

تاثیر نانوپلاستیک پلی استایرن بر برخی از پاسخ‌های ایمنی و آنتی اکسیدانی در بچه ماهی کلمه خزری (*Rutilus caspius*)

فاطمه ساوری کتولی^۱، سیده آیناز شیرنگی^{۲*}، حسین آدینه^۲، صفورا ابرقویی^۳

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران.

۲- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

۳- گروه تولید و بهره برداری، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.

چکیده

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۲۲

بازنگری: ۱۴۰۴/۰۸/۲۰

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۵

چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۴/۰۹/۲۵

*نویسنده مسئول:

ainazshirangi@gmail.com

این مطالعه با هدف بررسی افزودن غلظت‌های مختلف نانوپلاستیک پلی استایرن به غذای بچه ماهی کلمه خزری (*Rutilus caspius*) با میانگین وزنی 14 ± 0.37 g و تاثیر آن بر بقا، پاسخ‌های ایمنی اختصاصی (ایمونوگلوبولین و لیزوزیم) و ایمنی غیراختصاصی (ALT, AST و ALP)، برخی شاخص‌های استرس (گلوکز و کورتیزول) و فعالیت پارامترهای آنتی اکسیدانی (SOD, CAT و MDA) به مدت ۳۰ روز انجام شد. بدین منظور، ۳۸۴ قطعه بچه ماهی کلمه به طور تصادفی در ۴ تیمار آزمایشی S0, S1, S2 و S3 (به ترتیب ۰، ۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم نانوپلاستیک در کیلوگرم غذا) توزیع گردید. بر اساس نتایج به دست آمده، میزان گلوکز، کورتیزول و هر سه آنزیم کبدی در بچه ماهیان با افزایش غلظت نانوپلاستیک افزایش یافت. در حالیکه، بالاترین میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم و ایمونوگلوبین در گروه کنترل مشاهده شد. همراه با کاهش سطح پارامترهای ایمنی، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی SOD و CAT با افزایش غلظت نانوپلاستیک کاهش یافت اما محتوای MAD مقدار افزایشی را نشان داد. بنابراین، انتظار می‌رود غلظت‌های بالای نانوپلاستیک در محیط‌های آبی و یا حتی قرار گرفتن بچه ماهیان کلمه به مدت طولانی در معرض ذرات نانوپلاستیک می‌تواند باعث آسیب‌های جدی اکسیداتیو و تضعیف سطح ایمنی بدن آنها گردد.

کلید واژه‌ها: ماهی کلمه دریای خزر (*Rutilus caspius*)، نانوپلاستیک، استرس

اکسیداتیو، ایمنی، بقا

مقدمه

امروزه با صنعتی شدن جوامع بشری، آلودگی اکوسیستم‌های آبی یک نگرانی جدی است که زندگی موجودات آبی و انسان را تحت تاثیر قرار می‌دهد. حدود ۶۰ تا ۸۰ درصد آلودگی‌های دریایی ناشی از مواد پلاستیکی هستند و حدود ۵/۳۵ تریلیون ذرات پلاستیک در سطوح دریا و اقیانوس شناور هستند [۱ و ۳]. پلاستیک از دهه ۱۹۴۰ تولید شده است و تولید جهانی آن در سال ۲۰۱۹ به ۳۶۸ میلیون تن رسیده است که منجر به آلودگی شدید محیط زیست در سراسر جهان شده است [۲]. باران و باد از راه‌های ورود مواد پلاستیکی به آبها می‌باشند که به همراه رودخانه ها به مناطق ساحلی نیز وارد می‌شود. حدود ۲۰ درصد از آلودگی های پلاستیکی به دلیل فعالیت کشتی ها و ماهیگیری صنعتی اتفاق می افتد [۴، ۵ و ۶]. البته این آلودگی می تواند به طور مستقیم از نشت در حوادث صنعتی و به صورت غیر مستقیم از ذراتی که در لوازم آرایشی و بهداشتی در فاضلاب ها وجود دارد وارد منابع آبی شوند [۶]. پلاستیک ها پس از ورود به آب بر اثر عواملی مانند تخریب زیستی، تخریب نوری، هیدرولیز،

تخریب گرمایی و اکسیداسیون حرارتی به اندازه‌های کوچکتر تبدیل می‌شوند [۷]. میکروپلاستیک‌ها یا ریز پلاستیک‌ها (با اندازه ۱ میکرومتر تا ۵ میلی‌متر) در محیط را می‌توان بر اساس اندازه اصلی خود به «اولیه» یا «ثانویه» طبقه‌بندی کرد [۸]. ریز پلاستیک‌ها که به ذرات ریزتر در حد نانومتر تبدیل می‌شوند را نانوپلاستیک گویند و از آنجا که این نانو مواد خاصیت‌های شیمیایی، الکتریکی و مکانیکی ویژه ای دارند توجه زیادی به آنها شده است [۹]. ریزپلاستیک‌ها به دلیل اندازه ذرات کوچکشان و همچنین به دلیل اینکه به شکل مواد غذایی هستند می‌توانند توسط ارگانیسم‌هایی که در پایه زنجیره غذایی یافت می‌شوند، مانند پلانکتون‌ها و یا زئوپلانکتون‌ها جذب شوند و در مصرف کنندگان ثانویه تجمع کنند. بنابراین این مواد به صورت عمدی و یا اتفاقی توسط ماهیان مصرف می‌شوند و در نهایت زنجیره غذایی اکوسیستم را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۱۰]. ریزپلاستیک‌ها سلامت ماهیان را از طریق آسیب مکانیکی و انسداد دستگاه گوارش آنها تهدید می‌کند، همین‌طور زمینه را برای حضور برخی از مواد خطرناک فراهم می‌کند که وارد شبکه غذایی آبزیان می‌شود [۱۱]. مطالعات نشان داده‌اند که میکرو و نانوپلاستیک‌ها می‌توانند در موجودات آبزی انباشته شوند و باعث اختلال در هضم و جذب غذا، اختلال در ذخایر انرژی و قابلیت‌های تولید مثلی آنها، بروز آسیب‌های اکسیداتیو، سمیت سلولی، اختلال در عملکرد میانجیگرهای عصبی، سرکوب سیستم ایمنی و سمیت ژنتیکی و حتی مرگ آبزیان گردند [۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۱۶]. حتی ممکن است آبزیان ریزپلاستیک‌ها را به غذای طبیعی خود ترجیح دهند و به دلیل مصرف آنها قبل از رسیدن به سن بلوغ در اثر گرسنگی از بین روند [۱۶ و ۱۷]. در مطالعه‌ای به منظور بررسی اثرات میکروپلاستیک پلی استایرن بر روی برخی ضایعات فیزیولوژیکی ماهی قرمز *Carassius auratus* افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی SOD و CAT، همچنین تفاوت معنی‌داری در بیان ژن‌های مرتبط با آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (SOD، CAT و HSP70) مشاهده شد [۱۸]. تحقیق دیگری که بر روی بچه ماهی قرمز (*C. auratus*) در معرض میکروپلاستیک‌های پلی وینیل کلرید (PVC-MPS) به مدت چهار روز انجام شد، التهاب کبد و در برخی قسمتهای آن خونریزی و نکروز مشاهده شد. همچنین افزایش میزان MDA می‌تواند نشان دهنده شواهدی آسیب اکسیداتیو کبد باشد [۱۹].

