

بررسی اثر آلودگی کلرید سرب بر مراحل تکوین جنین گونه‌ی زینتی آنجل ماهی (*Pterophyllum scalar*)

سارا شکری¹، مهر انگیز صدوقی²، همایون حسین زاده³

1- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی، تهران، ایران.

2- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، استاد دانشکده علوم زیستی، تهران، ایران. mehrengizsadooghi@yahoo.com

3- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: 92/7/29 تاریخ پذیرش: 92/9/15

چکیده

زمینه و هدف: امروزه با دخالت صنعتی بشر میزان فلزات سنگین در محیط افزایش یافته و موجبات صدمه به محیط زیست را فراهم می‌کند. هدف از این تحقیق بررسی اثر آلودگی کلرید سرب بر مراحل تکوین جنین گونه‌ی زینتی آنجل ماهی (*Pterophyllum scalar*) است.

روش کار: بدین منظور پس از انتخاب 5 جفت ماهی آنجل و لقاح و تهیه تخم ماهی، در مرحله اول پژوهش برای تعیین غلظت سمیت حاد LC_{50} کلرید سرب، 4 غلظت 6، 10، 20 و 40 $\mu\text{g/L}$ و شاهد انتخاب و برای هر غلظت در 3 تکرار نمونه برداری انجام شد. مدت نمونه برداری برای هر غلظت در هر تکرار 96 ساعت در نظر گرفته شد و در نهایت در هر تکرار تعداد جنین های تلف شده (سفید شده) شمارش گردید. در مرحله دوم پژوهش اثر تغییرات حاصل از سمیت کلرید سرب بر مراحل تکوین جنین ماهی آنجل بر اساس طول جنین مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور 4 غلظت کمتر از LC_{50} انتخاب و در 3 تکرار نمونه برداری صورت گرفت. یافته ها: نتایج نشان داد که غلظت سمیت حاد در مطالعه حاضر برابر $6 \mu\text{g/L}$ بود. هم چنین افزایش غلظت کلرید سرب سبب تاخیر در طول رشد جنین به نسبت نمونه شاهد گردید. در واقع کلرید سرب، باعث تاخیر در زمان رشد در جنین ماهی شد. این تاخیر با افزایش غلظت‌های تحت تیمار، افزایش یافت. نتایج نشان داد که در ساعت 20 بعد از لقاح بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود دارد. واژه های کلیدی: سرب، جنین ماهی، ماهی آنجل.

مقدمه

پایین دست بر جا می‌گذارد، به گونه‌ای که کلیه مصرف کنندگان اعم از انسان، حیوانات و صنایع، در معرض خطر زیست محیطی قرار می‌گیرند (6). هم چنین تأمین آب سالم و بهداشتی و حفاظت منابع از آلودگی، یکی از دغدغه‌های کنونی دولت و مراکز تصمیم‌گیری است. لذا لزوم جلوگیری از تخریب منابع آبی و آب‌های روان سطحی، با شناسایی، اندازه‌گیری آلاینده‌ها و وضع و اجرای قوانین بیش از پیش اهمیت پیدا می‌کند (9). فاکتورهای متعددی وجود دارند که در جذب سرب و هم چنین میزان سمیت آن در ماهی‌ها تاثیر گذر هستند. بعضی از این عوامل عبارتند از اشکال آزاد، آلی و غیر آلی سرب، درجه حرارت آب، سختی آب و شوری آب

در ابتدای رشد جوامع کوچک، پسماندها و پساب‌های شهری، صنعتی، تولیدی و خدماتی به داخل رودخانه‌ها تخلیه می‌شد و حتی تصور بر این بود که این پسماندها غذای ماهیان و موجودات آبی شده و موجب رشد و نمو می‌گردد (3). در کشورهای در حال توسعه، عدم اجرای درست و نظارت صحیح قوانین و رشد نامتمرکز صنعت، باعث شده است که منابع آبی به ویژه رودخانه‌ها، هر روز آلوده تر از گذشته گردند (7). آب‌های روان سطحی و آب های زیر زمینی به دلیل استفاده‌های گسترده انسانی و صنعتی از آن‌ها، از اهمیت زیست محیطی بالایی برخوردارند. هر گونه آلودگی آب‌های روان سطحی در بالادست، تأثیرات نامطلوب زیادی در

مطالعات میکروسکوپی به منظور بررسی اثرات زیر صورت پذیرفت. جهت تعیین غلظت سمیت حاد (LC50)، چهار غلظت 6، 10، 20 و 40 میکروگرم بر لیتر و شاهد انتخاب گردید (16). سپس از 5 جفت ماهی آنجلی تعداد 150 عدد تخم گرفته شد که به 15 گروه 10 تایی تقسیم شدند و برای هر غلظت، 3 تکرار در نظر گرفته و در نهایت تعداد جنین‌های تلف شده شمارش گردید (4).

