



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره ششم، شماره اول، بهار ۹۷

<http://jair.gonbad.ac.ir>

بررسی اثرات کوتاه مدت نفت خام ایران بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی

خون بچه‌ماهی باس آسیایی (*Lates calcarifer* (Bloch, 1790)

شهربانو موسوی مطهر^۱، دارا باقری^{۲*}، محمد محیسنی^۳، محمود نفیسی بهابادی^۴، امین اوجی فرد^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

^۲ استادیار، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

^۳ استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران

^۴ دانشیار، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

تاریخ ارسال: ۹۶/۵/۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۱۲

چکیده

نشت تصادفی نفت در دریا اثرات زیادی بر اکوسیستم‌های دریایی داشته است. لذا مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر نفت خام ایران بر برخی از پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی باس دریایی (*L. calcarifer*) انجام شد. ۲۲۵ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزنی $7/22 \pm 1/42$ گرم و میانگین طولی $3/47 \pm 8/4$ سانتی‌متر در پنج تیمار با سه تکرار در معرض تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد، نفت خام پخش‌شده به روش شیمیایی، نفت خام پخش‌شده به روش مکانیکی، بخش قابل حل نفت در آب و پخش‌کننده شیمیایی به‌عنوان شاهد مثبت بود. نمونه‌برداری در زمان‌های ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از در معرض قرارگیری انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST)، گلوکز، تری‌گلیسرید و پروتئین کل پلاسما خون بود. تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم ALT، گلوکز و پروتئین کل مشاهده نشد، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای نفت پخش‌شده به روش مکانیکی و نیز تیمار نفت پخش‌شده به روش شیمیایی در سطوح آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) پس از ۴۸ ساعت با سایر تیمارها مشاهده شد. پس از ۹۶ ساعت تیمار نفت پخش‌شده به روش مکانیکی تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد. تغییرات سطوح تری‌گلیسرید پلاسما خون بعد از ۴۸ و ۹۶ ساعت در معرض قرارگیری، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای نفت پخش‌شده به روش مکانیکی و تیمار بخش قابل حل نفت در آب با تیمار

*نویسنده مسئول: dara.bagheri@pgu.ac.ir

شاهد را نشان داد. به‌طور کلی اطلاعات به‌دست آمده نشان می‌دهد آلاینده‌های نفتی توانایی بر هم زدن سطوح آنزیم آسپارات آمینو ترانسفراز و تری‌گلیسرید پلاسمای خون بچه‌ماهیان را دارند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تیمارهای نفت پخش‌شده به روش شیمیایی و نیز تیمار نفت پخش‌شده به روش مکانیکی، غلظت بالای نفت را در ستون آب القاء و در نتیجه تأثیرات کوتاه مدت بالاتری نسبت به سایر تیمارهای مورد مطالعه بر پارامترهای بیوشیمیایی خون بچه‌ماهیان باس آسیایی دارند.

واژه‌های کلیدی: *L. calcarifer*، فاکتورهای بیوشیمیایی خون، نفت خام ایران

مقدمه

آبزی پروری به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین منابع تولید مواد غذایی در جهان به‌شمار می‌رود که در سال‌های اخیر رشد بسیار زیادی داشته است. فشار بر ذخایر دریایی و صید آبیان برای تأمین غذا، گونه‌های آبیان دریایی را در معرض فشار و انقراض قرار داده است. از این‌رو توسعه آبزی‌پروری علاوه بر تأمین امنیت غذایی، در ثبات اکوسیستم‌های دریایی نیز بسیار مؤثر است (Sadighzadeh et al., 2014). در محیط‌های آبی از میان انواع مختلف آلودگی‌ها، ترکیبات نفتی یکی از مهم‌ترین آلاینده‌ها می‌باشند (Pacheco and Santos, 2001). نفت خام دارای هیدروکربن‌هایی با وزن و طول‌های مختلف می‌باشد که ساختارهای مختلف به آنها خواص متفاوتی می‌دهد (Almeida et al., 2012). زمانی که نفت وارد محیط آبی می‌شود به شکل‌های متفاوتی از جمله فیزیکی، شیمیایی و فرآیندهای زیستی دچار تغییر و تحول شده و بر محیط آبی اثر می‌گذارند، به محض ورود آلودگی نفتی به محیط‌های آبی، فرآیند تغییرات فیزیکی و شیمیایی آغاز می‌گردد، این مراحل شامل مراحل تبخیر، انتشار، امولسیون شدن، تجزیه و فساد، تبادل‌های هوایی و دریایی و ته‌نشینی است (Pacheco and Santos, 2001).

