

Original Article



Assessment of Cadmium Effects on Total Plasma Protein Concentration in Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under Different Salinity Conditions

Jafar Ehsani^{1*} 

1. Department of fisheries, Arv.C., Islamic Azad University, Abadan, Iran.

Article history:

Received: 12 May 2025

Revised: 26 July 2025

Accepted: 29 July 2025

ePublished: 30 July 2025

*Corresponding author: Jafar Ehsani,
Department of fisheries, Arv.C.,
Islamic Azad University, Abadan,
Iran

E-mail: Jafarehsani@iau.ac.ir

Abstract

Heavy metals are among the most important pollutants in coastal ecosystems. Due to their long half-life, high toxicity to aquatic organisms, and biomagnification through food chains, these metals can have significant and persistent effects on living organisms. Cadmium is one of the major heavy metals introduced into marine environments through industrial wastewater and activities related to oil refining and extraction. The Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) is a globally important aquaculture species and an ideal model organism for studying the effects of pollutants such as heavy metals. This shrimp species is osmoregulatory and tolerant to salinity fluctuations. The aim of this study was to determine the toxicity of cadmium to *L. vannamei* and to investigate the changes in plasma total protein levels under sublethal concentrations of cadmium at different environmental salinities. For this purpose, an experiment was conducted in 300-liter tanks to determine the LC₅₀ of cadmium for *L. vannamei* as a model species. The 96-hour LC₅₀ value for cadmium was calculated to be 6.56 mg/L. Based on this result, three treatments containing different concentrations of cadmium chloride (0.5, 1, and 2 mg/L) were prepared, along with a control group to ensure shrimp health. Three different salinity levels (10, 20, and 30 ppt) were applied to the experimental environments. Each treatment and the control group were performed in triplicate, and the exposure period lasted for 14 days. Plasma total protein levels were measured using a commercial Pars Azmoon kit. After 7 days of exposure to cadmium and varying salinities, noticeable changes were observed in plasma protein levels. At a salinity of 10 ppt, plasma total protein initially increased with rising cadmium concentration but then decreased, showing a significant reduction at 2 mg/L compared to the control group. At salinities of 20 and 30 ppt, plasma total protein slightly decreased with increasing cadmium concentration; however, this reduction was not statistically significant. After 14 days, a significant decrease in total plasma protein was observed with increasing salinity ($P < 0.05$), with the highest value at 10 ppt and the lowest at 30 ppt. Increasing cadmium concentration also led to a reduction in total plasma protein, with the 2 mg/L cadmium and 30 ppt salinity treatment showing a significant decrease compared to both the control and other treatments ($P < 0.05$). Overall, plasma total protein levels decreased significantly in response to cadmium exposure compared to the control group. The sublethal toxicity data were analyzed using SPSS version 19. One-way ANOVA was employed to determine significant differences among treatments for normally distributed data. The results indicate that short-term cadmium-induced stress under different salinity levels leads to a decrease in plasma total protein in the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*).

Keywords: Heavy metals, Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), Plasma protein

Please cite this article as follows: Ehsani J. Assessment of Cadmium Effects on Total Plasma Protein Concentration in Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under Different Salinity Conditions. J Mar Bio, 2025; 17(2): 76–84. DOI:



Copyright © 2025 Journal of Marine Biology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite

مقاله اصلی

ارزیابی اثرات کادمیوم بر غلظت پروتئین کل پلاسمای میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در شوری های مختلف

جعفر احسانی^{۱*} 

۱. گروه شیلات، واحد بین‌المللی اروند، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران.

