فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال دوازدهم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۳

مقاله پژوهشی

اثر سطوح مختلف شوری بر آنزیم‌های کبدی و نشانگر زیستی مالون دی‌آلدئید در ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

زینب آذربرزین[۱]، مهران لقمانی[۲]*، محمد منصور توتونی[۳]

DOI: 10.22124/japb.2024.26521.1525
تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۴۰۳

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تنش‌های شوری بر فعالیت آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و نشانگر زیستی مالون دی‌آلدئید (MDA) در ماهی کفال خاکستری انجام شد. نمونه‌های ماهی پس از انجام مراحل سازگاری، در تیمارهای ۲۸، ۳۴، ۵۰ گرم در لیتر و تیمار شاهد (۳۶/۵ گرم در لیتر) در سه دوره ۷، ۱۴ و ۲۱ روزه مورد مطالعه قرارگرفتند. نتایج نشان داد که نشانگر زیستی مالون دی‌آلدئید در روزهای ۷ و ۱۴ در تیمار شوری ۵۰ گرم در لیتر بیشترین مقدار را داشت ولی در روز ۲۱ در شوری ۳۴ بالاترین مقدار ثبت شد. آزمون آماری اختلاف معنی داری را بین روزها و تیمارها نشان داد ($P<۰/۰۵$). آلانین آمینوترانسفراز در روز ۷ در شوری ۵۰ گرم در لیتر، روز ۱۴ در تیمار شاهد و در روز ۲۱ در شوری ۲۸ گرم در لیتر بالاترین مقدار را داشت و اختلاف بین داده‌ها معنی‌دار بود. آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در روزهای ۷ و ۲۱ تیمار شاهد و در روز ۷ شوری ۳۴ گرم در لیتر بیشترین مقدار را داشت. تیمار شاهد همواره تفاوت معنی‌داری را با تیمارهای دیگر داشت. آنزیم آلکالین فسفاتاز در روز ۷ در شوری ۳۴ گرم در لیتر، در روز ۱۴ در شوری ۲۸ گرم در لیتر و در روز ۲۱ در شوری ۵۰ گرم در لیتر بالاترین مقدار را داشت و به غیر از شوری ۵۰ گرم در لیتر در تیمارهای دیگر غلظت آنزیم از روز ۷ تا ۲۱ کاهشی و معنی‌دار بود. میان هیچکدام از فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده با شوری همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد. نتیجه کلی نشان داد که در برخی تیمارها به دلیل افزایش شوری، غلظت آنزیم‌ها روند کاهشی داشت که نشان دهنده مهار فعالیت آنزیم‌ها در شوری بالا بود. به علاوه، در برخی دیگر از تیمارها کاهش شوری اثر افزایشی را برای مقابله با استرس و ایجاد سازگاری نشان داد.

واژگان کلیدی: *کفال خاکستری، آنزیم کبدی، خلیج چابهار*، Mugil cephalus.

۱- کارشناس ارشد زیست‌شناسی دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.
۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.
۳- استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.
* نویسنده مسئول: loghmani.mehran@gmail.com

مقدمه

غذاهای دریایی دارای ارزش غذایی بالایی هستند که پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و پپتیدهای با کیفیت بالا را ارائه می‌دهند و بنابراین اثرات مثبتی بر سلامتی دارند. همچنین، منبع غنی از ویتامین‌ها و مواد معدنی هستند. علاوه بر این، ماهی و چربی غذاهای دریایی غنی‌ترین منابع اسیدهای چرب اشباع نشده مانند ایکوزاپنتانوئیک اسید (Eicosapentaenoic Acid: EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (Docosahexaenoic Acid: DHA) هستند (Jinadasa et al., 2021). با افزایش جمعیت جهان، انتظار می‌رود تقاضا برای ماهی و محصولات ماهی افزایش یابد. زیرا، آنها در دسترس‌ترین پروتئین‌های جانوری در مقایسه با دیگر منابع پروتئین جانوری در نظر گرفته می‌شوند (Nasr-Eldahan et al., 2021). طبق مطالعات صورت گرفته، ماهیان در محیط طبیعی خود به استرس حساس هستند که در نتیجه تغییر در عوامل غیرزیستی مانند دما، شوری و آلودگی یا در اثر عوامل زیستی مانند رقابت در غذا و محل زندگی، شکار، مهاجرت و تولیدمثل رخ می‌دهند. در حالی که، در محیط‌های آزمایشگاهی منابع استرس معمولا تحت تاثیر حمل و نقل و فشار ازدحام صورت می‌گیرند. هر عامل استرسی ممکن است سبب ایجاد عدم تعادل فیزیولوژیکی داخلی در ماهی شود که باعث ایجاد اختلالات خونی در آنها می‌شود و به دنبال آن پاسخ فیزیولوژیکی ماهی در برابر عوامل استرس‌زا را در پی دارد (Al-Khashali and Al-Shawi, 2013). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نقش بسیار حساسی را در حفظ هومئوستازی سلول، هنگام ایجاد تنش‌ها دارد (Savari et al., 2010). در این بین، شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مانند آنزیم‌ها می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی برای شناسایی آلودگی‌های محیطی قبل از این که سلامت موجودات آبزی تحت تاثیر جدی قرار گیرد، مورد استفاده قرار گیرند. تمام واکنش‌های شیمیایی در سلول‌ها توسط آنزیم کاتالیز می‌شوند و با ورود مواد شیمیایی خارجی به سلول به طور کلی عملکرد آنزیم مختل می‌شود. فعالیت آنزیمی قبل از بروز اثرات خطرناک در ماهی به عنوان شاخص‌های حساس بیوشیمیایی در نظر گرفته می‌شوند (Mohamed et al., 2019). آمینوترانس‌فرازها از مهم‌ترین آنزیم‌های کبدی هستند که جزء آنزیم‌های شاخص فعالیت کبد به شمار می‌روند و از آنزیم‌های مهم برای بررسی سلامت ماهیان