اکسیداسیون شیمیایی برخی از ترکیبات نفت اغلب به کمک نور خورشید صورت می‌گیرند و ترکیبات تجزیه شده شامل: توده‌های شناور قیر مانند، حل‌شدگی و ذره شدن مواد هیدروکربنی در ستون و سطوح آبی و مواد ته‌نشین شده در بستر دریا هستند (Pacheco and Santos, 2001). همراه فرآیندهای فیزیکی و شیمیایی، فرآیند زیستی هم به آرامی صورت می‌پذیرد. از مهم‌ترین فرآیندهای زیستی می‌توان به تجزیه مواد نفتی توسط میکروارگانیسم‌ها و تبدیل به دی‌اکسید کربن یا مواد آلی در فاز حد واسط، اکسیداسیون، حمل به سطوح بالای آب توسط ارگانیسم‌های بزرگ و متابولیت‌ها، ذخیره‌سازی و تخلیه اشاره نمود (Pacheco and Santos, 2001).

نفت و ترکیبات آن اثرات حادی بر مرحله لاروی و جوانی ماهیان دارد این تغییرات شامل تغییرات ریختی، آسیب‌های بافتی و ژنتیکی می‌باشد (Hose et al., 1996). ارگانیسم‌های آبی، هیدروکربن‌های آلی موجود در آب را جذب می‌کنند و در نتیجه اثرات متفاوتی بعد از مواجهه با این آلودگی‌ها در آنها رخ

می‌دهد (Teh *et al.*, 2004). ماهی‌ها به‌عنوان امکان‌پذیرترین موجودات برای بررسی آلودگی در اکوسیستم‌های آبی دارای چندین سیستم آنزیمی برای مقابله با زیست دگرگونی مختلف آلاینده‌ها می‌باشند (Van der Oost *et al.*, 2003)، با اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی و آنزیم‌های دفاعی آنها می‌توان تأثیر آلاینده‌ها را بر اکوسیستم‌های آبی را مورد بررسی قرار داد (Petřivalský *et al.*, 1997). خلیج فارس یکی از مهم‌ترین بوم‌سازگان آبی کشور بوده که به میزان زیادی در معرض آلودگی‌های نفتی قرار دارد، این اکوسیستم در دهه‌های اخیر یک محیط بسیار پر استرس در نتیجه فعالیت‌های نفتی بوده که منجر به آلودگی بالا در این محیط‌زیست دریایی شده است (De Mora *et al.*, 2010). خلیج فارس در حدود دو سوم از ذخایر اثبات شده نفت جهان را در خود دارد و در حال حاضر حدود یک چهارم از تولید نفت جهان را تشکیل می‌دهد (Khan *et al.*, 2002). بررسی تأثیرات آلودگی‌های نفتی سواحل شمالی خلیج فارس نشان داده است که آلاینده‌های موجود در این اکوسیستم قادر به ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی در ماهیان است (Bagheri *et al.*, 2014). از این رو به نظر می‌رسد استفاده از پارامترهای بیوشیمیایی خون می‌توانند به‌عنوان ابزاری مناسب برای تعیین اختلالات متابولیکی در ماهی، مورد استفاده قرار گیرند (Çelik, 2004). ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*) از ماهیان با ارزش دریایی بوده که با نام باراموندی شناخته می‌شود (Tian and Qin, 2003). این ماهی به میزان زیادی در استرالیا، تایلند و اندونزی پرورش داده می‌شود، سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*) به دلیل رشد سریع و توانایی سازگار شدن در شرایط محیطی مختلف همچنین وجود تقاضا در بازارهای داخلی و خارجی از گونه‌های بالقوه پرورش در سیستم استخرهای خاکی و همچنین پرورش در قفس در ایران می‌باشد (Ouji fard *et al.*, 2017). از این رو پژوهش حاضر با هدف، شبیه سازی رفتار گسترش نفت خام در دریا و برآورد خطرات ناشی از آلودگی‌های نفتی بر بچه‌ماهیان سی‌باس دریایی می‌پردازد، به این منظور نشانگرهای زیستی شامل آنزیم‌های ترانس آمینازی خون (ALT و AST) (به همراه دیگر پارامترهای بیوشیمیایی خون (پروتئین کل، گلوکز و تری‌گلیسرید) مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۲۵ قطعه بچه ماهی سی‌باس آسیایی (*L. calcarifer*) با میانگین وزن $5/2 \pm 0/23$ گرم و میانگین طولی $6/13 \pm 0/3$ سانتی‌متر از مراکز تکثیر و پرورش این ماهی در بهار سال ۱۳۹۵ تهیه و به مرکز پژوهشکده خلیج فارس منتقل گردید. ماهیان پس از انجام سازگاری دما و شوری به مخازن پلی‌اتیلن ۳۰۰ لیتری با میزان آب گیری ۲۰۰ لیتر منتقل شدند. در این مدت غذاهای با استفاده از غذای تجاری اکستروود ۲ میلی‌متر ساخت شرکت ۲۱ بیضاء در سه نوبت در روز (صبح، ظهر و عصر) تا

