مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۷، شماره ۳، ۱۴۰۱، ۱۷۵-۱۶۷
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: 2251-6190
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی

مطالعه تغییرات آنتی‌اکسیدانی و آنزیمی میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) طی مواجهه با نیترات نقره

عبدالرزاق سیاهویی[۱]، سراج بیتا[۲]، جواد قاسم‌زاده[۲]

[۱] دانش آموخته دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
[۲] گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: ۱۵ تیر ماه ۱۴۰۱، **تاریخ پذیرش:** ۲ مهر ماه ۱۴۰۱

10.22059/jvr.2022.345530.3281 20.1001.1.20082525.1401.77.3.4.3

چکیده

زمینهٔ مطالعه: یکی از علت‌های مهم آسیب بافتی در آبزیان در اثر مواجهه با فلزات سنگین تنش اکسیداتیو است که سبب تغییرات سامانه آنتی‌اکسیدانی و آنزیمی می‌شود و با توجه به این‌که مطالعات در زمینه تأثیر سمیت تحت حاد نیترات نقره در میگو چندان توسعه نیافته است، مطالعه حاضر می‌تواند در تدوین استانداردهای بین‌المللی آلودگی میگو به نیترات نقره کمک کند.

هدف: مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات سمی نیترات نقره بر تغییرات سامانه آنتی‌اکسیدانی و آنزیمی بافت هپاتوپانکراس، عضله و آبشش میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) انجام شد.

روش‌کار: پس از تهیه و سازش‌پذیری، میگوها به مدت ۲۱ روز در معرض نیترات نقره با غلظت‌های ۰/۰۰۸۴، ۰/۰۲۱، ۰/۰۴۲ و ۰/۰۶۳ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند و پایان دوره آزمایش نمونه‌برداری از بافت آبشش، عضله و هپاتوپانکراس انجام شد و تغییرات سامانه آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST) و آنزیم‌های متابولیکی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) بررسی شدند.

نتایج: فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون اس-ترانسفراز آبشش و عضله تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت ($P>0/05$)، اما فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری افزایش و در هپاتوپانکراس کاهش یافت ($P<0/05$). در هپاتوپانکراس در تیمار ۳ و ۴ گلوتاتیون اس-ترانسفراز افزایش معنی‌دار ($P<0/05$) و سوپراکسید دیسموتاز فاقد اختلاف معنی‌دار با بقیه تیمارها بوده است ($P>0/05$). آنزیم‌های متابولیکی عضله اختلاف معنی‌داری در هیچ کدام از تیمارها نشان ندادند ($P>0/05$)، اما در آبشش میزان ALT در تیمار ۴ کاهش معنی‌دار و میزان AST و LDH در تیمار ۳ و ۴ افزایش معنی‌داری داشته است ($P<0/05$). در هپاتوپانکراس فعالیت آنزیم ALT در تیمار ۲ و ۴، AST در تیمار ۳ و ۴ و آنزیم ALP به جز در تیمار ۱ در بقیه تیمارها کاهش معنی‌دار و LDH در تیمار ۳ و ۴ افزایش معنی‌داری داشت ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری نهایی: افزایش معنی‌دار گلوتاتیون اس- ترانسفراز و LDH و کاهش معنی‌دار گلوتاتیون پراکسیداز و آنزیم‌های ALT، AST و ALP هپاتوپانکراس نشان داد که سامانه آنتی‌اکسیدانی و آنزیمی میگوی پا سفید غربی با افزایش غلظت نیترات نقره در هپاتوپانکراس نسبت به آبشش و عضله بیشتر دچار اختلال شده است.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدانی، آنزیم، سمیت، میگو، نیترات نقره

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: سراج بیتا، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

مقدمه

امروزه ورود مداوم آلاینده‌های مختلف به بوم‌سازگان‌های آبی و پتانسیل آن برای تأثیرگذاری بر سلامت ارگانیسم‌ها و اکوسیستم‌ها، به یک موضوع مهم زیست محیطی در سراسر جهان تبدیل شده است (۱). بیشتر سخت پوستان به مواد شیمیایی مضر یا عوامل استرس‌زای محیطی مانند فلزات کمیاب و آلاینده‌های آلی بسیار حساس هستند (۲) و مواجهه آبزیان به‌ویژه میگو با آلاینده‌های محیطی همچون فلزات سنگین مانند فلز نقره با تولید رادیکال‌های آزاد و تغییر در سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی سبب استرس اکسیداتیو و ایجاد تغییراتی در سطح DNA، پروتئین‌ها و آنزیم‌های متابولیکی می‌شود، زیرا سامانه دفاعی آنتی اکسیدانی در سخت پوستان با شناسایی سطح mRNA ژن‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو مانند پروتئین‌های شوک حرارتی، متالوتیونین‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشخص شده است (۳). شاخص‌های رایج استرس اکسیداتیو آنزیم‌های موجود در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی هستند که از طریق حذف رادیکال‌های آزاد و محافظت از ارگانیسم تحت استرس، از جمله سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون اس-ترانسفراز و غیره نقش کلیدی در سم‌زدایی دارند (۴). نیترات نقره یکی از مهم‌ترین ترکیبات فلز نقره است که به دلیل کاربردهای گسترده آن در صنایع مختلف، از طریق رهاسازی در محیط آب وارد بدن آبزیان شده و سبب اختلالات داخلی شامل مهار فعالیت تنظیم کلر و سدیم در آبشش، متابولیک اسیدوز و اختلال در سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۵). آبزی پروری تقریباً نیمی از غذاهای دریایی مصرفی انسان را تولید می‌کند و در حال تبدیل شدن به یکی از سریع‌ترین بخش‌های تولید مواد غذایی در جهان است (۶) اما همزمان با رشد این صنعت، نگرانی‌ها در مورد اثرات ورود فلزات سنگین به منابع آبی و تأثیر آن بر آبزیان پرورشی افزایش یافته است. میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) یکی از گونه‌های مهم در صنعت آبزی پروری در جهان بوده و در حال حاضر با تولید سالیانه ۴/۴ میلیون تن، ۸۰ درصد از کل تولیدات میگوی پرورشی را شامل می‌شود (۷)، بنابراین درک مکانیسم‌های سمیت فلزات سنگین برای آبزیان پرورشی به عنوان غذای انسان ضروری است. از طرفی دیگر موجودات کفزی از قبیل میگوها می‌توانند آلاینده‌های فلزی را از طریق آب، بلع رسوبات و مواد غذایی وارد بدن کنند که ممکن است در اندام‌های مختلف مانند کلیه، روده، عضله، گنادها، کبد، هپاتوپانکراس و دستگاه گوارش تأثیر بگذارند. هپاتوپانکراس به دلیل عملکرد مهم آن اندامی است که در مطالعه تغییرات بیوشیمیایی سخت‌پوستان در مواجهه با آلاینده‌ها مورد توجه قرار گرفته است، همچنین آبشش‌ها نیز به دلیل سطح بزرگ و اپیتلیوم نازک نسبت به سایر اندام‌ها در برابر جذب سموم آسیب پذیرتر هستند (۸،۹)، بنابراین مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات سمی نیترات نقره بر تغییرات سامانه آنتی‌اکسیدانی و آنزیمی بافت هپاتوپانکراس، عضله و آبشش میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) انجام شد.