بعد از تعیین غلظت سمیت حاد برای تعیین اثر کلرید سرب بر مراحل ارگانوژنز و روند رشد جنین و مقایسه طول جنین در ساعت‌های مشخص شده و تمایز کلیه اقدام شد. بدین منظور ابتدا 4 غلظت که کمتر از غلظت سمیت حاد بود با مقادیر 0/5، 1/5، 3 و 4/5 میکروگرم بر لیتر تهیه و از 5 جفت ماهی تعداد 120 عدد تخم را گرفته شد. تخم‌ها در 12 ظرف شیشه‌ای به تعداد 10 تخم (برای هر غلظت سه تکرار) در هر ظرف تقسیم شدند. فواصل زمانی برداشت نمونه از ساعت 20 بعد از لقاح به فواصل زمانی هر 6 ساعت یک بار انجام گردید. برای انجام تحقیق در تمامی طول مطالعه هوادهی و ضد عفونی محیط انجام آزمایش صورت گرفت. هم‌چنین در هر نمونه گیری تخم‌ها به صورت تصادفی انتخاب شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

برای تعیین تاثیر غلظت‌های مختلف بر طول رشد جنین از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه استفاده شد. هم‌چنین برای تعیین میزان تفاوت بین غلظت‌های مختلف از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. برای مقایسه هر غلظت در ساعت‌های مختلف نمونه‌برداری و تاثیر آن بر تغییرات طول رشد نیز از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه استفاده شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌ها توسط نرم افزار SPSS نسخه 17 صورت گرفت. جهت تعیین تاثیر سمیت کلرید سرب بر مراحل تکوین جنین، طول جنین از نرم افزار Axio vision استفاده شد.

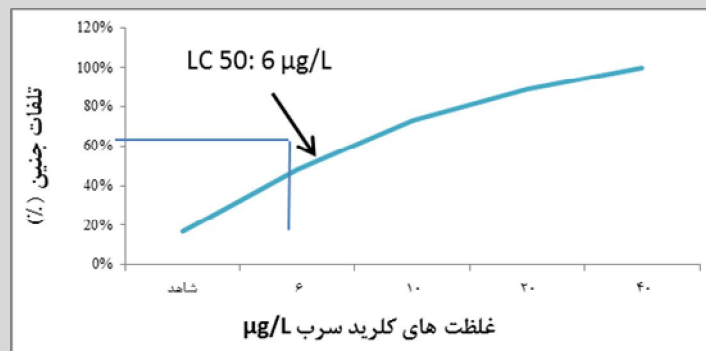
می‌باشد (15). آبشش‌ها، پوست و لوله‌ی گوارشی محل‌های جذب سرب می‌باشند (5). سرب می‌تواند در اندام‌های داخلی پخش شود و برای دفع، مجدداً به کبد و کلیه بازگشته و با مکانیسم دفع گردد. برای نقل و انتقال فلزات ضروری راه‌های اختصاصی و حامل‌های مخصوص وجود دارد. در حالی که جذب فلزات مسمومیت‌زا و غیر ضروری مانند سرب راه اختصاصی ندارد و مشابه فلزات ضروری صورت می‌گیرد (13). این انتقال در ماهی از طریق کانال‌های کلسیمی آبشش در سایر اندام‌های داخلی و پخش آن در اندام‌ها توسط دستگاه گردش خون صورت می‌گیرد. سلول‌های خونی و پروتئین‌های پلاسما در انتقال سرب نقش اساسی دارند (20، 17). ماهیانی که به طور مکرر در معرض غلظت‌های سمی سرب قرار می‌گیرند نشانه‌هایی متنوع از مسمومیت با سرب را نشان می‌دهند. این نشانه‌ها عبارتند از انحنای ستون مهره‌ها، کاهش قدرت و توانایی شنا کردن، آتروفی عضلات، کاهش رشد و افزایش غلظت سرب در خون، استخوان، کبد، کلیه و کاهش میزان گلیکوژن در کبد، کلیه، مغز و عضلات می‌باشد (11، 8، 1). با توجه به اهمیت سلامتی در رشد ماهیان، مخصوصاً ماهیان زینتی، از جمله گونه زینتی ماهی انجلی (*Pterophyllum scalare*) که به زبان عامه آنجلی خوانده می‌شود، مراحل تکوین جنینی به سرعت انجام می‌شود، بنابراین در این تحقیق تاثیر آلاینده بر روند اندام‌زایی و درصد ناهنجاری در دوره‌های مختلف مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

