

"مقاله پژوهشی"

اثرات تجمع فلزات سنگین نیکل و سرب بافت عضله ماهی باس دریایی پرورشی (*Lates calcarifer*) و سنجش آنزیم‌های کبدی

سیامک یوسفی سیاه‌کلرودی^۱، وحید مرشدی^۲، تبارک ضیاء نورعلی الموسوی^۳، پرستو محبی درخش^۴،

مهیار یوسفی سیاه‌کلرودی^{۵*}

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، پیشوا، ایران

۲- گروه شیلات و زیست‌شناسی دریا، پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۵- گروه دامپزشکی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۶/۲۹

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی و شناسایی اثرات فلزات سنگین نیکل و سرب بر فیزیولوژی ماهی باس دریایی پرورشی با تاکید بر سطوح آنزیمی و سنجش فلزات سنگین (سرب، نیکل) در بافت عضله ماهی باس دریایی پرورشی در قفس انجام گرفته است. این پژوهش در پاییز ۱۴۰۱، در استان بوشهر، منطقه کنگان انجام شد. نمونه‌ها پس از تثبیت با الکل، به آزمایشگاه منتقل گردیدند و شاخص‌های زیست‌سنجی شامل وزن و طول کل، اندازه‌گیری شد. سپس از بافت‌های عضله هر قطعه ماهی، نمونه‌ای تهیه و توسط دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی شعله (FAAS) میزان غلظت فلزات سنگین به دست آمد. برای مطالعه آسیب‌های بافتی، نمونه‌های بافت عضله جداسازی و مراحل پاساژ بافتی شامل آبیگری، شفاف‌سازی و آغشتگی توسط دستگاه پاساژ بافت یا هیستوکیئت و تحت برنامه زمان‌بندی شده انجام و به روش H&E رنگ‌آمیزی شدند و درصد تاثیر هر یک از فلزات سنگین به صورت جداگانه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سنجش آنزیم‌های آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز نیز با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و براساس دستورالعمل کیت انجام گردید. نتایج نشان داد که میانگین غلظت فلزات نیکل و سرب در بافت عضله به ترتیب ۱/۳ و ۰/۸ قسمت در میلیون بود. میانگین غلظت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز ۳۷/۶۶، آلانین آمینوترانسفراز ۷۵/۱۶ و آمینوترانسفراز ۴۷/۱۶ واحد استاندارد در لیتر به دست آمد. در بررسی اثر فلزات سنگین بر بافت عضله ماهی باس دریایی پرورشی عوارضی هم‌چون سلول‌های آماسی، ملانوماکروفاز، تخریب فیبرهای عضلانی و آتروفی عضلانی مشاهده شد. نتایج این پژوهش نشان داد که میانگین غلظت فلزات سنگین نیکل و سرب در بافت عضله ماهی سی باس آسیایی مورد مطالعه، بالاتر از استانداردهای WHO و FAO است به طوری که این فلزات اثر مخربی بر بافت عضله داشتند.

کلمات کلیدی: باس دریایی پرورشی، تجمع زیستی، نیکل، سرب، کبد

مقدمه

اکوسیستم آبی به دلیل انتشار مداوم پسماندهای صنعتی به طور معمول و به طور گسترده آلوده است. لذا برای اندازه گیری اثرات نامطلوب آلاینده های مختلف آبی، ماهی ها به عنوان یک شاخص زیستی خوب در نظر گرفته می شوند و همه علائم غیرطبیعی را حتی در سطوح بسیار کم مواد سمی در اکوسیستم های آبی منعکس می کنند (Ding et al., 2000; Ghazanfar et al., 2018 and Ghaffar et al., 2020). حضور آلاینده هایی نظیر فلزات سنگین در محیط های دریایی منجر به تجمع بالقوه آنها در موجودات دریایی شده که از طریق زنجیره غذایی به انسان منتقل می شود (شهریاری و همکاران، ۱۳۸۹). نظر به این که ماهیچه های ماهی نقش اصلی را در تغذیه انسان دارند، اطمینان از سلامت گوشت ماهی به لحاظ فلزات سنگین از اهمیت ویژه ای برخوردار است (Carvalho et al., 2005). میزان تجمع فلزات سنگین در آبزیان باهم اختلاف بسیاری دارد و این عدم مشابهت، وابستگی زیادی به نوع گونه، نوع تغذیه ماهی و نوع محیط های زندگی آنها دارد (Ria, 2009). این فلزات با ورود به منابع آبی از طریق فرآیندهای مختلف، به صورت آزاد درآمده و با تجمع زیستی در جانداران کفزی به سطوح بالاتر مسیر زنجیره غذایی انتقال یافته و بر مقدارشان افزوده (بزرگ نمایی زیستی) می گردد (Canli and Kalay, 1998). بیش تر تحقیقات صورت گرفته بر روی سنجش غلظت تجمع فلزات سنگین در بدن ماهی ها به مطالعه عضله یا بافت خوراکی پرداخته اند (Azaman et al., 2015) زیرا به لحاظ نقش موثر آن در سلامت تغذیه ای مصرف کنندگان، دارای اهمیت قابل ملاحظه ای می باشد (Castilhos et al., 2006).

هم چنین لزوم تعیین میزان غلظت این فلزات در بافت عضله علاوه بر وجود نقش عمده ای که در زنجیره غذایی انسان ها و دیگر گونه ها ایفا می کنند، به عنوان نوعی نشانگر زیستی نیز محسوب شده و مقدار سطح تقریبی این عناصر در محیط زیست ماهی ها را نیز مشخص می کند (Birungi et al., 2007). به همین جهت در این پژوهش، عضله که یکی از ارزشمندترین بخش های خوراکی ماهی ها محسوب می شود (Venugopal and Shahidi, 1996) به عنوان بافت هدف آزمایش، انتخاب گردید.

فلز نیکل و فلز سرب دارای اثرات سمی بر بافت های مختلف بدن هستند و به عنوان آلاینده های مهم محیط زیست به شمار می روند. اختلالات و تغییر در عملکرد بیوشیمیایی بسیاری از بافت ها تحت تاثیر این دو فلز مشاهده شده است. به طور کلی حضور این فلزات در اکوسیستم های آبی در دراز مدت منجر به افزایش آنزیم های اکسیداتیو و آسیب های بافتی شده و همچنین با توجه به تجمع این فلزات در بدن و انتقال آنها به مصرف کننده بعدی از جمله انسان می تواند عوارض غیرقابل جبرانی را ایجاد کند. بنابراین ضروری است تا آلودگی اکوسیستم های آبی ناشی از فلزات سنگین به طور دائم کنترل و پایش شوند. به طور کلی حضور این فلزات در اکوسیستم های آبی در دراز مدت منجر به کاهش توان تولیدمثلی آبزیان، مشکلات تنفسی، عصبی و غیره شده و هم چنین با توجه به قابلیت تجمع این فلزات در بدن و انتقال آنها به مصرف کنندگان بعدی از جمله انسان می تواند عوارض غیرقابل جبرانی را ایجاد نماید (El-Greisy and El-Gamal, 2015). بنابراین، ضروری است تا آلودگی اکوسیستم های آبی ناشی از فلزات سنگین به طور دائم کنترل و پایش شوند.