حد سیری، انجام شد. جهت تأمین آب، آب دریا از ساحل خلیج فارس به محل آزمایش پمپاژ شده و پس از دو بار عبور از فیلتر شنی و سیستم تهویه، آب به مخازن پلی‌اتیلن منتقل گردید. در طی دوره آداپتاسیون تعویض آب به میزان ۷۰ درصد روزانه انجام گردید. پارامترهای فیزیکی‌شیمیایی آب شامل دما، اکسیژن، pH و شوری به صورت روزانه اندازه‌گیری شد. بعد از گذشت دوره ۲۱ روزه آداپتاسیون، زیست‌سنجی بچه‌ماهیان با استفاده از ترازوی دیجیتال AND (مدل HL1000، ژاپن) با دقت ۰/۰۱ گرم و خط‌کش استاندارد معمولی با دقت ۰/۱ سانتی‌متر انجام شد.

آماده سازی تیمارهای آزمایشی: رویکرد آزمایش شبیه‌سازی رفتار گسترش نفت در دریا و اثرات آن بر ماهی باس دریایی (*L. calcarifer*) بود. به منظور آماده‌سازی تیمارهای آزمایشی میزان ۲۵۰ گرم نفت خام ایران که از حوضه نفتی آزادگان تهیه شده بود، زیر نور آفتاب بدون هواده قرار داده شد تا ترکیبات سبک نفت آزاد شوند و اشعه UV نور خورشید اثر خود را بگذارد. از این نفت برای تهیه تیمارهای آزمایشی استفاده گردید. تیمار آزمایشی شامل گروه شاهد، پخش‌کننده شیمیایی به‌عنوان شاهد مثبت، نفت خام پخش‌شده به روش شیمیایی، نفت خام پخش‌شده به روش مکانیکی و بخش قابل حل نفت در آب بود. تیمار شاهد تنها شامل آب دریا بود، تیمار شاهد مثبت با ریختن ۰/۴ گرم از پخش‌کننده (آنزیم زیستی Oil spill eater II) به درون قیف مخلوط‌کننده تهیه گردید تیمار نفت پخش‌شده به روش شیمیایی با ریختن ۲۰ گرم از نفت و ۰/۴ گرم از پخش‌کننده شیمیایی (آنزیم زیستی Oil spill eater II) به درون قیف مخلوط‌کننده آب تهیه شد، به منظور آماده‌سازی تیمار نفت پخش‌شده به روش مکانیکی ۲۰ گرم نفت خام به داخل قیف مخلوط‌کننده اضافه گردید، تیمار نفت محلول در آب با ریختن ۲۰ گرم نفت خام بر روی پارچه توری نازک متصل شده به انتهای یک ظرف دایره‌ای شکل ایجاد شد. این تیمار در طول دوره در معرض قرارگیری، بدون مخلوط کردن باقی مانده و ماهی‌ها تنها در معرض بخش محلول نفت در آب قرار داده شدند (Milinkovitch et al., 2011).

۲۴ ساعت پس از آماده‌سازی تیمارها، پانزده عدد بچه‌ماهی به روش استاتیک و بدون تعویض آب در معرض تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند، در این مرحله غذایی نیز قطع شد. شرایط فیزیک و شیمی آب در طی مدت زمان نگهداری بچه‌ماهیان در تیمارهای آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- اندازه‌گیری شرایط فیزیک و شیمی آب بچه‌ماهیان باس آسیای (*L. calcarifer*) فاکتورهای در معرض نفت خام.

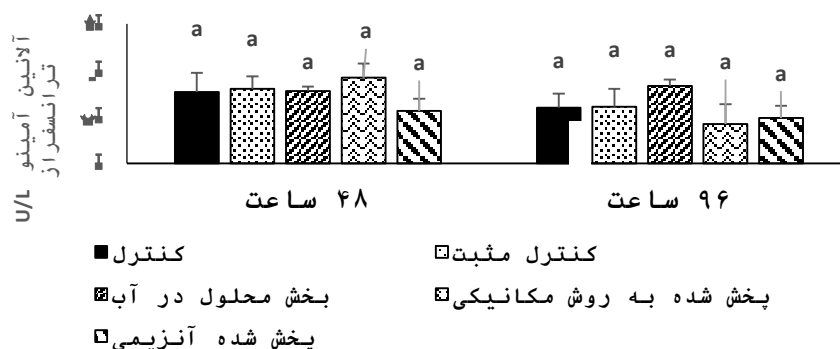
نوع سنجش	واحد اندازه‌گیری	میانگین اندازه ثبت شده
دما	درجه سانتی‌گراد	۲۵/۸۴ ± ۰/۵۶
اکسیژن محلول	میلی‌گرم در لیتر	۵/۵۷ ± ۰/۳۳
Ph	pH	۷/۲۹ ± ۰/۱۴
شوری	گرم در لیتر	۴۶/۳۳ ± ۰/۴۲