مواد و روش‌ها

تخم ماهی از کارگاه پرورش ماهی واقع در 10 کیلومتری اطراف مشهد از چند جفت ماهی بالغ که به صورت تصادفی جفت‌گیری کرده بودند تهیه گردید. نمونه‌های اخذ شده برای انجام کار آزمایشگاهی به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران-شمال منتقل و

نتایج

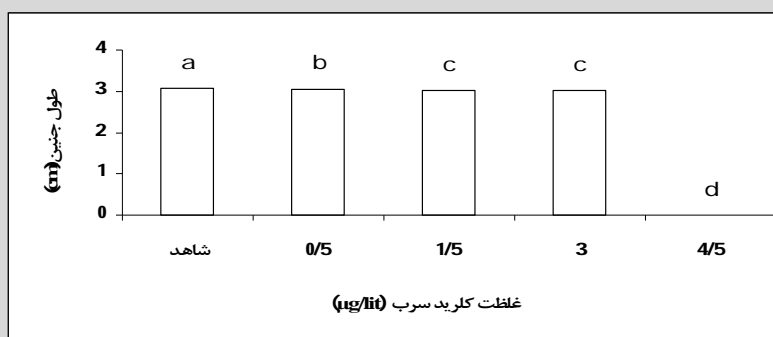
غلظت کشنده کلرید سرب برای ماهی آنجل حدود غلظت 6 میکرو گرم بر لیتر محاسبه گردید (نمودار 1).



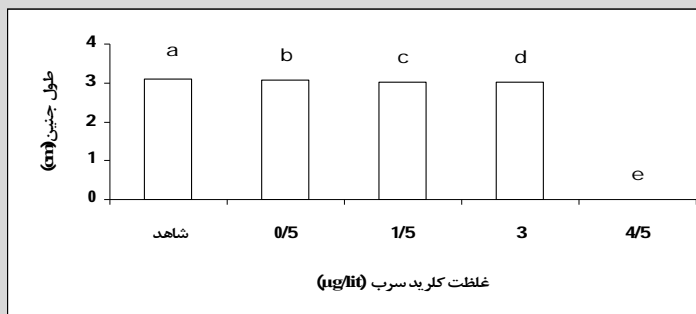
نمودار 1- تعیین غلظت سمیت حاد کلرید سرب بر جنین ماهی آنجل

32 در غلظت 4/5 میکرو گرم بر لیتر در جنین رشد مشاهده شد. در ساعت 48 در تیمار غلظت 4/5 تمامی جنین ها در اثر غلظت بالای کلرید سرب تلف شدند. در این ساعت 56 در تیمار غلظت 4/5 و 3 تمامی جنین ها در اثر غلظت بالای کلرید سرب تلف شدند. در این ساعت 62 در تیمار غلظت 4/5 و 3 تمامی جنین ها در اثر غلظت بالای کلرید سرب تلف شدند. در این ساعت 62 در تیمار غلظت 4/5 و 3 تمامی جنین ها در اثر غلظت بالای کلرید سرب تلف شدند.

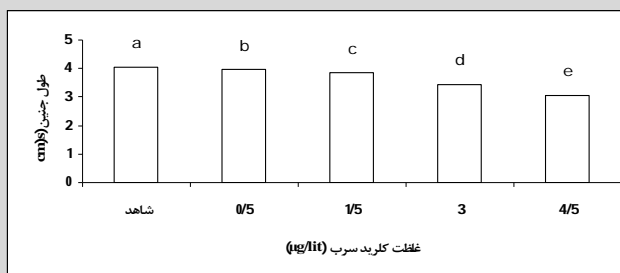
نتایج این تحقیق نشان داد که کلرید سرب، باعث تاخیر در زمان رشد در جنین ماهی مذکور گردیده است. این تاخیر با افزایش غلظت های تحت تیمار، افزایش یافت. تاخیر ایجاد شده در زمان رشد را می توان با کمک شکل های که بر اساس اندازه ی طول جنین رسم شده اند نیز مقایسه نمود. نتایج نشان داد که در ساعت 20، 26، 32، 38، 44، 50، 56، 62، 68، بعد از لقاح بین تیمار ها اختلاف معنی داری وجود داشت. نتایج آزمون دانکن نیز این مهم است را تایید می کند (نمودار 2-10). در ساعت



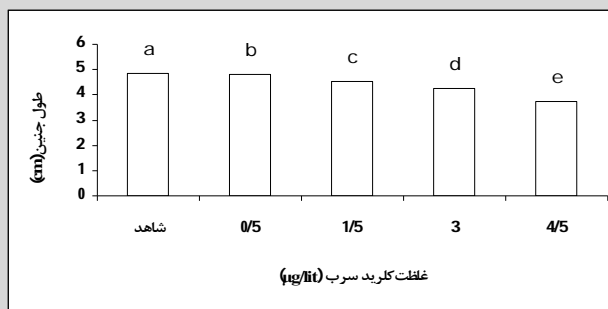
نمودار 2- تغییرات طول جنین در غلظت های مختلف کلرید سرب در ساعت 20 بعد از لقاح (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است)



