بررسی میزان کلسترول و تری گلیسیرید خون در ماهیان کپورمعمولی قرار گرفته در معرض غلظتهای تحت کشنده و ترکیبی مس و سرب

۱-اعظم آفاقی ۲- صمد زارع

۱- استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد صوفیان، دانشگاه آزاد اسلامی ، صوفیان، ایران

۲- استاد گروه زیست شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

Email:azam.afaghi@gmail.com
Email: s.zare@urmia.ac.ir

چکیده

در مطالعه حاضر تاثیر فلزات سنگین مس و سرب بر روی میزان کلسترول و تری گلیسیرید خون در ماهی کپور معمولی بررسی شد. در این تحقیق، ۳۰ عدد ماهی کپور معمولی به مدت ۲۱ روز در مجاورت دز ترکیبی مس و سرب (0.16mgCu/l+ 1.3mgPb/l) قرار گرفتند. بعد از ۲۱ روز، از ساقه دمی ماهی ها خون گیری نموده و میزان کلسترول و تری گلیسیرید خون آنها سنجیده شد. نتایج آزمایش نشان دهنده افزایش میزان کلسترول و تری گلیسیرید در ماهیان گروه آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد (قرار گرفته در تانکهای آب شیر هوادهی شده)می باشد.

کلمات کلیدی: ماهی کپور معمولی، مس، سرب، کلسترول، تری گلیسیرید

۱. مقدمه

آلودگی محیطهای آبی توسط آلاینده های مختلف از جمله فلزات سنگین یکی از معضلات زیست محیطی می باشد [۲۲]. فلزات سنگین از منابع مختلف همچون منابع شهری، کشاورزی و صنعتی وارد آبها شده و از طریق زنجیر غذایی وارد بدن ماهی و انسان می شوند [۴]. برخی از این فلزات مانند مس، روی و آهن در مقادیر کم جزء مهمترین عناصر مورد نیاز متابولیسم بدن هستند و نقش مهمی در بدن موجودات دارند[۱۴-۱۵].

مس در ترکیبات تعدادی ازآنزیمها نظیر اکسیدازها مانند کاتالاز، پراکسیداز، سیتوکروم اکسیداز وجود دارد [۷]، ولی با این وجود، این فلز اثرات سمی نامطلوبی را در صورت داشتن غلظت بالا در محیطهای آبی خواهد داشت [۲۸]. مس و ترکیبات آن به طور طبیعی در اجزای مختلف محیط زیست به خصوص در اکوسیستم های آبی، یافت می شوند. عدم اعمال مدیریت صحیح در مصرف کود، سمپاشی، استفاده از فاضلابهای شهری به عنوان منبع آب آبیاری، نفوذ پسابهای صنعتی به آبهای زیرزمینی ، استفاده از مس در صنایع رنگرزی، استخراج فلزات، کارخانجات مواد شیمیای، مواد منفجره، باعث ورود مس به محیطهای آبی و آلودگی آن شده است. ازترکیبات مس به عنوان از بین برنده جلبکهای استخرهای پرورش ماهی و درمان برخی بیماریهای ماهی نیز استفاده می شود. برخی از عناصر مانند سرب، کادمیوم و جیوه جزء عناصر غیرضروری بوده و در غلظتهای کم نیز برای موجودات سمی هستند [۱۰]. مهمترین منبع آلودگی سرب آبهای سطحی، گازهای خروجی وسایل نقلیه حاوی ترکیب تتراتیل سرب هستند. استفاده از سوختهای فسیلی، تخلیه فاضلابهای شهری و کشاورزی به آبها، فرسایش زمین و استفاده از کودها و سموم شیمیایی، مخصوصا کودهای ازته و فسفره، باعث ورود سرب به اکوسیستم های آبی می شود [۲۱].

