تأثیر غلظت‌های تحت کشنده کلرید کادمیوم بر برخی شاخص‌های خونی استرس در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

- **رقیه صفری***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ١٥٧٣٩-٤٩١٣٨
- **علی شعبانی**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ١٥٧٣٩-٤٩١٣٨
- **محمدرضا ایمانپور**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ١٥٧٣٩-٤٩١٣٨

تاریخ دریافت: تیر ١٣٩٣ تاریخ پذیرش: شهریور ١٣٩٣

چکیده

افزایش سطوح آلاینده‌هایی نظیر فلزات سنگین می‌تواند اثرات مخربی بر آبزیان، اکوسیستم‌های آبی و به‌طور غیرمستقیم زندگی انسان داشته باشد. اثر دوزهای تحت‌کشنده (Lc50 ٠/٠٥ ، ٠/١، ٠/٢) کلریدکادمیوم بر برخی شاخص‌های **خونی استرس (گلوکز، هورمون کورتیزول و برخی آنزیم‌های کبدی) در تاس‌ماهی ایرانی** طی **چهارده روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که سطح آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) به‌طور معنی‌داری (P<٠/٠٥) طی چهار روز اول از ٤/٥±٢٢٥/٥ به٦/٤ ± ٢٦٢/٧ IU/L افزایش یافت. این روند افزایشی در سطوح مختلف آلانین آمینوترانسفراز (ALT) (١/٥٢±٣٠/٦٧-١±١٣) IU/L و لاکتیک اسید دهیدروژناز (LDH) (٦/٠٨±١٤٩٦-١٧/٧٨±١٢٧١) U/L نیز مشاهده شد. کاهش غیرمعنی‌داری (P>٠/٠٥) در ٣ پارامتر ذکر شده از روز چهارم تا روز هفتم و سپس مشاهده شد. سطوح AST، ALT و LDH در بالاترین دوز (LC50 ٠/٢) از سایر دوزهای مورد مطالعه بالاتر بود. سطوح گلوکز افزایش معنی‌داری (P<٠/٠٥) تا روز چهارم و سپس روند کاهشی را تا روز چهاردهم نشان داد. بیش‌ترین میزان کورتیزول در روز اول در تمام غلظت‌های مورد مطالعه مشاهده گردید. نتایج این مطالعه حاکی از این است که شاخص‌های خونی استرس می‌توانند به‌عنوان پارامترهای موثری در پایش تغییرات اکوتوکسیکولوژی محسوب گردند.**

کلمات کلیدی: تاس‌ماهی ایرانی، کلرید کادمیوم، گلوکز، کورتیزول

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: rsafari@gau.ac.ir

مقدمه

بوم‌سازگان‌های آبی همواره دریافت‌کننده حجم وسیعی از آلاینده‌هایی چون فلزات سنگین، هیدروکربن‌های نفتی، آفت‌کش‌ها و مواد آلی ناشی از فاضلاب‌های خانگی، معدنی، صنعتی و کشاورزی می‌باشند. در چنین شرایطی، برآورد اثرات این آلاینده‌ها بر بوم‌سازگان‌ها ضروری است، چراکه تغییرات شیمیایی، تعادل بوم‌سازگان را برهم زده، از عملکرد درست آن ممانعت به‌عمل می‌آورند و موجب استرس در ارگانیزم‌های آبی می‌گردند (Pourang و همکاران، ۲۰۰۵). کادمیوم یکی از سمی‌ترین فلزات سنگین است که از طریق منابعی نظیر صنایع الکترونیک، سوخت‌های فسیلی و کودهای شیمیایی به محیط‌زیست افزوده می‌شود (Shahratash و همکاران، ۲۰۱۰). این عنصر با توجه به ثبات شیمیایی، تجزیه‌پذیری ضعیف و افزایش قدرت تجمع‌زیستی در بدن موجودات زنده، آسیب‌های مختلفی را در اندام‌ها ایجاد می‌نماید (Ling و همکاران، ۲۰۰۹؛ Huang و همکاران، ۲۰۰۵).

بر اساس منابع علمی مواجهه با غلظت‌های متفاوت این فلز و مواجهه با شرایط استرسی ناشی از آن موجب آسیب‌های بافتی، تغییرات آنزیمی، تغییرات پارامترهای خون‌شناسی، ژنتیکی، رفتاری، تولیدمثلی و حتی مرگ در گونه‌های مختلف آبزیان می‌گردد (Sassi و همکاران، ۲۰۱۳؛ Joseph و Raj، ۲۰۱۱؛ Cambier، ۲۰۱۰؛ Radhakrishnan و Hemalatha، ۲۰۱۰) که از این تغییرات می‌توان به‌عنوان نشانگرهای زیستی به‌منظور بررسی وجود آلاینده‌ها استفاده نمود (Oliveira Ribeiro و همکاران، ۲۰۰۲). شدت و مدت پاسخ به این استرس‌ها تحت تاثیر غلظت، زمان و گونه آبزی مورد مطالعه متفاوت است (Heath، ۱۹۹۵). اگرچه تغییرات رفتاری نظیر تمایل و یا عدم تمایل به غذا، الگوی شنای و الگوهای تنفسی می‌توانند در ارزیابی پاسخ به تنش‌های محیطی مفید باشند (Shariati و همکاران، ۲۰۱۱)، اما ارزیابی تغییرات بیوشیمیایی می‌تواند اطلاعات بیش‌تری در مورد اثرات تحت‌کشنده مواد تنش‌زا در رابطه با آبزی مورد نظر در اختیار ما قرار دهند (Rose و همکاران، ۲۰۰۶). این تغییرات بیوشمیایی در نتیجه افزایش سنتز یا تجزیه پروتئین‌ها و اسیدهای‌چرب، فعالیت و عدم فعالیت آنزیم‌هایی نظیر پروتئازها (آلانین ترانس آمیناز و آسپارتات آمینوترانس فراز)، فسفاتازها (آلانین فسفاتاز) و لاکتات دهیدوروژناز و هم‌چنین تغییر در میزان گلوکز و هورمون‌هایی‌هم‌چون کورتیزول ایجاد می‌گردد (Canli، ۱۹۹۵).

دریای‌خزر به‌جهت دارا بودن شرایط خاص، منابع طبیعی غنی (زیستی و معدنی) و نقش ژئوپولیتیکی آن در منطقه، یک اکوسیستم منحصر به فرد محسوب می‌گردد، اما متأسفانه هر ساله چندین میلیون مترمکعب فاضلاب‌های خانگی، صنعتی و کشاورزی حاوی انواع آلاینده‌ها وارد آن می‌گردد. بدین سبب مطالعات متعددی در مورد آن و به‌ویژه بررسی وضعیت آلودگی دریای‌خزر، آلاینده‌های مختلفی نظیر فلزات سنگین و سموم و تاثیر آن‌ها بر تغییرات رفتاری، فیزیولوژیکی و در سطوح مولکولی در آبزیان این ذخیره آبی صورت گرفته است (فداکار ماسوله و همکاران، ۱۳۹۰؛ Gharaei و همکاران، ۲۰۱۱؛ Shariati و همکاران، ۲۰۱۱؛ قرایی و غفاری، ۱۳۸۹؛ Wang و همکاران، ۲۰۰۸)، اما تاکنون گزارشی مبنی بر میزان فلز کادمیوم در دریای‌خزر و یا آلودگی بیش از حد مجاز دریای‌خزر با این فلز، منتشر نشده است به‌طوری‌که Agusa و همکاران (۲۰۰۴) میزان فلز کادمیوم را در بدن تاس‌ماهی ایرانی ۰/۲۵ میکروگرم بر گرم گزارش نمودند که میزان آن در مقایسه با فلز جیوه ۱/۶ میکروگرم برگرم، قابل توجه نمی‌باشد. هم‌چنین Parizanganeh و همکاران (۲۰۰۷) میزان این فلز را در رسوبات سواحل جنوبی دریای‌خزر جیوه حدود ۱ میکروگرم بر گرم و Wang و همکاران (۲۰۰۸) میزان این فلز را در خاویار تاس‌ماهی حدود ۲/۴ میکروگرم برگرم گزارش نمودند، اما میرزایی (۱۳۸۲) در بررسی میزان LC50 تعدادی از فلزات سنگین در تاس‌ماهی ایرانی، سمیت دو فلز کادمیوم و مس را بالاتر از فلزاتی نظیر مس و سرب ارزیابی نمود. بنابراین، با توجه به افزایش کاربرد فلز کادمیوم در صنایع و کشاورزی و با در نظر گرفتن ویژگی فلزات‌سنگین وتاثیر آن بر آبزیان و اکوسیستم‌های آبی، بررسی اثرات این فلز امری ضروری می‌نماید.