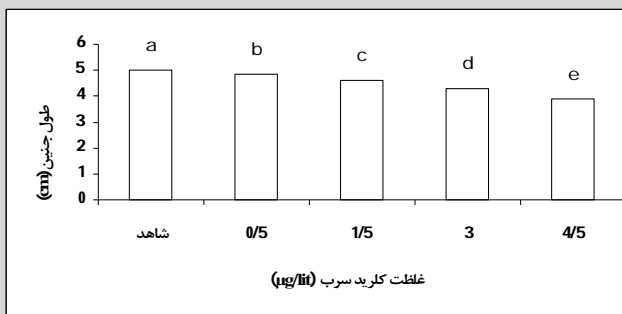
نمودار 3 - تغییرات طول جنین در غلظت های مختلف کلرید سرب در ساعت 26 بعد از لقاح (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است)



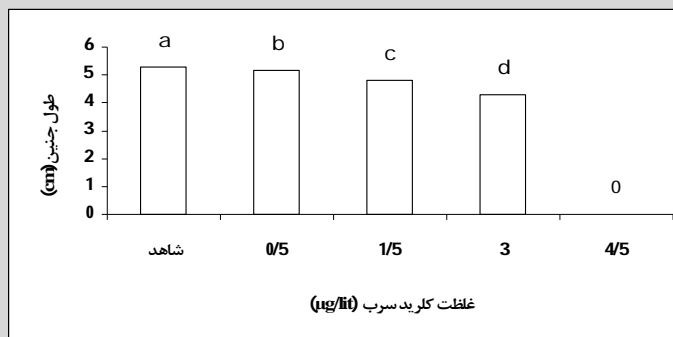
نمودار 4 - تغییرات طول جنین در غلظت های مختلف کلرید سرب در ساعت 32 بعد از لقاح (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است)



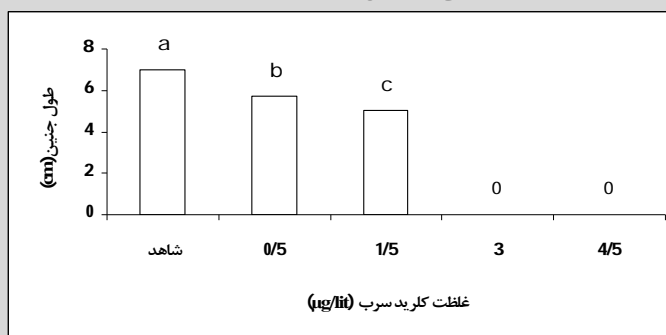
نمودار 5 - تغییرات طول جنین در غلظت های مختلف کلرید سرب در ساعت 38 بعد از لقاح (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است)



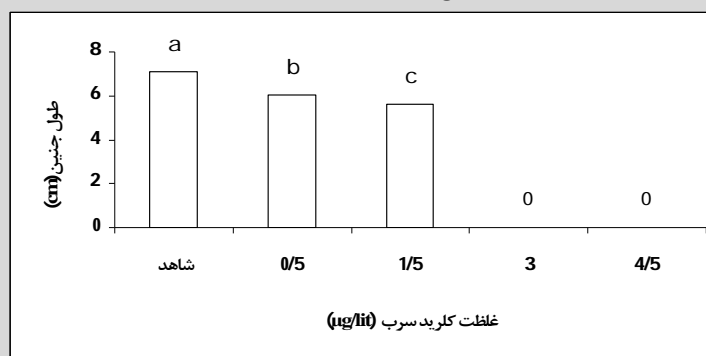
نمودار 6 - تغییرات طول جنین در غلظت های مختلف کلرید سرب در ساعت 44 بعد از لقاح (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است)



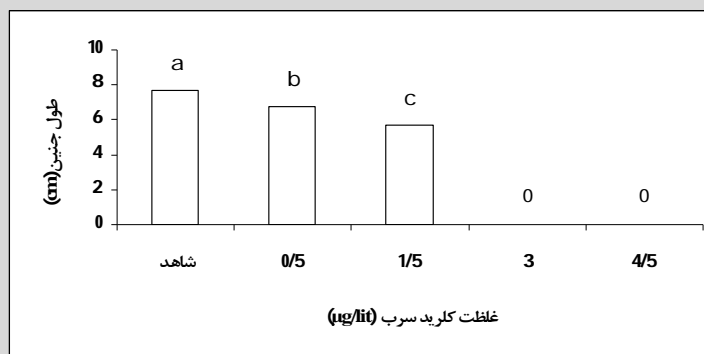
نمودار 7- تغییرات طول جنین در غلظت های مختلف کلرید سرب در ساعت 50 بعد از لقاح (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است).