هستند که شامل آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوتراسفراز می‌شوند. فعالیت آنها بیانگر وضعیت سلامت فیزیولوژیک سلول‌ها است (Rengarz et al., 2016). شاخص مهم دیگری که برای استرس اکسیداتیو و بررسی تنش در ماهی استفاده می‌شود، اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید در خون و بافت‌های مختلف ماهی است. در واقع اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید به عنوان محصول ثانویه و پایدار اکسیداسیون اسیدهای چرب در علوم زیستی و پزشکی و به عنوان نشانگر زیستی پراکسیداسیون لیپیدی کاربرد دارد (Mohabi Moghadam et al., 2015). کفال‌ماهیان (Mugilidae) گونه‌هایی با توزیع گسترده در سراسر جهان در آب‌های ساحلی مناطق استوایی و معتدل هستند (El Ganainy et al., 2014). پژوهشگران نشان داده‌اند که گونه‌های کفال نقش اکولوژیکی حیاتی ایفا می‌کنند و این خانواده از ماهیان دارای منابع غذایی باارزش و همچنین دارای گونه‌های مهم پرورشی هستند (Abd El-Ghaffar et al., 2020). ماهیان کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) عموما دریایی هستند. اما در مناطق آب شیرین و لب‌شور نیز زیست می‌کنند، در عمق ۰ تا ۱۲۰ متر وجود دارند. اما معمولا بیشترین عمق برای زیست آنها ۱۰-۰ متر است. این ماهیان در مناطق گرمسیری، نیمه‌گرمسیری و معتدل (۲۴-۸ درجه سانتی‌گراد) زیست می‌کنند و دارای حداکثر طول ۱۰۰ سانتی‌متر و بیشترین طول آنها ۵۰ سانتی‌متر است (Thomson, 1990). شوری از مهم‌ترین عوامل محیطی موثر بر رشد و نمو و جذب مواد غذایی در ماهی است و یکی از عوامل مهم ایجاد تغییرات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی در ماهیان به شمار می‌رود که باعث ایجاد پاسخ‌های فیزیولوژیکی متفاوت در ماهیان می‌شود. یکی از مهم‌ترین عوامل تطبیق ماهیان برای سازگاری در یک محیط توانایی آنها در غلبه بر تغییرات مختلف شوری توسط تنظیمات اسمزی است (Hamedi et al., 2019). بسیاری از اعمال حیاتی ماهی مانند تخم‌گشایی، جذب کیسه زرده، رشد لاروها و کنترل رشد ماهیان به تغییرات شوری محیط آنها بستگی دارد (Shahriari Moghadam, 2018).

آمینوترانس‌فرازها از مهم‌ترین آنزیم‌های کبدی هستند که جزء آنزیم‌های شاخص فعالیت کبد به شمار می‌روند و از آنزیم‌های مهم برای بررسی سلامت ماهیان هستند که شامل آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوتراسفراز هستند. افزایش سطح آلانین آمینوتراسفراز

و آسپارتات آمینوترانسفراز در هنگام شوک عصبی، هیپوکسی و استرس اتفاق می‌افتد که در آن سطح استاندارد پلاسمایی آنها تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند آلودگی و متغیرهای محیطی دیگر مانند دما و شوری قرار می‌گیرد (Al-Khashali and Al-Shawi, 2013). اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید به عنوان محصول ثانویه و پایدار اکسیداسیون اسیدهای چرب در علوم زیستی و پزشکی و به عنوان نشانگر زیستی پراکسیداسیون لیپیدی کاربرد دارد (Mohabi Moghadam et al., 2015).

هدف از این مطالعه بررسی تغییرات میزان آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و نشانگر زیستی (بیومارکر) مالون دی‌آلدئید در ماهی کفال خاکستری تحت مواجه با شوری‌های مختلف در شرایط آزمایشگاهی بوده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ۵۰ قطعه ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) با میانگین وزنی ۵/۳۴±۷۴/۶۹ گرم از مرکز تحقیقات شیلات چابهار تهیه و سریعا به داخل مخازن ۸۰ لیتری که از قبل هوادهی شده و اکسیژن و شوری آنها برای زنده ماندن ماهی کنترل شده بود، انتقال داده شدند. روی مخازن با استفاده از فویل آلومینیومی پوشانده شد و به محل انجام پژوهش در دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار انتقال داده شدند. قبل از شروع آزمایش به مدت یک هفته ماهی‌ها با شرایط جدید سازگاری داده شدند. سپس نمونه‌های ماهی به داخل وان‌های ۳۰۰ لیتری منتقل شدند. تعداد ۳ قطعه ماهی در مخازن ۸۰ لیتری با سه تکرار در دوره‌های ۷، ۱۴ و ۲۱ روزه تیماربندی شدند. شوری‌های مورد آزمایش شامل ۳۶/۵ (تیمار شاهد)، ۲۸، ۳۴ و ۵۰ گرم در لیتر بود (Hotos and Vlahos, 1998) که اثر آنها بر وضعیت فعالیت آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و نشانگر زیستی مالون دی‌آلدئید (MDA) بررسی شد. غذادهی به صورت روزانه با توجه به درصد وزن بدن محاسبه و در دو نوبت (صبح و عصر) به میزان ۵ درصد وزن بدن انجام شد (Shahraki, 2016).

به منظور آماده کردن سطوح مختلف شوری، ابتدا مقدار شوری برای کل دوره ۲۱ روزه برای هر تیمار محاسبه و سپس مقدار نمک تعیین شده به مخازن حاوی آب فیلتر شده اضافه شد تا به شوری مورد نظر (۲۸، ۳۴ و ۵۰ گرم در لیتر) برسد. برای تهیه شوری‌های پژوهش حاضر

از نمک تصفیه شده ۱۰۰ درصد کریستالیزه (گلستان، ایران) که حاوی پتاسیم فروسیانید (Potassium Ferrocyanide) با پتاسیم حداکثر ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، استفاده شد.

برای تهیه پلاسمای خون ماهی، در پایان دوره آزمایش (روز ۷، ۱۴، ۲۱)، ۳ قطعه ماهی از هر تیمار پس از بیهوشی با پودر گل میخک (۰/۵ گرم در هر لیتر آب) طول و وزن آنها اندازه‌گیری شدند. سپس، از طریق قطع ساقه دمی خونگیری شد. نمونه‌های خون در داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی ماده ضدانعقاد خون (هپارین) جمع‌آوری و به دستگاه سانتریفیوژ (FS616، فاطر الکترونیک ریزپرداز، ایران) انتقال داده شده و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانترفیوژ شدند. سپس محلول رویی با کمک سمپلر ۵۰ میکرولیتری برداشته و داخل میکروتیوب‌های فاقد ماده هپارین در مجاورت یخ جمع‌آوری شد و در نهایت در فریزر (Standard ST-612، دما تجهیز، ایران) در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان سنجش نگهداری شد.