نمونه برداری: پس از گذشت ۴۸ و ۹۶ ساعت از مواجهه ماهیان با تیمارهای آزمایشی نمونه برداری از خون انجام شد. از هر تیمار ۹ قطعه ماهی به طور تصادفی انتخاب شده و خونگیری از ساقه دمی با استفاده از سرنگ انسولین آغشته به هپارین انجام شد. نمونه های خونی در یخ نگهداری و در سریع ترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شد. پلاسمای خون با استفاده از سانتریفوژ نمونه های خونی در ۵۰۰۰ دور و دمای ۴ درجه سانتی گراد در ۵ دقیقه به دست آمد (Bagheri *et al.*, 2014). سپس نمونه های پلاسمای خون تا زمان انجام آنالیزهای بیوشیمیایی در فریزر ۸۰- نگهداری شد. فاکتورهای بیوشیمیایی مورد سنجش شامل آنزیم های ترانس آمینازی خون (آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارت آمینو ترانسفراز)، پروتئین کل، گلوکز، تری گلیسرید بود. تمامی فاکتورها با استفاده از کیت تجاری پارس آزمون مورد سنجش قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش در پنج تیمار با سه تکرار، در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی انجام گردید. ابتدا نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت. وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها از نظر تغییرات بیوشیمیایی پلاسمای خون با استفاده از آنالیز یک طرفه واریانس (One way ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت. برای مقایسه میانگین ها از آزمون توکی در سطح پنج درصد ($\alpha = 0/05$) استفاده گردید (Quinn and Keough, 2002). نتایج به صورت میانگین \pm خطای میانگین ها بیان شد. کلیه تجزیه و تحلیل های آماری و آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS-23 انجام شد.

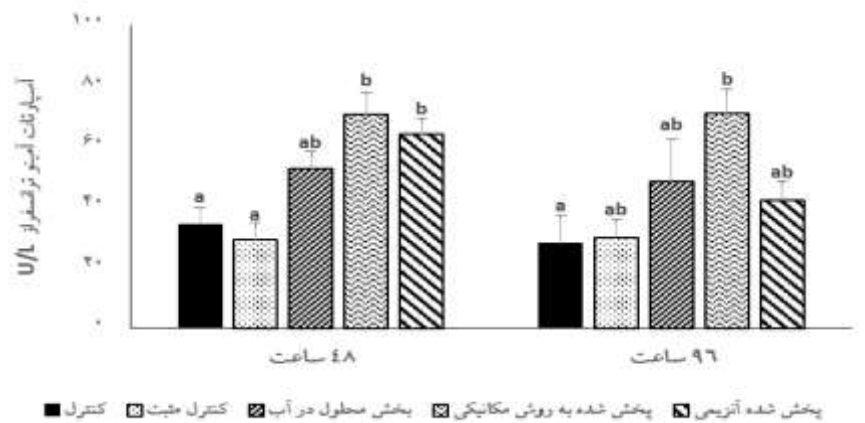
نتایج

سنجش آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) پلاسمای خون در ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از در معرض قرار گیری تیمارها هیچ تفاوت معنی داری را نشان نداد (شکل ۱).



شکل ۱- سطوح آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز پلاسمای خون بچه ماهیان باس آسیایی (*L. calcarifer*) پس از ۴۸ و ۹۶ ساعت در معرض قرار گرفتن تیمارها با آلودگی نفتی.

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری سطوح آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز پلاسمای خون (AST) پس از ۴۸ ساعت در معرض قرارگیری مشخص ساخت که تیمارهای پخش‌کننده شیمیایی و پخش‌کننده مکانیکی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشتند ($p < 0/05$) (شکل ۲). پس از ۹۶ ساعت تیمار نفت پخش شده به روش مکانیکی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0/05$) (شکل ۲).



شکل ۲- سطوح آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز پلاسمای خون بچه‌ماهیان باس آسیایی (*L. calcarifer*) پس از ۴۸ و ۹۶ ساعت در معرض قرار گرفتن تیمارها با آلودگی نفتی. حروف نامشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنادار می‌باشد ($p < 0/05$).

تغییرات سطح گلوکز پلاسمای خون پس از ساعات ۴۸ و ۹۶ در تمامی گروه‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p < 0/05$) (جدول ۲). سطوح تری‌گلیسرید پلاسمای خون بعد از ۴۸ ساعت، تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای نفت پخش‌شده به روش مکانیکی و تیمار پخش قابل حل نفت در آب با گروه شاهد نشان داد ($p < 0/05$). پس از ۹۶ ساعت در معرض قرارگیری سطوح تری‌گلیسرید پلاسمای خون در تیمارهای شاهد مثبت و تیمار نفت حل‌شده به روش شیمیایی به ترتیب افزایش و کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند ($p < 0/05$) (جدول ۲). نتایج حاصل از آنالیز پروتئین کل پلاسمای خون در بین تیمارهای آزمایشی بعد از ۴۸ و ۹۶ ساعت هیچ تفاوتی بین گروه‌های مورد ارزیابی نشان ندادند ($p < 0/05$) (جدول ۲).