مواد و روش کار

تأمین لارو میگوی پاسفید غربی و سازش‌پذیری: به منظور انجام مطالعه حاضر ۵۰۰ قطعه لارو میگوی وانامی (*Litopeneaus vannami*) با میانگین وزنی ۰/۴۵±۳/۲۸ گرم (انحراف معیار ± وزن) تهیه شد. میگوها برای سازگاری با شرایط جدید به مدت دو هفته در مخازن پلاستیکی ۷۰ لیتری نگهداری شدند. در طول دوره سازش‌پذیری غذادهی به میزان ۳ درصد وزن بدن و سه بار در روز با استفاده از غذای هوواراش آغازی، ۲۰۰۱ و ۲۰۰۲ در ساعات ۸:۰۰، ۱۳:۰۰ و ۱۷:۰۰ انجام شد. هوادهی در مخازن برای تأمین اکسیژن مورد نیاز میگوها به‌صورت ملایم و مداوم انجام شد. درصد تعویض آب روزانه ۱۵ درصد بود (۱۰).

تثبیت کیفیت آب: پارامترهای کیفی آب از جمله درجه حرارت با دماسنج دیجیتال جیوه‌ای (Horiba-U-10، ژاپن)، شوری با دستگاه شوری‌سنج و pH به روش الکتریکی (Ebro,PHT-3140) در فواصل زمانی کوتاه به‌طور روزانه اندازه‌گیری شدند. میانگین میزان pH، شوری و دمای آب در مخازن به‌ترتیب ۷/۵۴±۰/۲۰، ۱/۱۸±۳۳/۰۰ و ۰/۸۶±۲۵ بود. شرایط نوری به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. این شرایط محیطی برای تمام تیمارها یکسان بود.

تیماربندی میگوها جهت آزمایش سمیت تحت کشنده نیترات نقره: غلظت‌های تحت کشنده بر اساس ۵۰ درصد غلظت کشندگی میانی نیترات نقره برای میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) تهیه شد. نیترات نقره مورد استفاده در مطالعه حاضر با جرم مولکولی ۱۶۹/۸۷ گرم بر مول و درصد خلوص ۹۹/۹ درصد تولیدی کشور چین بود. بنابراین طبق نتایج به‌دست آمده از بررسی سمیت حاد نیترات نقره در میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) که غلظت کشنده میانی آن به میزان ۰/۰۸۴ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد، چهار غلظت تحت کشنده از

نیترات نقره شامل تیمار ۱: (LC_{50}۱۰درصد (۰/۰۰۸۴ میلی‌گرم در لیتر)، تیمار ۲: (LC_{50}۲۵ درصد (۰/۰۲۱ میلی‌گرم در لیتر)، تیمار ۳: (LC_{50}۵۰ درصد (۰/۰۴۲ میلی‌گرم در لیتر) و تیمار ۴: (LC_{50}۷۵ درصد (۰/۰۶۳ میلی‌گرم در لیتر) و یک تیمار نیز به عنوان تیمار شاهد (در مجموع ۵ تیمار و هر کدام با ۳ تکرار) برای مطالعه حاضر انتخاب شد. دوره مواجهه با نیترات نقره در این مرحله ۲۱ روز در نظر گرفته شد و تا پایان دوره هیچ گونه تلفاتی وجود نداشت.

نمونه‌برداری از میگوها و تهیه عصاره بافتی: پس از پایان دوره آزمایش تحت کشندگی (روز ۲۱)، به منظور سنجش تغییرات سامانه آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های متابولیکی، از هر مخزن به طور تصادفی ۱۲ قطعه میگو خارج و پس از بیهوشی با پودر گل میخک به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بافت آبشش، هپاتوپانکراس و عضله جهت آنالیز پارامترهای سامانه آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های متابولیکی جداسازی گردید. جهت سنجش سامانه آنتی‌اکسیدانی و متابولیکی، بافت‌های مورد نظر در بافر تریس HCl (Tris-HCl) با pH ۷/۴ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هموژن شدند. نمونه‌های هموژن شده با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و فاز بالایی به منظور سنجش سطوح سامانه آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST) و همچنین تغییرات سطوح آنزیم‌های متابولیکی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) جداسازی شد (۱۰).

سنجش سطوح سامانه آنتی‌اکسیدانی: فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بر پایه قدرت سوپراکسید دیسموتاز در مهار احیاء نیتروبلوتترازولیوم به وسیله یون سوپراکسید **با** استفاده از روش Winterbourn و همکاران در سال ۱۹۷۵ (۱۱) و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز مطابق روش Lawrence و Burk در سال ۱۹۷۶ سنجیده شد (۱۲). سنجش فعالیت گلوتاتیون اس-ترانسفراز طبق روش Stump و Nauen در سال ۲۰۰۲ انجام شد (۱۳).