سرب باعث اختلال در بیوسنتز هموگلوبین، ایجاد کم خونی، بالا رفتن فشار خون، آسیب به کلیه و مغز، ایجاد اختلال در سیستم عصبی می شود[۳]. سرب به علت ایجاد تلفات زیاد در ماهی ها، در بین فلزات سنگین موجود در آب های طبیعی دارای اهمیت بالایی است [۸]. مطالعات آزمایشگاهی اولیه در مورد اثر فلزات سنگین مشخص نموده اند که فلزات سنگین با آسیب رساندن به عملکرد تنفسی آبششها در ماهیان، باعث ایجاد هیپوکسی و در نتیجه مرگ ماهیان می شوند. مسمومیت بلند مدت با دزهای پایین این آلاینده ها نیز باعث کاهش جمعیت ماهیان، توقف در تولیدمثل به خصوص در نسل دوم، آسیب رساندن به سیکل زندگی و افزایش توانایی ماهی در ابتلا به بیماریهای عفونی می شوند. اما قبل از رخ دادن چنین وقایعی، فاکتورهای فیزیولوژیکی ماهی تحت تاثیر قرار گرفته وتغییرات در این فاکتورها می توانند به عنوان شاخصهای بیولوژیکی آلودگی محیطی در نظر گرفته شوند [۱۸].

فلزات به علت ساختار پیچیده ای که دارند، فعالیت طبیعی سلولها را مختل کرده و پاسخهای فیزیویولوژیک و بیوشیمیایی متفاوتی را در بدن موجودات زنده ایجاد می کنند. با داشتن ساختار پیچیده، باعث اختلال در فعالیت طبیعی سلولها می شوند و این امر پاسخهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متفاوتی را در بدن موجودات زنده به دنبال دارد[۱۱, ۱۳]. خون ماهی مستعد استرس ناشی از آلودگی است و تغییر در پارامترهای هماتولوژیک و ایمونولوژیک می تواند به عنوان شاخص سمیت زنوبیوتیکها مورد استفاده قرار گیرد. در عمل، خون ماهی تا حد زیادی در تحقیقات سم شناسی و پایش محیطی به عنوان شاخص مطلوب تغییرات فیزیولوژیکی و پاتولوژیک استفاده می شود . شاخص‌های بیوشیمیایی می‌توانند برای ارزیابی اثرات آلاینده‌ها بر روی ماهی مفید باشند [۲۳].

ماهی کپور معمولی یکی از ماهیان مطرح در صنعت شیلات ایران بوده و بخش مهمی از رژیم غذایی انسان است و به همین دلیل تحقیقات متعددی در مورد تاثیر فلزات سنگین بر ماهی در جهان و تعدادی در ایران صورت گرفته است [۲۴]. از مطالعات صورت گرفته در زمینه اثرات فلزات سنگین بر ماهی میتوان به بررسی اثر سمیت سرب (Pb) بر برخی از پارامترهای بیوشیمیایی خون بچه ماهی فیتوفاگ (*Hipophtalmicthys molitrix*) پرورشی [۲]، بررسی فاکتورهای خونی ماهی حوض [۵]، بررسی اثرات فلز سنگین مس بر برخی شاخصهای فیزیولوژیکی ماهی فیتوفاگ (*Hipophtalmicthys molitrix*) [۱]، اندازه گیری غلظت فلزات سنگین و ارزیابی خطرناشی ازآنهادر گونه های مختلف ماهی [۳]، اثرات حاد مس و

سرب بر برخی پارامترهای خونی در گونه *Salmo coruhensis* [۲۵]، بررسی اثرات سولفات مس روی برخی پارامترهای اکو فیزیولوژیکی در کپور نقره ای اشاره نمود [۱۶]. هدف از تحقیق حاضر بررسی میزان کلسترول و تری گلیسیرید خون در ماهیان قرار گرفته در معرض غلظتهای تحت کشنده و ترکیبی مس و سرب به مدت ۲۱ روزاست.

۲. مواد و روشها

در این تحقیق، از ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) با میانگین وزنی (۵۰g ±۲۰۰) استفاده شد. ماهیها از محل پرورش ماهیان خریداری و به مر کز تحقیقات جهت انجام آزمایشات منتقل شد. ماهیها را وارد تانکهای ۲۰۰ لیتری پر شده از آب هوادهی شده، نموده و به مدت ۲ هفته در شرایط یکسان و تانکهای جداگانه، به منظور حذف عامل استرس و تغییرات ناشی از حمل و همچنین سازگار نمودن ماهی ها به شرایط جدید نگهداری شدند. شاخص های فیزیکی و شیمیایی آب مورد استفاده در این آزمون : اکسیژن محلول :mg/L ۳ ± ۷/۲۵، شوری: ۱/۷g/l، سختی کل mg/l: ۵۲۶، ۸ =PH، دمای آب : ۱±۱۷ درجه سانتی گراد