نمودار 8- تغییرات طول جنین در غلظت های مختلف کلرید سرب در ساعت 56 بعد از لقاح (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است)



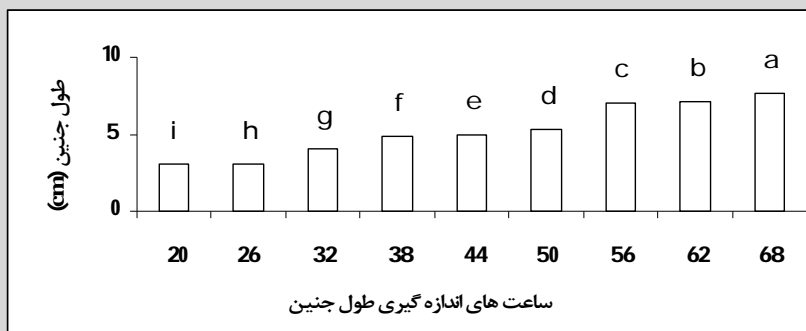
نمودار 9- تغییرات طول جنین در غلظت های مختلف کلرید سرب در ساعت 62 بعد از لقاح (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است)



نمودار 10- تغییرات طول جنین در غلظت های مختلف کلرید سرب در ساعت 68 بعد از لقاح (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است)

اندازه جنین نیز بیشتر شد و نتایج آزمون دانکن هم نشان دهنده اختلاف طول جنین بین ساعات اندازه گیری شده است (نمودار 11).

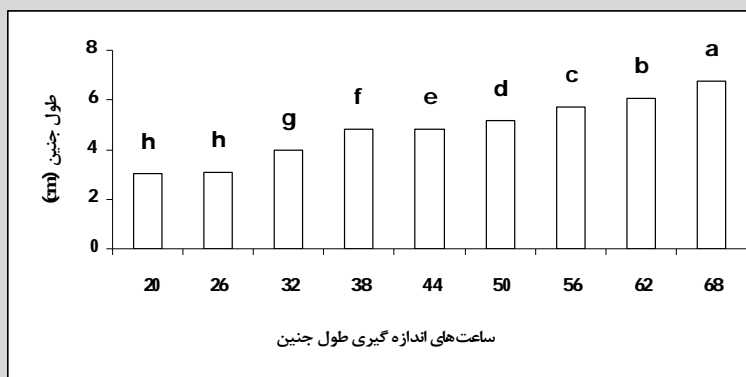
هم چنین نتایج نشان داد که طول اندازه گیری جنین در ساعات مختلف در تیمار شاهد نیز دارای اختلاف معنی دار بود بطوری که هر چه طول دوره جنینی بیشتر می شود



نمودار 11- نمودار تغییرات طول جنین در ساعات مختلف اندازه گیری شده برای تیمار شاهد (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است).

نداشت اما در ادامه هر چه طول دوره جنینی بیشتر می شود اندازه جنین نیز بیشتر شد و نتایج آزمون دانکن هم نشان دهنده اختلاف طول جنین بین ساعات اندازه گیری شده است (نمودار 12).

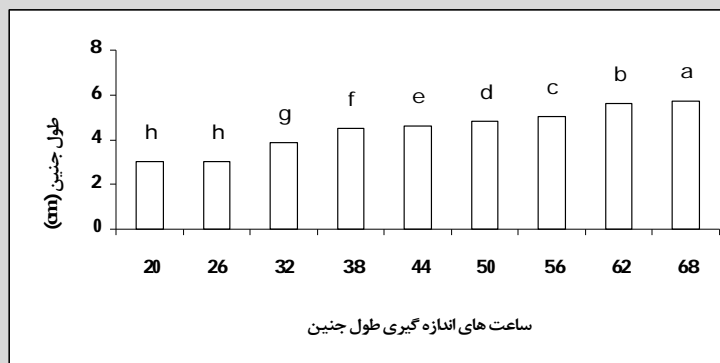
هم چنین طول اندازه گیری جنین در ساعات مختلف در تیمار غلظت 0/5 میکروگرم بر لیتر کلرید سرب دارای اختلاف معنی دار است به طوری که در ساعات اولیه یعنی بین 20 و 26 ساعت اختلاف معنی داری وجود



نمودار 12- نمودار تغییرات طول جنین در ساعات مختلف اندازه گیری شده برای غلظت 0/5 میکروگرم بر لیتر کلرید سرب (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است).