تاس‌ماهی ایرانی *Acipenser persicus* Borodin, (1897) از مهم‌ترین گونه‌های ماهیان خاویاری دریای‌خزر است که به‌دلیل صید بی‌رویه، تخریب زیستگاه آنها به جهت ساخت سدها و آلودگی آب و رسوبات، ذخیره آن در حال کاهش است و افزایش نسل این گونه تا حدود زیادی از طریق تکثیر مصنوعی صورت می‌گیرد (پورکاظمی، ۱۳۸۹). تاکنون در رابطه با تغییر پارامترهای بیوشیمیایی خون برخی از گونه‌های ماهیان تحت تاثیر انواع مختلفی از آلاینده‌ها و مواد تنش‌زا بررسی‌هایی صورت گرفته است، اما از آن‌جا که مطالعه‌ای در مورد اثر آلودگی کادمیومی بر شاخص‌های استرسی تاس‌ماهی ایرانی در وزن رهاسازی انجام نشده‌است، بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی شاخص‌های خونی استرس (گلوکز، هورمون

کورتیزول و برخی آنزیم های کبدی) در تاس‌ماهی ایرانی در مواجهه با دوزهای تحت کشنده کلرید کادمیوم انجام شد تا امکان در نظرگیری این پارامترها به‌عنوان زیست نشانگر در مطالعات آلودگی با این فلز بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

بچه تاس‌ماهیان ایرانی در وزن رهاسازی (۵-۳ گرمی) در بهار ۱۳۸۹ از مرکز تکثیر و پرورش شهید مرجانی- آق قلا تهیه و در شرایط نور طبیعی و تعویض مداوم آب و تغذیه با بیومس آرتمیا به‌مدت ۱ هفته جهت سازگاری در سالن آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان نگه‌داری شدند. به‌منظور انجام آزمایش آلودگی ابتدا بچه‌ماهیان (۴۵۰ عدد) به‌صورت تصادفی در ۱۵مخزن (۳۰ عدد در هر مخزن) توزیع شدند. اثرات آلودگی با کلرید کادمیوم بر پارامترهای بیوشیمیایی خون، بافت آبشش در ۵ تیمار و ۳ تکرار بررسی شد. بدین منظور براساس Lc50 به‌دست آمده برای این گونه در معرض فلز سنگین کلرید کادمیوم($CdCl_2$، مرک آلمان) ($۴۰۰۰\mu g l^{-1}$) (میرزایی، ۱۳۸۲)، ماهیان در مواجهه با ۴ دوز مختلف (۰/۰۵LC50، ۰/۱، ۰/۲، و شاهد) برای مدت ۱۴روز قرار گرفتند. کلیه شرایط محیطی، برای همه تانک‌ها کاملاً یکسان بود. دما، pH (pH متر، مدل Metrohm) و اکسیژن (اکسیژن‌متر مدل SDL150) آب طی دوره به‌طور روزانه اندازه گیری می‌شد. طی زمان مطالعه ماهیان از بیومس آرتمیا در ۲ مرحله ۸ صبح و ۱۶ عصر به میزان ۸-۷٪ وزن بدن تغذیه می‌شدند. تعویض آب مخازن نیز به‌صورت یک روز در میان انجام می‌شد. نمونه‌برداری از هر کدام از تیمارها (۰/۰۵Lc50، ۰/۱ Lc50، ۰/۲Lc50و شاهد) در روزهای، ۰۱، ۲، ۴، ۷ و ۱۴ با سه تکرار انجام شد. بچه‌ماهیان بعد از نمونه‌برداری ابتدا با استفاده از پودر گل میخک (۰/۵ گرم بر لیتر) بی‌هوش و کشته شدند.

خون‌گیری از بچه تاسماهیان مورد آزمایش با استفاده از قطع ساقه دمی (ملک‌پور و همکاران، ۲۰۱۲) انجام گرفت. خون ۳ نمونه هر تکرار با هم به‌صورت مخلوط در تیوب‌های اپندورف ریخته و جهت جداسازی سرم خون به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده شیلات و محیط‌زیست منتقل شد. سرم خون با استفاده از سانتریفیوژ (اپندروف مدل ۵۴۱۴، ساخت کشور آلمان (مدت۱۰ دقیقه در ۳۳۰۰×g)) جداسازی شد. پس از خون‌گیری و جداسازی سرم، پارامترهای بیوشیمیایی خون شامل آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، با استفاده از روش آنزیمی IFCC مطابق دستورالعمل Reitman و Franklen (۱۹۵۷) و لاکتیک اسیددهیدروژناز (LDH) با استفاده از روش آنزیمی DGKC مطابق دستورالعمل King وArmstrong (۱۹۵۶)، گلوکز با استفاده از روش گلوکزاکسیداز براساس روش اصلاح شده تریندر (Trinder، ۱۹۶۹) و کورتیزول با استفاده از دستگاه الایزا (پیشتاز تجهیز-اوسینا)مطابق دستورالعمل کیت رادیو ایمونواسی (RIA) اندازه‌گیری گردید. جهت تجزیه و تحلیل آماری پارامترهای بیوشیمیایی خون در این مطالعه با توجه به ماهیت طرح از طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی استفاده گردید. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگرف- اسمیرنف و شیپیرو- ویلک تست شد و آزمون لون نیز جهت بررسی برابری واریانس‌ها مورد استفاده قرارگرفت. آنالیز داده‌های مربوط به سطوح AST، ALT، LDH، گلوکز و کورتیزول در طی دوره مجاورت با غلظت‌های مختلف کلریدکادمیوم و هم‌چنین اثر غلظت‌های مورد مطالعه در هر روز توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح اطمینان ۹۵ ٪ صورت گرفت.

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار ارائه شد. از آزمون چنددامنه‌ای دانکن جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. آنالیز داده‌ها بااستفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن۱۶ (Dytham، ۱۹۹۹) انجام شد.

نتایج

طی مدت انجام آزمایش دمای آب ۲۳±۱°C، pH ۷/۵±۰/۱ و اکسیژن ۷/۹±۰/۲ اندازه‌گیری شد. هم‌چنین در مواجهه با غلظت‌های مورد بررسی کلرید کادمیوم، ماهیان رفتارهای غیرطبیعی به شکل بی‌قراری و شنای غیرعادی نشان دادند. ترشح آنی موکوس در تمام سطح بدن ماهیان در معرض آلودگی به‌ویژه در غلظت بالاتر (۰/۲ LC50) مشاهده شد. اگر چه ماهیان تحت تیمار آلودگی در مراحل اولیه (تا روز چهارم) تا حدودی از خوردن غذا اجتناب نمودند، اما بعد از آن، به‌تدریج شروع به تغذیه نمودند. در طول آزمایش تغییر رفتاری در گروه شاهد مشاهده نشد. هم‌چنین مرگ و میری طی دوره آزمایش در گروه‌های شاهد و تحت تیمار آلودگی مشاهده نگردید.