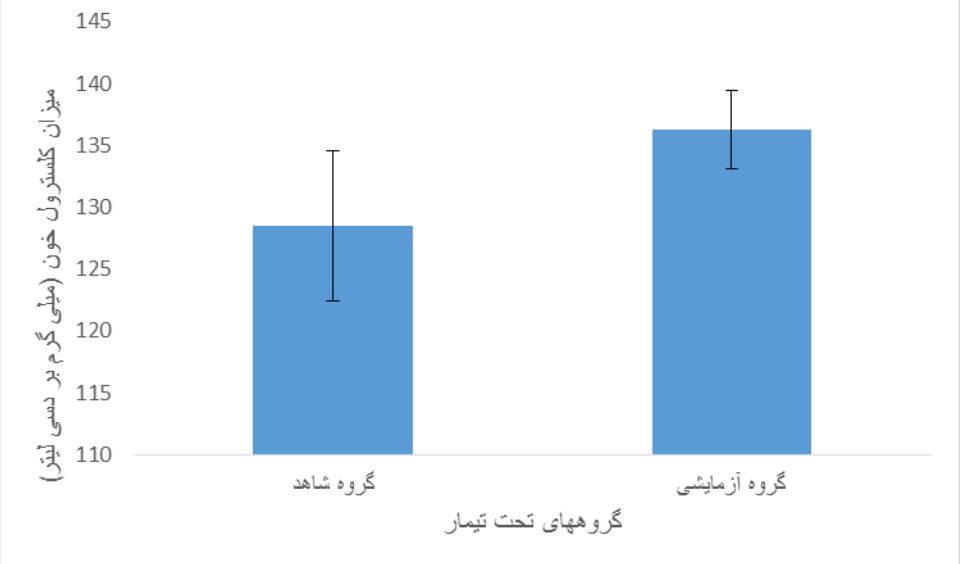
در این تحقیق از دو فلز سنگین مس و سرب استفاده شد که مس به صورت سولفات مس آبدار (CuSO4,5H2O) و سرب به صورت نیترات سرب (PbNO3)، در مقدار مشخص وزن شده و هر روز به آب ماهی ها اضافه شدند. برای ثابت ماندن میزان غلظت فلزات سنگین در آب، هر روز آب تانکها عوض می شد.

پس از گذشت ۲۱ روز قرار گرفتن در معرض دز ترکیبی مس و سرب، ماهیان کپورمعمولی توسط تور مخصوصی از آب گرفته شده و با زدن ضربه به سر آنها را بیهوش می کنیم. ماهیها را در تشتک تشریح قرار داده و به وسیله سرنگ ۵ میلی آغشته به هپارین (جهت جلوگیری از انعقاد خون) از ساقه دمی ماهی خون گیری نموده و درلوله های فاقد ضد انعقاد خون برای تهیه سرم ریخته شدند. دستگاه اسپکتروفتومتر Biowave, S2100 Diode Aray Spectrophotometer biochrom و کیت‌های مخصوص ساخت شرکت زیست شیمی برای سنجش میزان کلسترول و تری گلیسیرید مورد استفاده قرار گرفتند [۲۶].

برای آنالیز کردن داده ها، از نرم افزار SPSS استفاده می شود. نتایج به صورت خطای استاندارد ± میانگین نشان داده شدند. تست دانکن و One-way ANOVA برای ارزیابی وجود اختلاف معنی دار بین گروهها استفاده شد. اختلاف معنی دار بین گروهها با $P<0.05$ نشان داده شده است. نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel 2016 رسم شدند.

۳. نتایج و بحث

با توجه به آنالیز آماری داده ها و آنچه که در نمودار شماره ۱، دیده می شود، میزان کلسترول خون در گروه آزمایشی قرار گرفته در معرض دز ترکیبی مس و سرب (0.16mgCu/l +1.3mgPb/l)، نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است، که این افزایش معنی دار نیست. میزان کلسترول در گروه شاهد و گروه آزمایشی به ترتیب 128.5 ± 6.06 mg/dl و 136.3± 3.17 mg/dlاست. نمودار شماره ۲ نیز نشان دهنده افزایش میزان تری گلیسیرید خون در گروه آزمایشی نسبت به گروه شاهد بود. میزان تری گلیسیرید در گروه شاهد 137.09 ± 5.5 mg/dl و در گروه آزمایشی قرار گرفته درمعرض 1.3mgPb/l+0.16mgCu/l، 224.48 ± 6.87 mg/dl است.