ماهی کلمه خزری با نام علمی *Rutilus caspicus* (Yakovlev 1870) و با نام انگلیسی Caspian Roach یک ماهی مهاجر دریایی و یکی از گونه‌های بومی و با ارزش اقتصادی در دریای خزر است. این ماهی در آب‌های با دمای بین ۱۷ تا ۳۱ درجه سانتی گراد از شیرین تا لب شور (شوری ۲ الی ۴ ppt) زندگی می‌کند و در فصل بهار از دریا به سمت رودخانه‌ها جهت تولیدمثل مهاجرت می‌کند. محل تخم‌ریزی ماهی کلمه عمدتاً در ابتدای رودخانه‌ها، در آب‌های ساحلی کم عمق لب شور (مصب‌ها) می‌باشد [۲۰ و ۲۱]. طی دهه‌های گذشته، ذخایر این ماهی در اثر تخریب مناطق تخم‌ریزی در رودخانه‌ها و همچنین، تلفات بچه‌ماهیان در زمان ورود به دریای خزر به دلیل تخریب زیستگاه در اثر برداشت شن و ماسه و ورود سموم کشاورزی، خانگی و صنعتی کاهش یافته است [۲۲]. با توجه به اهمیت اقتصادی و بوم شناختی ماهی کلمه، همه ساله بازسازی ذخایر این گونه در دریای خزر با تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه‌ماهیان در رودخانه‌های اطراف دریای خزر به ویژه در رودخانه‌های حوضه قره سو انجام می‌شود. رودخانه قره سو که از ارتفاعات قله ماران سرچشمه می‌گیرد، یکی از رودخانه‌های منتهی به دریای خزر است و به دلیل فعالیت‌های کشاورزی گسترده در معرض آلودگی‌ها قرار گرفته است [۲۳] در مطالعه‌ای اثبات شده است رودخانه‌های حوضه قره سو به ویژه در مناطق بالادست به ذرات میکروپلاستیک آلوده شده‌اند. وجود این نوع آلودگی در ۹ گونه ماهی حوضه رودخانه قره سو، میزان ۸۷٪ برآورد شد که این نوع آلودگی در ماهی کلمه خزری نیز مشاهده گردید [۲۴]. این گونه ماهی با داشتن ارزش خوراکی برای مصارف انسانی و همچنین، با قرارگیری در چرخه تغذیه تاسماهیان دریای خزر نقش اساسی در تأمین پروتئین ایفا می‌کند [۲۲]. از طرف دیگر، با توجه به اینکه آلودگی‌های پلاستیکی در دریاها و رودخانه‌های ایران تبدیل به یک معضل شده است و رودخانه‌ها محیط‌های پویایی هستند که می‌توانند در مسیر خود آلودگی‌ها را حمل کنند و به دریا منتقل کنند، تحقیق حاضر با هدف بررسی آلودگی نانوپلاستیک و تأثیرات آن بر فیزیولوژی ماهی کلمه انجام شد که نتایج آن می‌تواند گامی موثر در رفع مشکلات زیست محیطی این گونه ی با ارزش باشد.

مواد و روش‌ها

منطقه نمونه‌برداری

ماهی کلمه دریای خزر (*R. caspicus*) با میانگین وزنی حدود ۱ تا ۲ گرم (14 ± 0.37 گرم) از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سبجوال (بندر ترکمن - استان گلستان) تهیه شد و برای انجام پژوهش به آزمایشگاه آبی پروری دانشگاه گنبد کاووس انتقال یافت. پس از طی دوره دو هفته‌ای به منظور سازگاری ماهیان با محیط آزمایشگاهی، تعداد ۳۸۴ قطعه ماهی کلمه خزری در ۴ تیمار آزمایشی (هر یک با ۳ تکرار) به طور تصادفی در مخازن ۳۵ لیتری توزیع گردید. تیمار شاهد بدون افزودن نانو پلاستیک به غذا (S0) و تیمارهای تغذیه‌ای حاوی مقادیر ۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم نانوپلاستیک پلی استایرن در یک کیلوگرم غذا به ترتیب (S1، S2، S3) می‌باشد. استایرن به عنوان مونومر، پلی وینیل الکل (PVA) با جرم مولکولی ۱۲۰۴۴۴ گرم بر مول به عنوان تثبیت کننده از شرکت مرک آلمان و بنزوئیل پراکسید به عنوان آغازگر از شرکت آلفا آریزر (آمریکا) خریداری شد. استایرن قبل از استفاده تقطیر شد و سایر مواد شیمیایی به همان صورت مورد استفاده قرار گرفت. ذرات نانو پلی استایرن به صورت امولسیون در محدوده ۲۴ نانومتری تهیه شد. نانوپلاستیک پلی استایرن به صورت اسپری به غذا اضافه شد. تغذیه روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن در ۳ وعده (صبح، ظهر و عصر) به مدت ۳۰ روز انجام شد [۱۸]. تعداد تلفات به صورت روزانه ثبت گردید. همچنین پارامترهای فیزیوشیمیایی آب مانند دما، pH و اکسیژن محلول به طور روزانه مورد سنجش قرار گرفت (جدول ۱) و تعویض آب روزانه به میزان ۱۰ درصد مخازن انجام شد. ۲۴ ساعت قبل از نمونه برداری غذادهی متوقف شد. در پایان دوره آزمایش (روز ۱۳۰م) تعداد ۱۵ قطعه بچه ماهی از هر تیمار به صورت تصادفی صید گردید. با توجه به اندازه بسیار کوچک ماهیان، به منظور بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی، استرس و همچنین سنجش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، از لاشه هموژن شده ماهیان استفاده گردید و تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. پارامترهای مورد سنجش استرس شامل گلوکز و کورتیزول، پارامترهای ایمنی اختصاصی شامل سنجش فعالیت آنزیم لیزوزیم و ایمونوگلوبولین و پارامترهای ایمنی غیر اختصاصی شامل آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP می‌باشند. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، و محتوای مالون دی‌آلدهید (MDA) نیز جهت بررسی استرس اکسیداتیو اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری میزان گلوکز به شیوه کالری متری و با استفاده از کیت تجاری (پارس آزمون، ایران) انجام شد. اندازه‌گیری هورمون کورتیزول خون (ng/ml) با روش الایزا (ELISA) و با به کارگیری کیت Monobind Inc (کشور آمریکا) انجام شد. جهت اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین و لیزوزیم نیز از روش ایمونوتوربیدی متری و دستگاه اسپکتروفوتومتر Lambda Z 800 (USA PerkinElmer) استفاده گردید. سنجش آنزیم SOD با استفاده از کیت تشخیصی شرکت ZellBio (کشور آلمان) در طول موج ۴۲۰ نانومتر، سنجش آنزیم CAT با استفاده از کیت تشخیصی ZellBio (کشور آلمان) در طول موج ۴۰۵ نانومتر، و سنجش MDA با استفاده از کیت تشخیصی ZellBio (کشور آلمان) در طول موج ۵۳۵ نانومتر انجام گرفت. سنجش آنزیم‌های کبدی با استفاده از کیت‌های اختصاصی شرکت زیست شیمی با روش Thiocyanate در طول موج ۵۰۵ نانومتر انجام شده است. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک بررسی گردید. برای مقایسه میانگین‌های به دست آمده در تیمارهای مختلف آزمایشی از آنالیز واریانس یک-طرفه (One Way ANOVA) استفاده شد. برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های تیمارهای مختلف آزمایشی در سطح معنی‌دار ۰/۵ نیز از روش دانکن استفاده شد. آزمون آنالیز آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel انجام شد.