چکیده

فلزات سنگین به عنوان یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های اکوسیستم‌های ساحلی مطرح می‌باشند. این فلزات به دلیل نیمه عمر بالا، سمیت زیاد برای آبزیان و بزرگنمایی زیستی طی زنجیره‌های غذایی می‌توانند اثرات مشخص و پایداری بر موجودات داشته باشند. کادمیم یکی از مهم‌ترین فلزات سنگین ناشی از ورود فاضلاب‌های صنعتی و صنایع مربوط به پالایش و استخراج نفت در محیط‌های دریایی است. میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) گونه پرورشی مهم جهانی و گونه‌ای ایده‌آل جهت مطالعات اثر آلاینده‌ها از جمله فلزات سنگین می‌باشد. میگوی پاسفید غربی تنظیم کننده و مقاوم به تغییرات شوری می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه تعیین سمیت کادمیوم بر میگوی پاسفید غربی و بررسی کاهش یا افزایش میزان پروتئین گونه تحت تاثیر غلظت‌های تحت کشنده کادمیوم در شوری‌های محیطی متفاوت می‌باشد. بدین منظور آزمایشی برای تعیین LC50 میگوی پاسفید غربی به عنوان گونه مدل جهت ارزیابی اثرات مواجهه با کادمیم در مخازن ۳۰۰ لیتری انجام شد. ۹۶ ساعت LC50 کادمیم بر میگوی پاسفید غربی ۶/۵۶ میلی گرم بر لیتر محاسبه گردید. با توجه به غلظت حد کشندگی فلز کادمیم بر میگوی پاسفید غربی ۳ تیمار با غلظت‌های مختلف حاوی کادمیم کلراید (از ۰.۵، ۱ و ۲ میلی گرم) و یک تیمار نیز به عنوان تیمار شاهد برای اطمینان از سالم بودن میگوها در نظر گرفته شد، سپس ۳ غلظت متفاوت شوری محیطی شامل ۱۰، ۲۰ و ۳۰ قسمت در هزار انتخاب و به محیط آزمایش اعمال گردید. تیمارها و شاهد هر کدام با سه تکرار انجام شد و مدت زمان مواجهه با کادمیوم و شوری دو هفته ۱۴ روز به طول انجامید. برای سنجش پروتئین کل پلاسما از کیت تجاری پارس آزمون استفاده گردید. سطوح پروتئین کل پلاسمای میگوی پاسفید غربی پس از گذشت ۷ روز در معرض قرار گیری با کادمیم و شوری تغییراتی در میزان پروتئین کل پلاسما واقع گردید. این تغییرات که در شوری ۱۰ میلی گرم در لیتر (ppt) ابتدا با افزایش غلظت کادمیوم میزان پروتئین کل افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد به طوری که در غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر نسبت تیمار شاهد کاهش معنی داری یافته است. در شوری‌های ۲۰ و ۳۰ میلی گرم در لیتر (ppt)، میزان پروتئین کل با افزایش غلظت کادمیوم در مقایسه بین تیمارها تا حدی کاهش می‌یابد ولی این کاهش از نظر آماری معنی داری نمی‌باشد. پس از گذشت مدت زمان ۱۴ روز نیز با افزایش شوری کاهش معنی داری پیدا کرد ($P < 0.05$). به طوری که بیشترین میزان پروتئین کل پلاسما در شوری ۱۰ و کمترین آن در شوری ۳۰ می‌باشد. با افزایش غلظت کادمیوم نیز میزان پروتئین کل تا حدی کاهش یافته و تیمار با غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر کادمیوم و شوری ۳۰ کاهش معنی داری هم نسبت به تیمار شاهد و هم نسبت به دیگر تیمارها نشان می‌دهد ($P < 0.05$). غلظت کل پروتئین پلاسما با افزایش غلظت کادمیم نسبت به نمونه شاهد کاهش معنی داری پیدا کرد. تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشات سمیت تحت کشنده در این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS 19 انجام گرفت. برای تعیین اختلاف معنی دار در کل تیمارهای آزمایش در مورد فاکتورهایی که نرمال بودند، از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) استفاده شد. در نتیجه استرس ناشی از کادمیوم در شوری‌های مختلف در کوتاه مدت منجر به کاهش پروتئین کل پلاسما در میگو پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) گردید.

کلیدواژه: فلزات سنگین، میگو پاسفید غربی، پروتئین پلاسما

تاریخچه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۲/۲۲

تاریخ ویرایش مقاله: ۱۴۰۴/۵/۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۴/۵/۷

تاریخ انتشار مقاله: ۱۴۰۴/۵/۸

تمامی حقوق برای دانشگاه آزاد اهواز محفوظ است.

* نویسنده مسئول: جعفر احسانی، گروه شیلات، واحد بین‌المللی اروند، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران

ایمیل: jafarehsani@iau.ac.ir

استناد: احسانی، جعفر. ارزیابی اثرات کادمیوم بر غلظت پروتئین کل پلاسمای میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در شوری‌های مختلف. مجله زیست