اما در ادامه هر چه طول دوره جنینی بیشتر می شود اندازه جنین نیز بیشتر شد و نتایج آزمون دانکن هم نشان دهنده اختلاف طول جنین بین ساعات اندازه گیری شده است (نمودار 13).

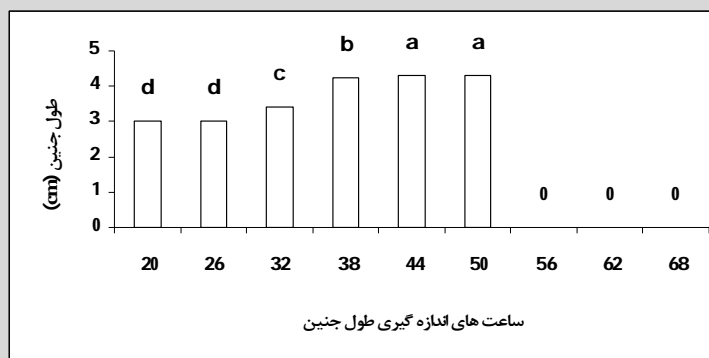
نتایج طول اندازه گیری جنین در ساعات مختلف در تیمار غلظت 1/5 میکروگرم بر لیتر کلرید سرب دارای اختلاف معنی دار است بطوری که در ساعات اولیه یعنی بین 20 و 26 ساعت اختلاف معنی داری وجود نداشت



نمودار 13- نمودار تغییرات طول جنین در ساعات مختلف اندازه گیری شده برای غلظت 1/5 میکروگرم بر لیتر کلرید سرب (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است).

به تدریج مشاهده شد که جنین ها توانایی زنده ماندن خود را از دست داده و نهایتاً در ساعات بالاتر تلافات 100 درصد در این غلظت را داشتیم که نشان دهنده سمیت بالای این غلظت است (نمودار 14).

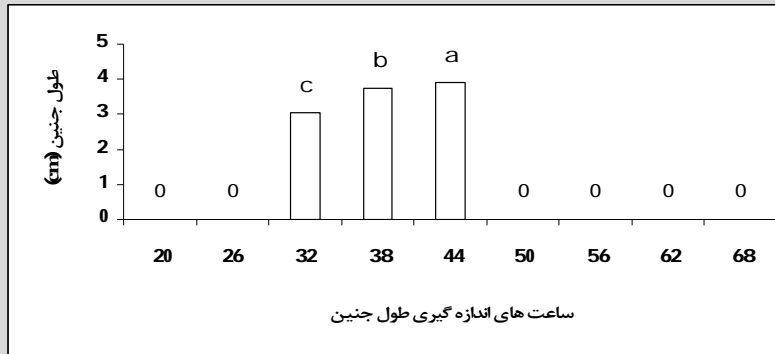
نتایج بررسی طول جنین در طی ساعات مختلف در غلظت 3 میکروگرم بر لیتر کلرید سرب نشان داد که بین ساعت 20 و 26 اختلاف معنی دار نیست از طرفی بین ساعات 40 و 55 نیز اختلاف و معنی دار وجود نداشت و



نمودار 14- نمودار تغییرات طول جنین در ساعات مختلف اندازه گیری شده برای غلظت 3 میکروگرم بر لیتر کلرید سرب (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است).

ساعت 32 شروع به رشد کند و از طرفی میزان سمیت به حدی بالا بود که سبب شد تا جنین نتواند طول دوره رشد خود را کامل کند و تمامی نمونه ها از بین رفتند (نمودار 15).

هم چنین نتایج بررسی طول جنین در طی ساعات مختلف در غلظت 4/5 میکروگرم بر لیتر کلرید سرب نشان داد که سمیت بالای این غلظت سبب به تاخیر افتادن رشد جنین شود بطوری که رشد جنین بر خلاف تیمار شاهد از



نمودار 15- نمودار تغییرات طول جنین در ساعات مختلف اندازه گیری شده برای غلظت 4/5 میکروگرم بر لیتر کلرید سرب (اعداد لاتین نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است).