جدول ۲- تغییرات سطوح گلوکز، تری گلیسرید و پروتئین پلاسمای خون بچه ماهیان باس آسیایی (*L. calcarifer*) در معرض نفت خام.

عامل	دوره	شاهد	شاهد مثبت	بخش محلول در آب	پخش کننده مکانیکی	پخش کننده شیمیایی
گلوکز (mg/dl)	۴۸ ساعت	۸۹/۳±۷/۸ ^a	۹۴/۲±۲/۷ ^a	۹۲/۲±۲/۳ ^a	۶۴/۸±۱۰/۴ ^a	۷۷/۹±۱۰/۳ ^a
	۹۶ ساعت	۷۳/۲±۱۷/۵ ^a	۱۰۳/۴±۸/۴ ^a	۶۵/۷±۱۸ ^a	۷۹/۲±۲/۹ ^a	۴۵±۲/۶ ^a
تری گلیسرید (mg/dl)	۴۸ ساعت	۶۴۷/۴±۶۳/۵ ^c	۵۷۸/۹±۴۹/۳ ^{bc}	۳۲۸/۶±۲۹/۹ ^a	۲۸۸±۳۲/۸ ^a	۳۹۰±۲۰/۹ ^{ab}
	۹۶ ساعت	۳۷۶±۵۱/۹ ^{bc}	۴۹۶/۶±۲۲/۳ ^c	۳۶۳/۵±۱۷/۹ ^b	۳۶۳/۴±۱۸/۳ ^b	۱۵۰/۷±۱۲/۱ ^a
پروتئین کل (mg/ml)	۴۸ ساعت	۴۸/۷±۲/۵ ^a	۵۲/۲±۲/۸ ^a	۵۱±۲/۶ ^a	۵۱/۷±۴/۸ ^a	۴۸/۷±۳/۷ ^a
	۹۶ ساعت	۵۶/۲±۴/۴ ^a	۵۱/۳±۲/۳ ^a	۵۲/۶±۴/۱ ^a	۴۹/۷±۳/۳ ^a	۵۲±۴/۴ ^a

حروف نامشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشد ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری

سنجش بیوشیمیایی پارامترهای خونی از جمله شاخص های زیستی مهمی هستند که در ارزیابی وضعیت سلامت ماهی به طور گسترده استفاده می شوند (Bhagwant and Bhikajee, 2000). تغییرات پارامترهای خون اغلب وابسته به تغییرات فیزیولوژیکی و محیطی هستند، بنابراین در شرایطی که ماهیان در معرض استرس هایی همچون آلاینده ها قرار می گیرند، تغییرات در برخی از پارامترهای بیوشیمیایی خون شناسی ایجاد می شود (Remytla *et al.*, 2008). آنزیم های ترانس آمینازی، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) اغلب در تشخیص آسیب های ناشی از آلاینده ها در بافت های مختلف ماهی از جمله کبد، عضله و آبشش استفاده می شوند (Dela *et al.*, 2000). افزایش فعالیت این آنزیم ها در مایع خارج سلولی یا پلاسما یک شاخص حساس آسیب سلولی است (Moss *et al.*, 1986). در مطالعه حاضر تفاوت معنی داری در میزان آنزیم ALT پس از ۴۸ و ۹۶ ساعت از زمان در معرض قرارگیری مشاهده نشد. با این حال، سطوح آنزیم آسپارات آمینو ترانسفراز در تیمارهای نفت پخش شده به روش مکانیکی و نیز تیمار نفت پخش شده به روش شیمیایی پس از ۴۸ ساعت افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد داشت (شکل ۳). مطالعات زیادی تغییرات آنزیم های آمینو ترانسفراز خون ماهیان در مواجهه با آلاینده ها را نشان داده اند (Alonso *et al.*, 2007; Jeney *et al.*, 1996; Beyer *et al.*, 1996). کاهش در فعالیت آنزیم ALT ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) در معرض پساب کارخانه کاغذسازی نیز گزارش شده است (Jeney *et al.*, 1996). از این رو به نظر می رسد پاسخ متفاوت آنزیم های ترانس آمینازی خون ماهیان به نوع آلاینده، شرایط زیست محیطی و نیز گونه ماهی بستگی دارد (Dela *et al.*, 2000; Golet *et al.*, 2002; Stanic *et al.*, 2006; Vijayavel *et al.*, 2006).