آنزیم‌های آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) نقش بسیار مهمی در فرآیندهای متابولیک بدن و سلامت ماهیان داشته و به‌عنوان نشانگرهای زیستی مناسب در مطالعات سم‌شناسی معرفی شده‌اند (Beninca et al., 2011; Senger et al., 2011). این آنزیم‌ها در سلول‌های بافت‌های مختلف از قبیل کبد، قلب، کلیه، عضلات و مغز وجود دارند. برخی شرایط فیزیولوژیک مانند آسیب و اختلالات کبدی و اسکلتی باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شوند. به‌خوبی مشخص شده است که فلزات سنگین می‌توانند اثرات مخربی بر بافت‌های بدن ماهیان داشته باشند. آسیب بافت و تغییر پروفایل آنزیمی از جمله در کبد و آبشش در اثر غلظت تحت‌کشنده فلزات سنگین در ماهیان مختلف گزارش شده است (Khandan Barani et al., 2016). برای مقایسه، میزان فلزات سنگین در بافت‌های مختلف اندازه‌گیری می‌شود. اما قسمتی که دارای اهمیت است حضور این فلزات در بافت عضله ماهی است چون این قسمت به‌دلیل مصرف خوراکی قابلیت انتقال به انسان را داشته و از نظر بهداشت عمومی و سلامت افراد از اهمیت بیش‌تری برخوردار است (فرجی و مشکینی، ۱۴۰۰؛ لکزایی و همکاران، ۱۳۹۴).

ماهی *Lates calcarifer* که در آسیا به نام ماهی باس دریایی پرورشی و در استرالیا باراموندی شناخته می‌شود یکی از اعضاء خانواده بزرگ Latidae است رژیم غذایی گوشت‌خواری این ماهی سبب ایجاد طعم بسیار دلچسب، ارزش غذایی بالا و کیفیت بی‌نظیر گوشت ماهی سی‌باس شده است. سی‌باس به‌دلیل رشد سریع، تکثیر آسان، تحمل شوری بالا و توانایی در پذیرش غذای فرموله، از بهترین ماهیان پرورشی دنیا

محسوب شده است. ماهی باس دریایی پرورشی جهت آبرزی پرروی در کشورهای متعددی معرفی شده است. مهم‌ترین کشورهای تولیدکننده عبارتند از هنگ کنگ، استرالیا، آمریکا، سنگاپور، مالزی، تایلند و.... طبق گزارش FAO از کل تولید ماهیان دریایی پرورشی در سال ۲۰۲۰، ۱۹۶/۹ هزار تن مربوط به ماهی باس دریایی پرورشی بوده که این نکته بیانگر بازار پسندی این ماهی در دنیا می‌باشد (FAO, 2022). در ایران نیز با توجه به اهمیت اقتصادی آن و تقاضا برای غذای سالم دریایی، اخیراً در قالب پرورش ماهی در قفس در خلیج فارس و دریای عمان پرورش می‌یابند. به‌علت شرایط خاص و نیمه‌بسته بودن خلیج فارس، وجود منابع مهم اکولوژیک و همچنین گونه‌های حساس موجود در آن، از مناطق بسیار مهم زیستی نه تنها در منطقه خاورمیانه بلکه حتی در جهان، به‌حساب می‌آید. برای حفاظت از این بوم‌سامانه با ارزش، شناسایی دقیق عوامل آلاینده و مقدار آن‌ها، حذف و یا کاهش آلاینده‌های ورودی به خلیج فارس نیاز به اطلاعات دقیقی است تا برای برنامه‌ریزی درست و اعمال مدیریت مناسب مورد استفاده قرارگیرد (Mazej et al., 2010). مطالعات مختلفی در رابطه با تاثیر انواع مختلفی از آلاینده‌های فلزات سنگین بر روی گونه‌های مختلف ماهیان و آبزیان انجام شده است از جمله میزان فلزات سنگین آهن، مس، روی، منیزیم، منگنز، جیوه، سرب و کادمیوم را در بافت‌های خوراکی و غیرخوراکی ماهی کفال پشت سبز (*Liza dussumieri*) در سواحل بوشهر (ناصری و همکاران، ۱۳۸۴)، انباشتگی برخی عناصر سنگین در بافت‌های عضله، کبد و آبشش ماهی هامور (*Epinephlus coioiedes*) (علی نژاد و همکاران، ۱۳۹۴)، بررسی تجمع فلزات سنگین (سرب، کادمیوم،

روی و کروم) در عضله ماهی کفشک تیز دندان *Psettodes erumei* در آب‌های بوشهر (پذیرا و خسروی فرد، ۱۳۹۴)، بررسی میزان غلظت فلزات سنگین سرب و کادمیوم را در بافت‌های عضله و کبد ماهی طلال *Rastrelliger kanagurta* در آب‌های خلیج فارس (چاکری و همکاران، ۱۳۹۴) و تغییرات سطوح آنزیم‌های متابولیک تحت تاثیر فلزات سنگین روی و کادمیوم در ماهی سفیدک سیستان *Schizothorax zarudnyi* (خندان بارانی و میری، ۱۳۹۶). هدف از انجام این پژوهش بررسی اثرات تجمع فلزات سنگین نیکل و سرب در بافت عضله ماهی باس دریایی پرورشی (*Lates calcarifer*) و سنجش سطح برخی از آنزیم‌های کبدی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده سازی نمونه‌ها

برای انجام این پژوهش، تعداد ۱۵ نمونه ماهی باس دریایی پرورشی در فصل پاییز ۱۴۰۱ به صورت کاملاً تصادفی با میانگین وزنی ۲۶۰/۶۴ گرم از قفس‌های پرورشی (با ظرفیت ۵۰ تن و تغذیه شده با غذای تجاری شرکت بیضا ۲۱) واقع در استان بوشهر شهرستان کنگان صیدگردید (شکل ۱) و به همراه پودریخ به محل آزمایشگاه دانشگاه خلیج فارس انتقال یافتند. ماهی‌ها ابتدا توسط آب مقطر دوبار شستشو شدند تا عوامل آلاینده، پوشش لزوج و ذرات خارجی جذب‌کننده فلزات از لایه سطحی آن‌ها رفع گردد و پس از آن مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. وزن ماهی‌ها به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری گردید. سپس بخش‌های اضافی و غیر مورد نظر نمونه‌ها (شامل پوست، امعا و احشاء، استخوان و ...) توسط تیغه

کاملاً استریل جدا و قسمت بافت عضله، به‌طور کامل از آن خارج گردید. نمونه بافت‌های بخش عضله، مورد بسته‌بندی و شماره گذاری قرار گرفتند. سپس ۴ گرم از هر نمونه در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند از هر نمونه خشک شده، داخل ارلن مایرهای ۱۰۰ ml ریخته‌شده و روی هر کدام ۵ ml هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و ۱۰ ml نیتریک اسید غلیظ (HNO_3) اضافه شد. هضم نمونه‌ها در ظروف داغ در دمای ۲۰۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت و زیر هود تا شفاف شدن نمونه‌ها انجام گردید. سپس با عبور محلول‌های به‌دست آمده از کاغذ صافی، محلول‌های آماده اندازه‌گیری داخل ارلن مایرهای کاملاً تمیز جمع‌آوری شدند (Oguzie and Izerbigie, 2009). محلول‌های استاندارد فلزات ذکر شده از نمک‌های نترات خالص مربوطه ساخت شرکت مرک آلمان تهیه گردید و پس از رسم نمودار کالیبراسیون، توسط دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی شعله (FAAS) ساخت شرکت شیمادزو (Shimadzu) مدل AA670G میزان غلظت هر فلز به-دست آمد (عبادی و همکاران، ۱۳۹۹). غلظت نهایی فلزات بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک بیان شد. برای ارزیابی آنالیز بافتی، پس از تشریح، نمونه بافت عضله جداسازی و نمونه‌های بافتی در محلول تثبیت‌کننده بوئن قرار داده شدند و پس از ۴۸ ساعت از محلول بوئن خارج و تا زمان انجام مراحل بعدی در الکل ۷۰٪ نگه‌داری شدند (Velma and Tchounwou, 2010). کلیه مراحل پاساژ بافتی شامل آبگیری، شفاف‌سازی و آغشتگی توسط دستگاه پاساژ بافت یا هیستوکینت و تحت برنامه زمان‌بندی شده انجام شد. نمونه‌های بافتی با ضخامت ۵-۴ میکرون طبق روش‌های

$26/82 \pm 2/61$ سانتی متر و میانگین وزنی $94/64 \pm 260/64$ گرم بر خوردار بودند.