سنجش سطوح آنزیم‌های متابولیکی: اندازه‌گیری سطح فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز عصاره‌های بافتی میگو بر اساس مقدار مصرف NADH و تبدیل آن به NAD^+ صورت گرفت. اندازه‌گیری سطح فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز عصاره‌های بافتی میگو بر اساس تبدیل نیتروفنیل‌فسفات به نیتروفنولوفسفات صورت گرفت (۱۴) و لاکتات دهیدروژناز عصاره‌های بافتی میگو با استفاده از کیت آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون بر اساس تبدیل پیروات به لاکتات سنجش شد.

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. مقایسه داده‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و معنی‌داری آن‌ها با استفاده از آزمون Tukey بررسی شد. $P<0/05$ به‌عنوان سطح تفاوت معنی‌داری فرض شد.

جدول ۱. تغییرات سوپراکسید دیسموتاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نیترات نقره.

تیمارها/اندام	هپاتوپانکراس	آبشش	عضله
کنترل	۵۰/۱±۲۳/۸۰^a	۱۲/۱±۰۹/۰۹^a	۴۸/۳±۵۰/۷۵^a
LC_{50}۱۰ درصد	۴۵/۲±۵۵/۳۵^a	۱۳/۲±۰۰/۲۲^a	۴۸/۱±۹۳/۰۰^a
LC_{50}۲۵ درصد	۵۳/۳±۰۷/۰۷^a	۱۲/۱±۷۷/۳۵^a	۵۰/۱±۲۴/۷۷^a
LC_{50}۵۰ درصد	۵۰/۲±۷۲/۹۳^a	۱۳/۰±۶۳/۹۹^a	۵۰/۲±۰۰/۱۰^a
LC_{50}۷۵ درصد	۴۹/۲±۰۰/۲۰^a	۱۲/۳±۱۵/۰۰^a	۴۹/۳±۴۵/۱۵^a

حروف لاتین غیر مشترک در ستون‌ها نشانه وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<0/05$).

جدول ۲. تغییرات گلوتاتیون پراکسیداز (میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نیترات نقره.

تیمارها/اندام	هپاتوپانکراس	آبشش	عضله
کنترل	۲/۰±۵۵/۲۸^a	۸/۰±۴۳/۳۱^a	۹/۱±۰۰/۱۰^a
LC_{50}۱۰ درصد	۲/۰±۹۵/۳۸^a	۹/۰±۰۳/۷۶^a	۹/۰±۱۰/۸۰^a
LC_{50}۲۵ درصد	۲/۰±۷۰/۴۰^a	۹/۰±۱۲/۵۰^a	۹/۱±۵۵/۰۰^a
LC_{50}۵۰ درصد	۲/۰±۱۱/۶۲^a	۹/۱±۴۹/۲۰^a	۹/۱±۹۰/۰۵^a
LC_{50}۷۵ درصد	۱/۰±۴۴/۴۸^b	۱۲/۰±۵۵/۲۵^b	۱۱/۰±۸۳/۹۰^b

حروف لاتین غیر مشترک در ستون‌ها نشانه وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<0/05$).

جدول ۳. تغییرات گلوتاتیون اس-ترانسفر (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نیترات نقره.

تیمارها/اندام	هپاتوپانکراس	آبشش	عضله
کنترل	۱/۰±۵۰/۲۵^{a}	۱/۰±۶۰/۰۹۹^{a}	۱/۰±۴۸/۱۸^{a}
۱۰LC$_{50}$ درصد	۱/۰±۶۶/۳۱^{a}	۱/۰±۶۲/۴۶^{a}	۱/۰±۴۵/۱۸^{a}
۲۵LC$_{50}$ درصد	۱/۰±۶۶/۰۸۷^{a}	۱/۰±۴۹/۱۴^{a}	۱/۰±۶۸/۲۹^{a}
۵۰LC$_{50}$ درصد	۲/۰±۸۴/۱۹^{b}	۱/۰±۵۵/۲۵^{a}	۱/۰±۶۴/۱۴^{a}
۷۵LC$_{50}$ درصد	۲/۰±۹۷/۱۳^{b}	۱/۰±۵۸/۴۴^{a}	۱/۰±۶۳/۲۰^{a}

حروف لاتین غیر مشترک در ستون‌ها نشانه وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۴. تغییرات آلانین آمینوترانسفراز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نیترات نقره.

تیمارها/اندام	هپاتوپانکراس	آبشش	عضله
کنترل	۰/۰±۰۹۸/۰۰۲۵^{a}	۰/۰±۰۵۲/۰۰۴^{a}	۰/۰±۰۲۸/۰۰۷^{a}
۱۰LC$_{50}$ درصد	۰/۰±۱۰/۰۰۶۶^{a}	۰/۰±۰۴۹/۰۰۷۵^{a}	۰/۰±۰۲۹/۰۰۳۶^{a}
۲۵LC$_{50}$ درصد	۰/۰±۰۵۹/۰۰۳۴^{b}	۰/۰±۰۵۲/۰۰۲۲^{a}	۰/۰±۰۳۱/۰۰۶۲^{a}
۵۰LC$_{50}$ درصد	۰/۰±۰۹۹/۰۰۱۵^{a}	۰/۰±۰۵۳/۰۰۳۳^{a}	۰/۰±۰۲۵/۰۰۴^{a}
۷۵LC$_{50}$ درصد	۰/۰±۰۵۵/۰۰۳۹^{b}	۰/۰±۰۳۳/۰۰۵۲^{b}	۰/۰±۰۳۱/۰۰۲۵^{a}

حروف لاتین غیر مشترک در ستون‌ها نشانه وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۵. تغییرات آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نیترات نقره.

