایش سطح فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز مهیا می‌کند. مشابه این تغییرات در بافت‌های مختلف ماهی‌های *A. mossulensis*، نیز مشاهده شده است (Banaee *et al*., 2014).

افزایش سطح آنزیم کراتین‌فسفوکیناز در ماهی‌های تحت تیمار پساب تصفیه شده یکی دیگر از مکانیسم‌های تأمین انرژی از طریق فسفوریلاسیون کراتین و سنتز کراتین‌فسفات در پاسخ به افزایش انرژی‌خواهی سلولی در طی هموستازی است. کراتین‌فسفات نیز نقش بسزایی در سنتز مجدد مولکول پرانرژی آدنوزین تری‌فسفات از آدنوزین دی‌فسفات دارد (Murray *et al*., 2003).

کاهش سطح پروتئین کل بافت کبد در ماهی‌های تحت تیمار پساب تصفیه‌شده ممکن است نشان‌دهنده افزایش نرخ تجزیه پروتئین بافت کبد،کاهش نرخ تغذیه و حتی سوءتغذیه به دلیل کاهش کارایی سیستم گوارشی در هضم و بهره‌وری از مواد غذایی و پروتئینی جیره غذایی نیز باشد. کاهش سطح پروتئین بافت کبد در ماهی *C. punctatus*، *Oreochromis mossambicus* و *A. mossulensis* و پروتئین تام پلاسمای ماهی *R. rutilus* در مواجهه با آب‌های آلوده به پساب کارخانه کاغذسازی و دیگر آلاینده‌ها مشاهده شده است (Jeney *et al*., 2002; Kumar *et al*., 2011; Shahi *et al*., 2013; Banaee *et al*., 2014).

استفاده از شاخص‌ها و پارامترهای بیوشیمیایی در ماهی‌ها می‌تواند به عنوان یک شاخص زیستی در ارزیابی سلامت اکوسیستم و کیفیت آب مفید باشد. اگرچه ظاهراً پساب تصفیه‌شده کارخانه کاغذسازی پارس خوزستان قابل تخلیه به آب‌های سطحی به نظر می‌رسد، اما نتایج این تحقیق نشان داد که ورود این پساب به آب‌های سطحی می‌تواند سلامت آبزیان را به خطر اندازد.

منابـع

Babaie, F., Chhar Soghi Amin, H., Faraj Pour, A., Maleki, A. 2008. Evaluation of quantitative and qualitative characteristics of cellulose and pulp industry waste and different methods of treatment. Second Environmental Engineering Conference. (in Persian).

Baer, K.N., Bankston, C.R., Mosadeghi, S., Schlenk, D. 2009. The effects of pulp and paper mill effluent on physiological and hematological endpoints in fingerling largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Drug and Chemical Toxicology. 32(1): 59-67.

Banaee, M., Sureda, A., Zohiery, F., Nematdoust Haghi, B., Garanzini, D.S. 2014. Alterations in biochemical parameters of the freshwater fish, *Alburnus mossulensis*, exposed to sub-lethal concentrations of Fenpropathrin. International Journal of Aquatic Biology. 2(2): 58-68.

Jeney, Z., Tellervo-Valtonen, E., Jeney, G., Jokinen, E.L. 2002. Effect of pulp and paper mill effluent (BKME) on physiological parameters of roach, (*Rutilus rutilus*) infected by digenean *Rhipidocotyl fennica*. Folia Parasitilogica. 49: 103-108.

Johnson, A.M., Rohlfs, E.M., Silverman, L.M. 1999. Proteins. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (eds). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 477-540.

Kamiab Veskeh, A., Hasani, A.H. 2012. Assessment of performance of wastewater treatment systems of wood and paper mill industry of Iran, Chuka. First national conference on water and industrial wastewater treatment. (in Persian).

Kumar, N., Antony Jesu Prabhu, P., Pal, A.K., Remya, S., Aklakur, M.d., Rana Subodh Gupta, R.S.,

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.15.3]

Raman, R.P., Jadhao, S.B. 2011. Anti-oxidative and immuno-hematological status of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during acute toxicity test of endosulfan. Pesticide Biochemistry and Physiology. 99: 45-52.

Malik, M.K., Kumar, P., Seth, R., Rishi, S. 2009. Genotoxic effect of paper mill effluent on chromosomes of fish *Channa punctatus.* Current World Environment. 4(2): 353-357.

Mishra, A., Tripathi, C.P.M., Dwivedi, A.K., Dubey, V.K. 2011. Acute toxicity and behavioral response of freshwater fish, *Mystus vittatus* exposed to pulp mill effluent. Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology. 3(6): 167-172.

Moss, D.V., Henderson, A.R. 1999. Clinical enzymology In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (eds.). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company. pp. 617-721.

Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. 2003. Harper's Illustrated Biochemistry, 26th edition. Lange Medical Books/McGraw-Hill (Medical Publishing Division). New York. 402 p.

Pathan, T.S., Thate, P.B., Shinde, S.E., Sonawane, D.L. 2010. Histopathological effects of paper mill effluent in liver and kidney of a fresh water fish, *Rasbora daniconius*. Research Journal of Biological Sciences. 5(5): 389-394.

Pathan, T.S., Sonawane, D.L., Khillare, Y.K. 2009. Toxicity and behavioural changes in freshwater fish *Rasbora daniconius* Exposed to Paper Mill effluent. Journal of Biotechnology Research International. 2(4): 263-266.

Sepúlveda, M.S., Quinn, B.P., Denslow, N.D., Holm, S.E., Gross, D.S. 2009. Effects of pulp and paper mill effluents on reproductive success of Largemouth Bass. Environmental Toxicology and Chemistry. 22(1): 205-213.

Shahi, J., Chauhan, S., Singh, A. 2013. Effect of Kraft pulp and paper mill effluents (BKME) on the biochemical and hematological parameters of fish *channa punctatus*. World Journal of Fish and Marine Science. 5(5): 556-662.

Tyor, A.K., Fulia, A., Sharma, R.K. 2012. Anomalies in *Cyprinus carpio* larvae exposed to papermill effluent. Journal of Biological Sciences. 12(5): 321-326.

Ukagwu, J.I., Onuoha, G.U.C., Chude, L.A. 2012. Haematological changes in juvenile catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to pulp and paper mill effluent under field condition in Imo River Owerrinta, Abia State. Nigerian Journal of Agriculture, Food and Environment. 8(1): 86-93.

Zahrim, A.Y., Gilbert, M.L., Janaun, J. 2007. Treatment of pulp and paper mill effluent using Photo-fenton's process. Journal of Applied Science. 7(15): 2164-2167.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.15.3]