متوسط میزان گلوکز در تیمار شاهد ۳۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. ماهیانی که تحت تاثیر کادمیوم کلراید قرار گرفته بودند، در روزهای مختلف نمونه‌برداری تفاوت در میزان گلوکز را

نشان دادند. داده‌ها حاکی از افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) میزان گلوکز از ۳۰/۶۷±۲/۰۸ به ۵۶/۶۷±۲/۵۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تا روز هفتم در تیمار LC50 ۰/۰۵ و کاهش آن به ۴۰±۳/۴۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در روز چهاردهم می‌باشند. در دوزهای LC50 ۰/۱ و LC50 ۰/۲ افزایش میزان گلوکز به‌ترتیب از ۳۲/۷±۱/۵ به ۵۵±۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و ۳۴±۱ به ۶۰/۵۷±۴/۰۴ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تا روز چهارم بود. در دوزهای LC50 ۰/۱ و LC50 ۰/۲ در روزهای اول، دوم، چهارم و هفتم افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در میزان گلوکز نسبت به تیمار شاهد و LC50 ۰/۰۵ مشاهده گردید. هم‌چنین روند افزایش غیرمعنی‌داری تا روز چهارم در دوز LC50 ۰/۲ نسبت به دوز LC50 ۰/۱ مشاهده شد (شکل ۱).

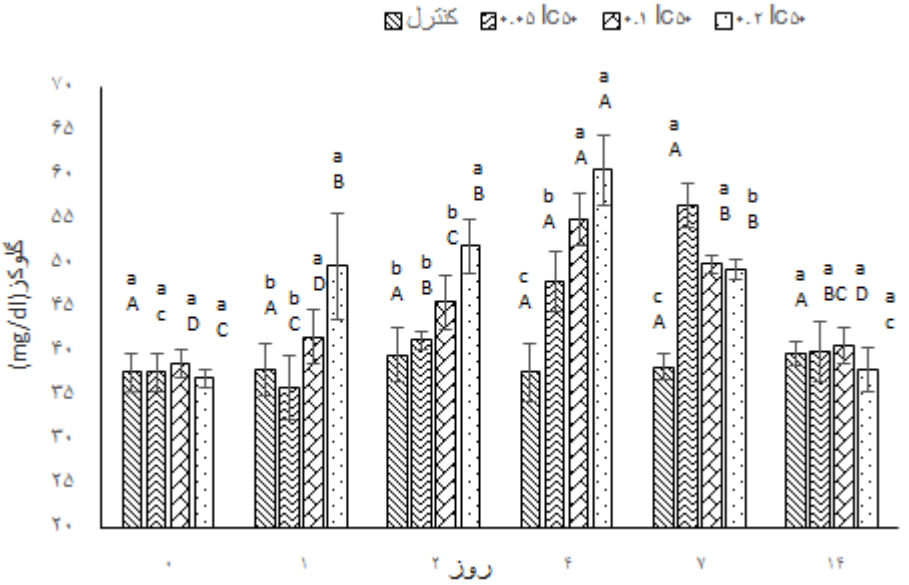
نتایج حاصل از ارزیابی آنزیم‌های آلانین آمینو ترانس‌فراز، آسپارتات آمینو ترانس‌فراز و لاکتات دهیدروژناز سرم جهت بررسی عملکرد کبد، در هر ۳ پارامتر ذکر شده، در کل افزایش نسبت به گروه شاهد مشاهده شد.

نتایج‌حاصل از بررسی AST نشان داد که در تیمار LC50 ۰/۰۵ میزان آنزیم AST تا روز چهارم مواجهه به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) افزایش یافته و از ۲۲۶±۵/۵ به ۲۴۶± ۵/۲ IU/L رسید و سپس کاهش معنی‌دار در میزان آن در روزهای هفتم و چهاردهم مشاهده شد (P<۰/۰۵). روند افزایشی غیرمعنی‌داری در دوزهای LC50 ۰/۱ (از ۲۲۵±۵/۵۶ به ۲۵۹/۳±۱۰/۱ IU/L) و LC50 ۰/۲(۲۲۶±۷/۸ به ۲۶۲/۷±۶/۴ IU/L) تا روز چهارم مشاهده شد. شایان ذکر است که میزان این آنزیم در دوزLC50 ۰/۱ در دو زمان (روزهای اول و چهارم) تغییر معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. در بررسی وابسته به دوز از روز اول تا روز هفتم در دوزهای مختلف افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد، هم‌چنین اختلاف معنی‌داری در روزهای ذکر شده بین میزان این آنزیم در دوز LC50 ۰/۲ نسبت به دوزهای LC50 ۰/۰۵ و LC50 ۰/۱ مشاهده گردید (شکل۲).

در بررسی نتایج ALT مشاهده شد در تیمار LC50 ۰/۰۵ میزان آنزیم ALT تا روز هفتم افزایش یافت و از ۱۲/۶۷±۱/۵۲ به ۱۹±۱/۷ IU/L رسید، ولی این افزایش در تمام روزهای مواجهه نسبت به روز صفر مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری در طی روزهای مواجهه مشاهده نشد و بعد از آن در روز چهاردهم کاهش مقدار تا میزان ۱۶/۶۷±۲/۰۸ IU/L مشاهده شد. در تیمار LC50 ۰/۱ و LC50 ۰/۲ نیز روند افزایش غیرمعنی‌داری (P>۰/۰۵) به‌ترتیب از ۱۴/۷±۳/۵ به ۲۶/۶۷±۴/۱۶ IU/L و ۱۱/۶۷±۱/۵ به ۳۰/۶±۱/۵۲ IU/L تا روز چهارم و سپس کاهش میزان آن در روزهای هفتم و چهاردهم در هر دو تیمار ذکر شده مشاهده شد که این کاهش فقط در روز چهاردهم در تیمار LC50 ۰/۱ معنی‌داری بود (P<۰/۰۵). در بررسی وابسته به دوز در طی دوره آزمایش در کلیه دوزهای مورد بررسی افزایش معنی‌داری(P<۰/۰۵) نسبت تیمار شاهد مشاهده شد. هم‌چنین در دوز بالاتر (LC50 ۰/۲) میزان افزایش بالاتر از سایر دوزهای مورد بررسی بود (شکل۳).