در حقیقت بیانگر این مطلب است که کبالت به صورت محلول در آب و در دسترس موجودات زنده قرار دارد. حداکثر غلظت مجاز کبالت برای جنین های ذکر شده بعد از تعیین LC_{50} ، 100 در نظر گرفته شد (2). به طور کلی بررسی مقایسه غلظت های مختلف کلرید سرب در ساعات مشخص باهم نشان داد که در تمامی ساعات مورد مطالعه با افزایش غلظت از میزان رشد طولی جنین به طور معنی داری کاسته شد و تمامی تیمارها نیز با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی دار بودند. هرچند در غلظت های پایین مرحله رشد جنینی به پایان رسید اما سرعت و میزان رشد جنین در مقایسه با تیمار شاهد کمتر بوده و در واقع ما شاهد تاخیر در زمان رشد جنین ماهی آنجل بوده- ایم که این مهم می تواند در اثر تغییرات غلظت کلرید سرب باشد. محققانی مانند Dave و Xios (2006) نیز به نتایج مشابهی دست یافته و افزایش فلزات سنگین را از عوامل تاخیر در زمان رشد جنین ماهی معرفی کرده اند (10). بررسی نتایج نشان داد که به طور کلی افزایش غلظت کلرید سرب سبب کاهش رشد جنین خواهد شد. مقایسه تیمارهای مختلف کلرید سرب در ساعات مختلف اندازه گیری طول جنین نیز موید این مطلب است به طوری که مشاهده می شود در غلظت های بالای کلرید سرب به طور کلی رشد جنین بعد از گذشت ساعات مشخص متوقف شد و سمیت در حدی بالا بود که در نهایت سبب مرگ تمامی جنین ها گردید. این مهم را به

بحث و نتیجه گیری

مقدار LC_{50} معیار مفیدی برای سمیت حاد بوده، لیکن بیانگر مقادیری که در زیستگاه های آبی، بی خطر یا کم خطر وجود دارد، نیست. مقدار مواد زائدی که تا 96 ساعت سمی نیستند، ممکن است در دوره های زمانی بیشتر که در داخل آب بمانند، سمی شوند. بنابراین، LC_{50} ، 96 ساعته ممکن است فقط دربخشی از سمی بودن طولانی مدت دیده شود (19). Schmitt (2005) گزارش داد که سرب در غلظت حدود 1 میلی گرم برلیتر در مقایسه با شاهد در نمونه ی جنین زیرا فیش بر روی طول عمر آن تاثیر به سزایی دارد (18). گزارش های دیگر حاکی از آن است که در غلظت 0/48 میلی گرم برلیتر از سرب موفقیت در هیچ شدن *Brachydnio rerio* کاهش یافته و در غلظت 0/98 میلی گرم برلیتر تمام جنین ها در این گونه ی ماهی مردند (10). داده های حاصل از بررسی تحقیقات دیگر دانشمندان نشان داد آلودگی با فلزات سنگین از جمله سرب بر بقای عمر جنین تاثیر گذار بوده است (14). بررسی مقدار سمی بودن کبالت به دو صورت حاد و مزمن با استفاده از دو گونه *Eriodaphnia dubia* و *Pimephales* و چهارنوع آب با سختی 200، 400، 50 و 800 میلی گرم درلیتر برحسب $CaCO_3$ صورت گرفت. سختی کم آب تأثیری بر روی غلظت اندازه گیری شده کبالت نداشت. مقدار کبالت محلول در آب، در نمونه های مورد بررسی

مورد تیمار قرار دادن جنین *Fondulus heteroclitus* به میزان 1 میلی گرم بر لیتر از سرب تنها 20٪ جنین ها به صورت نرمال هچ شده اند، در صورتی که 40٪ از آن ها تاخیر در رشد را نشان داده و 40٪ دیگر هنوز بر روی تخم خوابیده اند. موارد ذکر شده نشان می دهد سرب تاثیری تاخیری بر رویه ی رشد در جنین ماهی ذکر شده داشته و هچ شدن را به تاخیر می اندازد (21). این میزان ناهنجاری در جنین ماهی *Fondulus heteroclitus* در مقایسه با ماهی مورد آزمایش در این پژوهش *Pterophyllum scalare* خاطر نشان می کند که به علت اختلافات بین گونه ای حاضر بین 2 گونه ی ذکر شده و تفاوت سمیت بین سرب و کلرید سرب، ناهنجاری های ذکر شده برای ماهی *Fondulus heteroclitus* در زمان آنجل مشاهده نگردید. تنها می توان به تاخیر در زمان رشد بر اثر کلرید سرب بر ماهی *Pterophyllum scalare* اشاره کرد که همانند تاثیر سرب بر ماهی *Fondulus heteroclitus* بوده است.