شناسی دریا، تابستان ۱۴۰۴؛ ۱۷(۲): ۷۶-۸۴

مقدمه

افزایش آلودگی محیط زیست در نتیجه فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی یک مشکل اساسی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه هست. (Mao et al; 2021). مصرف محصولات دریایی از جمله میگو یکی از راههای ورود فلزات سنگین به بدن است که باعث اهمیت موضوع خطر ارزیابی فلزات سنگین برای مصرف کننده میشود (Norouzi, M., Bagheri Tavani, M. 2019). آلودگی فلزات سنگین در سیستمهای آبزی به یک مشکل محیط زیستی تبدیل شده است (X. Chang et al, 2019). میگوی پاشید غربی به عنوان یک مدل حیوانی برای تحقیقات سم شناسی آبزی مورد استفاده قرار می گیرد (Y. Chae et al, 2019). بنابراین پایش مواد سمی مختلف می‌تواند به عنوان عاملی در بررسی سلامت عمومی به شمار آید (Sharma, 2003). دینامیک و تأثیر آلاینده در محیط زیست به نوع آلاینده (فیزیکی، شیمیایی یا بیولوژیک)، میزان ورود، مدت زمان حضور آلاینده در محیط، تداوم ورود آلاینده‌ها و بر هم کنش آلاینده‌ها با یکدیگر و اجزای طبیعی اکوسیستم بستگی دارد (Kar et al., 2008). آلودگی‌های محیط زیستی در اکوسیستم‌های طبیعی در حال افزایش است، به طوری که با افزایش فعالیت‌های انسانی در حال تبدیل شدن به یک مشکل اساسی هستند. اکوسیستم‌های آبی به طور گسترده‌ای در معرض آلودگی فلزات سنگین ناشی از فعالیت‌های صنعتی و انسانی قرار دارند (Kamaruzzaman et al., 2011). تعیین ترکیبات سمی موجود در محیط‌های آبی و اثر آنها بر آبزیان یک موضوع اساسی در سم شناسی می باشد. به طور کلی در بررسی سلامت اکوسیستم‌های آبی پایش مستقیم و مستمر ماده آلاینده در محیط راهکار مناسبی می‌باشد. اما با توجه به گستردگی اکوسیستم‌های آبی و شرایط اکولوژیک متفاوت در مناطق و فصول مختلف، تأثیر گذاری آلاینده‌ها بر اکوسیستم و خصوصاً بر موجودات می‌تواند متفاوت باشد. مواد سمی موجود در محیط را می‌توان با استفاده از آنالیزهای شیمیایی تعیین کرد اما اثرات آن بر آبزیان اکوسیستم‌های آبی را نمی‌توان بوسیله آنالیزهای شیمیایی تعیین کرد. از اینرو برای بررسی تأثیرات زیست محیطی ترکیبات سمی استفاده از آزمایش‌های مرگ و میر یا زیست‌سنجی ضروری است (El-Sheblly and El-kady, 2008). Ardiansyah و همکاران (۲۰۱۲)، به بررسی اثر کادمیوم و روی در سطوح مختلف شوری (۲۷، ۱۵، ۵ قسمت در هزار) در میگوی پاشید غربی (*Litopenaeus vannamei*) پرداختند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که کادمیوم سمیت بالاتری نسبت به روی دارد و افزایش شوری باعث افزایش میزان LC50 و کاهش سمیت این فلزات می‌گردد. به طور کلی بررسی میزان تجمع زیستی فلزات سنگین در بافت‌های مختلف آبزیان و همچنین تأثیر آن بر فرایندهای بیولوژیک و اندامهای داخلی بدن موجود می‌تواند به عنوان شاخصی در پیش بینی خطرات بالقوه ورود این گونه از آلاینده‌ها به خصوص کادمیم به محیط موثر باشد. از آنجایی که ورود کادمیم به محیط با منشأ انسانی مطرح است انتظار می‌رود که دامنه غلظت آن در منابع آبی دچار تغییرات زیادی شود. این عنصر در رسوبات ساحلی و مناطق مصبی در مقایسه با اقیانوس‌های باز دارای غلظت بیشتری می‌باشد (Erk et al., 2005). حلالیت این آلاینده در آب تحت تأثیر عواملی نظیر نوع ترکیبات، pH و شوری محیط می‌باشد (Erk et al., 2005). به طور معمول این فلز در بدن موجودات، رسوبات و همچنین در دیگر اجزای اکوسیستم‌های آبی تجزیه نمی‌شود و در صورت قرار گیری در معرض کادمیم، بیشترین تجمع این فلز در کبد، کلیه و آبشش گزارش شده است (Mc Geer et al., 2000; Seebaugh et al., 2005). پروتئین‌های خون تقریباً بین ۵ تا ۱۰ درصد پلاسماي خون را تشکیل می‌دهند که شامل آلبومین، گلوبولین و فیبرینوژن، آنزیم‌ها، کمپلمان‌ها و سایر عوامل انعقادی خون هستند. اغلب پروتئین‌ها توسط کبد و برخی نیز مانند آنتی‌بادی‌ها توسط سیستم ایمنی ساخته می‌شوند. تغییر در میزان پروتئین کل بیانگر یک تغییر متابولیک و یا آسیب‌شناسی می‌باشد (Cole, 2001). از این رو هدف از این تحقیق، بررسی اثرات سمی غلظت‌ها تحت کشنده کادمیم در شوری‌های مختلف محیطی در میگوی پاشید غربی و همچنین بررسی تغییرات سطح پروتئین کل طی استرس کادمیم در شوری‌های مختلف محیطی می‌باشد. با این فرضیه که مواجهه میگوی پاشید غربی با غلظت‌های مختلف کادمیم و تغییرات شوری باعث کاهش سطح پروتئین کل می‌گردد.

مواد و روش‌ها

به منظور انجام این پژوهش در مجموع تعداد ۱۰۰۰ قطعه میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*) با میانگین وزنی ۱۲/۷۴ گرم و میانگین طولی ۱۲/۹۶ سانتی متر از مرکز تکثیر و پرورش میگوی چوئیده واقع در شهرستان آبادان در سال ۱۳۹۵ خریداری گردید. میگوها به سوله تحقیقاتی (آزمایشگاه خیس) واقع در دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل شدند و به مدت یک هفته در مخازن ۳۰۰ لیتری پرشده از آب دریا با دمای ۲۶ درجه سانتیگراد، شوری ۳۸ قسمت در هزار و $\text{pH} = 8.1$ به منظور طی دوره سازگاری نگه داری شدند. قبل از آبیگری، مخازن، شلنگ ها، سنگ های هوا و ساچوک ها به وسیله آب نمک غلیظ ضدعفونی شدند. سپس مخازن با آب دریا آبیگری و بوسیله پمپ هواده مرکزی هوادهی شدند. دمای محیط آزمایشگاه نیز ثابت نگه داشته شد. در این مدت دو بار در روز با غذای پلت غذایی انجام شد و غذای خورده نشده از کف مخزن جمع آوری گردید. نمونه برداری در روزهای ۷ و ۱۴ انجام گرفت. روز قبل از نمونه برداری، غذادهی به میگوها قطع می شد. در روزهای نمونه برداری ۳ عدد میگو به صوت تصادفی از هر تانک صید و بیهوش شدند. وزن و طول آنها ثبت شد و سپس نسبت به نمونه برداری از همولنف برای سنجش پروتئین از میگوها نمونه ی همولنف گرفته شد. همولنف به وسیله سرنگ ۲ میلی لیتری از طریق از بند دوم شکمی میگوها و بخش شکمی همولنف خارج و جمع آوری گردید (Jiang et al., 2004). نمونه های همولنف به دست آمده درون میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتری ریخته شد و نمونه ها بلافاصله با دور $5000 \times g$ در 4°C و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. آنگاه قسمت فوقانی نمونه همولنف جدا و همولنف فاقد سلول (پلاسما) به میکروتیوب های جدید شماره گذاری شده منتقل شد. نمونه های سانتریفیوژ شده درون فریزر -80°C - واقع در آزمایشگاه زیست فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر تا زمان آنالیز نگه داری شدند.