نتایج حاصل از سنجش سرب و نیکل در بافت عضله ماهی باس دریایی پرورشی به شرح جدول ۲ به دست آمد. البته شایان ذکر است که میانگین غلظت سرب و نیکل در بافت عضله ماهی باس دریایی پرورشی مورد مطالعه به ترتیب $0/76$ میکروگرم بر گرم و $1/16$ میکروگرم بر گرم محاسبه گردید.



شکل ۱: نقشه منطقه مورد مطالعه در استان بوشهر - بندرکنگان

روتین بافت شناسی تهیه و با استفاده از محلول‌های هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند (Liu et al., 2011). سپس لام‌های بافتی آماده شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکس برداری دیجیتال بررسی شدند.

سنجش آنزیم‌های آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز نیز با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و براساس دستورالعمل کیت‌ها انجام شد (خندان بارانی و میری، ۱۳۹۶).

جهت مقایسه آماری میزان آنزیم‌ها و غلظت فلزات سنگین از نرم‌افزارهای EXCEL و SPSS نسخه ۲۰ و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده گردید. به منظور تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین نتایج بررسی نمونه‌ها از آزمون پارامتریک و پس از تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با سطح اطمینان ۹۵٪ ($p < 0/05$) استفاده شد. مقادیر بر اساس واحد میکروگرم بر گرم وزن خشک (میانگین $\pm$ انحراف معیار) ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ d.w}$) بیان گردیدند.

نتایج

نتایج به دست آمده از بررسی ماهیان صید شده از قفس‌ها در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس آن، نمونه ماهی‌های مورد مطالعه از میانگین طولی

جدول ۱: نتایج میانگین وزن و طول نمونه ماهیان باس دریایی پرورشی

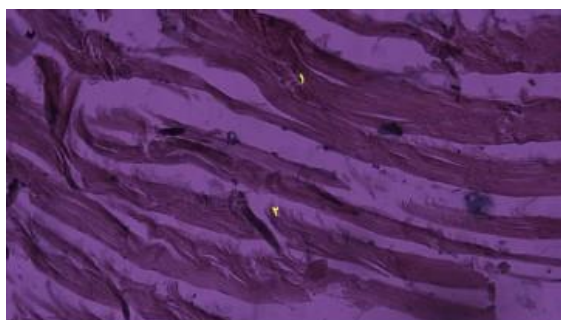
متغیر	تعداد	میانگین	خطای استاندارد	کمینه	بیشینه
وزن (گرم)	۱۵	۲۶۰/۶۴	۹۴/۷۰	۱۰۷/۶۹	۴۳۷/۱۸
طول (سانتی متر)	۱۵	۲۶/۸۲	۲/۶۱	۲۲/۰۰	۳۱

جدول ۲: حداقل و حداکثر غلظت فلز نیکل و سرب بررسی شده به همراه میانگین و انحراف معیار آن‌ها در عضله ماهی باس دریایی پرورشی

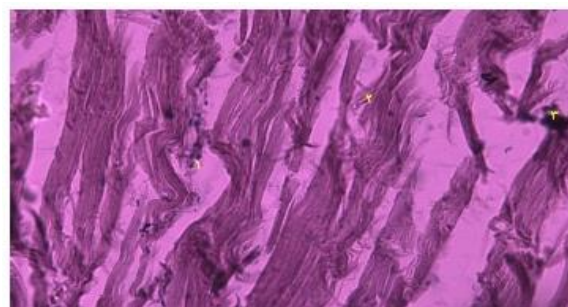
ردیف	نام فلز	حداقل غلظت میکروگرم بر گرم	حداکثر غلظت فلز میکروگرم بر گرم	میانگین $\pm$ انحراف معیار
۱	سرب	۰/۷	۰/۸	۰/۰۴ $\pm$ ۰/۷۶
۲	نیکل	۱	۱/۳	۱/۱۶ $\pm$ ۰/۱۲۴

جدول ۳: سطح آنزیم‌های آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز عضله ماهی باس دریایی پرورشی (واحد استاندارد/لیتر)

ردیف	نام آنزیم	حداقل غلظت u/l	حداکثر غلظت u/l	میانگین $\pm$ انحراف معیار
۱	آلکالین فسفاتاز (ALP)	۳۳	۴۶	۳۷/۶۶ $\pm$ ۴/۱۴
۲	آمینوترانسفراز (AST)	۶۳	۸۹	۷۵/۱۶ $\pm$ ۸/۷۶
۳	آلانین آمینوترانسفراز (ALT)	۳۸	۵۹	۴۷/۱۶ $\pm$ ۷/۵۳



شکل ۳: مشاهده نفوذ سلول‌های آماسی (۱) و تخریب فیبرهای عضلانی (۲) در عضله ماهی (H&E, 40X)



شکل ۲: مشاهده نفوذ سلول‌های آماسی (۱)، تخریب فیبرهای عضلانی (۲) و ملانوما کروفاژ (۳) در عضله ماهی (H&E, 40X)

ترتیب ۳۷/۶۶ $\pm$ ۴/۱۴، ۷۵/۱۶ $\pm$ ۸/۷۶ و ۴۷/۱۶ $\pm$ ۷/۵۳ به دست آمد (جدول ۳).

نتایج سطح آنزیم‌های آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز

نتایج سنجش سطح آنزیمی آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز در عضله ماهی باس دریایی پرورشی نشان داد که میانگین ALP، AST و ALT به

نتایج بافت‌شناسی

نتایج حاصل از مطالعه بافت عضله ماهی باس دریایی پرورشی قفس‌های مستقر در بندر کنگان از استان بوشهر واقع در خلیج فارس نشان داد که فلزات سرب و نیکل با غلظت‌های موجود در بافت عضله منجر به تخریب فیبرهای عضلانی، ملانوماکروفاژ، نفوذ سلول‌های آماسی در بافت عضله شده‌است (شکل‌های ۲ و ۳).