سنجش آنزیم‌های کبدی

سنجش آنزیم‌های کبدی با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر و توسط کیت‌های تشخیصی (طب‌پژوهان رازی، ایران) انجام شد. به این ترتیب که ابتدا نمونه‌ها هموژن شده و داخل تیوب‌های آزمایش قرار داده شدند. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر استاندارد/ نمونه به تیوب مربوطه اضافه شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استاندارد R4 به همه تیوب‌ها اضافه و هموژن شد تا مخلوط شوند و بعد به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس، ۲۰۰ میکرولیتر معرف رنگزای آماده شده به همه تیوب‌ها اضافه شد. درب تیوب‌ها بسته و در یک فوم یا نگهدارنده قرار داده شدند تا در طول جوشیدن بالای آب نگه داشته شوند. تیوب‌ها در آب در حال جوش به مدت یک ساعت قرار داده شدند. بعد از یک ساعت، تیوب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه بر روی یخ قرار داده شدند تا واکنش متوقف شود. سپس، به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. ۲۰۰ میکرولیتر مایع رویی هر میکروتیوب به چاهک‌های مرتبط در میکروپلیت منتقل شد. اگر مایع رویی کدورت داشت، مدتی در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌شد تا شفاف شود. سپس، جذب آنزیم‌ها توسط دستگاه اتوآنالایزر در طول موج ۵۴۰-۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند.

معیارهای کیفی آب

عوامل فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، شوری (با دستگاه شوری‌سنج، CDC401-01، Hach، آمریکا)، pH (pHمتر، pHC101-01، Hach، آمریکا) و اکسیژن محلول (Hach، آمریکا)، به طور روزانه اندازه‌گیری شدند. میانگین دما ۲۶-۲۴ درجه سانتی‌گراد، pH آب ۸-۷ و اکسیژن ۷-۶ میلی‌گرم در لیتر در نظر گرفته شد. برای حفظ اکسیژن در سطح مناسب به هر یک از مخزن‌های ۸۰ لیتری یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود نصب شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از برنامه SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. توزیع نرمال داده‌ها توسط آزمون کولموگروف- اسمیرنف بررسی شد. برای بررسی معنی‌داری تفاوت بین تیمارهای شوری و روزهای در معرض قرارگیری از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<۰/۰۵$) استفاده شد. ارتباط بین شوری با میزان آنزیم‌های کبدی توسط آزمون همبستگی پیرسون بررسی شد. برای بررسی میانگین و انحراف معیار داده‌ها از برنامه Microsoft Excel 2016 استفاده شد.

نتایج

بررسی آنزیم کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز

مقدار آنزیم کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) ماهی کفال خاکستری در تیمارهای روز هفتم در شوری شاهد (۳۶/۵ گرم در لیتر) بیشترین مقدار و در شوری ۲۸ گرم در لیتر کمترین مقدار را داشت (جدول ۱). در روز هفتم مقدار آنزیم AST در شوری شاهد نسبت به شوری ۵۰ گرم در لیتر بیشتر بود. همان طور که از مقادیر میانگین‌ها در جدول ۱ مشخص است، بیشترین مقدار آنزیم AST در روز چهاردهم در شوری ۳۴ گرم در لیتر مشاهده شد و در شوری ۵۰ گرم در لیتر مقدار آن کاهش چشمگیری پیدا کرد. در تغییرات آنزیم در روز بیست و یکم بیشترین مقدار آنزیم در شوری شاهد و کمترین در شوری ۳۴ گرم در لیتر ثبت شد. آزمون آماری اختلاف معنی‌داری را میان تیمارهای شوری و بازه‌های زمانی مختلف نشان داد ($P<۰/۰۵$، جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه تغییرات آنزیم کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در تیمارهای مختلف شوری و در بازه‌های زمانی مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

AST (U/L)	تیمار			
	۳۶/۵g/L (شاهد)	۲۸g/L	۳۴g/L	۵۰g/L
روز هفتم	۱۲۶/۹۲±۹۳/۳۴ ^{Ac}	۲۴/۸۴±۱/۵۸ ^{Aa}	۷۳/۰۰±۴۶/۹۲ ^{Ab}	۶۸/۳۴±۰/۳۸ ^{Ab}
روز چهاردهم	۶۴/۶۳±۴۵/۷۰ ^{Bb}	۱۱۰/۳۷±۸۹/۶۶ ^{Bc}	۲۰۶/۳۲±۳۴/۹۰ ^{Bd}	۳۴/۳۸±۵/۵۵ ^{Ba}
روز بیست و یکم	۱۳۵/۹۳±۰/۱۹ ^{Cd}	۹۲/۱۷±۱۳/۳۰ ^{Cb}	۳۸/۱۸±۳/۷۰ ^{Ca}	۱۰۵/۳۶±۷۳/۶۲ ^{Cc}

در هر ردیف حروف کوچک غیرهمنام اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای شوری و در هر ستون حروف غیرهمنام بزرگ اختلاف معنی‌دار بین روزهای مختلف در هر تیمار را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵).

بررسی همبستگی میان آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و شوری

نتایج مربوط به آزمون همبستگی شوری با آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز نشان داد بین تغییرات شوری در روزهای هفتم، چهاردهم و بیست و یکم با این آنزیم همبستگی معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵؛ جدول ۲).

بررسی تغییرات آنزیم آلانین آمینوترانسفراز

میزان تغییرات آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) ماهی کفال خاکستری در تیمارها نشان داد در روز هفتم کمترین میزان این آنزیم در شوری شاهد و بیشترین در شوری ۵۰ گرم در لیتر و در روز چهاردهم کمترین میزان در شوری ۲۸ گرم در لیتر و بیشترین در شوری شاهد و در روز بیست و یکم کمترین میزان آلانین آمینوترانسفراز در شوری شاهد و بیشترین در شوری ۲۸ گرم در لیتر بود (جدول ۳) که تغییرات مختلفی را در طی بازه‌های زمانی در تیمارهای مختلف نشان داد. آزمون آماری در روز هفتم، فقط در تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را با تیمارهای دیگر نشان داد و در روزهای دیگر همواره میان تمام تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). همچنین در مقایسه بین روزها در هر تیمار نیز اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۳).