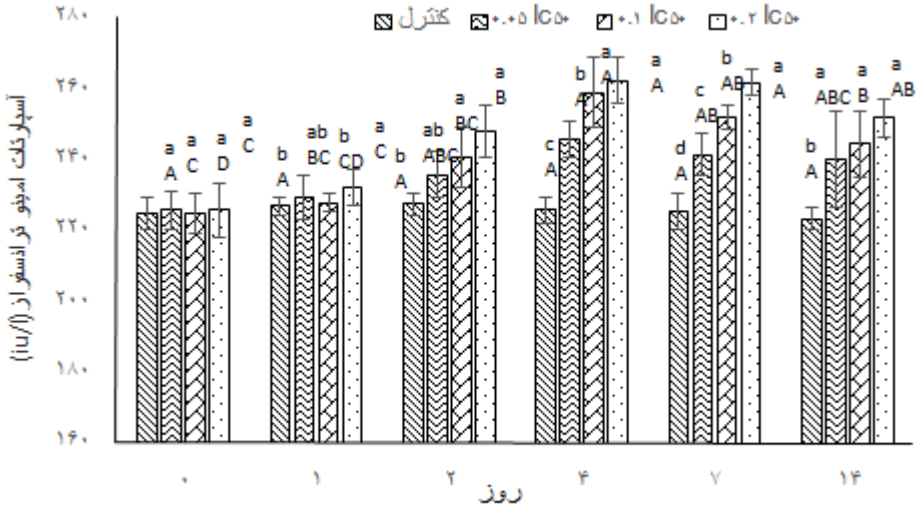
هم‌چنین نتایج بررسی آنزیم LDH نشان داد که در تیمار LC50 ۰/۰۵ میزان این آنزیم به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) از ۱۲۹۰±۱۴/۵ به ۱۳۳۳±۱۲/۵۸ U/L از شروع دوره مواجهه تا روز هفتم افزایش یافت و سپس در روز چهاردهم کاهش یافت. در تیمار LC50 ۰/۱ نیز میزان این آنزیم از ۱۲۹۷±۹/۴۵ به ۱۳۷۶/۷±۴/۱ U/L تا روز چهارم افزایش یافت (P<۰/۰۵) و سپس روند کاهشی غیرمعنی‌داری در میزان آن مشاهده شد. در تیمار LC50 ۰/۲ نیز روند افزایش و کاهشی غیرمعنی‌داری (P>۰/۰۵) به‌ترتیب تا روز چهارم و چهاردهم مشاهده شد در بررسی وابسته به دوز طی دوره آزمایش در کلیه دوزهای مورد بررسی‌افزایش‌معنی‌داری (P<۰/۰۵) نسبت تیمار شاهد مشاهده شد. به‌طور کلی در دوز بالاتر (LC50 ۰/۲) میزان افزایش بالاتر از سایر دوزهای مورد بررسی بود (شکل ۴).

سطوح کورتیزول سرم بچه تاسماهیان قرار گرفته در معرض کادمیوم متناسب با دوز و زمان (روز) افزایش یافت. در روز اول، سطح کورتیزول نسبت به سایر تیمارها بالاترین میزان را نشان داد. افزایش غیرمعنی‌داری (P>۰/۰۵) در روز هفتم نسبت به دو زمان دیگر نمونه‌برداری (روزهای دوم و چهارم) مشاهده شد. هم‌چنین در همه روزهای مورد بررسی میزان هورمون با بالا رفتن دوز افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) را نشان داد (شکل۵).



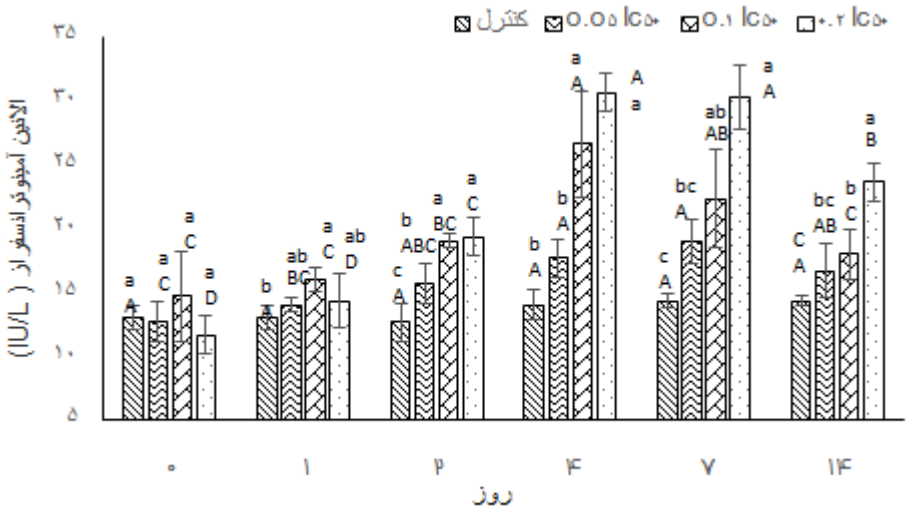
شکل ۱: نمودار تغییرات میزان گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) سرم خون تاس‌ماهی ایرانی در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده کلریدکادمیوم ($CdCl_2$) طی دوره ۱۴ روزه

نتایج براساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند (n=۳). حروف کوچک و بزرگ اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) را در هر روز (a-d) و غلظت (A-D) نشان می‌دهد.



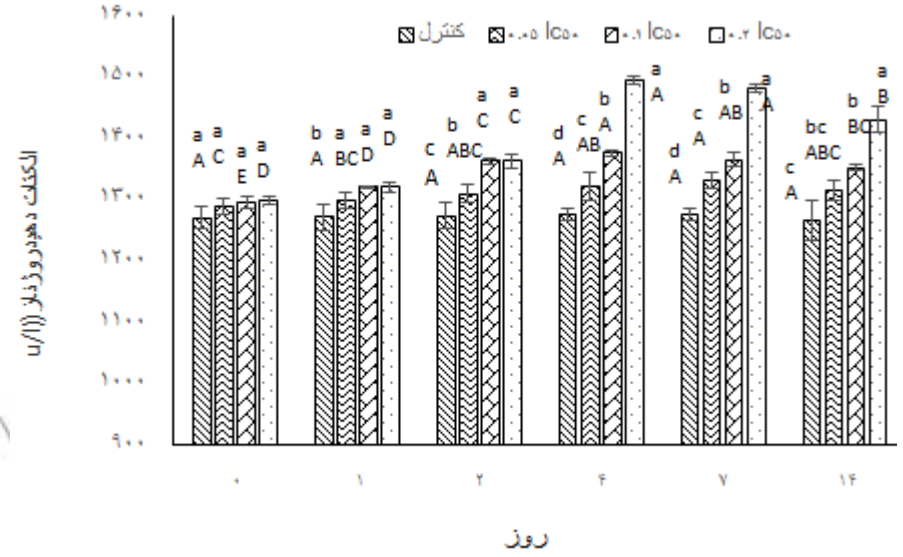
شکل۲: نمودار تغییرات میزان AST (IU/L) سرم خون تاس‌ماهی ایرانی در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده کلریدکادمیوم ($CdCl_2$) طی دوره ۱۴ روزه

نتایج براساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند (n=۳). حروف کوچک و بزرگ اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) را در هر روز (a-d) و غلظت (A-D) نشان می‌دهد.



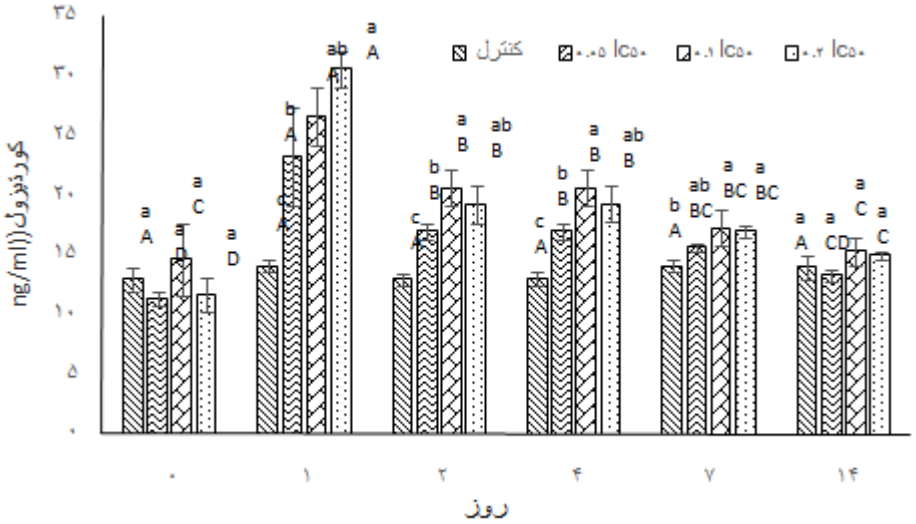
شکل ۳: نمودار تغییرات میزان ALT (IU/L) سرم خون تاس‌ماهی ایرانی در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده کلریدکادمیوم ($CdCl_2$) طی دوره ۱۴ روزه

نتایج براساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند (n=۳). حروف کوچک و بزرگ اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) را در هر روز (a-d) و غلظت (A-D) نشان می‌دهد.