گلوکز یک ترکیب کربوهیدراتی است که نقش مهمی در انرژی زیستی موجودات دارد (Lucas, 1996). استرس ایجاد شده در اثر حضور آلاینده‌ها باعث تخلیه سریع کربوهیدرات‌های ذخیره شده در درجه اول در هیپوتوپانکراس و بافت‌های دیگر می‌شود (Elumalai and Balasubramanian, 1997). در مطالعه حاضر میزان گلوکز در زمان‌های ۴۸ و ۹۶ ساعت بعد از در معرض قرارگیری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در شرایط استرس، تولید گلوکز بسترهای انرژی برای بافت‌ها را به‌منظور مقابله با افزایش تقاضای انرژی فراهم می‌کند. از این رو در کوتاه مدت موجود با افزایش سطوح گلوکز خون سعی در مقابله با شرایط استرسی ایجاد شده دارد، افزایش معنی‌دار غلظت گلوکز سرم در کفشک‌ماهی (*Pleuronectes flesus*) بعد از ۳ ساعت قرار گرفتن در معرض نفت خام و پس از ۴۸ ساعت مواجهه مشاهده شده است (Alkindi et al., 1996). با این حال پاچیکو و سانتوس (Pacheco and Santos, 2001) اعلام کردند هیچ تفاوت قابل توجهی در سطح گلوکز مارماهی (*Anguilla anguilla*) در معرض نفت خام دیزل در مدت ۳ و ۴ ساعت مشاهده نشده است.

محتوای چربی جزء اصلی ضروری در بافت‌های حیوانی است که نقش مهمی در متابولیسم انرژی ایفا می‌کند و به‌عنوان یک ابزار برای ارزیابی فیزیولوژی طبیعی عمل می‌کند (Vijayavel et al., 2006). در مطالعه حاضر میزان تری‌گلیسرید بعد از ۴۸ ساعت مواجهه با آلودگی نفتی، در گروه شاهد بالاترین و در تیمار نفت پخش شده در آب به روش مکانیکی، کمترین سطح را نشان دادند. میزان تری‌گلیسرید بعد از گذشت ۹۶ ساعت نشان داد بالاترین سطح مربوط به تیمار پخش‌کننده شیمیایی به‌عنوان شاهد مثبت و کمترین آن مربوط به تیمار نفت حل شده به روش شیمیایی بود. بعد از کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها بهترین تولیدکننده انرژی بدن هستند. محتوای چربی هیپوتوپانکراس، همولنف و تخمدان در خرچنگ (*Scylla tranquebarica*) جمع‌آوری شده از ایستگاه آلوده در مقایسه با نمونه‌های جمع‌آوری شده از سایت مرجع پایین‌تر بود. کاهش در ترکیبات چربی ممکن است به‌علت استفاده از چربی برای رفع نیاز به انرژی در زمان استرس باشد (Vijayavel et al., 2006).

پروتئین‌ها ترکیبات عمده در متابولیسم حیوانات هستند. آلاینده‌ها ممکن است در کار عادی این مولکول‌ها اختلال ایجاد کنند (Reddy and Bhagyalakshmi, 1994). این تغییرات ممکن است افزایش سنتز یا شکستن پروتئین‌ها و مهار و یا فعال شدن آنزیم‌های خاصی را شامل شوند (Canli, 1996). کاهش هر دو پروتئین آلبومین و گلوبولین در موجود زنده، با خونریزی و ضایعات ترشحات همراه است (Gad, 2007). در مطالعه حاضر تغییرات معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. به‌طور کلی وقتی یک حیوان تحت تأثیر آلاینده‌ها قرار می‌گیرد، سطح پروتئین برای به انجام رساندن تقاضای انرژی کم می‌شود (Neff, 1997).

به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد مواجهه کوتاه مدت ماهیان باس آسیایی با نفت خام سبب ایجاد تغییرات در برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون از جمله تغییرات در آنزیم آسپارات آمینو ترانسفراز و تری‌گلیسرید می‌گردد. از این رو به‌نظر می‌رسد که بررسی سطوح این فاکتورهای بیوشیمیایی در پلاسما می‌تواند شاخص مناسبی برای مطالعه در معرض قرارگیری این ماهیان با نفت خام به‌شمار رود. نتایج مطالعه حاضر مشخص ساخت تیمارهای، نفت پخش‌شده به روش مکانیکی و نیز تیمار نفت پخش‌شده به روش شیمیایی در کوتاه مدت بیشترین تأثیرات را در ماهیان دارند. به‌نظر می‌رسد متابولیت‌ها و ترکیبات آزاد شده در این تیمارها در دوره کوتاه در معرض قرارگیری قادر به ایجاد استرس و در نتیجه آن تغییر در ترکیبات بیوشیمیایی پلاسمای خون بچه ماهیان باس آسیایی شده است. نفت خام محلول در آب به‌دلیل افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژنی و متابولیت‌های آزاد شده سبب اختلال در سیستم فیزیولوژیکی ماهیان می‌شود (Niyogi *et al.*, 2001a, 2001b; Lavarías *et al.*, 2011).