بررسی همبستگی میان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز و شوری

نتایج مربوط به آزمون ضریب همبستگی شوری با آنزیم آلانین آمینوترانسفراز نشان داد تغییرات شوری در روز هفتم، چهاردهم و بیست و یکم تاثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵؛ جدول ۴).

جدول ۲: همبستگی بین شوری و آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست و یکم
ضریب همبستگی	۰/۳۸۹	-۰/۰۴۳	۰/۲۳۸
معنی‌داری	۰/۲۱۲	۰/۸۹۴	۰/۴۵۷

جدول ۳: مقایسه تغییرات آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در تیمارهای مختلف شوری و در روزهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

ALT (U/L)	تیمار			
	۳۶/۵g/L (شاهد)	۲۸g/L	۳۴g/L	۵۰g/L
روز هفتم	۲۸/۶۵±۳/۳۵ ^{Aa}	۱۰۳/۸۸±۷۶/۶۵ ^{Ab}	۹۶/۹۳±۴۶/۳۵ ^{Ab}	۱۲۳/۸۶±۸۵/۸ ^{Ab}
روز چهاردهم	۱۳۹/۳۲±۸۷/۵۰ ^{Bc}	۲۵/۴۵±۱/۱۰ ^{Ba}	۳۲/۰۲±۲/۸۰ ^{Ba}	۸۱/۳۶±۱۲/۲۰ ^{Bb}
روز بیست و یکم	۲۵/۷۵±۴/۲۸ ^{Aa}	۹۱/۱±۳۴/۲۳ ^{Cd}	۴۸/۲۶±۰/۵ ^{Cb}	۶۵/۱±۴۹/۳۹ ^{Cc}

در هر ردیف حروف کوچک غیرهمنام اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای شوری و در هر ستون حروف غیرهمنام بزرگ اختلاف معنی‌دار بین روزهای مختلف در هر تیمار را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵).

جدول ۴: همبستگی بین شوری و آنزیم آلانین آمینوترانسفراز ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست و یکم
ضریب همبستگی	۰/۱۲۹	۰/۲۳۰	۰/۰۸۲
معنی‌داری	۰/۶۹۰	۰/۴۷۱	۰/۸۰۱

بررسی تغییرات آنزیم آلکالین فسفاتاز

اندازه‌گیری آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف شوری نشان داد (جدول ۵) که در روز هفتم بیشترین میزان آنزیم در شوری ۳۴ گرم در لیتر و کمترین میزان در تیمار ۵۰ گرم در لیتر بود و در روز چهاردهم این تغییرات به صورت کمترین میزان در شوری ۵۰ گرم در لیتر و بیشترین میزان آنزیم در شوری ۲۸ گرم در لیتر ثبت شد که مانند روز هفتم شوری ۵۰ گرم در لیتر

کمترین مقدار را داشت، در حالی که در روز بیست و یکم آزمایش، کمترین میزان آلکالین فسفاتاز در شوری ۳۴ گرم در لیتر و بیشترین میزان آنزیم در شوری ۵۰ گرم در لیتر مشاهده شد که کاملا با روزهای قبل متفاوت بود و آزمون آماری اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۵).

بررسی همبستگی میان آنزیم آلکالین فسفاتاز و شوری

نتایج مربوط به آزمون ضریب همبستگی شوری با آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) نشان داد تغییرات شوری در روز هفتم، چهاردهم و بیست و یکم تاثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵؛ جدول ۶).

جدول ۵: مقایسه تغییرات آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در تیمارهای مختلف شوری و در روزهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

ALP (U/L)	تیمار			
	۳۶/۵g/L (شاهد)	۲۸g/L	۳۴g/L	۵۰g/L
روز هفتم	۸۵/۴۳±۱۸/۳۱ ^{Aa}	۱۳۳/۲۳±۴۲/۲۵ ^{Ab}	۱۳۵/۵۳±۴۳/۸۵ ^{Ab}	۸۲/۸۶ ±۱۰/۴۵ ^{Aa}
روز چهاردهم	۱۲۰/۰۰±۵۴/۵۶ ^{Bc}	۱۲۸/۶۰±۵۴/۰۶ ^{Ad}	۱۰۱/۳۵±۲۷/۷۸ ^{Bb}	۸۴/۲۶±۵۷/۰۱ ^{Aa}
روز بیست و یکم	۳۷/۸۹±۱۱/۳۱ ^{Ca}	۸۸/۷۰±۵۷/۳۰ ^{Bb}	۳۷/۶۳±۴۲/۷۰ ^{Ca}	۱۰۱/۶۶±۶۰/۸۷ ^{Bc}

در هر ردیف حروف کوچک غیرهمنام اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای شوری و در هر ستون حروف غیرهمنام بزرگ اختلاف معنی‌دار بین روزهای مختلف در هر تیمار را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵).

جدول ۶: همبستگی بین شوری و آنزیم آلکالین فسفاتاز ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست و یکم
ضریب همبستگی	۰/۵۲۳	۰/۲۲۶	۰/۲۳۹
معنی‌داری	۰/۰۸۱	۰/۴۸۰	۰/۴۵۴

بررسی تغییرات نشانگر زیستی مالون دی‌آلدئید

بر اساس نتایج سنجش این شاخص در جدول ۷، در روز هفتم بالاترین میزان نشانگر زیستی مالون دی‌آلدئید (MDA) در بین تیمارهای شوری ۶/۶۰±۹/۹۵ واحد در لیتر بود که در تیمار ۵۰ گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. در روز چهاردهم نیز بالاترین مقدار مالون دی‌آلدئید (۱/۳۳±۶/۵۲ واحد در لیتر) در تیمار ۵۰ گرم در لیتر مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار آن در شوری ۳۴ گرم در لیتر بود. در روز بیست و یکم بالاترین مقدار مالون دی‌آلدئید با میانگین ۰/۸۲±۶/۴۸، واحد در لیتر در تیمار ۳۴ گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. آزمون آماری اختلاف معنی‌داری را میان شوری‌ها و بازه‌های زمانی مختلف نشان داد (P<۰/۰۵؛ جدول ۷).