نتایج بررسی مقایسه آماری نمونه‌ها

متغیرهای مورد استفاده در این تحقیق شامل متغیرهای وابسته و متغیرهای مستقل می‌باشند که متغیرهای مستقل

این تحقیق درصد غلظت فلزات سنگین سرب و نیکل و متغیر وابسته سطوح آنزیم‌های بافتی شامل آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز در ماهی سی‌باس می‌باشد. در ابتدا جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها آزمون کولوموگروف اسمیرنوف اجرا شد. نتایج نشان داد که داده‌ها نرمال بودند (جدول ۴). نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌ها در میزان آنزیم ALP و ALT در ارتباط با غلظت نیکل و سرب مشاهده شد ($p < 0.05$) (جدول ۵ و ۶). ولی درخصوص آنزیم AST اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۴: نتایج آزمون نرمال بودن داده‌ها Kolmogorov-Smirnov

	Shapiro-Wilk			Kolmogorov-Smirnov		
	Sig.	df	Statistic	Sig.	df	Statistic
ALP	.014	15	.843	.065	15	.213 ^b
AST	.246	15	.927	.200*	15	.170 ^a
ALT	.061	15	.887	.190	15	.183 ^b

حروف لاتین نشان دهنده معنی دار بودن داده‌ها است ($p < 0.05$)

جدول ۵: نتایج ارتباط بین نیکل و آنزیم‌ها

	Sum of Squares					
	Sig.	F	Mean Square	df		
ALP	.000	22.365	145.200	1	145.200	Between Groups
			6.492	13	84.400	Within Groups
				14	229.600	Total
AST	.198	1.837	187.500	1	187.500	Between Groups
			102.069	13	1326.900	Within Groups
				14	1514.400	Total
ALT	.000	63.501	672.133	1	672.133	Between Groups
			10.585	13	137.600	Within Groups
				14	809.733	Total

جدول ۶: نتایج ارتباط بین سرب و آنزیم‌ها

	Sum of Squares					
	Sig.	F	Mean Square	df		
ALP	.001	15.259	82.400	2	164.800	Between Groups
			5.400	12	64.800	Within Groups
				14	229.600	Total
AST	.428	.911	99.800	2	199.600	Between Groups
			109.567	12	1314.800	Within Groups
				14	1514.400	Total
ALT	.000	30.257	337.867	2	675.733	Between Groups
			11.167	12	134.000	Within Groups
				14	809.733	Total

بحث

برطبق نتایج به‌دست آمده میانگین غلظت نیکل و سرب در بافت عضله ماهی باس دریایی پرورشی به- ترتیب ۱/۱۶ و ۰/۷۶ قسمت در میلیون در وزن خشک بود. بر طبق نتایج این مطالعه، سرب موجود در عضله بیش از استاندارد WHO و کم‌تر از استاندارد FAO، NHMRC و UK (MAFF) بود. هم‌چنین میانگین نیکل موجود در عضله ۱/۱۶ قسمت در میلیون در وزن خشک بود که از استاندارد جهانی سازمان خواربار و کشاورزی مل متحد/ سازمان بهداشت جهانی FAO WHO/ بیش‌تر از حد مجاز بود. سرب بدون شک بیش‌ترین کمیت را در میان عناصر سنگین محیط زیست به خود اختصاص داده است که می‌تواند به دلیل قرار گرفتن در محیط آبی آلوده باشد. از طرف دیگر سرب از واکنش‌های شیمیایی کم‌تری نسبت به جیوه و کادمیوم برخوردار است. ضریب جذب سرب از طریق تنفس بالا بوده و می‌تواند به پیوندهای گوگردی ملکول‌های آنزیم حمله‌ور شده و آن‌ها را غیرفعال کند. گروه‌های کربوکسیلیک و آمینوپروتئین‌ها نیز توسط سرب مورد حمله قرار می‌گیرند (Vardim, 1997). هم‌چنین یون سرب به غشاء سلول متصل شده و روند انتقال مواد را از دیواره سلولی مختل می‌کند. عوامل مختلفی در میزان غلظت فلزات سنگین در بدن ماهی تاثیرگذار هستند. Spence و Langston (۱۹۹۵) بیان کردند که تراکم فلزات سنگین در بدن به حجم بدن، رفتارهای تغذیه‌ای و نیز خصوصیات شیمی منطقه مرتبط است (بندانی و همکاران، ۱۳۸۹). اهمیت فلزات سنگین با توجه به بافت‌های هدف و غلظت سمی آن‌ها در بدن متفاوت است. به‌عنوان مثال محدوده تحمل فلزاتی مانند سرب بسیار ناچیز است (عسکری‌ساری و

همکاران، ۱۳۹۰). محل زیست ماهی نیز از عوامل تاثیرگذار است. (Romeo & Giamberini, 2013) از سوی دیگر غلظت فلزات سنگین با مقادیر بالاتر در ماهیان گوشت‌خوار مورد تایید قرار گرفت (شهاب‌مقدم و همکاران، ۱۳۸۹). درخصوص تجمع زیستی فلز سرب در بافت عضله و اتصال آن با موکوس نقشی مهم در تجمع و دفع آن دارد (جلالی‌جعفری و آقازاده‌مشگی، ۱۳۸۵؛ بندانی و همکاران، ۱۳۸۹). سرب بدون شک بیش‌ترین مقادیر را در بین فلزات سنگین محیط زیست به خود اختصاص داده است چرا که گستردگی منابع سرب و تنوع صنایع مختلف در استفاده از این عنصر در رنگ‌سازی، پتروشیمی، مهمات‌سازی، رادیولوژی و پزشکی و بیش از همه در بنزین و مصرف بالای آن در جهان سبب پراکنش بالای این عنصر در تمامی اکوسیستم‌ها شده است (عسکری‌ساری، ۱۳۸۸).

تفاوت مقادیر فلزات سنگین در ماهی سی‌باس آسیایی خلیج فارس با سایر گونه‌ها در کشورهای مختلف ممکن است ناشی از عوامل مختلفی از جمله شرایط جغرافیایی، محیطی و کیفیت منابع تامین کننده آب، صنایع مجاور در حاشیه سواحل و مقررات دفع پساب، نوع گونه‌های ماهی و بافت‌های مورد آزمایش، شرایط متفاوت فعالیت‌های آزمایشگاهی و... باشد. از آن‌جا که ماهی باس دریایی پرورشی یک ماهی گوشت‌خوار است، تجمع فلزات سنگین سرب و نیکل در این ماهی افزایش یافته است. نشت نفت از بارج‌های مستعمل، سکوها‌های نفتی و خطوط انتقال نفت، تخلیه آب توازن کشتی‌ها، فعالیت منطقه پارس جنوبی، آلودگی ناشی از فلرها در منطقه و آلودگی ناشی از سوخت فسیلی و وجود چاه‌های متعدد نفتی در بندر کنگان از عوامل آلودگی دریا در آب‌های ساحلی

دهند (Shahnawaz Khan *et al.*, 2020). پس از ورود به محیط های آبی با استفاده از فرآیندهای متابولیک و در بافت های ماهی در بافت ماهی جذب زیستی رخ می دهد (Kalay and Canli, 2000).

تجمع فلزات سنگین در اندام های ماهی منجر به تغییرات هیستوپاتولوژیک می شود در این پژوهش نتایج هیستوپاتولوژی بافت عضله ماهی باس دریایی پرورشی شامل نفوذ سلول های آماسی، تخریب فیبرهای عضلانی و ملانوماکروفاژ تخریب فیبرهای عضلانی بود. می توان دلیل تحلیل عضلات ماهی را استفاده از پروتئین به عنوان منبع انرژی بالاتر برای سم زدایی در طی شرایط استرس بیان کرد (Remia *et al.*, 2008). هم چنین دلیل تخلیه و تحلیل بافت عضله می تواند اختلال در سرعت سنتز پروتئین یا کاهش جذب اسیدهای آمینه پلی پپتیدی باشد (Rajamaniackam & Musthuswamy, 2008; Vutukuru, 2005). در تحقیقی مشابه Nasr و همکاران (۲۰۲۰) در خصوص تغییرات هیستوپاتولوژی ایجاد شده توسط فلزات سنگین در *Oreochromis niloticus* انجام دادند تغییراتی مانند هموراژیک، هموسیدرین، ادم، دژنراسیون، نکروز در نمونه فیبرهای عضلات ماهی مذکور مشاهده کردند که مشابه نتایج این تحقیق بود.