تیمارها/اندام	هپاتوپانکراس	آبشش	عضله
کنترل	۵/۰±۱۲/۲۲^{a}	۱/۰±۶۵/۲۹^{a}	۰/۰±۳۸/۱۴^{a}
۱۰LC$_{50}$ درصد	۴/۰±۹۸/۱۵^{a}	۱/۰±۹۰/۱۵^{a}	۰/۰±۳۶/۱۵^{a}
۲۵LC$_{50}$ درصد	۵/۰±۱۵/۱۷^{a}	۱/۰±۶۸/۳۸^{a}	۰/۰±۳۹/۰۸۹^{a}
۵۰LC$_{50}$ درصد	۲/۰±۹۶/۲۸^{b}	۱/۰±۸۹/۱۴^{a}	۰/۰±۳۶/۰۷۵^{a}
۷۵LC$_{50}$ درصد	۲/۰±۸۱/۴۶^{b}	۲/۰±۹۹/۱۸^{b}	۰/۰±۳۸/۱۴^{a}

حروف لاتین غیر مشترک در ستون‌ها نشانه وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۶. تغییرات آلکالین فسفاتاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نیترات نقره.

تیمارها/اندام	هپاتوپانکراس	آبشش	عضله
کنترل	۲۶±۱۳۶۰/۲۵^{a}	۴۴±۹۱۵/۰۴^{a}	۷۳±۹۰۳/۴۵^{a}
۱۰LC$_{50}$ درصد	۷۳±۱۳۴۹/۶۸^{a}	۵۵±۹۷۵/۵۰^{a}	۳۲±۸۹۷/۸۵^{a}
۲۵LC$_{50}$ درصد	۸۴±۱۰۱۵/۴۰^{b}	۹۰±۹۶۸/۰۰^{a}	۴۳±۹۰۲/۳۸^{a}
۵۰LC$_{50}$ درصد	۶۷±۱۰۱۸/۵۲^{b}	۶۴±۱۰۲۱/۰۴^{a}	۵۵±۹۰۶/۰۵^{a}
۷۵LC$_{50}$ درصد	۸۲±۱۰۱۱/۹۷^{b}	۵۳±۱۰۱۶/۶۶^{a}	۶۳±۹۰۴/۵۰^{a}

حروف لاتین غیر مشترک در ستون‌ها نشانه وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۷. تغییرات لاکتات دهیدروژناز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نیترات نقره.

تیمارها/اندام	هپاتوپانکراس	آبشش	عضله
کنترل	۳۸/۵±۰۵/۰۳^{a}	۲۴/۲±۶۶/۹۹^{a}	۷/۱±۹۵/۰۸^{a}
۱۰LC$_{50}$ درصد	۳۸/۲±۱۰/۰۰^{a}	۲۵/۱±۰۸/۷۵^{a}	۸/۰±۲۰/۹۹^{a}
۲۵LC$_{50}$ درصد	۳۹/۳±۱۳/۰۰^{a}	۲۴/۱±۹۲/۷۲^{a}	۷/۲±۱۵/۳۸^{a}
۵۰LC$_{50}$ درصد	۴۹/۲±۷۳/۵۸^{b}	۴۲/۳±۸۵/۰۶^{b}	۸/۱±۹۳/۴۴^{a}
۷۵LC$_{50}$ درصد	۴۹/۴±۹۵/۰۳^{b}	۴۵/۴±۱۱/۰۰^{b}	۷/۰±۶۶/۹۹^{a}

حروف لاتین غیر مشترک در ستون‌ها نشانه وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

نتایج

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بافت هپاتوپانکراس و عضله نسبت به بافت آبشش بیشتر بود (جدول ۱). طبق نتایج میزان این آنزیم در تمام بافت‌های مورد بررسی در تیمارهای مختلف نیترات نقره نسبت به تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد ($P>۰/۰۵$).

برخلاف سایر آنزیم‌های مورد بررسی، سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بافت هپاتوپانکراس نسبت به بافت آبشش و عضله کمتر بود (جدول ۲). طبق نتایج سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بافت آبشش و عضله در تیمار ۴ (LC_{50} ۷۵ درصد نیترات نقره) نسبت به سایر تیمارها و نیز تیمار شاهد افزایش معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) و در بافت هپاتوپانکراس کاهش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$).

بر اساس نتایج جدول ۳، فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز در بافت آبشش و عضله در تیمارهای مختلف نیترات نقره در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>۰/۰۵$). در بافت هپاتوپانکراس سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز در تیمار ۳ و ۴ در مقایسه با سایر تیمارها به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$).

همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌کنید در هپاتوپانکراس فعالیت آنزیم آلانین ترانسفراز در تیمار ۲ (LC_{50} ۱۰ درصد نیترات نقره) و ۴ (LC_{50} ۷۵ درصد نیترات نقره) نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۱ و ۳ کاهش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). در آبشش سطح فعالیت این آنزیم در تیمار ۴ (LC_{50} ۷۵ درصد نیترات نقره) در مقایسه با سایر تیمارها کاهش معنی‌داری داشته است ($P<۰/۰۵$). در عضله سطح فعالیت این آنزیم بین تیمارهای مختلف نیترات نقره با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>۰/۰۵$) و پایین‌ترین سطح فعالیت این آنزیم مربوط به تیمار ۳ بود (جدول ۴).

طبق نتایج جدول ۵ فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز بافت آبشش در تیمار ۴ (LC_{50} ۷۵ درصد نیترات نقره) نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۱، ۲ و ۳ (LC_{50} ۵۰ درصد، LC_{50} ۲۵ درصد و LC_{50} ۱۰ درصد نیترات نقره) افزایش معنی‌دار داشته است ($P<۰/۰۵$). در بافت عضله تیمارهای مختلف نیترات نقره با تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$). در بافت هپاتوپانکراس فعالیت این آنزیم در تیمار ۳ و ۴ در مقایسه سایر تیمارها و تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$).

طبق نتایج جدول ۶ فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در بافت آبشش و عضله بین تیمارهای مختلف با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>۰/۰۵$). در بافت هپاتوپانکراس به‌جز در تیمار ۱ در بقیه تیمارها فعالیت این آنزیم در مقایسه با تیمار شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$).

فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در بافت آبشش و هپاتوپانکراس در تیمار ۳ (LC_{50} ۵۰ درصد نیترات نقره) و ۴ (LC_{50} ۷۵ درصد نیترات نقره) در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار ۱ و ۲ افزایش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). در بافت عضله سطح فعالیت این آنزیم در تیمارهای مختلف نسبت به شاهد و یکدیگر معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$)، اما به هر حال بیشترین و کمترین فعالیت آن به ترتیب مربوط به تیمار ۳ و ۲ بود (جدول ۷).

بحث

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD، GPx و GST نقش مهمی در کاهش تأثیر استرس اکسیداتیو ناشی از فلزات دارند، این آنزیم‌ها اولین خط دفاعی بدن در مواجهه با استرس یا آلاینده‌ها در موجودات زنده را تشکیل می‌دهند (۲). در مطالعه حاضر هر چند که تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز میگوها در مواجهه با نیترات نقره در بافت‌های مورد بررسی مشاهده نشد و فقط در بافت هپاتوپانکراس در تیمار ۱ و ۴ نسبت به سایر تیمارها اندکی کمتر بود. عدم اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با گروه شاهد احتمالاً نشان دهنده خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد تولید شده در اثر مواجهه با نیترات نقره توسط سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و از طرفی دیگر دلیل کاهش سطح این آنزیم در تیمار ۱ و ۴ بافت هپاتوپانکراس احتمالاً به دلیل افزایش شدت استرس ناشی از مواجهه با نیترات نقره و غلبه شدن رادیکال‌های آزاد بر این آنزیم در بافت هپاتوپانکراس است (۳)، زیرا هپاتوپانکراس به عنوان یکی از مهم‌ترین اندام‌های میگو برای تجمع آلاینده‌ها می‌باشد (۸). Duan و همکاران در سال ۲۰۱۷ نیز کاهش در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز میگوها طی مواجهه با سولفید را گزارش نموده‌اند (۱۵). در مطالعه Das و همکاران در سال ۲۰۱۹ مواجهه با کادمیوم در میگوی لجنی (*Austinogebia edulis*) و Zhang و همکاران در سال ۲۰۲۱ مواجهه با کادمیوم در میگوی *Palaemon macrodactylus* سبب کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در بافت‌های آبشش، عضله و هپاتوپانکراس شد (۲،۳) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد. فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز بافت آبشش و عضله با افزایش غلظت نیترات نقره در تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری افزایش و در بافت هپاتوپانکراس کاهش یافت ($P<۰/۰۵$) که با نتایج مطالعه Dorts و همکاران در سال ۲۰۰۹ طی مواجهه میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) با سموم

اندوسولفان و دلتامترین (۱۶) مطابقت ندارد. Das و همکاران در سال ۲۰۱۹ کاهش در فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز بافت‌های آبشش، عضله و هپاتوپانکراس میگوی لجنی (*Austinogebia edulis*) طی مواجهه با کادمیوم را گزارش کردند (۲)، در حالی که در مطالعه حاضر این کاهش فقط در بافت هپاتوپانکراس مشاهده شد. مطابق با نتایج مطالعه حاضر در مطالعه Ding و همکاران در سال ۲۰۱۹ فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز بافت هپاتوپانکراس در میگوی *Macrobrachium nipponense* با افزایش غلظت کادمیوم کاهش معنی‌داری نشان داد (۴). برای فعالیت GPx، سلنیوم یک عنصر ضروری است. محل فعال آنزیم GPx سلنوسیستئین (Se-Cys) است که پس از قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین به کاهش سمیت فلز سنگین کمک می‌کند. افزایش غلظت فلزات سنگین می‌تواند منجر به تغییر در محل فعال آنزیم شود و در نتیجه GPx تمایل به از دست دادن فعالیت خود دارد، بنابراین تجمع فزاینده H_2O_2 و OH منجر به آسیب سلولی اکسیداتیو شده و واکنش سنتز GPx با افزایش غلظت فلز سنگین مهار می‌شود (۹) که در مطالعه حاضر به خصوص در بافت هپاتوپانکراس این وضعیت مشاهده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد عدم اختلاف معنی‌دار فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز بافت آبشش و عضله در تیمارهای مختلف و افزایش معنی‌دار آن در بافت هپاتوپانکراس در تیمار ۳ و ۴ بود ($P>0/05$) که نشان داد این آنزیم در بافت هپاتوپانکراس نسبت به بافت آبشش و عضله بیشتر تحت استرس ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد در اثر نیترات نقره قرار گرفت. از آنجایی که هپاتوپانکراس نقش مهمی در چندین عملکرد متابولیک مانند هضم، جذب و ترشح دارد بنابراین در مواجهه با آلاینده‌ها نسبت به سایر اندام‌ها بیشتر مستعد استرس اکسیداتیو است (۱۷) که نتایج مطالعه حاضر نیز موید این امر می‌باشد. در مطالعه‌ای توسط Ren و همکاران در سال ۲۰۱۵ مشخص شد که پاسخ بیومارکرهای استرس اکسیداتیو همیشه در هپاتوپانکراس بالاتر از آبشش و عضله بوده است، مطالعات گزارش داده‌اند که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های پایین آلاینده‌ها شروع به فعالیت نموده و در غلظت‌های بالای آلاینده فعالیت آن‌ها مختل شده است (۱۷،۱۸). مطابق با نتایج مطالعه حاضر در مطالعه Lobato و همکاران در سال ۲۰۱۳ فعالیت این آنزیم در بافت عضله میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) در مواجهه با فلزات سنگین کادمیوم و آرسنیک تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ($P>0/05$) اما در بافت هپاتوپانکراس افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم را گزارش نمودند (۱۹). Ren و همکاران در سال ۲۰۱۵، افزایش در فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز بافت هپاتوپانکراس و آبشش میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) را طی مواجهه با بنزوپیرن گزارش کردند (۱۷). آسیب بافت و تغییر پروفایل آنزیم‌های متابولیکی از جمله در کبد و آبشش در اثر غلظت تحت کشنده فلزات سنگین در آبزیان مختلف گزارش شده است (۲۰). در مطالعه حاضر مواجهه میگوی پا سفید غربی با نیترات نقره سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز بافت هپاتوپانکراس در تیمار ۲ و ۴ و بافت آبشش در تیمار ۴ شد ($P<0/05$) که نشان می‌دهد تغییرات فعالیت این آنزیم به صورت وابسته به غلظت نیست. در بافت عضله نیز تغییرات فعالیت این آنزیم در هیچ کدام از تیمارها نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود ($P>0/05$). بر خلاف مطالعه حاضر، در مطالعات سایر محققین افزایش میزان فعالیت ALT در هپاتوپانکراس میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) طی مواجهه با غذای آلوده به آفلاتوکسین و مواجهه با سرب گزارش شده است (۲۱،۲۲). در مطالعه Chen و همکاران در سال ۲۰۲۲ فعالیت آنزیم ALT هپاتوپانکراس میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) به طور قابل توجهی با افزایش غلظت مس در رژیم غذایی افزایش یافت (۲۳)، افزایش میزان آمینوترانسفرازها در جهت پاسخگویی به تشدید نیاز انرژی طی استرس ناشی از مسمومیت می‌باشد (۲۲). نتایج آماری تغییرات فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در غلظت‌های مختلف نیترات نقره نشان دهنده افزایش معنی‌دار سطح فعالیت آن در بافت آبشش در تیمار ۴ و کاهش معنی‌دار آن در تیمار ۴ و ۳ در بافت هپاتوپانکراس بود ($P<0/05$)، افزایش سطح فعالیت این آنزیم می‌تواند حاکی از آسیب‌های بافتی باشد (۲۲)، اما در بافت عضله بین تیمارهای مختلف نیترات نقره با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>0/05$). در مطالعات محققین مختلف بر روی گونه‌های مختلف آبزیان، افزایش و یا کاهش در فعالیت این آنزیم طی مواجهه با سموم و آلاینده‌های مختلف گزارش شده است به طوری که در مطالعه‌ای توسط Wu و همکاران در سال ۲۰۱۷ بر روی ماهی میگوی وانامی بر خلاف نتایج مطالعه حاضر افزایش در فعالیت AST هپاتوپانکراس طی مواجهه با سرب گزارش شد (۲۲). در مطالعه Jamshidzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۹، افزایش در فعالیت این آنزیم در هپاتوپانکراس میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) طی مواجهه با غذای آلوده به آفلاتوکسین گزارش شد (۲۱). تفاوت در پاسخ آنزیمی میگوها در مطالعات مختلف ممکن است به علت تفاوت در حساسیت گونه‌ها، نوع