شکل ۴: نمودار تغییرات میزان LDH (U/L) سرم خون تاس‌ماهی ایرانی در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده کلریدکادمیوم ($CdCl_2$) طی دوره ۱۴ روزه

نتایج براساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند (n=۳). حروف کوچک و بزرگ اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) را در هر روز (a-d) و غلظت (A-D) نشان می‌دهد.



شکل ۵: نمودار تغییرات میزان کورتیزول (نانوگرم بر میلی‌لیتر) سرم خون تاس‌ماهی ایرانی در معرض غلظت‌های تحت کشنده کلریدکادمیوم ($CdCl_2$) طی دوره ۱۴ روزه

نتایج براساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند (n=۳). حروف کوچک و بزرگ اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) را در هر روز (a-d) و غلظت (A-D) نشان می‌دهد.

بحث

حساسیت گونه‌های مختلف ماهیان به آلودگی‌های متفاوت متغیر و حتی در یک گونه خاص نیز بسته به سن، جنس و شرایط فیزیولوژیک گونه مورد بررسی و خصوصیات کیفی آب متغیر است (Hedayati و همکاران، ۲۰۱۱؛ Safahieh و همکاران، ۲۰۱۱). در این مطالعه در غلظت‌های مختلف مورد بررسی کلریدکادمیوم رفتارهایی نظیر حرکات تشنجی و شنای غیر عادی مشاهده شد. Shariati و همکاران (۲۰۱۱)، نیز حرکات غیرعادی هم‌چون شنای نامنظم، کاهش فعالیت و حرکت، تغییر در گرفتن غذا را در غلظت‌های تحت کشنده مورد بررسی کادمیوم (۵۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر) به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر گزارش نمودند. در مطالعه حاضر افزایش موکوس مشاهده شده تحت تاثیر کلریدکادمیوم به‌ویژه روی آبشش‌ها، می‌تواند به‌جهت تمایل کادمیوم به عوامل سولفیدریل SH موجود در موکوس باشد. چنین تغییری توسط Rajan و Banerjee (۱۹۹۱) در گربه‌ماهی استینگ (*Heteropneustes fossilis*)، Rema و Philip (۱۹۹۷) در تیلاپیای موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*) و Jaykumar و Paul (۲۰۰۶) در گربه ماهی (*Clarias batrachus*) گزارش شده بود.

سرم ماهی می‌تواند منعکس کننده بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی در متابولیسم باشد (Safahieh و همکاران، ۲۰۱۰؛ Shalaby، ۲۰۰۰). القاء تغییرات بیوشیمیایی نظیر تغییر در فعالیت‌های آنزیمی، اصلاح متابولیسم کربوهیدرات‌ها، تغییرات هماتولوژیکی و تغییر در توانایی اتصال پروتئین‌های خون تحت تاثیر غلظت‌های کشنده و تحت کشنده کادمیوم گزارش شده است (Prabhakar و همکاران، ۲۰۱۲؛ Oruc و Uner، ۱۹۹۹). در مواجهه با آلودگی، پارامترهای بیوشیمیایی و ایمیونولوژیکی خون تغییر می‌نماید. این تغییرات شامل سنتز و تجزیه پروتئین‌ها، افزایش و یا کاهش فعالیت‌های آنزیمی می‌باشد(Di Giulio و Hinton، ۲۰۰۸؛ Agrahari و همکاران، ۲۰۰۷؛ Lemire و همکاران، ۱۹۹۴). تغییرات بعضی از این آنزیم‌ها مانند آمینوترانسفرازها (ALT و AST) و گروه‌های فسفاتازی به‌طور معمول در تشخیص تخریب‌ها و تغییرات متابولیکی که در معرض آلودگی‌ها در ماهی‌ها ایجاد می‌شوند استفاده می‌گردند (Kim و همکاران، ۲۰۰۸؛ De La Torre و همکاران، ۲۰۰۵؛ Teles و همکاران، ۲۰۰۳؛ Livingstone، ۲۰۰۱).

در مطالعه حاضر، الگوی تغییرات آمینوترانس‌فرازها (ALT و AST) در تمامی تیمارها یکسان، ولی شدت تغییرات

متفاوت بود و وابستگی به دوز را نشان داد. افزایش معنی‌دار آسپارتات و آلانین ترانسفراز در ماهیان در مواجهه با کلیه غلظت‌های مورد بررسی تا روز چهارم مشاهده شد (P<۰/۰۵). سپس میزان آن‌ها تا روز چهاردهم روند کاهشی غیرمعنی‌داری (P>۰/۰۵) را نشان داد. آمینوترانسفرازها انتقال یک گروه آمین از یک اسیدآمینه را به ملکول دیگر بدون آزاد شدن آمونیاک کاتالیز می‌نمایند. به‌همین دلیل به آن‌ها آمینوترانسفراز می‌گویند. از آن‌جا که واکنش‌های انتقال آمین برگشت‌پذیر می‌باشند و اسیدهای کتو به‌دست آمده از واکنش مذکور در سنتز کربوهیدرات جدید مورد استفاده قرار می‌گیرند (گلوکونئوژنز). بنابراین، آنزیم‌های ترانس‌آمیناز در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها به‌خصوص در کبد نقش دارند و میزان آن‌ها در ابتدای مواجهه جهت نگه‌داری متابولیسم سلول استفاده می‌گردد. اما با گذشت زمان تحت تاثیر استرس کلریدکادمیوم، هم‌زمان با تخریب کبد، آزادسازی ترانس‌آمینازها به گردش خون و میزان آن‌ها کاهش می‌یابد. هم‌چنین مکانیسم سازگاری نیز می‌تواند به‌عنوان علت کاهش سطح این آنزیم‌ها در نظر گرفته شود. در همین رابطه نکروز کبد و کاهش سطوح آسپارتات و آلانین ترانس‌فرازها بعد از مواجهه شش‌هفته‌ای (طولانی مدت) با کادمیوم در گونه *Puntius conchinius* گزارش شد. De Smet و Blust (۲۰۰۱) مشاهده پاسخ افزایش- کاهشی در سطح این آنزیم‌ها را در ماهی کپور معمولی در مواجهه با کادمیوم را، با بیوسنتز مولکول پیرودوکسیل فسفات (مولکول ضروری برای فعالیت آمینوترانس‌فرازها) در مراحل اولیه و در نتیجه افزایش فعالیت آمینوترانس‌فرازها و کاهش میزان آمینوترانس‌فرازها با از بین‌رفتن بافت‌ها، در انتهای دوره تفسیر کردند.