کنگان می باشد (مدنی و همکاران، ۱۳۹۶؛ مکرم و همکاران، ۱۳۹۹). تعداد زیاد مخازن ذخیره سازی، خطوط لوله کشی انتقال گاز، نشت گاز و صادرات و واردات گاز از صنایع مقدار زیادی آلاینده را به محیط زیست وارد می کند (Abdollahi *et al.*, 2013).

یکی دیگر از مهم ترین آلوده کننده های خلیج فارس در این منطقه آب شیرین کن می باشد، برداشت آب دریا برای شیرین سازی و تخلیه پساب های ناشی از فرایندهای شوری زدایی به داخل دریا می تواند اثرهای مخربی را برای اکوسیستم و منطقه دریایی داشته باشد پساب ها می توانند موجب برهم خوردن تعادل آب دریا در محل خروجی ها از نظر میزان شوری، درجه حرارت و غلظت شود (Dural *et al.*, 2007).

بر اساس نظریه Viarengo (۱۹۸۹) توانایی موجودات برای جذب، تجمع، دفع یا سم زدایی فلزات سنگین به طور اساسی با هم فرق می کند. گونه هایی که دارای مقادیر مشخص متالوتیونین و لیزوزیم ها باشند، می توانند سمیت این فلزات را از بین ببرند. بر اساس نتایج به دست آمده یکی از دلایل احتمالی تجمع فلزات در گونه های مختلف ماهی را می توان به این امر نسبت داد. هیستوپاتولوژی اندام های هدف مانند کبد و کلیه می تواند تصویر واضحی از سمیت فلزات سنگین ارائه

جدول ۷: مقایسه میانگین کلی فلزات در بافت عضله ماهی باس دریایی پرورشی با استانداردهای بین المللی (میکروگرم بر گرم وزن خشک)

منبع	نیکل	سرب	استاندارد
(WHO, 1985)	۰/۴	۰/۵	WHO ^۲
(Chen and Chen, 2001)		۵	FDA ^۳
	۰/۴	۲	FAO
(Darmono and Denton, 1990)		۱/۵	NHMRC ^۴
(Franklin and Jones, 1995)		۲	UK(MAFF) ^۵
تحقیق حاضر	۱/۱۶	۰/۷۶	تحقیق حاضر

^۲ Word Health Organization

^۳ Food and Drug Administration

^۴ National Health and Medical Research Council

^۵ Ministry of Agriculture Fisheries and Food

در تحقیق حاضر بیش‌ترین میزان تجمع زیستی در عضله ماهی سرب ۰/۷۶ میکروگرم بر گرم و نیکل ۱/۱۶ میکروگرم بر گرم ماده خشک عضله بود. که هر دو میزان از استاندارد سازمان بهداشت جهانی بالاتر بودند (جدول ۷).

تجمع آلاینده‌ها فیزیولوژی بافت ماهی را مختل می‌کند. نقطه پایانی در ارزیابی خطر آلاینده‌ها در محیط بررسی میکروسکوپی بافت‌های هدف از طریق بافت‌شناسی است (Fatima et al., 2015). تغییرات هیستوپاتولوژیک را می‌توان به عنوان شاخصی از تأثیر آلاینده‌های مختلف انسانی بر موجودات و به عنوان معیاری برای سلامت کلی کل اکوسیستم آبی استفاده کرد (Saad et al., 2012). اثرات مضر آلاینده‌ها می‌تواند در بافت ماهی قبل از تغییرات بعدی در ظاهر و رفتار خارجی ماهی آشکار شود (Mahboob et al., 2020).

در مقاله‌ای مروری که توسط Padrilah و همکاران، ۲۰۱۸ درخصوص اثر هیستوپاتولوژی تجمع مس بر ماهیان مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه‌ای که توسط Maharajan و همکاران ۲۰۱۶ درخصوص عضله آسیب پیش‌رونده در ساختار عضله مانند ضخیم شدن و جدا شدن عضله بسته‌های ادم شدید داخل سلولی مشاهده شد. عوارض مشابهی در مطالعه انجام شده توسط Mukherjee و Das در سال ۲۰۰۰ گزارش شد که این عوارض شامل جداشدن بسته‌های عضلانی بود. در هنگام استرس، ماهی با استفاده از پروتئین به عنوان منبع انرژی برای رفع نیازهای انرژی بیش‌تر برای سم‌زدایی استفاده می‌کند (Vutukuru, 2005). هم‌چنین از دلایل دیگر تحلیل و تخلیه بافت پروتئینی می‌تواند به دلیل اختلال در سنتز پروتئین یا کاهش جذب

اسیدهای آمینه به زنجیره پلی‌پپتیدی باشد (Rajamanickam & Muthuswamy, 2008).

طبق نتایج به‌دست آمده در این تحقیق میانگین میزان آنزیم‌های آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) به ترتیب ۷۵/۱۶، ۳۷/۶۶ و ۴۷/۱۶ واحد استاندارد/لیتر بود. آنزیم‌های آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) نقش بسیار مهمی در فرایندهای متابولیکی بدن و سلامت ماهیان داشته و به‌عنوان نشانگرهای زیستی مناسب در مطالعات سم‌شناسی معرفی شده‌اند (Beninca et al., 2011; Senger et al., 2011). برخی شرایط فیزیولوژیک مانند آسیب و اختلالات کبدی و اسکلتی باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شوند (Boge et al., 1992). فلزات سنگین می‌توانند اثرات مخربی بر بافت‌های بدن ماهیان داشته باشند. تغییر پروفایل آنزیمی ازجمله در کبد و آبشش در اثر غلظت تحت کشنده فلزات سنگین در ماهیان گزارش شده است (Abedi et al., 2013; Baghshani and Shahsavani, 2013; Khandan et al., 2016). ماهیان پاسخ‌های آنزیمی متفاوتی را (شامل کاهش یا افزایش آنزیم‌ها) در مقابل آلودگی ناشی از فلزات سنگین نشان داده‌اند که نوع گونه، فلز و شرایط فیزیوشیمیایی آب در این زمینه به‌عنوان عوامل موثر معرفی شده‌اند (Jiraungkoorskul et al., 2003). نتایج تأثیر فلزات بر روی انواع گونه‌های ماهیان در ایران و سایر کشورها انجام شده است مطالعه مشابه این تحقیق درخصوص تأثیر فلز روی بر آنزیم‌های متابولیکی در کبد، آبشش، مغز و عضله ماهی سفید ک سیستان انجام شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که مواجهه با فلز روی موجب افزایش معنی‌دار میزان

انجام شد در این تحقیق نیز سطح آنزیم های AST, ALT و ALP به ترتیب ۵/۸۷، ۱۰/۳۱ و ۱/۷ واحد استاندارد/لیتر در ماهی *Mystus vittatus* بود درحالی- که میزان این آنزیم ها در گونه *Mystus tengara* به- ترتیب ۱۲/۹، ۴۰ و ۳/۵ واحد استاندارد/لیتر بود که دلیل افزایش فعالیت آنزیم های کبدی ALT، ALP و AST را در دو گونه فوق ضایعات کبد در اثر تجمع زیستی در اندام های دانستند. مطالعات مشابهی درخصوص اثر فلزات سنگین بر سطوح آنزیم های ماهیان مختلف از جمله *Tilapia zillii*, *Cyprinus carpio*, *Mugil cephalus*, *Oncorhynchus mykiss*, *Barbus luteus* فوق انجام شده است که نتایج این تحقیق را تایید می کنند (Zorriehzahra et al., 2010; Parvati et al., 2011).

براساس نتایج تحقیق حاضر همانند تحقیقات مشابه کبیریان و همکاران (۱۳۹۱) تاثیرپذیری آنزیم های کبدی در اثر تغییر شرایط محیطی بر ماهیان را تایید می کند.