نمودار ۱: مقایسه میزان کلسترول خون در گروه شاهد و گروه آزمایشی قرار گرفته در معرض دز ترکیبی مس و سرب (0.16mgCu/l + 1.3mgPb/l)

نمودار۲: مقایسه میزان تری گلیسرید خون در گروه شاهد و گروه آزمایشی قرار گرفته در معرض دز ترکیبی مس و سرب (0.16mgCu/l +1.3 mg Pb/l)

ماهی ها یکی از شاخصهای زیستی برای تعیین آلودگیهای آبی هستند [۲۰]. فلزات سنگین یکی از آلاینده های محیط آبی هستند که باعث ایجاد اختلال در فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ماهی می شوند [۲۹]. ماهیان قرار گرفته در معرض فلزات سنگین یک سری مکانیسمهای جبرانی را فعال می کنند که برخی از آنها توسط پاسخ استرس غیر اختصاصی واسطه می شوند [۳۲].

یکی از شاخصهای مورد استفاده برای تشخیص اثرات تحت کشنده مواد سمی از جمله فلزات سنگین در ماهیها، شاخصهای بیوشیمیایی است. پروتئین، چربی و کربوهیدرات از منابع اصلی تأمین انرژی در ماهیان هستند. بنابراین، تغییر و نوسان در میزان پروتئین، کلسترول و تری گلیسرید میتواند در ارتباط با مصرف آنها جهت تأمین انرژی لازم برای انجام فعالیتهای حیاتی بدن باشد. این ذخایر به عنوان سپرهای انرژی در شرایط سخت محیطی و کمبود غذا و نیز برای متعادل نمودن اثرات استرس وارد عمل می شوند [۱].

در بین و درون گونه ها بسته به نوع تغذیه، شدت فعالیت و مرحله رشد و نمو جنسی غلظت کلسترول خون ماهیان متفاوت است. سطوح غلظت تری گلیسرید، کلسترول به عنوان شاخصهای اصلی وضعیت سلامت ماهیان استخوانی عالی مطرح میباشد به طوریکه تغییر در غلظت کلسترول نشان دهنده تغییر سوخت و ساز در کبد و تخریب این بافت است [۳۰].

کلسترول پیش ساز هورمونهای استروئیدی است، و نقش مهمی در ساختار غشاء دارد. افزایش کلسترول پلاسما نشان دهنده این است که استرسهای محیطی همچون فلزات سنگین، باعث تخریب ساختار غشاء شده اند[۱۹] . Ausseil و همکاران افزایش میزان کلسترول در ماهی قزل آلای رنگین کمانی، *Oncorhynchus Mykiss* قرار گرفته در معرض کادمیوم و روی را گزارش

نمودند[۹]. مطابق با یافته های Flomar در سال ۱۹۹۳، مواجهه با مس باعث افزایش میزان کلسترول خون شده که نشان دهنده آسیب ساختار سلولی است [۱۲]. میزان تری گلیسیرید و کلسترول خون در ماهیان کپور معمولی قرار گرفته به مدت ۲۸ روز در معرض غلظتهای تحت کشندگی گالیوم، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری نشان داده است [۳۱]. در مهره داران مختلف، هایپر لیپیدمی و هایپر کلسترولی، در پاسخ به سمیت بامس [۱۷] و سرب [۲۷]گزارش شده است.

آنزیمهایی همچون لیپوپروتئین لیپاز تحت تاثیر آلاینده هایی همچون فلزات سنگین مهار شده و افزایش سطح تری گلیسیرید خون را به دنبال دارد. با توجه به اثر فلزات بر روی بافت کبد و کلیه، تخریب این بافتها باعث افزایش میزان تری گلیسیرید و کلسترول خون می شود [۶ , ۳۳].