De La Torre و همکاران (۲۰۰۵) و Rajeshkumar و Munuswamy (۲۰۰۸)، افزایش سطوح آسپارتات و آلانین ترانس‌فراز را به‌ترتیب در گونه‌های (*Cnesterodon decemmaculatus*) و (*Cyprinus carpio*) به‌عنوان زیست نشانگر آب‌های آلوده گزارش نمودند. Oner و همکاران (۲۰۰۸)، تغییر میزان آنزیم‌های AST، ALP و ALT را در مواجهه با فلزات مس و کادمیوم مشاهده و گزارش نمودند که این دو فلز باعث کاهش سطح ALT و افزایش AST و ALP گردیدند. Rajabipour و همکاران (۲۰۰۹)، افزایش میزان ALT در نمونه‌های فیل‌ماهی شهرستان گرگان را به سموم به‌کار رفته در مزارع برنج و نمونه‌های فیل‌ماهی شهر بافق را، به فلزات سنگین ناشی از فعالیت معادن نسبت دادند. Kouad و همکاران (۲۰۱۱)، تغییر سطوح AST و ALT را در ماهی تیلاپیای نیل طی مواجهه با کلرید کادمیوم در مقایسه با گروه شاهد و هم‌چنین Gharaei و همکاران (۲۰۱۱)، افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۱) پارامترهای بیوشیمیایی خون نظیر AST و ALT با افزایش دوز و گذشت زمان را، در بچه فیل‌ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی متیل جیوه مشاهده نمودند. بنابراین، به‌نظر می‌رسد تغییرات میزان AST و ALT می‌تواند به‌عنوان مکانیسم فیزیولوژیکی جبرانی در مواجهه با استرس‌های طولانی‌مدت در نظر گرفته شود.

لاکتات دهیدروژناز یک آنزیم گلیکولیتیک است که می‌تواند به‌عنوان بیومارکر مناسب در ارزیابی سمیت مواد شیمیایی به‌کار برده شود. در مطالعه حاضر، تغییرات افزایش-کاهشی این آنزیم، افزایش در هفت روز اول مواجهه و کاهش غیرمعنی‌دار بعد از آن دیده شد. افزایش لاکتات دهیدروژناز ممکن است به‌جهت نقش این آنزیم در تبدیل لاکتات به پیروات بوده که پیروات حاصله در فرآیند گلوکونئوژنز موجب تولید گلوکز می‌گردد و کاهش آن می‌تواند به تخریب بافتی نسبت داده شود. نتایج مشابهی در پلاسمای خون مارماهی اروپایی (*Anguilla anguila*) در مواجهه با حشره‌کش پلی‌کلرینیتد بی‌فنیل (Balint و همکاران، ۱۹۹۷) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*) در معرض لیندینن (Strmuc و Braunbeck، ۲۰۰۲) گزارش شد.

کورتیزول هورمونی است که از قشر فوق‌کلیوی در پاسخ به دامنه وسیعی از استرس‌ها ترشح می‌شود (Ling و همکاران، ۲۰۰۳؛ Cataldi و همکاران، ۱۹۹۸؛ Roche و Boge، ۱۹۹۶). در این مطالعه بیش‌ترین میزان کورتیزول در روز اول مواجهه مشاهده شد و پس از آن روند کاهشی مشاهده گردید. این افزایش در مقادیر هورمون کورتیزول پلاسما را در روز اول را می‌توان مرتبط با پاسخ سازشی این هورمون در کاهش استرس با به حرکت درآوردن ذخایر انرژی (فعالیت ATPase) و کمک به حفظ تعادل یونی دانسته و کاهش آن در روزهای بعدی مواجهه احتمالاً به تولید ترکیبات یا پروتئین‌های دیگر نسبت داده می‌شود که اثرات حاصله را طی زمان تقلیل داده است. هم‌چنین دوز پایین کلریدکادمیوم مورد استفاده نیز می‌تواند دلیل کاهش سریع آن باشد. در بسیاری از ماهیان، مقادیر کورتیزول پلاسما در ابتدای مواجهه با فلزات سنگینی هم‌چون کادمیوم افزایش می‌یابد و پس از گذشت چند روز از آغاز آزمایش به سطح اولیه خود باز می‌گردد که چنین روندی توسط Karyatug و همکاران (۲۰۱۰) در گربه‌ماهی آفریقایی

(*Clarias gariepinus*) و Shariati و همکاران (۲۰۱۱) در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در مواجهه با کادمیوم و Gharaei و همکاران (۲۰۱۰) در فیل‌ماهی (*Huso huso*) در تغذیه با متیل جیوه گزارش شد. Gupta و همکاران (۲۰۱۲)، در مطالعه غلظت‌های مختلف منگنز در ماهی گارا (*Gotyla gotyla*) افزایش مقدار کورتیزول را در هفته اول مشاهده نمودند.

گلوکز کربوهیدراتی است که نقش مهمی در انرژی زیستی حیوانات داشته و می‌تواند به انرژی شیمیایی تبدیل شود (Lucas، ۱۹۹۶). در طی پروسه گلوکوژنزیز و گلیکوژنولیز جهت تأمین انرژی مورد نیاز، تولید (Iwama و همکاران، ۱۹۹۹) و به خون رها می‌شود (Nelson و Cox، ۲۰۰۵). نتایج مطالعه حاضر افزایش میزان گلوکز را در مواجهه با کادمیوم نشان داد. افزایش گلوکز در چهار روز اول در همه غلظت‌های کادمیوم‌کلراید ممکن است به‌جهت افزایش کاتکول‌آمین‌ها و گلوکونئوژنزیز بوده و کاهش بعد از آن می‌تواند به‌تخریب بافتی نسبت‌داده شود چنین پاسخی در گونه‌های مختلف در مواجهه با آلاینده‌های مختلف مشاهده شده است، هم‌چنین مکانیسم سازگاری نیز می‌تواند عامل دیگری در کاهش گلوکز در نظرگرفته شود (Gharaei و همکاران،۲۰۱۰؛ Abdel-Tawwab و همکاران، ۲۰۰۷؛ Chowdhury و همکاران، ۲۰۰۰؛ Canli، ۱۹۹۶؛ Canli، ۱۹۹۵). Oner و همکاران (۲۰۰۸)، افزایش غلظت گلوکز را در ماهیان در مواجهه با نقره، کادمیوم و مس گزارش نمودند.

به‌طورکلی غلظت‌های تحت کشنده مورد استفاده در این مطالعه، برای بچه تاسماهیان ایرانی استرس‌زا بودند و پاسخ بیولوژیک و شاخص‌های خونی استرس در این گونه با تغییرات در سطح کورتیزول در روز اول آغاز و با افزایش زمان مواجهه به‌ترتیب تغییرات در سطوح گلوکز و آنزیم‌های کبدی (آسپارتات و آلانین ترانس‌فراز و لاکتات دهیدروژناز) در روز چهارم پایش گردید که در صورت ادامه آلودگی و بالارفتن دوز، این تغییرات می‌تواند در سطح بافت، دستگاه، ارگانیزم، جمعیت و اکوسیستم توسعه یابد. بنابراین شاخص‌های خونی مذکور می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های استرس در پایش تغییرات اکوتوکسیکولوژی محسوب گردند.

منابع

۱. **پورکاظمی، م.، ۱۳۸۹.** تحلیلی بر وضعیت دخایر ماهیان خاویاری و تولید خاویار در کشور. انستیتو تحقیقات ماهیان خاویاری. ۱۰۰صفحه.

۲. **فداکارماسوله، ف.؛ مجازی‌امیری، ب.؛ میرزاقفی، ع. و نعمت‌اللهی، م.ع.، ۱۳۹۰.** بررسی اثرات مس و کادمیوم بر پارامترهای حرکتی اسپرم ماهی سفید دریای خزر(*Rutilus frissi kutum*). نشریه شیلات. مجله منابع طبیعی ایران. شماره ۱، صفحات ۶۵ تا ۷۴ .