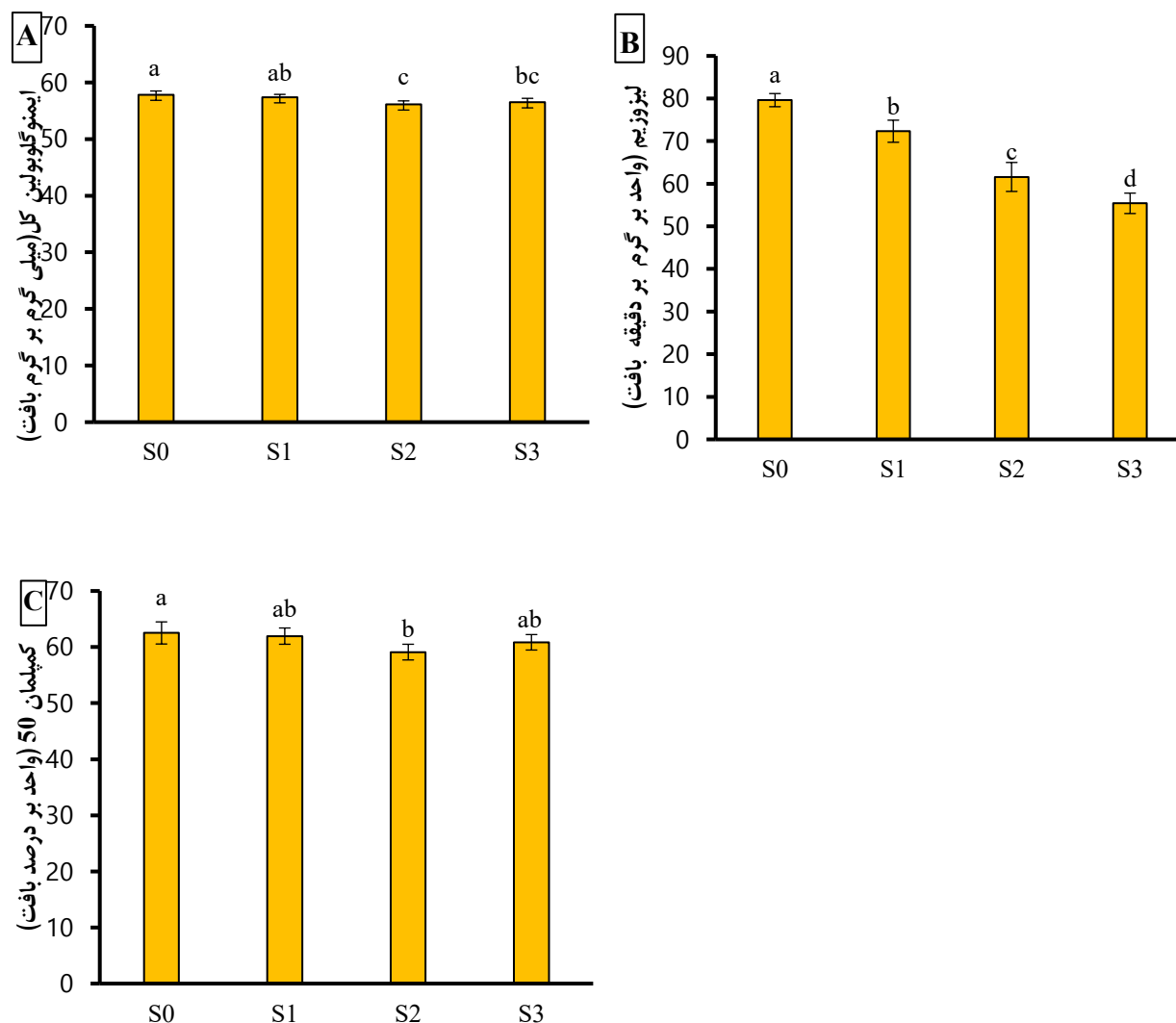
جدول ۱- سنجش پارامترهای فیزیوشیمیایی آب مورد استفاده در این تحقیق

نوع آب مورد استفاده	شوری	اکسیژن	دما	pH	کدورت (TDS)	هدایت الکتریکی
	ppt	Mg/l	C°		g/l	Ms/cm
آب شهری	۰/۱۶	۵/۱	۲۷/۵	۸۷/۸	۱/۶۱	۳/۱۵

نتایج

در تمام دوره آزمایش هیچ مرگ و میری در ماهیان تیمارهای مختلف مشاهده نشد. تغییرات فاکتورهای ایمنی بچه ماهی کلمه تحت استرس سطوح مختلف نانوپلاستیک پلی استایرن در شکل ۱ ارائه شده است. غلظت ایمونوگلوبولین کل در تیمارهای تحت مواجهه با نانوپلاستیک نسبت به تیمار ماهیان گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$ ، شکل ۱-A) و کمترین سطح ایمونوگلوبولین در تیمار S2 به میزان $0.62 \pm 56/13$ مشاهده شد. فعالیت آنزیم لیروزیم با افزایش غلظت نانوپلاستیک در تیمارهای ماهیان مورد آزمایش به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$ ، شکل ۱-B); به طوریکه بیشترین آن در تیمار S0 ($1/55 \pm 62/79$) و کمترین آن در تیمار S3 ($2/4 \pm 55/4$) به دست آمد.