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از جناب آقای دکتر افشار بارگاهی عضو هیات علمی مرکز تحقیقات زیست فناوری دریا، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر و جناب آقای دکتر مرشدی عضو محترم هیات‌علمی پژوهشکده خلیج فارس به‌دلیل همکاری‌های ارزشمند در انجام این تحقیق، اعلام می‌دارند.

منابع

- Alkindi A., Brown J., Waring C., Collings J. 1996. Endocrine, Osmoregulatory, Respiratory and Haematological Parameters in *Flounder* Exposed to the Water Soluble Fraction of Crude Oil. *Journal of Fish Biology*, 49: 1291-1305.
- Almeida J., Gravato C., Guilhermino L. 2012. Challenges in Assessing the Toxic Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons to Marine Organisms: A Case Study on the Acute Toxicity of Pyrene to the European Seabass (*Dicentrarchus labrax L.*). *Journal of Chemosphere*, 86: 926-937.
- Alonso A.C., Munilla L., Lopez-Alonso M., Velando A. 2007. Sublethal Toxicity of the Prestige Oil Spill on *Yellow-Legged Gulls*. *Environment International*, 33: 773-781.
- Bagheri D., Majazi Amiri B., Poor Bagher H., Farahmand H., Bargahi A. 2014. A Study of Some Antioxidant Properties, Lipid Peroxidation (*Liza persicus*) Liver and Serum Biochemical Changes *Liza abu* in the Northern Coast of Empty Jfars

- (Case Study: Bushehr). Fisheries, Natural Resources Journal, 67(3): 329-345. (In Persian).
- Beyer J., Sandvik M., Hylland K., Fjeld E., Egaas E., Aas E., Skaare J., Goksoyr A. 1996. Contaminant Accumulation and Biomarker Responses in flounder (*Platichthys flesus L.*) and Atlantic cod (*Gadus morhua L.*) exposed by caging to Polluted Sediments in Sorfjorden; Norway. Aquatic Toxicology, 36: 75-98.
- Bhagwant S., Bhikajee M. 2000. Induction of Hypochromic Macrocytic Anaemia in Oreochromis Hybrid (*Cichlidae*) Exposed to 100mg/L (Sublethal Dose) of Aluminium. University of Mauritius Research Journal, 5: 9-20.
- Canli M. 1996. Effects of Mercury, Chromium and Nickel on Glycogen Reserves and Protein Levels in Tissues of *Cyprinus Caprio*. Turkish Journal of Zoology, 20: 161-168.
- Çelik E. 2004. Blood Chemistry (Electrolytes, Lipoproteins and Enzymes) Values of Black Scorpion Fish (*Scorpaena Porcus Linneaus*) in the Dardanelles. Turkey Journal of Biological Sciences, 4: 716-719.
- Dela T.F., Salibian A., Ferrari L. 2000. Biomarkers Assessment in Juvenile *Cyprinus Carpio* Exposed to Waterborne Cadmium. Environmental Pollution, 109: 277-282.
- De Mora S., Tolosa I., Fowler S., Villeneuve J., Cassi R., Cattini C. 2010. Distribution of Petroleum Hydrocarbons and Organochlorinated Contaminants in Marine Biota and Coastal, Sediments from the ROPME Sea Area during 2005. Marine Pollution Bulletin, 60: 2323-2349.
- Elumalai M., Balasubramanian M. 1997. Effect of Naphthalene on Carbohydrate Metabolism During Vitellogenesis in Marine Edible Crab, *Scylla Serrata*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 59: 989-993.
- Gad S.C. 2007. Animal Models in Toxicology. CRC Press, Taylor & Francis Group, 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300, Boca Raton. 950P.
- Golet H., Seiser P., McGuire D., Roby D., Fischer B., Kuletz J., Irons B., Dean A., Jewett C., Newman H. 2002. Long-term direct and Indirect Effects of the Exxon Valdez oil spill on pigeon guillemots in Prince William Sound, Alaska. Marine Ecology Progress Series Journal, 241: 287-304.
- Hose J., Mcgurk M., Marty G. D., Hinton D. E., Brown E. D., Baker T.T. 1996. Sublethal Effects of the (Exxon Valdez) Oil Spill on *Herring sp.* Embryos and Larvae: Morphological, Cytogenetic, and Histopathological Assessments. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 53: 2355-236.
- Jeney Z., Valtonen E., Jeney G., Jokinen E. 1996. Effects of Pulp and Paper Mill Effluent (Bkme) on Physiology and Biochemistry of the Roach (*Rutilus Rutilus L.*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 30: 523-529.
- Khan N., Munawar M., Price G. 2002. Physical and human geography, the gulf ecosystem Health and sustainability, Michigan State University Press. 533P.