۳. **قرایی، ا. و غفاری، م.، ۱۳۸۹.** هم‌بستگی بین متیل جیوه تجمع یافته در اندام‌های کبد و کلیه و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه فیل‌ماهیان جوان(*Huso huso*). نشریه دامپزشکی. شماره ۸۸، صفحات ۳۴ تا ۳۹.

۴. **میرزایی، م.، ۱۳۸۲.** بررسی سمیت فلزات سنگین در تاس‌ماهی ایرانی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی لاهیجان. ۱۰۰ صفحه.

5. **Abdel-Tawwab, M.; Mousa, M. and Abbass, F., 2007.** Growth performance and physiological response of African catfish (*Clarias gariepinus*) fed organic selenium prior to the exposure to environmental copper toxicity. Aquaculture. Vol.272, No. 1-4, pp: 335-345.

6. **Agrahari, S.; Pandey, K.C. and Gopal, K., 2007.** Biochemical alternation induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, Bloch (*Channa punctatus*). Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. 88, No. 3, pp: 268-272.

7. **Agusa, T.; Kunito, T.; Tanabe, S.; Pourkazemi, M. and Aubrey, D., 2004.** Concentrations of trace elements in muscle of sturgeons in the Caspian Sea. Mar Pollut Bull. Vol. 49, No. 9-10, pp: 789-800.

8. **Balint, T.; Ferenczy, G.; Katai, F.; Kiss, I.; Kraczer, L.; Kufcsak, O.; Lang, G.; Polyhos, C.; Szabo, I.; Szegletes, T. and Nemcsok, J., 1997.** Similarity and difference between the Massive eel (*Anguilla anguilla*) devastation that occurred in lake Balaton in 1991 and 1995. Ecotox Environ Safe. Vol. 29, No. 1, pp: 17-23.

9. **Cambier, S.; Gonzalez, P.; Durrieu, G. and Bourdineaud, J.P., 2010.** Cadmium-induced genotoxicity in zebra fish at environmentally relevant doses. Ecotox Environ Safe. Vol. 73, No. 3, pp: 312-319.

10. **Canli, M., 1995.** Effects of mercury, chromium, and nickel on some blood

parameters in the carp (*Cyprynus carpio*), Turk J Zool. Vol.19, No. 1, pp: 305-311.

11. **Canli, M., 1996.** Effects of mercury, chromium, and nickel on glycogen reserves and protein levels in tissues of (*Cyprynus carpio*), Turk J Zool. Vol. 20, No.1, pp: 161-168.
12. **Cataldi, E.; Di Marco, P.; Mandich, A. and Cataudella, S., 1998.** Serum parameters of Adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*): effects of temperature and stress. Comp Biochem Physiol. Vol. 121, No. 4, pp: 351-354.
13. **Chowdhury, I. and Joy, K.P., 2000.** Effects of administration of testosterone on some biochemical correlation in seminal vesicle of Bloch (*Heteropneustes fossilis*) during preparatory phase: a study correlating changes in plasma testosterone level and testis activity. Indian J Exp Biol. Vol. 38, No. 2, pp: 713-719.
14. **De La Torre, F.R.; Salibian, A. and Ferrari, L., 2005.** Biomarkers of a native fish species (*Cnesterodon decemmaculatus*) application to the water toxicity assessment of a per-urban polluted river of Argentina. Chemosphere. Vol. 59, No. 4, pp: 577-583.
15. **De Smet, H. and Blust, R., 2001.** Stress responses and changes in protein metabolism in Carp (*Cyprinus carpio*) during cadmium exposure. Ecotox Environ Safe. Vol. 48, No. 3, pp: 255- 262.
16. **Di Giulio, R.T. and Hinton, D.E., 2008.** The Toxicology of Fishes. Taylor and Francis. pp: 632-884.
17. **Deng, D.F.; Wang, C.H.; Lee, S.; Bai, S. and Hung, S.O., 2009.** Feeding rates affect heat shock protein levels in liver of larval white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Aquaculture. Vol. 287, No. 2, pp: 223-226.
18. **Dytham, C., 1999.** Choosing and Using Statistics: a Biologist GUIDE. Blackwell Science Ltd. London. 254 p.
19. **Gharaei, A.; Mahboudi, F.; Esmaili-Sari, A.; Edalat, R.; Adeli, A. and Keyvanshokooh, S., 2010.** Molecular cloning of cDNA of mammalian and chicken II gonadotropin-releasing hormones (mGnRHs and cGnRH-II) in the beluga (*Huso huso*) and the disruptive effect of methylmercury on gene expression. Fish Physiol Biochem. Vol. 36, No. 3, pp: 803–817.
20. **Gupta, S.C.; Sharma, A.; Mirshra, M.; Mishra, R.K. and Chowdhuri, D.K., 2010.** Heat shock proteins in toxicology: How close and How far. Life Sci. Vol. 86, No. 11-12, pp: 377- 384.
21. **Heath, A.G., 1995.** Water Pollution and Fish Physiology. 2nd ed. CRC. Boca Raton, FL, USA. 245 p.
22. **Hedayati, A. and Safahieh, A., 2011.** Serum hormone and biochemical activity as biomarkers of mercury pollution in yellow fin seabream (*Acanthopagrus latus*). Toxicol Ind Health. Vol. 28, No. 4, pp: 306-319.
23. **Huang, H.Q.; Xiao, Z.Q.; Lin, Q.M. and Chen, P., 2005.** Characteristics of trapping various organophosphorus pesticides with a ferritin reactor of Shark liver (*Sphrna zygaena*). Anal Chem. Vol. 77, No. 6, pp: 1920-1927.
24. **Iwama, G.K.; Takemura, A. and Takano, K., 1999.** Oxygen consumption rates of tilapia in fresh water, sea water, and hyper saline sea water. J Fish Biol. Vol. 51, No. 5, pp: 886-894.
25. **Jayakumar, P. and Paul, V.I., 2006.** Pattern of cadmium accumulation in selected tissues of the cat fish (*Clarias batrachus*) exposed to sublethal concentration of cadmium chloride. Vet Arhiv. Vol. 76, No. 2, pp: 167-177.
26. **Joseph, B. and Raj, S.J., 2011.** Impact of pesticide toxicity on selected biomarkers in fishes. Int J Zool Res. Vol. 7, No. 2, pp: 212-220.
27. **Kim, S.G.; Park, D.K.; Jange, S.W.; Lee, J.S.; Kim, S.S. and Chung, M.H., 2008.** Effects of dietary benzo[a]pyrene on growth and hematological parameters in juvenile rockfish (*Sabates schlegeli*). B Environ Contam Tox. Vol. 81, No. 3-4, pp: 470-474.
28. **King, E.J. and Armstrong, A.R., 1965.** A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. Can Med Assoc J. Vol. 31, No. 4, pp: 376–381.
29. **Koaud, H.A.; Zaki, M.M.; EI-Dahshan, A.R.; Saeid, S.H. and EL Zorba, H.Y., 2011.** Amelioration the toxic effects of cadmium exposure in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by using Lemna gibba. Life sci J. Vol. 8, No. 1, pp: 185-195.
30. **Lemaire, P.; Matthews, A.; Forlin, L. and Livingstone, D.R., 1994.** Stimulation of oxyradical production of hepatic microsomes of flounder (*Platichthys flesus*) and perch (*Perca fluialis*) by model and pollutant xenobiotics. Arch Environ Con Tox. Vol. 26, No. 2, pp: 191-200.
31. **Leung, W.; Chan, P.; Bosgoed, F.; Lehmann, K.; Renneberg, I. and Lehmann,**

M., 2003. One- step quantitative cortisol dipstick with proportional reading. J Immunol Method. Vol. 281, No. 1-2, pp: 109-118.

