

دلالات حيوية لتقييم تلوث أسماك البحر الأحمر

إعداد الطالب

ياسر قائد مصلح المليكي

إشراف

أ.د. صالح أحمد محمد

أ.د. يسري محمد سليمان

المستخلص

تتعرض البيئة البحرية لساحل جدة جنوب البحر الأحمر إلى زيادة كبيرة في الأنشطة البشرية. تم تقييم المؤشرات الانزيمية الحيوية مثل أنزيمات الأعصاب والمضادة للأكسدة والأنزيمات المسؤولة عن إزالة السموم في سمك الفاريولا لوتى كأحدى أنواع الاسماك التي تعتبر حساسة للملوثات في كل من المواقع الملوثة بالمجارى والنظيفة في ساحل جدة خلال أربعة أشهر يناير وأبريل ويوليو وأكتوبر من عام ٢٠١٤ و عام ٢٠١٥. وفي المخ تبين أن نشاط أنزيم الاسيتيل كولين أستيريز في السمك التي تم جمعها من المنطقة النظيفة أعلى بكثير من نشاطة في المنطقة الملوثة. على العكس من ذلك، ازدادت أنشطة أنزيم كلا من الكاتاليز ، الجلوتاثيون ريديكتيز، الجلوتاثيون بيروكسيديز والجلوتاثيون-اس-ترانسفيريز في كبد سمك فاريولا لوتى في المنطقة الملوثة عن المنطقة النظيفة. وكانت مستويات الإنزيمات متماثلة تقريبا في عامى ٢٠١٤ و ٢٠١٥ مما يدل على وجود نفس الملوثات في البحر الأحمر. تم مقارنة الخصائص الكيميائية الحيوية لإنزيم الكاتاليز من كبد سمك فاريولا لوتى المجمع من منطقتين ملوثة ونظيفة على ساحل البحر الأحمر الجنوبي بجدة. تبين الدراسة أن الإنزيمين لهما نفس الثباتية عند أس هيدروجينى ٧,٥. وأن نشاط إنزيم الكاتاليز في المنطقة الملوثة أعلى في جانبى بروفيال الأس الهيدروجينى عنه في المنطقة المرجعية. كما تبين ثباتية إنزيم الكاتاليز للحرارة عند 30 ° م في المنطقتين النظيفة والملوثة. وأحتفظ إنزيم الكاتاليز في المنطقتين النظيفة والملوثة ب ٤٦% و ٨٨% من نشاطهما عند ٤٠ ° م، على التوالي. وكانت قيم ثابت ميكائيل لإنزيم الكاتاليز في المنطقتين النظيفة والملوثة ٣٧ و ٥٠ مللى مولار بروكسيد الهيدروجين، على التوالي. وتشير النتائج أن إنزيم الكاتاليز عند المنطقة النظيفة له قابلية عالية تجاه بروكسيد الهيدروجين عنه عند المنطقة الملوثة. لم يظهر أى تأثير تثبيطى للكالسيوم على نشاط إنزيم الكاتاليز عند المنطقتين النظيفة والملوثة. تسبب النيكل ، الزنك والكوبالت في تثبيط جزئى لإنزيم الكاتاليز عند المنطقتين النظيفة والملوثة. تم تعيين فقد كامل لنشاط إنزيم الكاتاليز في وجود الزئبق. كان إنزيم الكاتاليز في المنطقة الملوثة أكثر ثباتية عند تعرضه ل ٥ و ١٠% ن-بيبتانول، أيزوبروبانول، ديوكسان وهيبنتانول عنه في المنطقة النظيفة. تبين وجود ثباتية ملحوظة لإنزيم الكاتاليز في المنطقة الملوثة ضد تربتون-أكس ١٠٠ وتوبين-٢٠ عنه في المنطقة النظيفة. لم يعين أى تأثير ملحوظ لليوريا عند تركيز ٢ و ٤ مللى مولار على إنزيم الكاتاليز في المنطقتين النظيفة والملوثة. يستنتج من النتائج أن إنزيم الكاتاليز عند المنطقة الملوثة أكثر مقاومة ضد الظروف الكيميائية والفيزيائية عنه في المنطقة النظيفة. أظهرت دراسة تقدير المعادن الثقيلة وارتباطها مع بعض التغيرات البيولوجية والبيوكيميائية في موقعى الدراسة أن متوسط تركيز المعادن الثقيلة الموجودة في أنسجة كبد سمك فاريولا لوتى من المنطقة الملوثة كانت الكادميوم، الكروم، النحاس، الحديد والزنك ١,٧٤ ، ٩,٦٩ ، ٤٧,٤٨ ، ٤٠٢٠,٠١ و ٢٢٩,٤٧ ميكروغرام / غرام الكبد، على التوالي والتي تعتبر أعلى بكثير من العينات التي أخذت من المنطقة المرجعية (٢٤,٠٠ ، ١,٩٨ ، ٢٠,١٢ ، ٧٢١,٩٣ ، ١٢٩,٢١ ميكروغرام / غرام الكبد، على التوالي). ويمكن ترتيب تركيز المعادن الثقيلة في أنسجة كبد سمك فاريولا لوتى من المنطقة الملوثة كالتالى الكادميوم < الحديد < كروم < النحاس < الزنك. وكشف تحليل الحامض النووي أن أنسجة الكبد في عينات الأسماك من المنطقة الملوثة لها زيادة كبيرة في الموت المبرمج للخلايا كما تم الكشف عنها بواسطة التدفق الخلوي (جهاز الفلوسيتوميتر) و التفريد الكهربى للحمض النووي. وبالإضافة إلى ذلك، أظهرت مقاطع هستولوجية للكبد من الأسماك من المنطقة الملوثة تغييرات في زيادة التليف وترسب الكولاجين التي كشف عنها بواسطة صبغة الهيماتوكسيلين أيوزين وصبغة ماسون ثلاثية الألوان ماسون، على التوالي