اخیراً Barisic و همکاران (۲۰۱۹) نتیجه گرفتند که مدت زمان مواجهه ماهیان با فلزات سنگین مرتبط با فعالیت آنزیم های آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز در سرم خون سالمونیده ها می- باشد. هم چنین میزان بالای فعالیت این آنزیم ها مرتبط با تخریب کبد این ماهیان می باشد. آنزیم هایی مانند آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز به عنوان بیومارکرها در سرم خون جهت مشخص نمودن آسیب به کار برده می شوند که اکنون به نام سرم آمینوترانسفراز خوانده می شوند.

آلکالین فسفاتاز در کبد ماهیان شده است. هم چنین اثر کادمیوم بر آنزیم های متابولیکی در کبد، آبشش، مغز و عضله ماهی منجر به افزایش معنی دار آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در آبشش و کبد ماهیان قرار گرفته در معرض کادمیوم شده است. محققان دلیل افزایش میزان آنزیم را مرتبط با آسیب کبدی در اثر مواجهه با فلزات سنگین و ارتباط آن با تجمع بیش تر فلز روی در کبد می دانند (خندان بارانی و میری، ۱۳۹۶). Younis و همکاران (۲۰۱۲) علت افزایش معنی دار غلظت آنزیم- های AST و ALT در سرم خون ماهی *Oreochromis niloticus* در شرایط مواجهه با غلظت تحت حاد کشنده روی آسیب کبدی به علت تجمع فلز روی و رهاسازی این آنزیم ها در سرم خون بیان کردند.

آنزیم ALP آنزیمی است که از چند ایزوآنزیم تشکیل شده است. که تقریباً در تمام بافت های بدن به- ویژه در غشاء سلولی یافت می شود. این آنزیم هیدرولیز استرهای منوفسفات را تسریع می کند و نقش مهمی را در حمل و نقل مواد از غشای سلولی ایفاء می کند و در شکل گیری استخوان ها تاثیر دارد (Molina et al., 2005). آنزیم ALP به دلیل حساسیت نسبت به مسمومیت سلولی در اثر مواد ژنوتوکسیک به عنوان یک شاخص مناسب مورد توجه می باشد (Lohner et al., 2005). در مطالعه حاضرمیانگین میزان آنزیم ALP برابر با ۳۷/۶۶ واحد استاندارد/لیتر بود که دلیل میزان بالای این آنزیم می تواند مرتبط با تجمع زیستی فلزات نیکل و سرب در اندام های ماهی به ویژه کبد سی باس آسیایی باشد. نتایج مشابه این تحقیق توسط Tabrez و همکاران (۲۰۲۱) در ارزیابی سمیت فلزات سنگین نیکل، روی و آهن بر گونه *Mystus vittatus* و *Mystus tengara* در رودخانه Yamuna هندوستان

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده در پژوهش کنونی نشان داد که میزان غلظت فلزات سرب و نیکل مورد مطالعه در بافت خوراکی عضله ماهی باس دریایی پرورشی صید شده از قفس بالاتر از حد استاندارد تعیین شده توسط FAO و WHO بود. بالابودن تجمع این عناصر نسبت به حد مجاز اندازه گیری شده بیانگر لزوم توجه به احتمال ورود پیوسته منابع تولید کننده این عوامل آلاینده همانند نشت نفت، آلودگی ناشی از فلرها در منطقه و آلودگی ناشی از سوخت فسیلی، وجود چاه های متعدد نفتی، تعداد زیاد مخازن ذخیره سازی، خطوط لوله کشی انتقال گاز، نشت گاز و صادرات و واردات گاز از صنایع به محیط های آبی می باشد. بنابراین نیازمند بررسی دوره ای بیش تر و نتیجه شناخت دقیق تر منابع ورودی و تولیدی آنها در جهت کنترل و در نهایت جلوگیری از نفوذ چنین آلاینده هایی به محیط زیست این گونه می باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از کلیه کسانی که در اجرای این پژوهش همکاری داشتند، قدردانی می گردد.

منابع

۱. بندانی، غ.، خوشباور رستمی، ح.، یلقی، س.، شکرزاده، م.، نظری، ح.، ۱۳۸۹. سطح فلزات سنگین (سرب، کادمیوم، کروم و روی) در بافت عضله و کبد ماهی کپور (*Cyprinus carpio* ۱۷۵۸ L.)، سواحل استان گلستان. مجله علمی شیلات ایران، ۱۹(۴)، ۱۰ - ۱.
۲. پذیرا، ع. و خسروی فرد، ا.، ۱۳۹۴. مقایسه تجمع زیستی فلزات سنگین نیکل و کادمیوم در بافت

- عضله دو گونه ماهی شیر و قباد در بندر بوشهر. مجله زیست شناسی دریا، ۷(۲۸)، ۸۹-۷۹.
۳. جلالی جعفری، ب. و آقازاده مشگی، م.، ۱۳۸۹. مسمومیت ماهیان در اثر فلزات سنگین آب و اهمیت آن در بهداشت عمومی. انتشارات مان کتاب. ۱۴۰ ص.
 ۴. خندان بارانی، ه. و میری، م.، ۱۳۹۶. تغییرات سطوح آنزیمهای متابولیک تحت تاثیر فلزهای سنگین روی و کادمیوم در *Schizothorax zarudnyi* ماهی سفیدک سیستان، مجله بوم شناسی آبریان، ۶(۴)، ۵۱-۳۹.
 ۵. چاکری، ر.، سجادی، م.م.، کامرانی، ا.، آقاجاری، ن.، ۱۳۹۴. تعیین میزان غلظت فلزات سنگین سرب و کادمیوم در بافتهای عضله و کبد ماهی طلال *Rastrelliger kanagurta* در آب های خلیج فارس، مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۲)، ۱۲۵-۱۱۵.
 ۶. عسکری ساری، ا.، ۱۳۸۸. بررسی عناصر سنگین (سرب، جیوه و کادمیوم) در ماهیان بومی آب شیرین صید ماهیان *Liza abu* و *Barbus grypus* شیرت کارون و کرخه در فصل زمستان. مجله بیولوژی دریا، ۱(۴)، ۹۵-۱۰۷.
 ۷. شهاب مقدم، ف.، اسماعیلی ساری، ع.، ولی نسب، ت.، کریم آبادی، م.، ۱۳۸۹. مقایسه تجمع فلزات سنگین در عضله سپر ماهی چهار گوش *Himantura gerrardi* و گیش چشم درشت *Selar crumenophthalmus* خلیج فارس. مجله علمی شیلات ایران، ۱۹(۲)، ۹۴ - ۸۵.
 ۸. شهریاری، ع.، گل فیروزی، ک.، نوشین، ش.، ۱۳۸۹. میزان تجمع کادمیوم و سرب در بافت

بر بخش های تولیدی استان بوشهر، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۰(۲)، ۴۳۸-۴۲۷.

۱۵. مکرّم، م.، عیّدی، ر.، دولّاح، ع.، ضیائیّان نوربخش، ه.، ۱۳۹۹، بررسی آلودگی برخی فلزات سنین در آبهای بندر عسلویه و تاثیر آن بر عضله ماهی قباد *Scomberomorus guttatus* و کفشک *Brachirus orientalis* در محیط GIS، مجله زیست شناسی دریا، ۱۲(۴۵)، ۹۶-۸۳.