روند تغییرات کمپلمان ۵۰ در ماهیان تیمارهای مختلف مشابه نتایج حاصل از سنجش ایمونوگلوبولین در ماهیان گروههای مختلف مشاهده شد. بیشترین غلظت کمپلمان در تیمار S0 مشاهده شد ($1/97 \pm 52/62$) که در مقایسه با تیمار ماهیان تحت مواجهه با نانوپلاستیک اختلاف معنی داری داشت ($P < 0.05$ ، شکل ۱-C).



شکل ۱- پاسخ ایمنی ماهی کلمه خزری تحت مواجهه با مقادیر ۰، ۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم نانوپلاستیک در کیلو گرم غذا (به ترتیب S0، S1، S2 و S3). A: تغییرات غلظت ایمنوگلوبولین با افزایش غلظت نانوپلاستیک. B: تغییرات غلظت لیوزیم با افزایش دوزهای نانوپلاستیک. C: تغییرات غلظت کمپلمان ۵۰ با افزایش دوزهای نانوپلاستیک. حروف انگلیسی نشان از وجود اختلاف معنی دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

پارامترهای ایمنی غیر اختصاصی

در بررسی پارامترهای مربوط به ایمنی غیر اختصاصی، سطح آنزیمهای آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در تیمارهای آزمایشی مورد سنجش قرار گرفت. میزان هر سه آنزیم در تیمارهای ماهیان حاوی نانوپلاستیک در مقایسه با تیمار

شاهد به طور معنی داری افزایش یافت (جدول ۲، $P < 0.05$). با افزایش غلظت نانوپلاستیک میزان این آنزیم‌ها در تیمارهای ماهیان مورد مطالعه کاهش یافت؛ به طوری که کمترین و بیشترین مقادیر این آنزیم‌ها به ترتیب در تیمارهای S0 و S3 به دست آمد (جدول ۲).

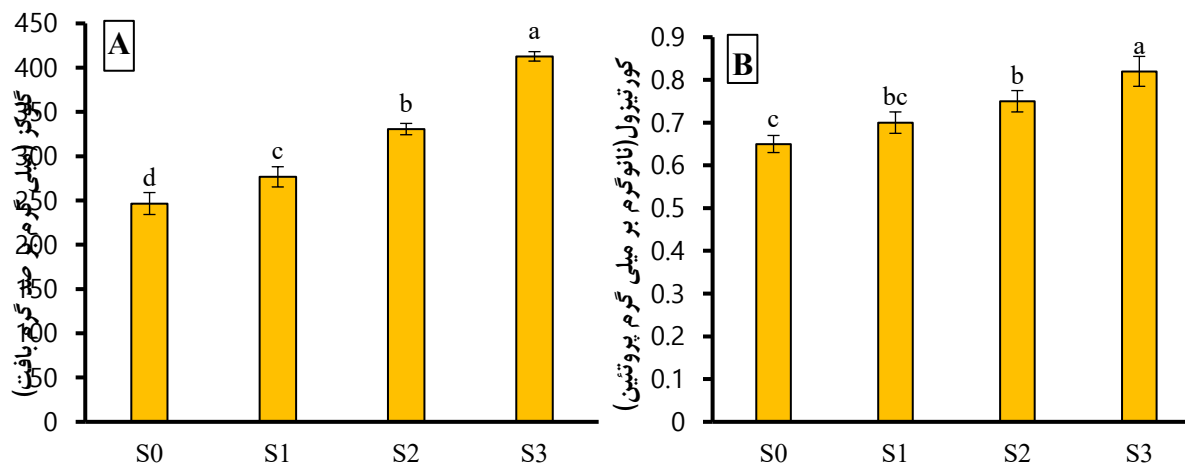
جدول ۲- مقادیر غلظت شاخص‌های استرس ماهی کلمه خزری تحت مواجه با سطوح مختلف نانوپلاستیک در غذا

CS3	CS2	CS1	CS0	
$147/78 \pm 2/42^a$	$136/67 \pm 1/73^b$	$116/92 \pm 3/51^c$	$95/24 \pm 4/85^d$	آسپارات آمینوترانسفراز (واحد/ میلی گرم پروتئین)
$19/75 \pm 0/35^a$	$17/95 \pm 0/45^b$	$17/95 \pm 0/46^b$	$9/11 \pm 0/50^c$	آلانین آمینو ترانسفراز (واحد/ میلی گرم پروتئین)
$27/32 \pm 0/87^a$	$16/40 \pm 0/20^b$	$14/05 \pm 0/75^c$	$11/80 \pm 0/40^d$	آلکالین فسفاتاز (واحد/ میلی گرم پروتئین)

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ردیف نشان از وجود اختلاف معنی دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$). حروف S0، S1، S2 و S3 به ترتیب مقادیر ۰، ۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم نانوپلاستیک در کیلو گرم غذا است.

پارامترهای استرس

طی مطالعه شاخص‌های استرس در تحقیق حاضر، همراه با افزایش سطح آنزیم‌های کبدی با افزایش غلظت نانوپلاستیک در تیمارهای ماهیان مورد مطالعه، میزان گلوکز و کورتیزول نیز افزایش یافت ($P < 0.05$ ، شکل ۲) و بیشترین سطح گلوکز و کورتیزول در تیمار S3 مشاهده شد.



شکل ۲- تغییرات غلظت گلوکز و کورتیزول در بچه ماهی کلمه خزری تحت مواجه با مقادیر ۰، ۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم نانوپلاستیک در کیلو گرم غذا (به ترتیب S0، S1، S2 و S3). حروف انگلیسی نشان از وجود اختلاف معنی دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

پارامترهای استرس اکسیداتیو

در نتایج حاصل از سنجش برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در این مطالعه، بالاترین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در تیمار شاهد S0 مشاهده شد (0.17 ± 0.064). سطح این آنزیم در تیمارهای ماهیان تحت مواجه با نانوپلاستیک در مقایسه با ماهیان گروه شاهد (S0) به طور معنی داری کاهش یافت (جدول ۳، $P < 0.05$)، در حالیکه بین تیمارهای با دوزهای مختلف نانوپلاستیک هیچ تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

همانند آنزیم SOD، سطح آنزیم کاتالاز (CAT) نیز با افزایش غلظت نانوپلاستیک کاهش یافت (جدول ۳، $P < 0.05$)، به‌طوریکه بیشترین و کمترین مقدار این آنزیم به ترتیب در تیمارهای S0 (0.14 ± 0.077) و S3 (0.12 ± 0.077) بدست آمد.

بر اساس انتظار و بر خلاف نتایج حاصل از سنجش آنزیم‌های SOD و CAT، میزان مالون دی آلدئید (MDA) در تیمارهای مختلف آزمایشی با افزایش غلظت نانوپلاستیک در ماهیان مورد مطالعه نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۳، $P < 0.05$). کمترین میزان MDA در تیمار شاهد (0.12 ± 0.379) و بیشترین سطح آن در تیمار S3 (0.25 ± 0.496) مشاهده شد.