بررسی همبستگی نشانگر زیستی مالون دی‌آلدئید با شوری

نتایج مربوط به آزمون ضریب همبستگی شوری با نشانگر زیستی مالون دی‌آلدئید نشان داد تغییرات شوری در روز هفتم، چهاردهم و بیست و یکم تاثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵؛ جدول ۸).

جدول ۷: مقایسه تغییرات نشانگر زیستی مالون دی‌آلدئید (MDA) ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در تیمارهای مختلف شوری و در روزهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

MDA (U/L)	تیمار			
	۳۶/۵g/L (شاهد)	۲۸g/L	۳۴g/L	۵۰g/L
روز هفتم	۴/۳۹±۳/۰۷ ^{Aa}	۴/۴۲±۳/۰۰ ^{Aa}	۶/۲۶±۰/۶۷ ^{Ab}	۹/۹۵±۶/۶۰ ^{Ac}
روز چهاردهم	۶/۵۲±۱/۳۳ ^{Bb}	۶/۵۰±۰/۹۹ ^{Bb}	۴/۳۵±۱/۳۴ ^{Ba}	۷/۰۰±۰/۴۰ ^{Bb}
روز بیست و یکم	۵/۱۰±۰/۷۲ ^{Cb}	۳/۸۰±۳/۵۱ ^{Ca}	۶/۴۸±۰/۸۲ ^{Ac}	۶/۰۶±۱/۳۰ ^{Cc}

در هر ردیف حروف کوچک غیرهمنام اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای شوری و در هر ستون حروف غیرهمنام بزرگ اختلاف معنی‌دار بین روزهای مختلف در هر تیمار را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵).

جدول ۸: همبستگی بین شوری و مالون دی‌آلدئید ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست و یکم
ضریب همبستگی	۰/۵۲۲	۰/۲۱۶	۰/۲۰۶
معنی‌داری	۰/۰۸۲	۰/۵۰۰	۰/۵۲۲

بحث

تغییرات در شوری آب می‌تواند باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن‌دار و منجر به استرس اکسیداتیو در موجودات آبزی شود، اطلاعات در مورد اثرات شوری آب بر پاسخ‌های استرس اکسیداتیو ماهی محدود است و مطالعات قبلی یافته‌های متناقضی را در مورد اثرات شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های مختلف ماهی نشان داده است (Mozanzadeh et al., 2021).

در مطالعه Mozanzadeh و همکاران (۲۰۲۱)، افزایش شوری متوسط تا ۳۴ گرم در لیتر در ماهیان شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) و باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) باعث استرس اکسیداتیو شده که سبب افزایش آنزیم‌های کبدی، گلوکز پلاسما و سطوح لاکتات در گونه‌های ماهی مورد مطالعه شد. در مطالعه حاضر در پایان دوره زمانی نیز افزایش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی و نشانگر مالون دی‌آلدئید شد. اما در این مطالعه، شوری بسیار بالا و ۵۰ گرم در لیتر سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی و نشانگر مالون دی‌آلدئید شد. نتایج Sui و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در خون ماهی پاروت (*Cichlasoma synspilum*) با افزایش شوری آب افزایش یافت. اما، فعالیت آن پس از ۱۶۸ ساعت دوره سازگاری کاهش یافت. علاوه بر این، نتایج Kim و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که کاهش شوری آب به طور قابل توجهی باعث کاهش فعالیت SOD در شبدیز ماهی (*Anoplopoma fimbria*) شد و نتایج Ma و همکاران (۲۰۱۶) نشان دهنده کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در پرستو ماهی *Trachinotus ovatus* در اثر کاهش شوری آب بود. در مقابل Martinez-Alvarez و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند که فعالیت‌های SOD و CAT به طور واضح در کبد ماهیان خاویاری آدریاتیک (*Acipenser naccarii*) با افزایش شوری کاهش یافت. علاوه بر این، نتایج Mozanzadeh و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که فعالیت کاتالاز در کبد ماهی شانک زردباله با افزایش شوری کاهش یافت. مطابق با این نتایج، Tian و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند که فعالیت کاتالاز در کبد ماهی *Nibea albiflora* با افزایش شوری بیش از ۶ گرم در لیتر کاهش یافت، اما فعالیت SOD در کبد تحت تاثیر شوری قرار نگرفت. این یافته‌ها در کنار نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که پاسخ استرس

اکسیداتیو ماهی به تنش‌های شوری برای گونه‌های مختلف متفاوت است و از طرفی ممکن است این پاسخ‌ها تحت تاثیر مقدار شوری، مرحله رشد گونه و حتی دوره سازگاری ماهی قرار گیرد.

فعالیت آنزیم‌های کبدی به عنوان نشانگرهای زیستی حساس در پاسخ به استرس، آلاینده‌های آب و بیماری‌ها در نظر گرفته می‌شوند و می‌توانند وضعیت سلامت ماهی را منعکس کنند. آلکالین فسفاتاز (ALP) یک آنزیم گلیکوپروتئینی با واسطه غشای سیتوپلاسمی است و به عنوان یک نشانگر زیستی ارزشمند برای ارزیابی یکپارچگی غشای پلاسمایی و شبکه آندوپلاسمی در نظر گرفته می‌شود. آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز آنزیم‌های حیاتی در انتقال اسیدهای آمینه L برای گلوکونئوژنز و میانجی بین متابولیسم کربوهیدرات و پروتئین هستند (Mozanzadeh et al., 2021). در مطالعه حاضر افزایش شوری و افزایش مدت زمان ماندگاری در شوری‌های بالا نسبت به شوری شاهد سبب افزایش نشانگر مالون دی‌آلدئید شد. میزان آلکالین فسفاتاز در روز هفتم و چهاردهم در اثر افزایش شوری کاهش یافت و بیشترین میزان آن در شوری ۲۸ گرم در لیتر نسبت به شوری شاهد بود. اما در روز بیست و یکم میزان آن ابتدا نسبت به شوری شاهد به ترتیب در تیمارهای ۲۸، ۳۴ و ۵۰ گرم در لیتر افزایش، سپس کاهش و دوباره افزایش پیدا کرد. آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در روز هفتم و بیست و یکم به ترتیب در تیمارهای ۲۸، ۳۴ و ۵۰ گرم در لیتر ابتدا نسبت به شوری شاهد افزایش، سپس کاهش و سپس افزایش یافت و در روز چهاردهم با افزایش شوری افزایش پیدا کرده بود. اما، میزان آن در هر سه تیمار نسبت به شوری شاهد کمتر بود. در مطالعه Mozanzadeh و همکاران (۲۰۲۱) فعالیت ALT، AST و ALP در کبد شانک زردباله با افزایش شوری افزایش یافت که نشان می‌دهد شوری بالا می‌تواند شرایط استرس را در این گونه ایجاد کند. اما در مورد باس دریایی آسیایی، فعالیت آنزیم ALT تا ۲۴ گرم در لیتر افزایش یافته و سپس به تدریج کاهش یافت. از این نظر، Tian و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که فعالیت ALP در کبد *Nibea albiflora* با افزایش شوری از ۶ به ۳۰ گرم در لیتر افزایش و سپس در ۴۲ گرم در لیتر به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. Fazio و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که مقادیر AST و ALT در کبد کفال خاکستری با افزایش سطوح شوری افزایش یافت که علت آن را نفوذپذیری