32. **Ling, X.P.; Zhu, J.Y.; Haung, L. and Huang, H.Q., 2009.** Proteomic changes in response to acute cadmium toxicity in gill tissue of *Paralichthys olivaceus*. Environ Toxicol Phar. Vol. 27, No. 1, pp: 211-218.
33. **Livingstone, D.R., 2001.** Contaminant-stimulated reactive oxygen production and oxidative damage in aquatic organisms. Mar Pollut Bull. Vol. 42, No. 8, pp: 163-173.
34. **Lucas, A.1996.** Physical concepts of bioenergetics. In Locus A (ed) Bioenergetics of Aquatic Animals. English edition Taylor and Francis, France. 169 p.
35. **Malakpour Kolbadinezhad, S.; Hajimoradloo, A.; Ghorbani, R.; Joshaghani, H. and Wilson, J.M., 2012.** Effects of gradual salinity increase on osmoregulation in Caspian roach (*Rutilus caspicus*). J Fish Biol. Vol. 81, No, 1, pp: 125-134.
36. **Nelson, D.L. and Cox, M.M., 2005.** Lehninger principle of biochemistry, 4th ed. New York, USA.WH. 1013 p.
37. **Oliveira Ribeiro, C.A.; Belger, L.; Pelletier, E. and Rouleau, C., 2002.** Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in Arctic char (*Salvelinus alpines*). Environ Res. Vol. 90, No. 3, pp: 217-225.
38. **Oner, M.; Atli, G. and Canli, M., 2008.** Changes in serum biochemical parameters of freshwater fish (*Oreochromis niloticus*) following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures. Environ Toxicol Chem. Vol. 27, No. 2, pp: 306-366.
39. **Oruc, E.O. and Uner, N., 1999.** Effect of 2,4-diamin on some parameters of protein and carbohydrate metabolisms in the serum, muscle and liver of (*Cyprinus carpio*). Environ Pollut. Vol. 105, No, 2, pp: 262-272.
40. **Parizanganeh, V.; Lakhan, C. and Jalalian, H., 2007.** A geochemical and statistical approach for assessing heavy metal pollution in sediments from the Southern Caspian coast. Int J Environ Sci Te. Vol. 4, No, 3, pp: 351-358.
41. **Pourang, N.; Tanabe, S.; Rezvani, S. and Dennis, H., 2005.** Trace elements accumulation in edible tissues of five sturgeon species from the Caspian Sea. Environ Monit Assess. Vol. 100, No. 1-3, pp: 89-108.
42. **Prabhakar, C.; Saleshrani, K.; Tharamarj, K. and Vellaiyan, M., 2012.** Studies on the effect of cadmium compound on the biochemical parameters of fresh water fish in (*Cirrhinus mrigala*). Int J Pharm Biol Arch. Vol. 3, No. 1, pp: 69-73.
43. **Radhakrishnan, M.V. and Hemalatha, S., 2010.** Sublethal toxic effects of cadmium chloride to liver of fresh water fish (*Channa striatus*). American- Eurasian Journal of Toxicological Sciences. Vol. 2, No. 1, pp: 54-56.
44. **Rajabipour, F.; Shahsavarani, D.;Moghimi, A.; Jamili, S.H. and Mashaii, N., 2009.** Comparison of serum enzyme activity in Great sturgeon (*Huso huso*) cultured in brackish and fresh water earth ponds in Iran. Comparative Clinical Pathology. DOI 10.1007/s00580-009-0871-2.
45. **Rajan, M.T. and Banerjee, T.K., 1991**. Histopatological changes induced by acute toxicity of mercuric chloride on the epidermis of freshwater catfish (*Heteopneutes fossilis*). Ecotox Environ Safe. Vol. 22, No. 2, pp: 139-152.
46. **Rajamanickam, V. and Muthuswamy, N., 2008.** Effect of heavy metals induced toxicity on metabolic biomarkers in common carp (*Cyprinus carpio*). Maejo Int J Sci Tech. Vol. 2, No. 1, pp: 192-200.
47. **Reitman, S. and Frankel, A.S., 1957.** A colorimetric method for the determination of serum glutatmic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol. Vol. 28, No. 1, pp: 56-63.
48. **Rema, L.P. and Philip, B., 1997.** Accumulation of an essential metal (Zink) and a non-essential metal (Mercury) in different tissues of (*Oreochromis mossambicus*). Indian J Exp Biol. Vol. 35, No. 1, pp: 67-69.
49. **Roche, H. and Boge, G., 1996.** Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxification. Mar Environ Res. Vol. 41, No. 1, pp: 27-43.
50. **Rose, W.L.; Nisbet, R.M.; Green, P.G.; Norris, S.; Fan, T.; Smith, E.H.; Cherr, G.N. and Anderson, S.L., 2006.** Using an integrated approach to link biomarker responses and physiological stress to growth impairment of cadmium-exposed larval top smelt. Aquat Toxicol. Vol. 80, No. 3, pp: 298–308.
51. **Safahieh, A.; Hedaiati, A.; Savari, A. and Movahedinia, A., 2011.** Effect of sub lethal dose of mercury toxicity on liver cells and

tissue of yellowfin seabream. Toxicol Indust Health. Vol. 28, No. 7, pp: 583-592.

52. **Sassi, A.; Darias, M.J.; Said, K.; Messaoudi, I. and Gisbert, E., 2013.** Cadmium exposure affects the expression of genes involved in skeletogenesis and stress response in gilthead sea bream larvae. Fish Physiol Biochem. Vol. 39, No. 3, pp: 649-659.
53. **Shahratash, M.; Mohsenzadeh, S. and Mohabatjar, H., 2010.** Calcium-induced genotoxicity detected by the random amplification of polymorphism DNA in the maize seeding roots. J Cell Mol Res. Vol. 2, No. 1, pp: 42-48.
54. **Shalaby, A., 2000.** Sub lethal effects of heavy metals copper, cadmium and zinc alone or in combinations on enzymes activities of common carp (*Cyprinus carpio*). Egypt J Aquat Biol Fisheries. Vol. 4, No. 2, pp: 229-246.
55. **Shariati, F.; Esmaili Sari, A.; Mahinchian, A. and Pourkazemi, M., 2011.** Metallothionein as potential biomarker of cadmium exposure in Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*). Biol Trace Elem Res. Vol. 143, No. 1, pp: 281-291.
56. **Strmac, M. and Braunbeck, A., 2002.** Cytological and biochemical effects of a mixture of 20 pollutants on isolated rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) hepatocytes. Ecotox Environ Safe. Vol. 53, No. 2, pp: 293-304.
57. **Teles, M.; Pacheco, M. and Santos, M.A., 2003.** *Anguilla anguilla* Liver EROD, GST, erythrocytic nuclear abnormalities and endocrine responses to naphthalene and β-naphthoflavone. Ecotox Environ Safe. Vol. 55, No. 1, pp: 98-107.
58. **Trinder, P., 1969.** Determination of glucose concentration in the blood. Ann Clin Biochem. Vol. 6, No. 1, pp: 24-27.
59. **Wang, W.; Batterman, S.; Chernyak, S. and Nriagu, A., 2008.** Concentrations and risks of organic and metal contaminants in Eurasian caviar. Ecotox Environ Safe. Vol. 71, No. 1, pp: 138-148.