جدول ۳- وضعیت آنتی‌اکسیدانی در بچه ماهی کلمه خزری تحت مواجه با مقادیر ۰، ۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم نانوپلاستیک در کیلوگرم غذا (به ترتیب S0، S1، S2 و S3).

S3	S2	S1	S0	
0.45 ± 0.025^b	0.47 ± 0.014^b	0.48 ± 0.020^b	0.64 ± 0.017^a	سوپراکسید دیسموتاز (SOD) (واحد/ میلی گرم پروتئین)
0.72 ± 0.012^b	0.73 ± 0.034^{ab}	0.73 ± 0.018^{ab}	0.77 ± 0.014^a	کاتالاز (CAT) (واحد/ میلی گرم پروتئین)
4.96 ± 0.25^a	4.36 ± 0.19^b	4.20 ± 0.10^b	3.79 ± 0.12^c	مالون دی آلدئید (MDA) (واحد/ میلی گرم پروتئین)
119.40 ± 3.63^b	125.20 ± 2.45^b	134.00 ± 1.20^a	138.50 ± 4.84^a	پروتئین (میلی گرم/ گرم بافت)

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ردیف نشان از وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

ایمونوگلوبولین و آنزیم لیزوزیم از جمله شاخص‌های مهمی هستند که برای بررسی وضعیت ایمنی موجودات آبی به کار می‌روند [۲۵ و ۲۶]. لیزوزیم به عنوان پارامتر دفاعی همورال در ماهیان طی مقابله با عوامل استرس‌زای محیطی یا در برابر تهاجم عوامل بیماری‌زای خارجی باکتریایی یا ویروسی با لیز کردن (شکستن) پپتیدوگلیکان در دیواره سلولی آنها مورد ملاحظه قرار می‌گیرد [۲۸، ۲۷]. در این مطالعه، سطح ایمونوگلوبولین و لیزوزیم با افزایش غلظت نانوپلاستیک در ماهیان مورد مطالعه به طور معنی داری کاهش یافت که نشان دهنده واکنش ایمنی بدن در برابر عوامل استرس‌زا می باشد البته، سطح این دو پارامتر در ماهیان با غلظت پایین نانوپلاستیک (S1) در مقایسه با گروه شاهد (S0) تفاوت چندانی نشان نداد. به طور مشابه، فعالیت آنزیم لیزوزیم در ماهی مداکا (*Oryzias javanicus*) طی ۹۰ روز مواجه با غلظت بالای نانوپلاستیک (پلی استایرن) به طور معنی داری کاهش یافت [۲۹]. همچنین، میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم در میگوی آب شیرین (*Macrobrachium nipponense*) پس از ۲۸ روز مواجه با ذرات نانوپلاستیک در آب به طور معنی داری کاهش یافت [۲۸]. بنابراین، به دلیل قرار گرفتن ماهیان

در معرض نانوپلاستیک به مدت زمان طولانی به ویژه در غلظت‌های بالا و مشاهده کاهش فعالیت آنزیم لیروزیم در آنها سطح استرس وارد شده به ماهیان بیش از ظرفیت تنظیم لیروزیم در سیستم دفاع ایمنی آنها بوده است. با توجه به این که پروتئین‌های ایمنی خون به جز ایمونوگلوبولین در کبد ساخته می‌شوند، با آسیب کبد ساخت این پروتئین‌ها کاهش می‌یابد. علاوه بر آن استرس ناشی از سموم خود نیز باعث تغذیه و در نهایت کاهش پروتئین کل می‌شود [۳۰، ۳۱]. در تحقیق حاضر نیز میزان پروتئین کل با افزایش غلظت نانوپلاستیک در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت. در مطالعات پیشین اثبات شده است، آنزیم‌های AST و ALT در برخی از گونه‌های ماهیان مانند قزل آلا (رنگین کمان) (*Oncorhynchus mykiss*)، مولدین نر ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) و ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) طی مواجهه با سموم مختلف، نقش مهمی در تجزیه پروتئین برای تولید ATP دارند [۳۲، ۳۳]. در واقع، این آنزیم‌ها عمدتاً در سیتوپلاسم سلول‌های هپاتوسیت کبدی هستند اما طی آسیب کبد به داخل جریان خون ترشح می‌شوند [۳۴، ۳۵]. در مطالعه حاضر، میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی بر خلاف روند تغییرات سطح لیروزیم و ایمونوگلوبولین با افزایش غلظت نانوپلاستیک در ماهیان مورد مطالعه به طور معنی داری افزایش یافت. موافق با این نتایج، در مطالعه تأثیر نانوپلاستیک پلی استایرن بر برخی از شاخص‌های آسیب کبدی ماهی شوریده (*Larimichthys crocea*)، فعالیت آنزیم‌های ALP و AST پلاسما با افزایش غلظت نانوپلاستیک در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت [۳۵]. در مطالعه ای دیگر، فعالیت آنزیم AST در ماهی کپور در معرض بالاترین دوز میکروپلاستیک همراه با پاراکوات به طور قابل توجهی بالاتر از گروه‌های دیگر بود. فعالیت ALT در پلاسما ماهی در معرض پاراکوات نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت [۳۶]. برخلاف نتایج تحقیق حاضر، در مطالعه ای دیگر، فعالیت آنزیم‌های AST و ALT در بافت کبد گونه ای کفشک ماهی (*Paralichthys olivaceus*) در پاسخ به افزایش غلظت دی اتیل فتالات (DEP) کاهش یافت [۳۷]. از آنجا که گلوکز اصلی‌ترین ماده به دست آمده از سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها است، افزایش غلظت آن بر اثر گلوکونوز در شرایط استرس و نامساعد اتفاق می‌افتد. در این شرایط کورتیزول به همراه برخی از هورمون‌ها، گلیکوژن را به گلوکز تبدیل کرده تا انرژی مورد نیاز سلول‌ها طی فرآیند استرس فراهم شود. [۳۸، ۳۹]. در تحقیق حاضر، مطابق با افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی با افزایش غلظت نانوپلاستیک، میزان گلوکز نیز در ماهیان تیمارهای مختلف افزایش یافت. در مطالعه ای نیز، افزایش گلوکز خون در ماهی کپور (*C. carpio*) منعکس کننده افزایش نیاز به انرژی برای مقابله با اثرات استرس ناشی از سمیت ذرات میکروپلاستیک و پاراکوات تلقی شد [۳۳]. در مطالعه ای، بالاترین میزان گلوکز در ماهی کپور معمولی در بالاترین غلظت نانوپلاستیک، نسبت به گروه شاهد مشاهده شد [۴۰]. در مطالعه ای دیگر، طی بررسی اثرات میکرو ذرات پلی وینیل کلراید (PVC) بر روی نوعی گربه ماهی (*Clarias gariepinus*) سطح گلوکز خون به عنوان یکی از شاخص‌های زیستی استرس در ماهیان گروه‌های در معرض مواجهه با PVC در مقایسه با گروه شاهد به طور قابل توجهی افزایش یافت [۴۱]. در این مطالعه، سطح هورمون کورتیزول به عنوان دومین شاخص بررسی تأثیر استرس بر فیزیولوژی ماهی مورد ارزیابی قرار گرفت. با افزایش غلظت ذرات نانوپلاستیک میزان این هورمون نیز در ماهیان مورد مطالعه افزایش یافت. در مطالعه ای دیگر، سطح هورمون کورتیزول طی انتقال بچه ماهیان کلمه دریای خزر از آب شیرین به آب لب شور دریای خزر افزایش یافت [۴۲]. به طور کلی، استرس اکسیداتیو می‌تواند ماهی‌ها را مستعد ابتلا به بیماری‌ها کند [۴۳]. سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی، از جمله آنزیم‌های SOD و CAT با جمع آوری، خنثی سازی و/یا سم زدایی ROS و تبدیل آنها به متابولیت‌های بی‌ضرر نقش کلیدی در حفظ سلامت ماهی ایفا می‌کند [۴۴، ۴۵]. در واقع، آنزیم‌های SOD و CAT به عنوان دفاع‌های حیاتی خط اول در برابر رادیکال‌های سوپراکسید در نظر گرفته می‌شوند [۴۶]. در مطالعه حاضر، بالاترین سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی SOD و CAT در ماهیان گروه کنترل مشاهده شد و میزان آنها در ماهیان تحت مواجهه با غلظت‌های مختلف نانوپلاستیک پلی استایرن نسبت به ماهیان گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافت. همسو با نتایج تحقیق حاضر، مشاهده شده است، قرار گرفتن ماهیان در معرض غلظت‌های بالای نانوپلاستیک‌ها و یا به مدت طولانی باعث استرس شدید اکسیداتیو می‌شود و در نتیجه فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی از جمله فعالیت CAT را کاهش می‌دهد و به سیستم دفاعی اکسیداتیو آسیب می‌رساند [۴۷]. به عکس، برخی از غلظت‌های پلی استایرن باعث تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، SOD و CAT می‌شود که علت آن را می‌توان استرس اکسیداتیو ناشی از پلی استایرن