برای تعیین محدوده کشندگی کادمیم میگوها در ۵ مخزن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری حاوی ۱۰۰ لیتر آب دریای فیلتر شده توزیع شدند. برای انجام آزمون تعیین محدوده کشندگی ۵ تیمار با غلظت های مختلف شامل ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر کادمیم و یک تیمار شاهد در نظر گرفته شد. در هر مخزن ۹ عدد میگو قرار داده شد. طول دوره آزمایش ۹۶ ساعت بوده و میزان مرگ و میر در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه شد. در طول دوره آزمایش پارامترهای کیفی آب به طور روزانه کنترل می شد و در طول این مدت آب محیط تانک ها تعویض نمی شد. به منظور تعیین LC_{50} در مجموع ۱۸۰ قطعه میگو در ۵ تیمار و ۱۵ مخزن و هر کدام با ۱۲ میگو توزیع شدند. پس از دوره سازگاری میگوها به مدت ۹۶ ساعت در غلظت های مورد نظر نگهداری شدند. غلظت های تعیین شده جهت این آزمایش شامل ۴ تیمار با غلظت نمایی کادمیم کلراید و یک تیمار شاهد (فاقد غلظتی از کادمیم کلراید) بود. غلظت های انتخابی شامل ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۰/۸ میلی گرم بر لیتر و در ۳ تکرار بود. میزان مرگ و میر در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت گردید. پس از پایان زمان این آزمون و ثبت مرگ و میر در زمان های تعیین شده، مقادیر LC_{50} با محدوده اطمینان ۹۵٪ مطابق دستورالعمل اصلاح یافته Finney توسط Boudou و Ribeyre (۱۹۹۷)، با روش Probit analysis در نرم افزار SPSS16 محاسبه شد.

در مطالعه حاضر جهت سنجش پروتئین کل پلاسما از روش بیوره استفاده گردید (Zheng et al; 2021). در این روش گروه -CO-NH- پروتئین با یون مس در محیط قلیائی ایجاد کمپلکس بنفش رنگ می کند. از آنجایی که همه پروتئین ها دارای پیوند پپتیدی هستند و اساس واکنش بیوره تشکیل کمپلکس بین یون مس و پیوند مذکور است، لذا یک روش اختصاصی برای تعیین غلظت پروتئین ها می باشد. به منظور سنجش پروتئین کل پلاسما از کیت تجاری Pars Azmoon (ساخت ایران) استفاده گردید. نحوه انجام آزمایش و معرف های به کار رفته به ترتیب در جداول ۲-۱ و ۲-۲ آورده شده است.

جدول ۲-۱: آماده سازی نمونه ها جهت اندازه گیری پروتئین کل پلاسما

نمونه	استاندارد	بلانک	استاندارد
-	۲۰ میکرولیتر	-	استاندارد
۲۰ میکرولیتر	-	-	نمونه

آب مقطر	۲۰ میکرولیتر	-	-
محلول مخلوط شده ۱ و ۲	۱ میلی لیتر	۱ میلی لیتر	۱ میلی لیتر

جدول ۲-۲: معرف‌های استفاده شده جهت اندازه‌گیری پروتئین کل پلاسما

معرف ۱	معرف ۲
هیدروکسید سدیم	۱۰ میلی مول بر لیتر
سدیم پتاسیم تارتارات	۱۶ میلی مول بر لیتر
۸۰ میلی مول بر لیتر	۱۵ میلی مول بر لیتر
۱۲۸ میلی مول بر لیتر	۶ میلی مول بر لیتر
سدیم پتاسیم تارتارات	یدور پتاسیم
	سولفات مس

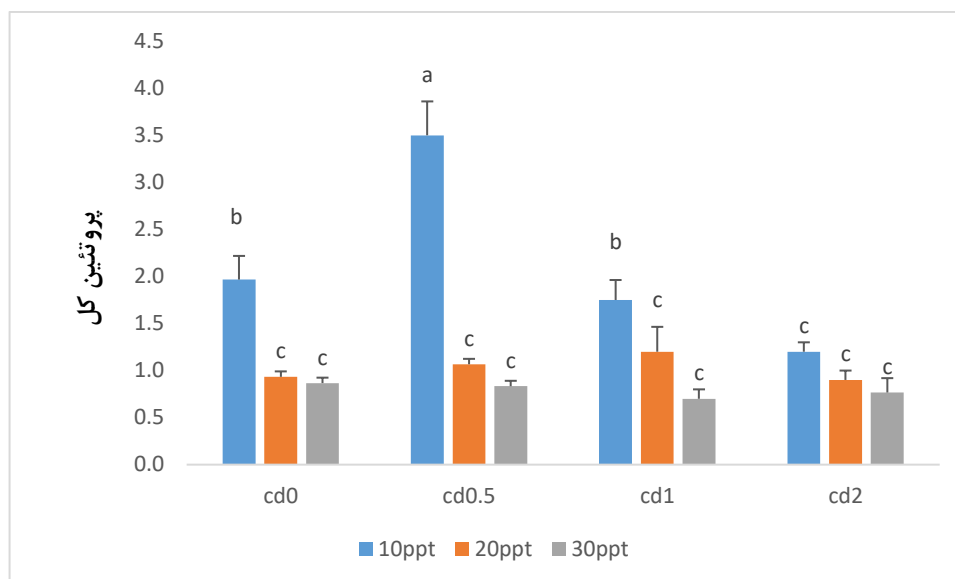
جهت انجام آزمایش، محلول‌های معرف ۱ و ۲ به نسبت ۴ به ۱ مخلوط شدند. پس از ترکیب، نمونه‌ها ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شده و حداکثر طی مدت ۶۰ دقیقه جذب نوری استاندارد و نمونه‌ها به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر و در برابر نمونه بلانک اندازه‌گیری شدند. نهایتاً میزان پروتئین توتال موجود در پلاسما از طریق فرمول ۱-۲ محاسبه شد. غلظت نمونه استاندارد توتال پروتئین ۶ گرم بر دسی لیتر بود.