- Lavariás S., Heras H., Pedrini N., Tournier H., Ansaldo M. 2011. Antioxidant response and oxidative stress levels in *Macrobrachium borellii* (Crustacea: Palaemonidae) exposed to the water-soluble fraction of petroleum. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Journal of Toxicology & Pharmacology*, 153 (4): 415-21.
- Lucas A. 1996. Physical concepts of bioenergetics. In: Lucas A (Eds.) *Bioenergetics of Aquatic Animals*. English edition, Taylor & Francis, pp: 10-20.
- Milinkovitch T., Ndiaye A., Sanchez W., Lefloch S., Thomas-Guyon H. 2011. Liver Antioxidant and Plasma Immune Responses in Juvenile Golden Grey Mullet (*Liza aurata*) Exposed to Dispersed Crude Oil. *Journal of Aquatic Toxicology*, 101: 155-164.
- Moss D., Henderson A., Kochmar J. 1986. *Enzymes; Principles of Diagnostic Enzymology and the Aminotransferases*. Textbook of Clinical Chemistry. Saunders, Philadelphia, PA, pp: 663-678.
- Neff J.M. 1997. Ecotoxicology of Arsenic in the Marine Environment. *Journal of Environmental Toxicology and Chemistry*, 16: 917-927.
- Niyogi S., Biswas S., Sarker S., Datta A. 2001a. Antioxidant Enzymes in Brackish - Water Oyster, *Saccostrea Cucullata* as Potential Biomarkers of Polyaromatic Hydrocarbon Pollution in Hooghly Estuary (India): Seasonality and its Consequences. *Science of the Total Environment*, 281: 237- 246.
- Niyogi S., Biswas S., Sarker S., Datta A. 2001b. Seasonal Variation of Antioxidant and Biotransformation Enzymes in Barnacle, *Balanus balanoides* and their Relation with Polyaromatic Hydrocarbon. *Journal of the Marine Pollution Bulletin*, 52: 13-26.
- Ouji Fard A., Hosseini A., Mohammadi Doost M., Saadoun E. 2017. The pools are evaluating the Potential of Asian seabass (*Lates calcarifer*) Choebde, Abadan. *Journal of Aquatic Ecology*, 3 (4): 41-50. (In Persian).
- Pacheco M., Santos M. A. 2001. Biotransformation, Endocrine, and Genetic Responses of *Anguilla Anguilla L.* To Petroleum Distillate Products and Environmentally Contaminated Waters. *Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49: 64-75.
- Petřivalský M., Machala M., Nezveda K., Piacka V., Svobodova Z., Ddabek P. 1997. Glutathione- Dependent Detoxifying Enzymes in *Rainbow Trout* Liver: Search for Specific Biochemical Markers of Chemical Stress. *Journal of Environmental Toxicology and Chemistry*, 16: 1417-1421.
- Quinn P., Keough M. 2002. *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*, the press syndicate of the university of cambridge, The Pitt Building, Trumpington Street, Cambridge, United Kingdom. 1 edition in English. 553P.

- Reddy P., Bhagyalakshmi A. 1994. Changes in Oxidative Metabolism in Selected Tissues of the Crab (*Scylla Serrata*) in Response to Cadmium Toxicity. *Ecotoxicology and environmental safety*, 29: 255-264.
- Remytla S. R., Ramesh M., Sajwan K. S., Kumar K. S. 2008. Influence of Zinc on Cadmium Induced Haematological and Biochemical Responses in a Freshwater Teleost Fish *Catla Catla*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 34, 169-178.
- Sadighzadeh Z., Valinassab T., Vosugi G., Motallebi A., Fatemi M., Lombarte A., Tuset V. 2014. Use of Otolith Shape for Stock Identification of John's Snapper, *Lutjanus Johnii* (Pisces: Lutjanidae), from the Persian Gulf and the Oman Sea. *Journal of Fisheries Research*, 155: 59-63.
- Stanic B., Andric N., Zoric S., Grubor-Lajsic G., Kovacevic R. 2006. Assessing Pollution in the Danube River near Novi Sad (Serbia) Using Several Biomarkers in Sterlet (*Acipenser Ruthenus* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65: 395-402.
- Teh S.J., Deng X., Deng D.F., The F.C., Hung S.S., Fan T., Liu J., Higashi R. 2004. Chronic Effects of Dietary Selenium on Juvenile Sacramento Splittail (*Pogonichthys Macrolepidotus*). *Environmental Science & Technology*, 38: 6085-6093.
- Tian X., Qin J.G. 2003. A Single Phase of Food Deprivation Provoked Compensatory Growth in *Barramundi Lates Calcarifer*. *Aquaculture*, 224: 169-179.
- Van Der Oost R., Beyer J., Vermeulen N.P. 2003. Fish Bioaccumulation and Biomarkers in Environmental Risk Assessment: A Review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13: 57-149.
- Vijayavel K., Anbusel Vam C., Balasubramanian M., Samuel V.D., Gopalakrishnan S. 2006. Assessment of Biochemical Components and Enzyme Activities in the Estuarine Crab *Scylla Tranquebarica* from Naphthalene Contaminated Habitants. *Journal of Ecotoxicology*, 15: 469-476.