بالای سلول‌های پاتوسیت و نشت سلولی بیان کردند. علاوه بر این، Vargas-Chacoff و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که افزایش شوری از ۵ به ۵۵ گرم در لیتر به طور قابل توجهی ALT را در کبد ماهی سیم دریایی سرطلایی (*Sparus aurata*) افزایش داد. آنها بیان کردند که فعالیت AST در کبد از ۵ به ۳۵ گرم در لیتر افزایش و سپس کاهش یافت که نشان می‌دهد فعالیت این آنزیم‌ها نه‌تنها به شوری، بلکه به عوامل محیطی دیگر و وضعیت سلامت ماهی نیز بستگی دارند (Vargas-Chacoff et al., 2009). نتایج مطالعه Agha Mohammadpour و همکاران (۲۰۱۸) بر گونه ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) نشان داد که تاثیر تغییرات شوری در گونه‌های مختلف و حتی یک گونه بستگی به نیازهای زیستی مراحل مختلف زندگی آنها دارد که در هر مرحله متفاوت است و همچنین، بیان کردند که شوری عاملی بیرونی است که تاثیر مستقیمی بر رشد ماهی دارد. Shahriari Moghadam و همکاران (۲۰۱۸) طی یک بررسی در رابطه با تغییرات آنزیم‌های AST و ALT تحت تاثیر شوری‌های مختلف در بچه ماهیان هامون (*Schizothorax zarudnyi*) بیان کردند که مناسب‌ترین شوری برای پرورش گونه مورد مطالعه ۱۰ گرم در لیتر است. آنها بیان کردند که بررسی میزان آنزیم‌های ALP و AST مهم‌ترین شاخص‌های آنزیمی برای بررسی میزان استرس هستند. آنها همچنین بیان کردند که با افزایش میزان استرس غلظت آنزیم‌های ALP و AST در خون افزایش می‌یابد (Shahriari Moghadam et al., 2018). مطالعه صورت گرفته توسط Rengarz و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که افزایش شوری سبب افزایش میزان آنزیم‌های AST و ALT شده است.

پاسخ ایمنی ماهی‌هایی که در معرض محیط‌های مختلف شوری قرار می‌گیرند ممکن است وضعیت سلامت ماهی را منعکس کند که از دیدگاه آبزی‌پروری مهم است. آنزیم‌ها به طور مستقیم در حذف گونه‌های فعال اکسیژن شرکت می‌کنند و نقش کلیدی در روند سازگاری با شوری دارند (Tian et al., 2020). Rengarz و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند عواملی مانند جنسیت و آلودگی‌های فیزیکی و شیمیایی بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی تاثیر دارند. نتایج Jun و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که شوری (۰-۱۸ گرم در لیتر) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین رشد ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*)

تاثیر نمی‌گذارد که نشان‌دهنده مقاومت بالای ماهی تیلاپیا در برابر افزایش شوری است. اگرچه ماهی تیلاپیا می‌تواند مقاومت بالایی در برابر شوری محیط داشته باشد، اما هنوز هم علایم استرس اکسیداتیو را در شوری بالاتر از ۲۱ گرم در لیتر نشان می‌دهد (Canli, 2021) که با مطالعه حاضر در مورد ماهی کفال خاکستری نیز همخوانی دارد.

تاثیر تغییرات شوری بر فعالیت‌های آنزیمی گوارشی در آزمایش Nguyen و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌ها می‌شود و همچنین ممکن است در صورت تجاوز از دامنه شوری مناسب سبب مهار فعالیت‌های آنزیمی شود که در مطالعه حاضر نیز افزایش شوری در بازه‌های زمانی مختلف سبب افزایش و سبب مهار میزان آنزیم‌ها شد. علاوه بر این، شوری ممکن است به حفظ هومئوستازی مربوط باشد که نیاز به مصرف غذای بیشتر و سپس افزایش فعالیت آنزیمی دارد (Nguyen et al., 2021).

در مطالعه Liu و همکاران (۲۰۱۷)، افزایش فعالیت ویژه ALP زمانی که بچه ماهی در شوری‌های مختلف (۱۴، ۲۱، ۲۸ گرم در لیتر) پرورش داده شد، مشاهده شد. در حالی که بیشترین مقدار در گروه شوری ۲۱ گرم در لیتر مشاهده شد. با توجه به نتایج Liu و همکاران (۲۰۱۷) به نظر می‌رسد سازگاری مناسب با شوری تاثیر مفیدی بر پاسخ ایمنی دارد و می‌تواند ظرفیت ایمنی بالاتری را در ماهی‌های پرورش‌یافته بین ۱۴ تا ۲۱ گرم در لیتر ایجاد کند. آنزیم‌ها در مقابله با استرس اکسیداتیو و عوامل محیطی مهم هستند و نقش مهمی را در سیستم دفاعی ایمنی ماهی ایفا می‌کنند. نتایج Liu و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که فعالیت ویژه آنزیم SOD و CAT زمانی که ماهی در شوری ۱۴ و ۲۱ گرم در لیتر به مدت ۶۰ روز پرورش داده شد، حفظ شد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر ممکن است به فعالیت متابولیک شدیدتر مربوط شود. Al-Khashali و Al-Shawi (۲۰۱۳) نیز بیان کردند که تغییرات غلظت دو آنزیم ALT و AST پلاسما یک شاخص آشکار برای مواجهه با تنش شوری در ماهی هستند. آنها بیان کردند هنگامی که ماهی با تخریب بافت کبد مواجه می‌شود، غلظت ALT و AST به دلیل نقش آنها در جبران اولیه اسیدهای آمینه که بدن به آنها نیاز دارد، افزایش می‌یابد (Al-Khashali and Al-Shawi, 2013). Vijayan و همکاران (۱۹۹۶) بیان کردند انتقال ماهی تیلاپیا از آب شیرین به آب دریا به مدت دو هفته منجر به افزایش قابل