مقارنة مع العينات المأخوذة من المنطقة النظيفة. وعلاوة على ذلك، أظهرت أنماط الهجره الكهربية للبروتينات من كبد الأسماك في المنطقة الملوثة أنماط مختلفة من البروتينات لها وزن جزيئي ٤٢ و ١٣٠ و ١٤٠ كيلو دالتون، الذي هو في توافق جيد مع الوزن الجزيئي من نوع الكولاجين الثالث. هذه النتائج توصى بمعالجة كاملة لمياه الصرف الصحي قبل صرفها في البحر الأحمر.

Biomarkers for evaluation of the red sea fish pollution

By

Yaaser Qaaed Musleh Almulaiky

Supervised By

Prof. Saleh Ahmed Mohamed and Prof. Youssri Mohamed Soliman

Abstract

The marine environment of the Jeddah southern Red Sea coast is subjected to increasing anthropogenic activities. Enzymatic biomarkers as neurotoxic, antioxidant and detoxifying enzymes were evaluated in *Variola louti* as a sentinel species sampled from both polluted and reference sites in the Jeddah red sea during four months January, April, July and October in 2014 and 2015. In brain of *V. louti*, the specific activity of acetylcholinestase (AChE) collected from reference area was significantly increased than that from polluted area. On the contrary, the specific activities of catalase (CAT), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione-S-transferase (GST) from liver of *V. louti* in polluted area were significantly increased than that from reference area. The levels of examined enzymes were approximately similar in 2014 and 2015 indicating the same components of pollution were received in red sea. The biochemical properties of CAT from liver of *Variola louti* collected from polluted and reference were studied. The two enzymes had the same stability at pH 7.5. The CAT activity from polluted area was higher in the two sides of pH profile than that of reference area. The CAT activity from reference and polluted areas were approximately stable up to 30 °C. The CAT activity from reference and polluted area retained 46 and 88% of their activities at 40°C, respectively. The Michaelis Constant (Km) values of CAT in reference and polluted areas were 37 and 50 mM H₂O₂, respectively. The results indicated that CAT at reference area had higher affinity toward H₂O₂ than that at polluted area. Ca²⁺ had no inhibitory effect on CAT activity at reference and polluted areas. Ni²⁺, Zn²⁺ and Co²⁺ caused the same partially inhibitory effect on CAT at reference and polluted areas. Complete loss of CAT activity was detected in presence of Hg²⁺. CAT from polluted area was more stable when exposed to 5 and 10 % N-butanol, isopropanol, dioxan and heptanol than that in reference area. The CAT from polluted area was markedly more stable against Triton X-100 and Tween-20 than that in reference area. No significant effect of urea at concentration of 2 and 4 M on CAT at reference and polluted areas was detected. The results indicated that CAT from polluted area had more resistance against physical and chemical conditions than those in reference area. The estimation of heavy metals and their association with biological and biochemical alterations in two studied sites was evaluated. The average concentration of heavy metals found in hepatic tissues of *V. louti* fish from polluted area, namely Cd, Cr, Cu, Fe and Zn were 1.74, 9.69, 47.48, 4020.01 and 229.47 µg/g liver, respectively were significantly higher than that of samples taken from reference area (0.24, 1.98, 20.12, 721.93, 129.21 µg/g liver, respectively). The fold change of heavy metals in fish from polluted area with respect of that of reference area followed the order Cd > Fe >

Cr > Cu > Zn. Analysis of nuclear DNA revealed that hepatic tissues of fish samples from polluted area have significant increase in apoptotic cells as detected by flow cytometry and formation DNA-ladder. In addition, hepatic sections from fishes of polluted area showed more fibrotic changes and collagen deposition by hematoxylin eosin staining and Masson's trichrome staining, respectively compared to samples taken from reference area. Moreover, the electrophoretic patterns of proteins of liver of fishes caught at polluted area showed different patterns of proteins from that at reference with bands at 42, 130 and 140 kDa, which is in a good agreement with the molecular weight of collagen type III. These results recommended that the sewage should be completely treated before darning in sea water.