بیان کرد [۴۷،۴۸،۴۹]. در مطالعه ای دیگر، میزان مقدار SOD و CAT در تیمار تغذیه شده با غذای دارای میکروپلاستیک پلی ونیل کلرید نسبت به ماهیان تیمار شاهد به طور معنا داری افزایش یافت [۵۰]. همچنین، در مطالعه تاثیر نانوپلاستیک پلی استایرن بر برخی از شاخص های آسیب کبدی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در کبد ماهی شوریده (*L. crocea*)، با افزایش غلظت نانوپلاستیک در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت [۵۱]. محتوای MDA شاخص مهم پراکسیداسیون لیپیدی است و اغلب برای انعکاس میزان آسیب اکسیداتیو در بدن مورد سنجش قرار می گیرد [۵۲]. بر طبق انتظار، روند تغییرات میزان MDA در تیمارهای مختلف، در مطالعه حاضر بر خلاف سطح آنزیم های SOD و CAT مشاهده شد. بچه ماهیان کلمه پس از قرارگیری در معرض غلظت های مختلف نانوپلاستیک افزایش معنا داری را در میزان MDA نشان دادند، به طوری که در ماهیان تیمار S3 بالاترین میزان MDA مشاهده شد. به طور مشابه، میزان فعالیت آنزیم های SOD و CAT در میگوی آب شیرین (*M. nipponense*) با افزایش غلظت نانوپلاستیک پس از ۲۸ روز به طور معنی داری کاهش یافت در حالیکه، میزان MDA بر خلاف روند تغییرات آنزیم های آنتی اکسیدانی در تیمارهای تحت مواجهه با نانوپلاستیک با غلظت های بالا، افزایش یافت [۲۸]. اما به عکس در مطالعه دیگر، سطح MDA با قرار گرفتن در معرض غلظت های مختلف میکروپلاستیک در بافت های مختلف به طور قابل توجهی کاهش یافت [۵۳].

نتیجه گیری نهایی

کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در غلظت های بالای نانوپلاستیک همراه با کاهش سطح آنزیم لیزوزیم و سطح ایمونوگلوبولین، می تواند به دلیل آسیب وارد شده به سیستم ایمنی بچه ماهیان کلمه خزری باشد. از طرفی، افزایش سطح گلوکز و هورمون کورتیزول در ماهیان تحت مواجهه با نانوپلاستیک در مقایسه با گروه شاهد، حاکی از وجود استرس در ماهیان مورد مطالعه می باشد. در تایید نتایج فوق، افزایش ترشح آنزیم های کبدی در تیمارهای مواجهه با نانوپلاستیک نشان دهنده آسیب کبد می باشد و انتظار می رود افزایش مدت زمان قرار گرفتن در معرض نانوپلاستیک و یا افزایش غلظت آنها تهدید بسیار جدی برای سلامت بچه ماهیان کلمه محسوب شود.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از دانشگاه گنبد کاووس به خاطر حمایت مالی برای انجام این پژوهش قدردانی میشود. از اداره کل شیلات استان گلستان نیز به دلیل صدور مجوز استفاده از این گونه سپاسگزاری میشود. همچنین نویسندگان از جناب آقای دکتر یحیایی، معاونت محترم صید و بازسازی ذخایر آبزیان شیلات گلستان و جناب آقای مهندس شکبیا، ریاست محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال، بندرتزکمن که بدون حمایت ایشان انجام این پژوهش میسر نبود، کمال تشکر را دارند.

منابع

1. Gregory MR, Ryan PG. Pelagic plastics and other seaborne persistent synthetic debris: a review of Southern Hemisphere perspectives. In Marine Debris. New York. 1997; 49-66.
2. Verla AW, Enyoh CE, Verla EN, Nwarnorh KO. Microplastic- toxic chemical interaction: a review study on quantified levels, mechanism and implication. *Sn Applied Sciences*. 2019; 1 (11):30.
3. Mani T, Hauk A, Walter U, Burkhardt-Holm P. Microplastics profile along the Rhine River. *Scientific Reports*. 2015; 5:17988.
4. Horton AA, Svendsen, C, Williams, RJ, Spurgeon, DJ, Lahive, E. Large microplastic particles in sediments of tributaries of the River Thames, UK abundance, sources and methods for effective quantification. *Marine Pollution Bulletin*. 2017; 114: 218-226.
5. Andrady AL. Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*. 2011; 62 (8):1596-1605.