توجهی در فعالیت‌های AST و ALT در کبد می‌شود که دلیل آن افزایش تخریب پروتئین کبد است که نیاز به انرژی دارد. Park و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سطوح AST و ALT پلاسما پس از قرار گرفتن دلقک‌ماهی (*Amphiprion melanopus*) در شوری ۱۷/۵ گرم در لیتر به طور قابل توجهی افزایش یافت که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. آنها بیان کردند که شرایط هیپواسموتیک و دمای پایین باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در دلقک ماهی می‌شود (Park et al., 2011).

در مجموع، موجودات دریایی، از جمله ماهی، استرس اکسیداتیو را به دلیل تغییرات در شوری آب تجربه می‌کنند. مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهی کفال خاکستری برای کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از استرس اسمزی افزایش یافت. با توجه به بررسی فعالیت آنزیم‌های کبدی و آنتی‌اکسیدانی به نظر می‌رسد که سطح موثر شوری برای پرورش ماهی کفال خاکستری، ۳۴ گرم در لیتر است. می‌توان بیان کرد که یک تغییر ناگهانی در محیط باعث ایجاد استرس درون بدنی و در نتیجه کاهش عملکرد ایمنی ماهی می‌شود.

منابع

Abd El-Ghaffar H.M., Zaki E. and Makkey A. 2020. Effect of age on growth of keeled mullet fish *Liza carinata* (Valenciennes, 1836) in different environmental conditions (wild and Lab.). Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, 24(7): 863–877. doi: 10.21608/ejabf.2020.129415

Agha Mohammadpour P., Maboudi H. and Javadzadeh N. 2018. Effect of salinity stress on the growth rate, hematological parameters and survival of *Arabibarbus grypus* fry (In Persian). Journal of Animal Physiology and Development, 12(2): 13–27.

Al-Khashali M.S. and Al-Shawi S.A.S. 2013. Effect of salt stress on ALT and AST enzymes activity and cortisol level in adults of *Carassius auratus*. Pakistan Journal of Nutrition, 12(1): 97–100. doi: 10.3923/pjn.2013.97.100

Canli E.G. 2021. Individual and combined effects of salinity and nanoparticles (Al_2O_3, TiO_2) on the activity of antioxidant enzymes in freshwater fish (*Oreochromis niloticus*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 21(8): 415–424. doi: 10.4194/1303-2712-v21_8_05

El-Ganainy A., El-Rahman A., Rizkalla W., Abo-Mesalem M. and El-Shabaka H. 2014. Age, growth and reproductive biology of the keeled mullet *Liza carinata* from the Suez Bay, Red Sea, Egypt. Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, 18(4): 1–8. doi: 10.21608/ejabf.2014.2224

Fazio F., Marafioti S., Arfuso F., Piccione G. and Faggio C. 2013. Influence of different salinity on haematological and biochemical parameters of the widely cultured mullet, *Mugil cephalus*. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 46(4): 211–218. doi: 10.1080/10236244.2013.817728

Hamedi S., Rahimi R., Nafisi Bahabadi M., Azodi M. and Mirahmadi S.A. 2019. Study of some liver enzymes changes (*Lates calcarifer*) at different levels of water salinity. Journal of Animal Physiology and Development, 12(47): 61–74.

Hotos G.N. and Vlahos N. 1998. salinity tolerance of *Mugil cephalus* and *Chelon labrosus* (Pisces, Mugilidae) fry in experimental conditions. Aquaculture, 167(3-4): 329–338. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00314-7

Jinadasa B.K.K.K., Jayasinghe G.D.T.M., Pohl P. and Fowler S.W. 2021. Mitigating the impact of mercury contaminants in fish and other seafood- A review. Marine Pollution Bulletin, 171: 1–

8 (112710). doi: 10.1016/j.marpolbul. 2021.112710

Jun Q., Xu P., Wang H., Li R. and Wang H. 2012. Combined effect of temperature, salinity, and density on the growth and feed utilization of Nile tilapia juveniles (O*reochromis niloticus*). Aquaculture Research, 43(9): 1344–1356. doi: 10.1111/j.13652109. 2011.02938.x

Kim J.H., Park H.J., Kim K.W., Hwang I.K., Kim D.H., Oh C.W. and Kang J.C. 2017. Growth performance, oxidative stress, and non-specific immune responses in juvenile sablefish, *Anoplopoma fimbria*, by changes of water temperature and salinity. Fish Physiology and Biochemistry, 43(5): 1421–1431. doi: 10.1007/s10 695-017-0382-z

Liu Z.F., Gao X.Q., Yu J.X., Qian X.M., Xue G.P., Zhang Q.Y. and Hong L. 2017. Effects of different salinities on growth performance, survival, digestive enzyme activity, immune response, and muscle fatty acid composition in juvenile American shad (*Alosa sapidissima*). Fish Physiology and Biochemistry, 43(3): 761–773. doi: 10.1007/s10695-016-0330-3

Ma Z., Zheng P., Guo H., Jiang S., Qin J.G., Zhang D. and Liu X. 2016. Salinity regulates antioxidant enzyme and Na^+ K^+-ATPase activities of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus* (Linnaeus 1758). Aquaculture Research, 47(5): 1481–1487. doi: 10.1111/are.12606

Martinez-Alvarez R.M., Hidalgo M.C., Domezain A., Morales A.E., Garcia-Gallego M. and Sanz A. 2002. Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity. Journal of Experimental Biology, 205(23): 3699–3706. doi: 10.1242/jeb.205.23. 3699

Mohabi Moghadam M., Ghashani H. and Shahsuni D. 2015. The effect of beta-carotene dietary supplement on some biomarkers of oxidative status in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues (In Persian). Aquaculture Development, 10(4): 103–110.

Mohamed A.S., Gad N.S. and El Desoky M.A. 2019. Liver enzyme activity of *Tilapia zillii* and *Mugil capito* collected seasonally from Qarun Lake, Egypt. Fisheries and Aquaculture Journal, 10(1): 1–5.