فرمول ۱-۲:

$$\text{استاندارد پروتئین کل} \times \frac{\text{دانسیته اوبتیک نمونه}}{\text{دانسیته اوبتیک استاندارد}} = \text{غلظت پروتئین کل (گرم بر دسی لیتر)}$$

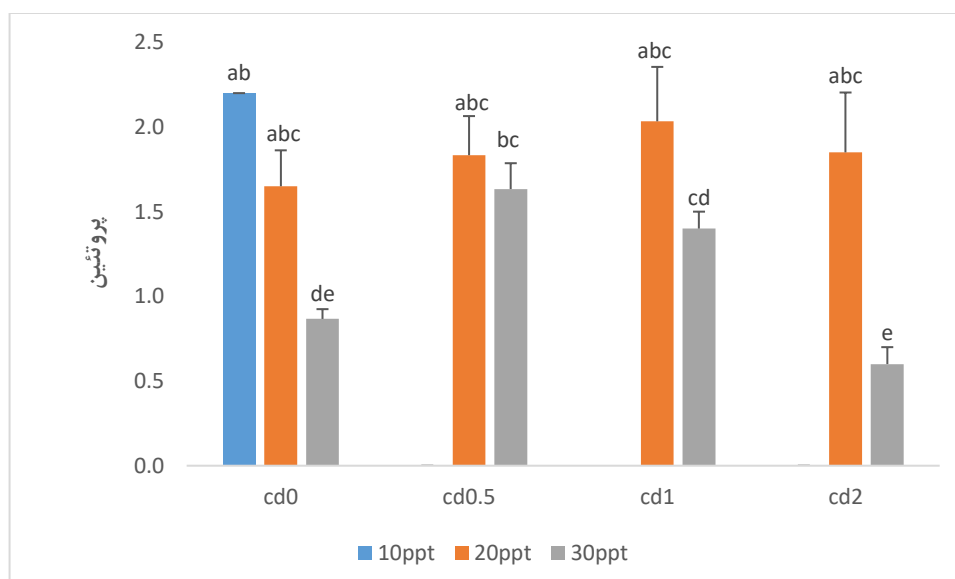
نتایج

سطوح پروتئین کل پلاسمای همولنف میگوی پاسفید غربی در غلظت‌های مختلف شوری و کادمیوم، در روزهای هفتم و چهاردهم در شکل‌های ۱-۳ و ۲-۳ نشان داده شده است. مقایسه بین سطوح پروتئین کل پلاسمای میگوی پاسفید غربی نشان داد که پس از گذشت ۷ روز از در معرض قرار گیری با کادمیوم و شوری تغییراتی در میزان پروتئین کل پلاسما رخ داده است. این تغییرات در بین شوری‌های مختلف شامل افزایش معنی دار غلظت پروتئین در شوری ۱۰ میلی گرم در لیتر (ppt) نسبت به شوری‌های ۲۰ و ۳۰ میلی گرم در لیتر (ppt) بود ($P < 0.05$). نتایج نشان می‌دهد که در شوری ۱۰ میلی گرم در لیتر (ppt) ابتدا با افزایش غلظت کادمیوم میزان پروتئین کل افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد به طوری که در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر نسبت تیمار شاهد کاهش معنی داری یافته است. در شوری‌های ۲۰ و ۳۰ میلی گرم در لیتر (ppt)، میزان پروتئین کل با افزایش غلظت کادمیوم در مقایسه بین تیمارها تا حدی کاهش می‌یابد ولی این کاهش از نظر آماری معنی دار نمی‌باشد. (از روش آنالیز واریانس) (شکل ۱-۲).



شکل ۳-۱: غلظت پروتئین کل پلاسمای میگوی پاسبید غربی در ارتباط با غلظت‌های مختلف کادمیوم و شوری بعد از ۷ روز در قرار گرفتن محیط. حروف مختلف، اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف را نشان می‌دهد ($P < 0.05$)

همانطور که از شکل ۳-۱ پیداست؛ غلظت پروتئین کل پلاسمای میگوی پاسبید غربی پس از گذشت مدت زمان ۱۴ روز نیز با افزایش شوری کاهش معنی داری پیدا کرد ($P < 0.05$). به طوری که بیشترین میزان پروتئین کل پلاسما در شوری ۱۰ و کمترین آن در شوری ۳۰ می‌باشد. با افزایش غلظت کادمیوم نیز میزان پروتئین کل تا حدی کاهش یافته و تیمار با غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر کادمیوم و شوری ۳۰ کاهش معنی داری هم نسبت به تیمار شاهد و هم نسبت به دیگر تیمارها نشان می‌دهد ($P < 0.05$).