راحتی می توان در مقایسه ی نمودار ساعات مختلف غلظت های 3 و 4/5 میکروگرم بر لیتر مشاهده نمود. فلاور و همکارانش نیز در سال 2001 اثری مشابه از سرب بر روی کلیه ی ماهی مشاهده نمودند (11). بررسی تغییرات غلظت کلرید سرب در غلظت 4/5 میکروگرم بر لیتر نشان داد که میزان سمیت در این مرحله تا حدی بالا بود که سبب شد تا مراحل تکوین جنین سلولی به تعویق بیفتد به طوری که افزایش طول جنین در غلظت ذکر شده از ساعت 32 بعد از لقاح شروع شد. از طرفی میزان بالای سمیت کلرید سرب سبب آسیب به جنین ها شد به طوری که بعد از 44 ساعت بعد از لقاح جنین ها از بین رفتند. تحقیقات Dave در سال 2006 نیز نشان داده که زمان هچ شدن تخم های ماهی زبرا (*Zebra fish*) در غلظت کمتر از 2/3 میکروگرم بر لیتر سرب تاخیر بسیار کمی را نشان می دهد. البته مورد یاد آوری شده دلیل واضحی را از اثر سرب بر تاخیر در زمان تکامل جنینی بیان نمی کند (10). این تاخیر را می توان به تاثیر سرب بر روی کاهش فعالیت آنزیم هضم کننده پوسته ی تخم نیز نسبت داد (12). گزارش دیگر حاکی از آن است که

منابع

- 1- اسماعیلی، س. (1381). آلاینده ها، بهداشت و استاندارد در محیط زیست. انتشارات نقش مهر. 7 (2): 23-27.
- 2- بذرافشان، ا.، امین نژاد، بیژن.، حاجی پور فرد، حسن. (1387). بررسی فلزات سنگین در آب. 1 (40): 146-149.
- 3- زاهد محمد علی (مترجم)، دشتکی زینب (مترجم) (1379). آلودگی دریا. رابرت بی کلارک (نویسنده). انتشارات فسق و نقش. 1 (2): 35.
- 4- واردی، س. (1376). بررسی و تعیین میزان فلزات سنگین در رودخانه چالوس. مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران. 1 (3): 60.
5. Ashraf, W. (2006). Levels of selected heavy metals in tuna fish. *Arabian Journal of Science Technology*, 31(1A); 89-92.
6. Agrawal, KC. (1996). Therapeutic action of garlic constituents. *Medicinal Research reviews*, 16(1); 110-111.
7. Al-Weher, S. M. (2008). Levels of heavy metal Cd, Cu and Zn in three fish species collected from the northern Jordan Valley, Jordan. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 1(1); 41 – 46.
8. Antilla, A., Heikila, P., Nykyri, E. (1996). Risk of nervous system cancer among workers exposed to lead. *Occupational and Environmental Medicine*, 38; 131-136.
9. Chul-whan Cha, MD. (1987). A study on the effect of garlic to the heavy metal poisoning of rat. *Journal of Korean Medical Science*, 2(4); 213-223.
10. Dave, G., Xiu, R. (2006). *Biochimica in Biophysica Acta*. 1001; 316-324.
11. Flawor, B.A., Dural, G. (2001). Effect of laed on the kidney of fish, role of high-

affinity.lead-binding proteins .Enviro Health prespects, 91;77-80.

12.Hagenmaier, G. (2006). Exposed to experimental lead intoxication. Bulletin of Zoology, 61;29-37.

13.Hazel, CR., Meith, SJ . (1970). The International Journal of Applied and Basic Nutritional Sciences, 21(4); 530-536.

14.Heisinger, JF., Green, W. (2001). Pharmacological Reports, 60; 163-170.

15.Kjorsvik, K. (1995). Studies on the biological variability of enzyme activities in blood plasma of carp (*caprinus carpio*) as a basis for refrence data deremination. Fortsch Fisch Wis, 9; 69-91.

16.Nelson, Bk., Moorman, Wj., Schrader, Sm., Shaw, PB., Kreig, EF. (1997). Paternal exposure of rabbits to lead.Neurotoxicology Teratology, 191(3); 198.

17.Sastry, KV., Gupta, PK. (2003). Alteration in the activities for three peptidases and lipase in

the digestive system of the fish *channa punctatus* exposed to lead nitrate. Bull Environ Contam Toxicol , 21; 190-195.

18.Schmitt, CJ., Whyte, JJ., Brumbaugh, WG., Tillitt, DE. (2005). Biochemical effects of lead, zinc, and cadmium from mining on fish in the Tri-States District of northeastern Oklahoma, USA. Environ Toxicol Chem, 24(6); 1483-1495.

19.Standard methods of Americas public health. (2005) Freshwater mollusks as indicators of bioavailability and toxicity of metals in surface systems. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 122(2); 37-43.

20.Topuzoglu, G., Erbay, AR., Karul, AB., Yensel, N. (2003). Concentrations of copper, zinc, and magnesium in sera from patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. Biological Trace Element Research, 95(1); 7-11.

21.Weis, JS., Weis, P. (1977). Effects of heavy metals on development. 123(4);123.

Archive of SID