Mozanzadeh M.T., Safari O., Oosooli R., Mehrjooyan S., Najafabadi M.Z., Hoseini S.J. and Monem J. 2021. The effect of salinity on growth performance, digestive and antioxidant enzymes, humoral immunity and stress indices in two euryhaline fish species: Yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) and Asian seabass (*Lates calcarifer*). Aquaculture, 534: 1–10 (736329).

doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.736329

Nasr-Eldahan S., Nabil-Adam A., Shreadah M.A., Maher A.M. and Ali T.E.S. 2021. A review article on nanotechnology in aquaculture sustainability as a novel tool in fish disease control. Aquaculture International, 29: 1459–1480. doi: 10.1007/s10499-021-00677-7

Nguyen T.K.H., Nguyen T.E., Nguyen M.N., Yasuaki T., Nguyen T.P. and Do T.T.H. 2021. Effects of salinity on growth performance, survival rate, digestive enzyme activities and physiological parameters of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) at larval stage. Can Tho University Journal of Science, 13: 1–9. doi: 10.22144/ctu.jen.2021.011

Park M.S., Shin H.S., Choi C.Y., Kim N.N., Park D.W. Kil G.S. and Lee J. 2011. Effect of hypoosmotic and thermal stress on gene expression and the activity of antioxidant enzymes in the cinnamon clownfish (*Amphiprion melanopus*). Animal Cells and Systems, 15: 219–225. doi: 10.1080/19768354.2011.604941

Rangarz M., Jafaryan H., Golzarianpour K. and Aghilinjad S.M. 2016. Seasonal comparative of blood factors in farmed beluga (*Huso huso*) in pen culture. Aquatic Animals Nutrition, 3(1): 13–24. doi: 10.22124/janb.2017.3152

Savari A., Hedayati A., Safahieh A. and Movahedinia A. 2010. Determination of some enzymatic indices of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*) in Mahshahr Creeks (North West of Persian Gulf). World Journal of Fish and Marine Sciences, 2(6): 475–480.

Shahraki N. 2016. Effect of *Padina astraulis* Hauck extract on growth, carcass chemical composition, fatty acids and some of liver parameters in grey mullet (*Mugil cephalus* Linnaeus, 1758) larvae (In Persian). M.Sc. Thesis, Chabahar Maritime University, Iran. 60P.

Shahriari Moghadam M., Ahmadifar A., Sheikh Asadi M., Ebrahimi Jarjani H. and Fadaei R. 2018. Effects of salinity on the survival, growth, hematological and histological parameters of the gills of *Schizothorax zarudnyi* (In Persian). Scientific Journal of Applied Fisheries Research, 6(2): 103–118.

Sui Y., Huang X., Kong H., Lu W. and Wang Y. 2016. Physiological responses to salinity increase in blood parrotfish (*Cichlasoma synspilum*♀ × *Cichlasoma citrinellum*♂). Springer Plus, 5(1): 1–12. doi: 10.1186/s40064-016-2930-x

Thomson J.M. 1990. Mugilidae. P: 855–859. In: Quero J.C., Hureau J.C., Karrer C., Post A. and

Saldanha L. (Eds.). Check-list of the Fishes of the Eastern Tropical Atlantic, Vol. 2. UNESCO, France.

Tian L., Tan P., Yang L., Zhu W. and Xu D. 2020. Effects of salinity on the growth, plasma ion concentrations, osmoregulation, non-specific immunity, and intestinal microbiota of the yellow drum (*Nibea albiflora*). Aquaculture, 528: 1–10 (735470). doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735470

Vargas-Chacoff L., Arjona F.J., Polakof S., Del Rio M.P.M., Soengas J.L. and Mancera J.M. 2009. Interactive effects of environmental salinity and temperature on metabolic responses of gilthead sea bream *Sparus aurata*. Comparative Biochemistry and Physiology (A), 154(3): 417–424. doi: 10.1016/j.cbpa.2009.07.015

Vijayan M.M., Morgan J.D., Sakamoto T., Grau E.G. and Iwama G.K. 1996. Food deprivation affects seawater acclimation in tilapia: Hormonal and metabolic changes. Journal of Experimental Biology, 199(1), 2467–2475. doi: 10.1242/jeb.199.11.2467

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 12, No. 3, Autumn 2024

Research Paper

The effect of salinity changes on the liver enzyme activity and malondialdehyde biomarker in gray mullet (*Mugil cephalus*)

Zeinab Azarbarzin[1], Mehran Loghmani[2]*, Mohammad Mansour Tootooni[3]

DOI: 10.22124/japb.2024.26521.1525
Received: January 2024 Accepted: May 2024

Abstract

The present study was conducted with the aim of investigating the effect of salinity changes on the activity of liver enzymes alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and the biomarker malondialdehyde (MDA) in gray mullet. Fish samples, after acclimatization, were studied in treatments of 28, 34, 50g/L and control (36.5g/L) in three periods of 7, 14 and 21 days. Results showed that malondialdehyde biomarker was the highest on the 7th and 14th days in 50g/L salinity treatment, but the highest value was recorded on the 21st day in 34g/L salinity. The statistical test showed a significant difference between days and treatments ($P<0.05$). Alanine aminotransferase had the highest value on the 7th day at 50g/L salinity, 14th day at the control and 21st day at 28g/L salinity, and the difference between the data was significant. Aspartate aminotransferase enzyme had the highest amount on the 7th and 21st days of the control treatment and on the seventh day of 34g/L salinity. The control treatment had always a significant difference with other treatments. Alkaline phosphatase enzyme had the highest value on the 7th day at 34g/L salinity, 14th day at 28g/L salinity and 21st day at 50g/L salinity, and except for 50g/L salinity, the concentration of the enzyme decreased significantly from day 7 to 21 in other treatments. No significant correlation was observed between any of the measured parameters and salinity. The general result showed that in most of the treatments, due to the increase in salinity, the concentration of enzymes had a decreasing trend, which indicated the inhibition of enzyme activity in high salinity. In addition, reducing salinity showed an increasing effect to deal with stress and create adaptation.

Key words: *Gray Mullet, Liver Enzyme, Chabahar Bay*, Mugil cephalus.

1- M.Sc. in Marine Biology, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.
2- Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

*Corresponding Author: loghmani.mehran@gmail.com