شکل ۳-۲: غلظت پروتئین کل پلاسمای میگوی پاسبید غربی در ارتباط با غلظت‌های مختلف کادمیوم و شوری بعد از ۱۴ روز از در معرض گذاری. حروف مختلف، اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف را نشان می‌دهد ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

یکی از روش‌های انجام آزمون‌های سمیت به خصوص در مورد گونه‌هایی که اطلاعات سم‌شناسی از آن‌ها در دست نیست، تعیین غلظت میانه کشنده مواد شیمیایی محلول در آب برای موجود است (Vieira et al., 2009). از این پارامتر به عنوان یک مفهوم با بیان غلظتی از آلاینده که موجب مرگ و میر ۵۰٪ از جمعیت یک گونه می‌گردد، نام برده می‌شود. در این گونه از مطالعات عکس‌العمل موجود مورد آزمایش به مقادیر مختلف سم مورد نظر است که به صورت مرگ و میر تعریف می‌گردد (Gooley et al., 2000; Elia et al., 2003). مرگ و میر و زنده ماندن در بازه زمانی مشخص از اساسی‌ترین مفاهیم تست‌های کوتاه مدت یا حاد هستند (Elia et al., 2003). در مطالعه سمیت حاد دو متغیر حائز اهمیت هستند، یکی میزان پاسخ موجود زنده به سم که به صورت مرگ و میر اندازه‌گیری می‌شود و دیگری غلظت سم مورد استفاده یا دوزهای مختلف (Gooley et al., 2000). در هنگام اجرای آزمایش‌های سمیت، باید از روش‌های آزمایش استاندارد شده برای به حداقل رساندن متغیرهای خارجی و تصادفی استفاده نمود و شرایط آزمایش را باید تحت کنترل قرار داد.

مزیت‌های آزمایشات سمیت حاد را می‌توان به استفاده از نتایج این آزمایش‌ها به عنوان شاخصی از میزان آسیب‌های ایجاد شده توسط آلودگی‌های مختلف در یک دوره کوتاه مدت و همچنین یک فاکتور به منظور مقایسه، بین درجه سمیت آلودگی‌های مختلف بر روی گونه‌های مشابه موجودات نام برد. با استفاده از اطلاعات به دست آمده از این گونه آزمایشات می‌توان میزان تحمل موجودات مختلف را به این گونه از استرس‌ها بیان کرد (Amrollahi Biuki et al., 2010). گونه‌های مختلف جانوری از جمله میگوها ممکن است به استرس‌های مشابه نیز پاسخ‌های متفاوتی بدهند. به طور مثال فلز سنگینی با میزان اثر گذاری بالا در غلظت‌های پایین بر یک گونه، احتمال دارد بر گونه دیگر این موجود حتی با غلظت‌های بالاتر نیز بی اثر یا بسیار کم اثر باشد (Shah and Altindü, 2005). میزان مرگ و میر میگوی پاسبید غربی با غلظت کادمیم محیطی رابطه مشخص و مستقیم دارد. به طوری که، غلظت محیطی ۲ میلی گرم بر لیتر کادمیم موجب مرگ و میر در میگوها نگردید. در حالی که در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر، ۱۰۰ درصد مرگ و میر رخ داد. در نتیجه می‌توان دریافت که افزایش مرگ و میر به افزایش غلظت کادمیم در محیط زندگی این موجود بستگی دارد. در این مطالعه میزان حد کشنده کادمیم بر میگوی پاسبید غربی در مدت زمان ۹۶ ساعت در محدوده اطمینان ۹۵ درصد میزان ۶/۵۶ میلی گرم بر لیتر محاسبه شد.

عوامل متعددی در نتایج آزمایش‌های سمیت بر روی آبزیان تأثیر دارند که می‌توان به ویژگی‌های آب و خصوصیات زیستی گونه‌های مورد آزمایش (پاسخ متفاوت گونه‌ها، تفاوت در اندازه و سن گونه‌ها) و مدت زمان مواجهه اشاره کرد. بنابراین، اختلاف در مقادیر محاسبه شده LC50 96 ساعت، در مطالعات گوناگون و همچنین مطالعه حاضر را می‌توان به اختلافات فیزیولوژیکی این گونه‌ها با یکدیگر و تفاوت در اندازه و سن گونه و تفاوت در شرایط آزمایش همانند درجه حرارت، شوری، سختی و مقدار اکسیژن محلول در آب نسبت داد. نتایج حاصل از تست سمیت حاد این مطالعه به عنوان معیاری برای انتخاب غلظت‌های مورد استفاده در تست سمیت تحت کشنده مورد استفاده قرار گرفت.

اثرات تحت کشنده مسمومیت به فلزات سنگین در محیط‌های آبی به صورت مرگ و میر در موجودات آبی بیان نمی‌گردد بلکه به صورت اثراتی از طریق اختلال در سطوح مختلف زیستی از جمله مولکولی و بیوشیمیایی، سلولی و بافتی، تغییرات اندام‌ها و دستگاه‌ها و همچنین اثر بر سطوح بالاتر شامل جمعیت، جامعه و اکوسیستم بیان می‌گردد. تغییرات در پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما از آن جمله است. از پروتئین خون به عنوان یک شاخص مناسب در آبزیان قرار گرفته در معرض استرس‌های گوناگون محیطی استفاده می‌شود (et al., 2009; Lorenzon et al., 2004; Hadi). تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما می‌تواند به عنوان یک فاکتور مناسب برای تشخیص اثرات سمیت تحت کشنده در اندام‌های هدف و تعیین وضعیت فیزیولوژیکی آبی در معرض آلاینده در نظر گرفته شود.