نتیجه تحقیق حاضر مشخص نمود که فلزات سنگین اثرات سمی زیادی روی ماهیان دارند و ما می توانیم از شاخصهای بیوشیمیایی برای سنجش آلودگی محیطهای آبی به فلزات سنگین استفاده نمائیم.

۴. منابع

۱- سپاهی، محمد جواد ، نخبه زارع، دل آرام و فدایی راینی، رها؛ بررسی اثرات فلز سنگین مس بر برخی شاخص های فیزیولوژیکی ماهی فیتوفاگ پرورشی (*Hypophthalmichthys molitrix*).فصلنامه محیط زیست جانوری، ۲۰۱۹، شماره ۱۱(۲)، صفحات ۲۰۵-۲۱۴.

۲- شکوری, مهزاد، ابدالی، سورنا و شکوهی، سمیه؛ بررسی اثر سمیت سرب (Pb) بر برخی از پارامترهای بیوشیمیایی خون بچه ماهی فیتوفاگ پرورشی (*Hypophthalmichthys molitrix*). پژوهش های علوم و فنون دریایی, ۲۰۱۷، شماره ۱۲(۱)، صفحات ۷۲-۸۴.

۳- عبادی فتح آباد، عیوب، تاجیک، حسین و شریعتی فر، نبی؛ اندازه گیری غلظت فلزات سنگین و ارزیابی خطر ناشی از آنها در گونه های مختلف ماهی. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences (JMUMS), 2019. 28(168). ۲۰۱۹، شماره ۲۸، صفحات ۱۶۸- ۱۷۵.

٤- فاضلی, محمد شریف، ابطحی، بهروز و صباغ کاشانی، آذر؛ سنجش تجمع فلزات سنگین سرب، نیکل و روی در بافتهای ماهی کفال (Liza aurata) سواحل جنوبی دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران, ۲۰۰۵، شماره ۱۴(۱)، صفحات ۶۵-۷۸.

٥- وثوقی, غلام حسین، شاهسونی، داور و پیغان، رحیم؛ بررسی فاکتورهای خونی ماهی حوض (*Carassius auratus*) مجله تحقیقات دامپزشکی (Journal of Veterinary Research)، ۱۹۹۸، شماره ۵۲ (۴)، صفحات ۳۵-۴۸.

6- *Abdelmeguid, Nabila. et al, Histochemical and biochemical changes in liver of Tilapia zilli G. as a consequence of water pollution. Online Journal of Biological Science, 2002, 2, pp. 224-229.*

7- *Ahmdifar, Ehsan. et al, Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (Huso huso) juveniles. Comparative Clinical Pathology, 2011, 20(5), pp. 447-451.*

8- *Al-Darwesh, Ali Adnan. et al, Diagnostic and pathological study of Argulus japonicasin goldfish (Carassius auratus). Global Journal of Bio-Science and Bio-Technology, 2014, 3(4), pp. 384-387.*