6. Rocha-Santos T, Armando C. Duarte, A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment. *Analytical Chemistry*. 2015; 65: 47-53.
7. Al-Oufi H , McLean E , Kumar A.S , Claereboudt M, and Al-Habsi M. The effects of solar radiation upon breaking strength and elongation of fishing nets. *Fisheries Research*. 2004; 66 (1): 115-119.
8. Germanov ES, Marshall AD, Bejder L, Fossi MC, Loneragan NR. Microplastics: no small problem for filter-feeding megafauna. *Trends in Ecology and Evolution*. 2018; 33(4): 227–232.
9. Strunk J, Kahler K, Xia, X. and Muhler M. The surface chemistry of ZnO nanoparticles applied as heterogeneous catalysts in methanol synthesis. *Surface Science*. 2009; 603 (10-12): 1776-1783.
10. Crawford CB, Quinn B. Microplastics, standardisation and spatial distribution, *Microplastic Pollutants*. Elsevier. 2017; 101- 130.
11. Cedervall T, Hansson LA, Lard M, Frohm B, Linse S. Food chain transport of nanoparticles affects behaviour and fat metabolism in fish. *PLOS ONE*. 2012; 7(2): e32254.
12. Wright SL, Kelly FJ. Plastic and human health: a micro issue? *Environmental Science and Technology*. 2017; 51: 6634-6647.
13. Liu Z, Yu P, Cai M, Wu D, Zhang M, Huang Y, Zhao Y. Polystyrene nanoplastic exposure induces immobilization, reproduction, and stress defense in the freshwater cladoceran *Daphnia pulex*. *Chemosphere*. 2019; 215: 74-81.
14. Lu Y, Zhang Y, Deng Y, Jiang W, Zhao Y, Geng J, Ding L, Ren H. Uptake and Accumulation of Polystyrene Microplastics in Zebrafish (*Danio rerio*) and Toxic Effects in Liver. *Environmental Science Technology*. 2016; 50: 4054-4060.
15. Sökmen TÖ, Sulukan E, Türkoğlu M, Baran A, Özkaraca M, Ceyhun, SB. Polystyrene nanoplastics (20 nm) are able to bioaccumulate and cause oxidative DNA damages in the brain tissue of zebrafish embryo (*Danio rerio*). *Neurotoxicology*. 2020; 77:51-59.
16. Chen Q, Lv W, Jiao Y, Liu Z, Li Y, Cai M, Wu D, Zhou W, Zhou WZ. Effects of exposure to waterborne polystyrene microspheres on lipid metabolism in the hepatopancreas of juvenile redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *Aquatic Toxicology*. 2020; 224: 105497.
17. Rummel CD., Löder MG, Fricke NF, Lang T, Griebeler EM, Janke M, Gerdt G. Plastic ingestion by pelagic and demersal fish from the North Sea and Baltic Sea. *Marine pollution bulletin*. 2016. 102(1): 134-141.
18. Abarghouei S, Hedayati A, Raeisi M, Hadavand BS, Rezaei H, Abed-Elmdoust A. Size-dependent effects of microplastic on uptake, immune system, related gene expression and histopathology of goldfish (*Carassius auratus*). *Chemosphere*. 2021; 276:129977.
19. Romano N, Renukdas N Fischer H , Shrivastava J, Baruah K, Egniew N, Sinha AK. Differential modulation of oxidative stress, antioxidant defense, histomorphology, ion-regulation and growth marker gene expression in goldfish (*Carassius auratus*) following exposure to different dose of virgin microplastics. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2020; 238: 108862.
20. Kottelat M, Freyhof J, vistonius A. a new species of shemaya from eastern Greece, with remarks on *Chalcalburnus chalcoides* macedonicus from Lake Volvi (Teleostei: Cyprinidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*. 2007; 18(3): 205.
21. Naderi M, Abdoli A. Fish species Atlas of South Caspian Sea Basin (Iranian water). 1384.[Persian in]
22. Kiabi B, Abdoli A, Naderi M. 1999. Status of the fish fauna in the south Caspian Basin of Iran. *Zoology in the middle East*. 1999; 18(1): 57-65.
23. FAO/ WHO. Pesticide residue a from: http://us.geocities.com/gorgancity/a_boutgolestan. 2000; <http://200613>[cited 2007 Oct 8].

24. Masoudi E, Hedayati, SA, Bagheri T, Salati AP, Safari R, Gholizadeh M, Zakeri M. Microplastic contamination in fishes of Gharasoo River basin, Golestan Province. *Journal of Aquaculture Sciences*. 2021; 9 (16): 09-115.
25. Xue Z, Li H, Wang X, Li X, Liu Y, Sun J, Liu C. A Review of the Immune Molecules in the Sea Cucumber. *Fish Shellfish Immunology*. 2015; 44, 1–11.
26. Jiang J, Zhou Z, Dong Y, Jiang B, Chen Z, Yang A, Wang B, Guan X, Gao S, Sun H. The in vitro Effects of Divalent Metal Ions on the Activities of Immune-Related Enzymes in Coelomic Fluid from the Sea Cucumber *Apostichopus japonicus*. *Aquaculture Research*. 2016; 47: 1269–1276.
27. Wang G, Wang T, Zhang X, Chen J, Feng C, Yun S, Cheng Y, Cheng F, Cao J. Sex Specific Effects of Fluoride and Lead Exposures on Histology, Antioxidant Physiology, and Immune System in the Liver of Zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology*. 2022; 31: 396–414.
28. Li Y, Liu Z, Li M, Jiang Q, Wu D, Huang Y, Jiao Y, Zhang M, Zhao Y. Effects of Nanoplastics on Antioxidant and Immune Enzyme Activities and Related Gene Expression in Juvenile *Macrobrachium nipponense*. *Journal of Hazardous Material*. 2020; 398:122990.
29. Zhou Y, Zhao L, Xu H, Xu E. G, Li M, Wang Y. Long-term exposure to polystyrene nanoplastics impairs the liver health of medaka. *Water*. 2022; 14(17): 2767.
30. Lin MF, Shiau SY. Requirements of vitamin C (l-ascorbyl-2-sulphate and l-ascorbyl-2-polyphosphate) and its effects on non-specific immune responses of grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture Nutrition*. 2005; 5 11(3): 183-189.
31. Puangkaew J, Kiron V, Somamoto T, Okamoto N, Satoh S, Takeuchi T, Watanabe T. Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. *Fish & shellfish immunology*. 2004; 16(1): 25-39.
32. Banaee M, Mirvagefi AR, Rafei GR, MajaziAmiri B. Effect of sublethal diazinon concentration on blood plasma biochemistry. *International Journal of Environmental Research*. 2008; 2: 189-198.
33. Kaya K, Dulgeroglu D, Unsal-Delialioglu S, Babadag M, Tacal T, Barlak A, Ozel S. Diagnostic value of ultrasonography in the evaluation of the temporomandibular joint anterior disc displacement. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2012; 38(5): 391-395.
34. Amacher DE. Serum transaminase elevations as indicators of liver injury following the administration of drugs. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 1998; 27: 119–130.
35. Lai W, Xu D, Li J, Wang Z, Ding Y, Wang X, Ai Q. Dietary polystyrene nanoplastics exposure alters liver lipid metabolism and muscle nutritional quality in carnivorous marine fish large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Journal of Hazardous Materials*. 2021; 419: 126454.
36. Nematdoost Haghi B, Banaee M. Effects of micro-plastic particles on paraquat toxicity to common carp (*Cyprinus carpio*): biochemical changes. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2017; 14(3): 521-530.
37. Kang JC, Jee JH, Koo JG, Keum YH, Jo SG, Park KH. Anti-oxidative status and hepatic enzymes following acute administration of diethyl phthalate in olive flounder *Paralichthys olivaceus*, a marine culture fish. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2010; 73(6): 1449-1455.
38. Saravanan M, Kumar KP, Ramesh M. Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute chronic sublethal exposure to lindane. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2011; 100 (3): 206-211.
39. Zhou W, Wang G, Han Z, Yao W, Zhu W. Metabolism of flaxseed lignans in the rumen and its impact on ruminal metabolism and flora. *Animal Feed Science and Technology*. 2009; 150: 18-26.