در ارزیابی اغلب مسمومیت‌های فلزی ایجاد شده در آبزیان می‌توان از فاکتور میزان پروتئین کل استفاده نمود. پروتئین پلاسما به عنوان یک سیستم بیوشیمیایی نسبتاً حساس شناخته شده است و می‌تواند به نوعی منعکس کننده وضعیت موجود تحت تأثیر عوامل استرس‌زا باشد

(Prasath and Arivoli, 2008). از تغییرات عمده فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما میگو به دنبال در معرض قرار گیری با شوری و کادمیوم می‌توان به کاهش در میزان پروتئین کل پلاسما همولنف اشاره کرد. تغییر در سنتز پروتئین یکی از متداولترین پاسخ‌ها به آسیب سلولی می‌باشد، لذا با سنجش میزان پروتئین کل می‌توان به میزان آسیب سلولی پی برد (Canli, 1996). در مطالعه حاضر پس از قرار گیری میگوی پاسبید غربی به مدت ۷ و ۱۴ روز در معرض فلز سنگین کادمیوم و شوری‌های متفاوت، میزان پروتئین کل در پلاسما میگوهای تیمار شده به میزان قابل توجهی به نسبت گروه شاهد کاهش یافت. سطوح پایین پروتئین کل در پلاسما، منعکس‌کننده کاهش ظرفیت تولید پروتئین در میگو به دلیل آسیب‌های سلولی است. در مواجهه با آسیب‌های سلولی ممکن است بیان ژن و فرایند تبدیل اسیدهای آمینه به پروتئین مختل شده و تولید پروتئین کاهش یابد. از طرفی با تداوم استرس و کاهش کربوهیدرات و لیپید، پروتئین می‌تواند به عنوان منبع انرژی مورد مصرف قرار گرفته و کاهش یابد. عوامل دیگری نظیر خونریزی و آسیب‌های ترشحاتی نیز می‌تواند دلیل کاهش پروتئین کل (آلبومین، گلوبولین و ...) باشد (Gad, 2007). بنابراین می‌توان سطوح پایین پروتئین کل را به عنوان شاخصی در استرس‌های میگوی پاسبید غربی در معرض شوری و کادمیوم معرفی نمود.

کاهش مقدار پروتئین کل در مواجهه با فلزات سنگین در مطالعات قبلی نیز به خوبی اثبات شده است. به عنوان مثال در ماهی شانک زردباله (Vaboonian et al., 2013) در مواجهه با غلظت‌های مختلفی از فلزات سنگین کاهش مشاهده شده است. از طرف دیگر، Li و همکاران (۲۰۰۸)، با قرار دادن میگوی پاسبید غربی در معرض شوری‌های مختلف (۳، ۱۷ و ۳۲ قسمت در هزار) نشان دادند که بیشترین میزان پروتئین همولنف در میگوهای است که در معرض کمترین میزان شوری قرار داشتند؛ که نتایج مطالعه آنها با مطالعه حاضر منطبق می‌باشد. بررسی آزمون سمیت حاد نشان داد که غلظت کشنده کادمیوم ۶/۹۶ میلی‌گرم بر لیتر است که بیانگر سمیت بالای کادمیوم در میگوی پاسبید غربی می‌باشد. در مورد پروتئین کل نیز به دلیل عدم تولید توسط سلول‌های تولیدکننده و استفاده به میزان منبع انرژی طی استرس شوری و کادمیوم، کاهش نشان داد.

References

۱. پوررضا، ص.، امرالهی، ن. و طاهری زاده، م.، ۱۳۹۴. پاسخ هیستوپاتولوژیکی هپاتوپانکراس و آبشش خرچنگ *Metopograpsus messor* در مواجهه با آلایندة کادمیوم. مجله بوم‌شناسی آبزیان، دوره پنجم، شماره ۴، ص ۶۲-۵۱.
2. Abbas, S., Z. Ouane, J. B. Salah-Abbes, M. A. Abdel-Wahhab, R. Oueslati and Bacha, H., 2007. Preventive roles of aluminosilicate clay against induction of micronuclei and chromosome aberrations in bone-marrow cells of Balb/c mice treated with Zearalenone. Mutation Research, 631:85-92.
3. Amrollahi Biuki, N., Savari, A., Mortazavi, M.S. and Zolgharnein, H., 2010. Acute toxicity of cadmium chloride $CdCl_2.H_2O$ on *Chanos chanos* and their behavior Responses. World Journal of Fish and Marine Systems, 2(6): 481-486.
4. Ardiansyah, S., Irawan, B. and Soegianto, A., 2012. Effect of cadmium and zinc in different salinity levels on survival and osmoregulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 45(4): 291-302.
5. Boudou, A. and Ribeyre, F., 1997. Aquatic ecotoxicology: from the ecosystem to the cellular and molecular levels. Environ. Health Perspect, 105 (Suppl. 1): 21-35.
6. Camargo, M.M.P. and Martinez, C.B.R., 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. Neotropical Ichthyology, 5(3): 327-336.