آلاینده، غلظت آن و مدت زمان قرارگیری در معرض سم باشد. سطح فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز فقط در بافت هپاتوپانکراس کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت ($P<۰/۰۵$) و در سایر بافت‌ها اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد ($P>۰/۰۵$) که این امر بیانگر بازدارندگی بیشتر نیترات نقره بر روی سطح فعالیت این آنزیم در بافت هپاتوپانکراس می‌باشد. Saha و همکاران در سال ۲۰۰۹ دریافتند که قرارگیری خرچنگ سبز (*Scylla serrata*) در معرض سم آرسنات به صورت مزمن سبب کاهش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز شد (۲۴) که با نتایج مطالعه حاضر در مورد بافت هپاتوپانکراس مطابقت دارد. کاهش فعالیت آلکالین فسفاتاز احتمالاً می‌تواند به دلیل تغییر در قابلیت نفوذپذیری غشای پلاسمایی و نیز تغییر تعادل بین سنتز و تجزیه آنزیم‌های پروتئینی و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیمی باشد (۲۵). فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز بافت عضله اختلاف معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نداشت ($P>۰/۰۵$). در بافت آبشش و هپاتوپانکراس با افزایش غلظت نیترات نقره سطح فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$) که نشان دهنده تأثیر نیترات نقره بر فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز بافت آبشش و هپاتوپانکراس به‌صورت وابسته به غلظت می‌باشد. با توجه به این‌که حداکثر میزان فعالیت این آنزیم در بافت هپاتوپانکراس و در غلظت بالای نیترات نقره مشاهده شد که این امر نشان دهنده آسیب بخش زیادی از این بافت می‌باشد و احتمالاً سلول‌ها قادر به رهاسازی این آنزیم به سایر بافت‌ها به خصوص بافت عضله نبوده‌اند و در نتیجه در بافت عضله میزان آن تفاوت معنی‌داری نشان نداده است. LDH آنزیم کلیدی برای تکمیل فرآیند گلیکولیز بی هوازی به گلوکز است. محرک‌های خارجی غلظت اسید لاکتیک بدن آبزیان را افزایش داده و این امر می‌تواند افزایش سطح LDH را در پی داشته باشد (۲۶). در مطالعه‌ای توسط Pillet و همکاران در سال ۲۰۱۶ با بررسی اثرات کمبود اکسیژنی بر مسیر متابولیکی میگوی شمالی (Pandalus borealis) فعالیت آنزیم LDH در عضله میگو به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$) که با مطالعه حاضر مطابقت ندارد (۲۷). همچنین افزایش فعالیت این آنزیم در عضله و آبشش میگوی پا سفید غربی گزارش شده است (۲۸).