۱۶. ناصری، م.، رضایی، م.، عابدی، ع.، افشارنادری، ا.، ۱۳۸۴. سنجش مقادیر برخی عناصر سنگین (آهن، مس، روی، منیزیم، منگنز، جیوه، سرب و کادمیوم) در بافتهای خوراکی و غیر خوراکی ماهی کفال پشت سبز *Liza dussumieri* سواحل بوشهر، ۴(۳و۴)، ۶۷-۵۹.

17. Abdollahi, S., Raoufi, Z., Faghiri, I., 2013. Contamination levels and spatial distributions of heavy metals and PAHs in surface sediment of Imam Khomeini Port, Persian Gulf, Iran. Marine Pollution Bulletin, 71(1-2), 336-345.

18. Abedi, Z., Hasantabar, F., Khalesi M.K., Babaei, S., 2013. Enzymatic Activities in Common Carp, *Cyprinus carpio* Influenced by Sublethal Concentrations of Cadmium, Lead, Chromium. World Journal of Fish and Marine Sciences, 5, 144-151.

19. Azaman, F., Juahir, H., Yunus, K., Azid, K.M., Toriman, M.E., Mustafa, A.D., Amran, M.A., Che, H., Mohd, S., 2015. Heavy metal in fish: Analysis and human health-a review. Journal of Technology, 77(1), 61-69.

20. Barisic, J., Cannon, S., Quinn, B., 2019. Cumulative impact of anti-sea lice treatment (azamethiphos) on health status of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) in aquaculture. Sci. Rep. 9, 16217. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52636-1>.

21. Beninca, C., Ramsdorf, W., Vicari, T., de OliveiraRibeiro, C.A., de Almeida, M.Z.,

عضلانی سه گونه از ماهیان دریایی کپور، کفال و ماهی سفید سواحل دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، ۱۹ (۲)، ۱۰۰ - ۹۵.

۹. عبادی، ص.، باهر، ا.، ابراهیمی، پ.، ۱۳۹۹. پیش تغلیظ و تعیین آلومینیوم، روی، مس و منگنز در نمونه های آبی با استفاده از استخراج نقطه ابری و روش های کمومتریکس. نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران. ۳۹ (۲)، ۱۵۹-۱۷۰.

۱۰. علی نژاد، س.، شعبی عمرانی، ب.، شکرزاده، م.، قائم مقامی، س.س.، یاسمی، م.، امینی راد، ع.، ۱۳۹۴. بررسی تجمع فلزات سنگین در عضله ماهی کفشک تیزدندان *Psettodes erumei* آبهای بوشهر، تغذیه آبزیان، ۲ (۱)، ۶۴-۵۵.

۱۱. فرجی، ر.، مشکینی، س.، ۱۴۰۰. بررسی میزان عناصر سنگین جیوه، مس و روی در بافت عضله و کبد ماهی قزل آلائی رنگین کمان پرورشی در منابع مختلف آبی استان آذربایجان غربی. توسعه آبرزی پروری، ۱۵ (۳)، ۷۵-۸۸.

۱۲. کبیریان، م.؛ شاهسونی، د. و کازرانی، ح.، ۱۳۹۱. تعیین میزان فعالیت برخی از آنزیمهای سرم خون مولدین ماهی سفید. مجله علمی پزشکی ایران، ۸ (۳)، ۶۷-۷۲.

۱۳. لکرای، ف.، بابائی، ه.، خداپرست، س.ح.، ۱۳۹۴. سنجش فلزات سنگین (سرب، کادمیم، روی و مس) در بافت کبد و عضله ماهی کفال طلائی در دو منطقه حوضه جنوب غربی دریای خزر (کیاشهر و تالش). توسعه آبرزی پروری، ۹ (۳)، ۵۸-۵۱.

۱۴. مدنی، ش.، بزازان، ف.، خالقی، س.، ۱۳۹۶. برآورد اثرات اقتصادی ناشی از آلودگی نفتی در اثر غرق شدن دوبارچ در منطقه پارک ملی ناینند (سال ۸۹)

- captured from the Tuzla lagoon. Food Chemistry, 102, 415-421.
30. El -Greisy, Z.A., El -Gamal, A.H., 2015. Experimental studies on the effect of cadmium chloride, zinc acetate, their mixture and the mitigation with vitamin C supplementation on hatchability, size and quality of newly hatched larvae of common carp, *Cyprinus carpio*. Egyptian Journal of Aquatic Research, 41, 219-226.
 31. FAO, 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020.
 32. FAO/WHO, 2016. Accumulation of heavy metals in fishes of freshwater. Available from: <https://www.slideshare.net>. Accessed on 3 August 2021.
 33. Fatima, M., Usmani, N., Firdaus, F., Zafeer, M.F., Ahmad, S., 2015. In vivo induction of antioxidant response and oxidative stress associated with genotoxicity and histopathological alteration in two commercial fish species due to heavy metals exposure in northern India (Kali) river. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 176-177, 17-30.
 34. Ghaffar, A., Hussain, R., Noreen, S., Chodhary, I.R., Abbas, G., Khan, A., Ahmed, Z., Khan, M.K., Akram, K., Ulhaq, M., Ahmad, N., Ali, F., Niaz, M., 2020. Dose and time-related pathological and genotoxic studies on thiamethaxam in fresh water fish (*Labeo rohita*) in Pakistan. Pakistan Veterinary Journal, DOI: <http://dx.doi.org/10.29261/pakvetj/2020.002>
 35. Ghazanfar, M., Shahid, S., Qureshi, I.Z., 2018. Vitamin C attenuates biochemical and genotoxic damage in common carp (*Cyprinus carpio*) upon joint exposure to combined toxic doses of fipronil and buprofezin insecticides. Aquatic Toxicology, 196, 43-52.
 36. Jiraungkoorskul, W., Upatham, E.S., Kruatrachue, M., Shaphong, S., Vichasri-Grams, S., Pokethitiyook, P., 2003. Biochemical and histopathological effects of glyphosate herbicide on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Environmental Toxicology, 18, 260-267.
 - Silva de Assis, H.C., 2011. Chronic genetic damages in *Geophagus brasiliensis* exposed to anthropic impact in Estuarine Lakes at SantaCatarina Coast–Southern of Brazil. Environmental Monitoring and Assessment, 18, 2045-2056.
 22. Birungi, Z., Masola, B., Zaranyika, M., Naigaga, I., Marshall, B., 2007. Active biomonitoring of trace heavy metals using fish (*Oreochromis niloticus*) as bioindicator species. The case of Nakivubo wetland along Lake Victoria. Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C, 32(15-18), 1350-1358.
 23. Boge, G., Leydet, M., Houvet, D., 1992. The effects of hexavalent chromium on the activity of alkaline phosphatase in the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology, 23, 247-260.
 24. Canli, M., Ay, Ö., Kalay, M., 1998. Levels of Heavy Metals (Cd, Pb, Cu, Cr and Ni) in Tissue of *Cyprinus carpio*, *Barbus capito* and *Chondrostoma regium* from the Seyhan River, Turkey. Turkish journal of zoology, 22(2), 149-158.
 25. Castilhos, Z.C., Rodrigues-Filho, S., Rodrigues, A.P.C., Villas-Bôas, R.C., Siegel, S., Veiga, M.M., Beinhoff, C., 2006. Mercury contamination in fish from gold mining areas in Indonesia and human health risk assessment. Science of the Total Environment, 368(1), 320-325.
 26. Carvalho, M., Santiago, S., Nunes, M.L., 2005. Assessment of the essential element and heavy metal content of edible fish muscle. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 382(2), 426-430.
 27. Das, B. K., & Mukherjee, S. C. 2000. A histopathological study of carp (*Labeo rohita*) exposed to hexachlorocyclohexane. Veterinarski Arhiv, 70(4), 169-180
 28. Ding, W.X., Shen, H.M., Ong, C.N., 2000. Microcystic cyanobacteria extract induces cytoskeletal disruption and intracellular glutathione alteration in hepatocytes. Environmental Health Perspectives, 108, 605-609.
 29. Durale, M., Goksu, M.Z.L., Ozak, A.A., 2007. Investigation of heavy metal levels in economically important fish species