7. Chang, M., Wang, W.N., Wang, A.L., Tian, T.T., Wang, P., Zheng, Y. and Liu, Y., 2009. Effects of cadmium on respiratory burst, intracellular Ca^{2+} and DNA damage in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 149: 581–586.
8. Canli, M. and Atli, G., 2003. The relationship between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. Journal of Environmental Pollution, 121: 129-136.
9. Cole, M. B., Arnold, D. E., Watten, B. J. and Krise, W. F. 2001. Haematological and physiological responses of brook charr, to untreated and limestone-neutralized acid mine drainage. Journal of Fish Biology, 59: 79–91.
10. Elia, A. C., Galarini, R., Taticchi, M. I., Dorr, A. J. and Mantilacci, L. 2003. Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. Ecotoxicology and Environmental Safety, 55: 162-167.
11. El-Shebly, A. A. and El-kady, M. A. H. 2008. Effects of Glyphosate Herbicide on Serum Growth Hormone (GH) Levels and Muscle Protein Content in Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus* L). Research Journal of Fisheries and Hydrobiology, 3(2): 84-88.
12. Erk, M., Ruus, A. and Hyll, K., 2005. cadmium accumulation and cd-binding proteins in marine invertebrates-Aradiotracer study. Chemosphere, 61: 1651-1664.
13. Finney, D.J., 1971. Probit Analysis. Univ. Press, Cambridge, 333 p.
14. Gad, S.C., 2007. Animal Models in Toxicology. CRC Press. pp: 950.
15. Gooley G.J., Gavine F.M., Dalton W., De Silva SS B.M. and Samblebe, M., 2000. Feasibility of aquaculture in dairy manufacturing wastewater to enhance environmental performance and offset costs. Final Report DRDC Project No. MAF001. Marine and Freshwater Research Institute. Snobs Creek. 84 p.
16. Kamaruzzaman, B. Y., Rina, Z., Akbar John, B. and Jalal, K. C. A., 2011. Heavy metal accumulation in commercially important Fishes of south west Malaysian Coast. Research Journal of Environmental Science, 5(6):595-602.
17. Li, Y.H., Panm, L. and Hunter, H., 2008. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. Aquaculture. 216, 177-191.
18. Lorenzon, S., Edomi, P., Giulianini, P.G., Mettullo, R. and Ferrero, E.A., 2004. Variation of crustacean hyperglycemic hormone (cHH) level in the eyestalk and haemolymph of the shrimp *Palaemon elegans* following stress. The Journal of Experimental Biology, 207: 4205-4213.
19. Norouzi, M., Bagheri Tavani, M. 2019. Assessment of the Consumption Risk of Fifteen Heavy Metals in *Liza aurata* in the Caspian Sea. Journal of Aquatic Ecology, 8(3): 96-107. (in Persian)
20. Mao, G., Jin, W., Zhu, Y., Mao, Y., Hsu, W.-L., & Liu, H.-L. (2021). Environmental pollution effects of regional industrial transfer illustrated with Jiangsu, China. Sustainability, 13(21), 12128. <https://doi.org/10.3390/su132112128>
21. Mc Geer, J.C., Szebedinszky, C., McDonald, D. G. and Wood, C. M., 2000. Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. 1: ionoregulatory disturbance and metabolic costs. Aquatic Toxicology, 50: 231-243.

22. **Prasath, M. and Arivoli, S., 2008.** Biochemical Study of Freshwater Fish Catla catla with Reference to Mercury Chloride. iran journal environmental health science engineering, 5 (2):109-116.
23. **Raj Kumar, J.S.I., 2012.** Acute toxicity of cadmium, copper, lead and zinc to tiger shrimp *Penaeus monodon* postlarvae. International Journal of Environmental Sciences, 3 (1): 305-311.
24. **Shah, S.L. and A. Altindu., 2005.** Effects of heavy metals accumulation in the 96-hr LC50 values in Tench *Tinca tinca* L., 1758. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29:139-144.
25. **Sharma, P. D., 2003.** Environmental Pollution. In: Ecology and Environment (7th Edition) Rastogi. Publication. Meerut, India, 415-489.
26. **Tripathi, G. and Verma, P., 2004.** Fenvalerate-induced changes in a catfish, *Clarias batrachus*: metabolic enzymes, RNA and protein. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology, 138(1): 75-79.
27. **Vaboonian, A., Movahedinia, A., Safahieh, A. and Hedayati, A., 2013.** Serum biochemical changes of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*) in response to sublethal cadmium toxicity. Comprative Clinical Pathology, DOI 10.1007/s00580-013-1851-0. Published online 05 december 2013.
28. **Vieira L, Gravato C, Soares A, Morgado F. and Guilhermino, L., 2009.** Acute effects of copper and mercury on the estuarine fish *Pomatoschistus microps* Linking biomarkers to behaviour. Chemosphere, 76(10): 1416-1427.
29. **X. Chang et al.** Effects of cadmium exposure on the composition and diversity of the intestinal microbial community of common carp (*Cyprinus carpio* L.) Ecotox. Environ. Safe. (2019)
30. **Y. Chae et al.** Impact of nano-sized plastic on the nutritional value and gut microbiota of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* via dietary exposure Environ. Int. (2019)
31. **Zheng, K., Wu, L., He, Z., Yang, B. and Yang, Y., 2017.** Measurement of the total protein in serum by biuret method with uncertainty evaluation. Measurement, Vol.112,16,21.10.1016/j.measurement.2017.08.013