40. Mehri A, Hedayati SA, Jafar Nodeh A, Abarghoui S. Study on liver lesions and mucosal indices of common carp (*Cyprinus carpio*) in exposure to different concentrations of nanoplastic. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*. 2022; 10 (4): 15-26.
41. Iheanacho SC, Odo GE. Dietary exposure to polyvinyl chloride microparticles induced oxidative stress and hepatic damage in *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Environmental Science and Pollution Research*. 2020; 27(17): 21159-21173.
42. Amin N, Shirangi SA, Kashiri H, Jafarian H, Adineh H. Effects of sudden and gradual transfer methods to Caspian Sea water salinity on ionic regulation, some immune responses and stress indices in Caspian Sea bream fry (*Rutilus caspicus*, Yakovlev 1870). *Fisheries Science and Technology*. 2022; 11(1): 42-54. [in Persian].
43. Sheikhzadeh N, Tayefi-Nasrabadi H, Oushani AK, Enferadi MHN. Effects of *Haematococcus pluvialis* supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 2012; 38: 413-419.
44. Zhang J, Shen H, Wang X, Wu J, Xue E. Effects of chronic exposure of 2,4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. *Chemosphere*. 2004; 55: 167-174.
45. Martínez-Álvarez RM, Morales AE, Sanz A. Antioxidant Defenses in Fish: Biotic and Abiotic Factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 2005; 15: 75-88.
46. Rangasamy B, Hemalatha D, Shobana C, Nataraj B, Ramesh M. Developmental toxicity and biological responses of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to anti-inflammatory drug ketoprofen. *Chemosphere*. 2018; 213: 423-433.
47. Wan Z, Wang C, Zhou J, Shen M, Wang X, Fu Z, Jin Y. Effects of polystyrene microplastics on the composition of the microbiome and metabolism in larval zebrafish. *Chemosphere*. 2019; 217: 646e658.
48. Feng LJ, Li JW, Xu EG, Sun XD, Zhu FP, Ding Z, Yuan XZ. Short-term exposure to positively charged polystyrene nanoparticles causes oxidative stress and membrane destruction in cyanobacteria. *Environmental Science: Nano*. 2019; 6 (10): 3072-3079.
49. Yu P, Liu Z, Wu D, Chen M, Lv W, Zhao Y. Accumulation of polystyrene microplastics in juvenile *Eriocheir sinensis* and oxidative stress effects in the liver. *Aquatic Toxicology*. 2018; 200: 28-36.
50. Romano N, Renukdas N, Fischer H, Shrivastava J, Baruah K, Egniew N, Sinha AK. Differential modulation of oxidative stress, antioxidant defense, histomorphology, ion-regulation and growth marker gene expression in goldfish (*Carassius auratus*) following exposure to different dose of virgin microplastics. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2020; 238: 108862.
51. Li L; GU H; Chang X; Huang W, Sokolova IM, Wei S, Sun L, Li S, Wang X, Hu M. Oxidative Stress Induced by Nanoplastics in the Liver of Juvenile Large Yellow Croaker *Larimichthys crocea*. *Marine Pollution Bulletin*. 2021: 170: 112661.
52. Lv, L, Lin H, Li Z, Song Y, Lin H, Wang A. Identification of oxidative modification of shrimp (*Metapenaeus ensis*) tropomyosin induced by malonaldehyde. *European Food Research and Technology*. 2014; 239: 847-855.
53. Xia X, Gao Y. tember. Validity of Geochemical Evidence for Abiotic Alkane Gas: A Revisit. In 29th International Meeting on Organic Geochemistry. *European Association of Geoscientists & Engineers*. 2019; 1: 1-2.

Effect of Polystyrene nanoplastic on some of immune responses and antioxidant enzymes in fry Caspian Roach (*Rutilus caspius*)

Fatemeh Savari Katouli¹, Seyedeh Ainaz Shirangi^{1*}, Hossein Adineh², Safoura Abarghooei³

- 1- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences & Engineering, Gonbad Kavous University, Iran.
- 2- Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran.
- 3- Department of Aquatic Ecology, Faculty of Fisheries & Environment, Gorgan University of Agricultural and Natural Resources, Iran.

ABSTRACT

This Study was performed with the aim of adding different concentrations of polystyrene nanoplastics to the fry Caspian Roach (*Rutilus caspius*) food with the average weight of 1.37 ± 0.14 g and the its effect on survival, specific (immunoglobulin and lysozyme), non-specific immune responses (AST, Alt and ALP), some of stress indices and activity of antioxidant parameters (SOD, CAT and MDA) for 30 days. For this reason, 384 roaches were distributed to 4 experimental treatments S0, S1, S2 and S3 (0, 5, 25 and 50 mg nanoplastics/ Kg food, respectively). Based on the obtained results, levels of Glucose, Cortisol and all of three liver enzymes were increased as the concentration of nanoplastic increased, while the maximum level of immunoglobulin and lysozyme activity was observed in control group. The activity of antioxidant enzymes SOD and CAT were declined but MDA content was increased with increasing nanoplastic concentrations. Thus, it is expected that high concentrations of nanoplastics in aquatic environments or fry roaches exposing under nanoplastic particles for long time can lead to serious oxidative damage and weakening of the immune system.

KEYWORDS: Caspian Roach (*Rutilus caspius*), nanoplastic, oxidative stress, immunity, survival

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 22 March 2025

Revised: 20 August 2025

Accepted: 15 September 2025

Online Published: 25 September 2025

* Corresponding Author: Seyedeh Ainaz Shirangi
Email address: ainazshirangi@gmail.com
Tel:
© Published by Tarbiat Modares University
ISSN: 2322-5513