9- *Ausseil, Olivier,etal. Influence of metal (Cd and Zn) waterborne exposure on radionuclide (134Cs, 110mAg, and 57Co) bioaccumulation by rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): a field and la boratory study. Environmental Toxicology and Chemistry, 2002, 21, pp. 619–625.*
10- *Canli, Mustafa and Atli, Gülüzar, The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. Environmental pollution, 2003, 121(1),pp. 129-136.*
11- *El-Moselhy, Khalid M. et al, Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in the Red Sea, Egypt. Egyptian journal of basic and applied sciences, 2014, 1(2), pp. 97-105.*
12- *Folmar, Leroy C, Effects of chemical on blood chemistry of teleost fish: a bibliography and synopsis of selected effects. Journal of Environmental, Toxicology and Chemistry, 1993, 12, pp.237-375*
13- *Gagnon, Alexandra, Jumarie, Catherine and Hontela, Alice, Effects of Cu on plasma cortisol and cortisol secretion by adrenocortical cells of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquatic toxicology, 2006, 78(1), pp. 59-65.*
14- *Ghaedi, Mehrorang. et al, Preconcentration and separation of trace amount of heavy metal ions on bis (2-hydroxy acetophenone) ethylendiimine loaded on activated carbon. Journal of Hazardous Materials, 2009, 162(2-3), pp. 1408-1414.*
15- *Ghaedi, Mehrorang. et al, The determination of some heavy metals in food samples by flame atomic absorption spectrometry after their separation-preconcentration on bis salicyl aldehyde, 1, 3 propan diimine (BSPDI) loaded on activated carbon. Journal of Hazardous Materials, 2008, 154(1-3), pp. 128-134.*
16- *Hedayati, Aliakbar, and Ghaffari, Zahra , Evaluation of the effects of exposure to copper sulfate on some eco-physiological parameters in silver carp (Hypophthalmichthys Molitrix). Iranian Journal of Toxicology, 2013, 7(22), pp. 887-893.*
17- *Hilmy, Adnan. et al, Some physiological and biochemical indices of size toxicityin two freshwater fishes, Clarias lazera and Tilapia zilli, 1987, 87,pp. 297-301*
18- *Kori-Siakpere, Ovie., Ake,Jorge and U. Avworo, Sublethal effects of cadmium on some selected haematological parameters of Heteroclarias (a hybrid of Heterobranchus bidorsalis and Clarias gariepinus), 2006,8, pp.131-139.*
19- *Kim, Jun-Hwan, Kang, Ju-Chan, Oxidative stress, neurotoxicity, and non-specific immuneresponses in juvenile red sea bream, Pagrus major, exposed to different waterborne selenium concentrations. Chemosphere, 2015,135, pp. 46–52.*
20- *Lodhi, Huma. et al, Acute toxicity of copper sulphate to fresh water prawns. Journal of Environmental Biology, 2006, 27(3), pp. 585-588.*
21- *Mazon, Aurelia, et al., Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, Prochilodus scrofa. Brazilian Journal of Biology, 2002, 62(4A), pp. 621-631.*
22- *Rahman, M. Safiur. et al, Study on heavy metals levels and its risk assessment in some edible fishes from Bangshi River, Savar, Dhaka, Bangladesh. Food chemistry, 2012, 134(4), pp. 1847-1854.*
23- *Ribeiro, Celso. et al, Hematological findings in neotropical fish Hoplias malabaricus exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead, and tributyltin chloride. Environmental research, 2006, 101(1), pp. 74-80.*
24- *Salehi, Hasan., An analysis of the consumer market for carp and carp products in Iran. 2006.*
25- *Serezli, Ramazan, Akhan, Süleyman and Delihasan-Sonay, Fatma, Acute effects of copper and lead on some blood parameters on Coruh trout (Salmo coruhensis). African Journal of Biotechnology, 2011, 10(16), pp. 3204-3209.*
26- *Sevcikova, Mustafa. et al, Biochemical, haematological and oxidative stress responses of common carp (Cyprinus carpio L.) after sub-chronic exposure to copper. Veterinarni Medicina, 2016, 61(1), .pp.49-55.*
27- *Tarugi, P. et al, Heavy metals and experimental atherosclerosis.Effects of lead intoxication on rabbit plasma lipoproteins. Atherosclerosis, 1982, 45, pp. 221-234.*

28- *Thangam, Yesudass, S. Jayaprakash, Jayaprakash and Perumayee, Muthusamy, Effect of copper toxicity on hematological parameters to fresh water fish Cyprinus carpio (common carp). Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology, 2014, 8(9), pp. 50-60.*
29- *Vilella, Sebastiano. et al, Effect of cadmium and zinc on the Na+/H+ exchanger present on the brush border membrane vesicles isolated from eel kidney tubular cells. Aquatic toxicology, 2000, 48(1), pp. 25-36.*
30- *Yang, J-Lee and Chen, H-Cheng, Toxic effects of the semiconductor metal gallium on common carp (Cyprinus carpio). Acta Zoologica Taiwanica, 2002, 13, pp. 63-72.*
31- *Yang, J-Lee and Chen, H-Cheng, Effects of gallium on common carp (Cyprinus carpio): acute test, serum biochemistry, and erythrocyte morphology. Chemosphere, 2003, 53, pp. 877-882.*
32- *Zare, Samad.et al, Effects of lead nitrate (PbNO3) on the glucose and cortisol hormone levels in common carp, Cyprinus carpio. Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS, 2007, 10(15), pp. 2587-2590.*
33- *Zhou, Xuehan, et al, Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach Misgurnus anguillicaudatus. Fish Physiology and Biochemistry, 2009, 35(3),pp. 435-441.*