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج نشان داد که افزایش غلظت نیترات نقره سبب مهار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به جز سوپر اکسید دیسموتاز بافت هپاتوپانکراس شده است. همچنین غلظت بالای نیترات نقره (۰/۰۶۳ میلی‌گرم در لیتر) علاوه بر مهار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب بروز تغییرات معنی‌دار افزایشی در فعالیت LDH و کاهشی آنزیم‌های ALT، AST و ALP در بافت هپاتوپانکراس شده است. بنابراین از طریق سنجش مقادیر فعالیت GPx، GST، LDH، ALT، AST و ALP در بافت هپاتوپانکراس میگوی پا سفید غربی، می‌توان به‌عنوان شاخص مناسب جهت نشان دادن سلامت یا وجود آلودگی به نیترات نقره در اکوسیستم آبی استفاده نمود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور چابهار جهت در اختیار قرار دادن فضا برای اجرای مطالعه حاضر تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Wu C, Xiong X, Hamidian AH, Zhang Y, Xu X. A review on source, occurrence, and impacts of microplastics in freshwater aquaculture systems in China. Water Biol Secur. 2022; 4: 100040. doi: 10.1016/j.watbs.2022.100040
2. Das S, Tseng LC, Chou C, Wang L, Souissi S, Hwang JS. Effects of cadmium exposure on antioxidant enzymes and histological changes in the mud shrimp *Austinogebia edulis* (Crustacea: Decapoda). Environ Sci Pollut Res. 2019; 26(8): 7752-7762. doi: 10.1007/s11356-018-04113-x PMID: 30673948
3. Zhang C, Jin Y, Yu Y, Xiang J, Li F. Cadmium-induced oxidative stress, metabolic dysfunction and metal bioaccumulation in adult palaemonid shrimp *Palaemon macrodactylus* (Rathbun, 1902). Ecotoxicol Environ Saf. 2021; 208: 111591. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.111591 PMID: 33396114
4. Ding Z, Kong Y, Shao X, Zhang Y, Ren C, Zhao X, Yu W, Jiang T, Ye J. Growth, antioxidant capacity, intestinal morphology, and metabolomic responses of juvenile Oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*) to chronic lead exposure. Chemo. 2019; 217: 289-297. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.11.034 PMID: 30419383
5. Grosell M, Brauner CJ, Kelly SP, McGeer JC, Bianchini A, Wood CM. Physiological responses to acute silver exposure in the freshwater crayfish (*Cambarus diogenes diogenes*)—a model invertebrate?. Environ Toxicol Chem: An International Journal. 2002; 21(2): 369-374. doi:

10.1897/1551-5028(2002)021<0369:prtase>2.0.co;2 PMID: 11833807
6. Wang H, Teng M, Liu P, Zhao M, Wang S, Hu J, Bao Z, Zeng Q. Selection Signatures of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* Revealed by Whole-Genome Resequencing Analysis. Fron Mar Sci. 2022; 9. doi: 10.3389/fmars.2022.844597
7. FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. 2020. Rome: FAO. doi: 10.4060/cb1329en-fig30
8. Lin Y, Huang JJ, Dahms HU, Zhen JJ, Ying XP. Cell damage and apoptosis in the hepatopancreas of *Eriocheir sinensis* induced by cadmium. Aquat Toxicol. 2017; 190: 190-198. doi: 10.1016/j.aquatox.2017.07.008 PMID: 28750221
9. Wu H, Xuan R, Li Y, Zhang X, Jing W, Wang L. Biochemical, histological and ultrastructural alterations of the alimentary system in the freshwater crab *Sinopotamon henanense* subchronically exposed to cadmium. Ecotoxicol. 2014; 23(1): 65-75. doi: 10.1007/s10646-013-1152-z PMID: 24276410
10. Yang LH, Huang H, Wang JJ. Antioxidant responses of citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor)(Acari: Tetranychidae), exposed to thermal stress. J Insect Physiol. 2010; 56(12): 1871-1876. doi: 10.1016/j.jinsphys.2010.08.006 PMID: 20709071
11. Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Clin Med. 1975; 85(2): 337-41. PMID: 803541
12. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. Biochem Biophys Res Commun. 1976; 71(4): 952-958. doi: 10.1016/0006-291x(76)90747-6 PMID: 971321
13. Stumpf N, Nauen R. Biochemical markers linked to abamectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Pestic Biochem Phys. 2002; 72(2): 111-121. doi: 10.1006/pest.2001.2583 PMID: 28835683
14. Moss DW. New perspectives in clinical enzymology. In Clinical Chemistry 1989. Springer, Boston, MA. p. 377-383. doi: 10.1007/978-1-4613-0753-2_36
15. Duan Y, Dong H, Wang Y, Li H, Liu Q, Zhang Y, Zhang J. Intestine oxidative stress and immune response to sulfide stress in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Fish Shellfish Immunol. 2017; 63: 201-207. doi: 10.1016/j.fsi.2017.02.013 PMID: 28214600
16. Dorts J, Silvestre F, Tu HT, Tyberghein AE, Phuong NT, Kestemont P. Oxidative stress, protein carbonylation and heat shock proteins in the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, following exposure to endosulfan and deltamethrin. Environ Toxicol Pharmacol. 2009; 28(2): 302-310. doi: 10.1016/j.etap.2009.05.006 PMID: 21784020
17. Ren X, Pan L, Wang L. Toxic effects upon exposure to benzo [a] pyrene in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Environ Toxicol Pharmacol. 2015; 39(1): 194-207. doi: 10.1016/j.etap.2014.08.006 PMID: 25528410
18. Xu Z, Cao J, Qin X, Qiu W, Mei J, Xie J. Toxic effects on bioaccumulation, hematological parameters, oxidative Stress, immune responses and tissue structure in fish exposed to ammonia nitrogen: A review. Animals. 2021; 11(11): 3304. doi: 10.3390/ani11113304 PMID: 34828036
19. Lobato RO, Nunes SM, Wasielesky W, Fattorini D, Regoli F, Monserrat JM, Ventura-Lima J. The role of lipoic acid in the protection against of metallic pollutant effects in the shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Mol Integr Physiol. 2013; 165(4): 491-497. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.03.015 PMID: 23507566
20. Khalesi MK, Abedi Z, Behrouzi S, Eskandari SK. Haematological, blood biochemical and histopathological effects of sublethal cadmium and lead concentrations in common carp. Bulg J Vet Med. 2017; 20(2): 141-150. doi: 10.15547/bjvm.965
21. Jamshidizadeh S, Amrollahi Biuki N, Yousefzadi M, Aramideh A. Response of Pacific white leg shrimp (Litopenaeus vannamei) on exposure to aflatoxin in feed. Aquac Res. 2019; 50(7): 1973-1984. doi: 10.1111/are.14086
22. Wu YS, Huang SL, Chung HC, Nan FH. Bioaccumulation of lead and non-specific immune responses in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to Pb exposure. Fish Shellfish Immunol. 2017; 62: 116-23. doi: 10.1016/j.fsi.2017.01.011 PMID: 28089748
23. Chen S, Liu Y, Xie S, Guo Y, Yang H, Wei Y, Xu Q, Ye T, Meng B, Huang R, Liu Y. Role of myo-inositol supplementation against toxicity of excessive dietary copper in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Ecotoxicol Environ Saf. 2022; 241: 113712. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113712 PMID: 35660379
24. Saha S, Ray M, Ray S. Activity of phosphatases in the hemocytes of estuarine edible mudcrab, *Scylla serrata* exposed to arsenic. J Environ Biol. 2009; 30(5): 655-658. PMID: 20136043
25. Wang Z, Qu Y, Yan M, Li J, Zou J, Fan L. Physiological responses of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to temperature fluctuation in low-salinity water. Front physiol. 2019; 10: 1025. doi: 10.3389/fphys.2019.01025 PMID: 31456695
26. Hu Z, Qi C, Lin C, Tang R. Nitrite stress induces oxidative stress and leads to muscle quality decreased in wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) juveniles. Water. 2022; 14(2): 160. doi: 10.3390/w14020160
27. Pillet M, Dupont-Prinet A, Chabot D, Tremblay R, Audet C. Effects of exposure to hypoxia on metabolic pathways in northern shrimp (*Pandalus borealis*) and Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*). J Exp Mar Biol Ecol. 2016; 483: 88-96. doi: 10.1016/j.jembe.2016.07.002
28. Soñanez-Organis JG, Rodriguez-Armenta M, Leal-Rubio B, Peregrino-Uriarte AB, Gómez-Jiménez S, Yepiz-Plascencia G. Alternative splicing generates two lactate dehydrogenase subunits differentially expressed during hypoxia via HIF-1 in the shrimp *Litopenaeus vannamei*. Biochimie. 2012; 94(5): 1250-1260. doi: 10.1016/j.biochi.2012.02.015 PMID: 22586706