- freshwater eservoir, Journal of King Saud University - Science, Volume 32, (1), Pages 970-973,
45. Mazej, Z.S., Sayegh-Petkovšek, A.I., Pokorny, B., 2010. Heavy metal concentrations in food chain of lake Velenjskojezero, Slovenia: an artificial lake from mining. Archives of environmental contamination and toxicology, 58, 998-1007.
 46. Molina, R., Moreno, I., Pichardo, S., Jos, A., Moyano, R., Monterde, J.G., Camean, A., 2005. Acid and alkaline phosphatase activities and pathological changes induced in Tilapia fish (*Oreochromis* sp.) exposed subchronically to microcystins from toxic cyanobacterial blooms under laboratory conditions. Toxicon, 4, 725-735.
 47. Oguzie, F.A., Izerbigie, A.A., 2009. Heavy Metals concentration in the organs of the silver Catfish, *Chrysichthys nigrodigitatus* (Lacépède) caught upstream of the Ikpoba River and the reservoir in Benin City. Bioscience Research Communications, 21(4), 189-197.
 48. Padrilah, S.N., Sabullah, M.Kh., Mohd Yunus Abd Shukor, M.Y., Yasid, N.A., Shamaan, N.A., and Siti Aqlima Ahmad, S.A., 2018, Toxicity Effects of Fish Histopathology on Copper Accumulation, Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science, 41 (2), 519-540
 49. Parvathi, J., Karemungikar, A., 2011. Leucocyte variation, an insight of host defenses during hymenolepiasis and restoration with praziquantel. Indian J. Pharma. Sci. 73, 76–79.
 50. Rai, P.K., 2009. Heavy metal phytoremediation from aquatic ecosystems with special reference to macrophytes. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 39(9), 697-753.
 51. Rajamanickam, V., Muthuswamy, N., 2008. Effect of heavy metals induced toxicity on metabolic biomarkers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Maejo International Journal of Science and Technology, 2(1), 192-200.
 52. Remia, K.M., Logaswamy, S., Logankumar, K., Rajmohan, D., 2008.
 37. Kalay, M., Canli, M., 2000. Elimination of essential (Cu and Zn) and non essential (Cd and Pb) metals from tissues of a fresh water fish, *Tilapia zillii*. Tropical Journal of Zoology, 24, 429-436.
 38. Khandan Barani, H., Miri, M., Dahmardeh, H.A., 2016. Effects of lead (heavy metal) on profile enzyme in some tissues and selection of acceptable indices of snow trout, *Schizothorax zarudnyi*. Experimental Animal Biology, 4, 1-11.
 39. Langston, W.J. and Spence, S.K. (1995) Biological Factors Involved in Metal Concentrations Observed in Aquatic Organisms. In: Tessier, A. and Turner, D.R., Eds., Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems, John Wiley & Sons, London, 407-478.
 40. Liu, X.J., Luo, Z., Li, C.H., Xiong, B.X., Zhao, Y.H. and Li, X.D., 2011. Antioxidant responses, hepatic intermediary metabolism, histology and ultrastructure in *Synechogobius hasta* exposed to water borne cadmium. Ecotoxicology and Environmental Safety. 74: 1156-1163.
 41. Lohner, T.W., Reash, R.J., Williams, M., 2001. Assessment of tolerant sunfish populations (*Lepomis* sp.) inhabiting selenium laden coal ash effluents: 2. Tissue biochemistry evaluation. Ecotoxicology and Environmental Safety, 50, 217-224.
 42. Maharajan, A., Kitto, M. R., Paruruckumani, P. S., & Ganapiriy, V. (2016). Histopathology biomarker responses in Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch) exposed to copper. The Journal of Basic and Applied Zoology, 77, 21–30.
 43. Romeo, M. and Giamberini, L. (2013). History of biomarkers. In: Amiard-Triquet, C., Amiard, J. C., Rainboe, P. S. (Eds.), Ecological Biomarkers, Indicators of Ecotoxicological Effects. CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton London, New York.
 44. Shahid Mahboob, Khalid A. Al-Ghanim, H.F. Al-Balawi, F. Al-Misned, Z. Ahmed, 2020. Toxicological effects of heavy metals on histological alterations in various organs in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from

- Journal of Environmental Research and Public Health, Venugopal, V., 2006. Seafood processing adding value through quick freezing, retortable packaging, and cookchilling. CRC Press. Taylor and Francis Group, New York, 2(3), 456-462.
62. World Health Organization (WHO), 1995. Health risks from marine pollution in Mediterranean. Part I implications for policy makers, 255p.
63. Younis, E. M, Abdel-Warith, A, A., Al-Asgah, Elthebite, S.A., Rahman, M.D.M., 2020, Nutritional value and bioaccumulation of heavy metals in muscle tissues of five commercially important marine fish species from the Red Sea, Saudi Journal of Biological Sciences 28 (2021) 1860–1866.
64. Zorriehzahra, M.J., Hassan, M.D., Gholizadeh, M., Saidi, A.A., 2010. Study of some hematological and biochemical parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry in western part of Mazandaran province, Iran. Iranian Journal of Fish Science, 9, 185-198.
- Effect of an insecticides (Monocrotophos) on some biochemical constituents of the fish *Tilapia mossambica*. Pollution Research., 27, 523-526.
53. Saad, S. M. M., El- Deeb, A. E., Tayel, S. I., Al- Shehri, E., & Ahmed, N. A. M. (2012). Effect of heavy metals pollution on histopathological alterations in muscles of *Clarias gariepinus* inhabiting the Rosetta branch, River Nile, Egypt. Ist International Conference of Biotechnology Applied Agriculture Benha University, Egypt, 79–88.
54. Senger, M.R., Seibt, K.J., Ghisleni, G.C., Dias, R.D., Bogo, M.R., Bonan, C.D., 2011. Aluminum exposure alters behavioral parameters and increases acetylcholinesterase activity in zebra fish (*Danio rerio*) brain. Cell Biology and Toxicology, 27, 199-205.
55. Shahnava Khan, M., Javed, M., Rahman, M.D., Iresh Ahmed, M.d., 2020, Heavy metal pollution and risk assessment by the battery of toxicity tests. Scientific Reports, 10, 16593.
56. Tabrez, Sh., Zughaibi, T.A., Javed, M., 2021, Bioaccumulation of heavy metals and their toxicity assessment in *Mystus* species. Saudi Journal of Biological Sciences, 28, 1459–1464.
57. Vardim, S.A., 1997. Study and determination of heavy metal rate in Chaloos river, Mazandaran Fishery Research Centre, 60. [In Farsi].
58. Velma, V., Tchounwou, P.B., 2010. Chromium-induced biochemical, genotoxic and histopathologic effects in liver and kidney of goldfish, *Carassius auratus*. Mutation Research, 698: 43-51.
59. Venugopal, V., Shahidi, F., 1996. Structure and composition of fish muscle. Food Reviews International, 12(2), 175-197.
60. Viarengo, A., 1989. Heavy metals in marine invertebrates. mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. Reviews of Aquatic Science.
61. Vutukuru S., 2006. Acute effects of hexavalent chromium on survival, oxygen consumption, hematological parameters and some biochemical profiles of the Indian major carp, *Labeo rohita*. International