Journal of Veterinary Research
J Vet Res, Volume 77, Number 3, 2022
Homepage: jvr.ut.ac.ir
Online ISSN: 2251-6190
University of Tehran Press
Original Article

Investigating the Changes in the Antioxidant and Enzyme System of *Litopenaeus Vannamei* during Exposure to Silver Nitrate

Abdolrazaq Siyahooei[1]✉, Seraj Bita[2]✉, Javad Ghasemzadeh[2]✉

[1] *Graduated from the Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran*
[2] *Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran*

10.22059/jvr.2022.345530.3281
Received: *6 July 2022*, ***Accepted:*** *24 September 2022*

Abstract

BACKGROUND: Oxidative stress is believed to be one of the major causes of tissue damage in aquatic animals exposed to heavy metals. It leads to certain changes in the antioxidant and enzyme system. Given the fact that research on the effect of sub-acute toxicity of silver nitrate in shrimps is not very developed, the present study can be conducive to formulating the international standards of contamination of shrimps with silver nitrate.

OBJECTIVES: The present study aimed to evaluate the toxic effects of silver nitrate on the changes in the antioxidant and enzyme systems of hepatopancreas, muscle and gills of *Litopenaeus vannamei*.

METHODS: After acclimatization of shrimps, they were exposed to silver nitrate with concentrations of 0.0084, 0.021, 0.042 and 0.063 mg/L for 21 days. At the end of the experimental period, gill, muscle and hepatopancreas were sampled, and the changes in the antioxidant system (SOD, GPx and GST) and metabolic enzymes (ALT, ALP, AST and LDH) were examined.

RESULTS: There was no significant difference in terms of SOD and GST activity in the gill and muscle of the exposed shrimps ($P>0.05$). However, GPx in treatment 4 increased significantly in gill and muscle while it saw a decrease in hepatopancreas ($P<0.05$). In hepatopancreas, GST significantly increased in treatments 3 and 4 ($P<0.05$) whereas SOD did not show any significant changes compared with other treatments ($P>0.05$). The metabolic enzymes of the muscle did not show any significant differences in any of the treatments ($P>0.05$), but in gill, the level of ALT in treatment 4 decreased significantly while the levels of AST and LDH in treatment 3 and 4 significantly increased ($P<0.05$). In hepatopancreas, the activity of ALT in treatments 2 and 4, AST in treatments 3 and 4, and ALP in all treatment except treatment 1 saw significant reduction. Nevertheless, LDH in treatments 3 and 4 had a significant rise ($P<0.05$).

CONCLUSIONS: A significant increase in GST and LDH as well as a significant decrease in GPx and ALT, AST and ALP enzymes in the hepatopancreas revealed that the antioxidant and enzyme system of shrimps is further disturbed with the rise in silver nitrate concentration in the hepatopancreas compared to the gill and muscle.

Keywords: Antioxidant, Enzyme, Shrimp, Silver nitrate, Toxicity

Copyright © 2022. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: Seraj Bita, Tel/Fax: 054-31272095 / 054-35324264

How to cite this article:

Siyahooei A, Bita S, Ghasemzadeh J. Investigating the Changes in the Antioxidant and Enzyme System of *Litopenaeus Vannamei* during Exposure to Silver Nitrate. J Vet Res, 2022; 77(3): 167-175.
doi: 10.22059/jvr.2022.345530.3281

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Changes in superoxide dismutase (U/mg protein) of white-leg shrimp exposed to silver nitrate (Columns not sharing the same letter are significantly different at $P<0.05$).
Table 2. Changes in glutathione peroxidase (mU/mg protein) of white-leg shrimp exposed to silver nitrate.
Table 3. Changes in *glutathione S-transferase* (U/mg protein) of white-leg shrimp exposed to silver nitrate.
Table 4. Changes in alanine aminotransferase (U/mg protein) of white-leg shrimp exposed to silver nitrate.
Table 5. Changes in *aspartate aminotransferase* (U/mg protein) of white-leg shrimp exposed to silver nitrate.
Table 6. Changes in alkaline phosphatase (U/mg protein) of white-leg shrimp exposed to silver nitrate.
Table 7. Changes in *lactate dehydrogenase* (U/mg protein) of white-leg shrimp exposed to silver nitrate.