اثرات نیترات روی $Zn(NO_3)_2$ بر بافت کبد ماهی فیتوفاگ *(Hypophthalmichthys molitrix)*

علی حلاجیان[۱]*؛ ایوب یوسفی جوردهی[۱]؛رضوان اله کاظمی[۱]؛سورنا عبدالی[۲]؛مهزاد شکوری[۲]

alihallajian@gmail.com

۱-موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر ، رشت صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵

۲-دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم و فنون دریایی.

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: آذر۱۳۹۲

فلز روی به عنوان یک ریز مغذی به منظور افزایش تولید فیتوپلانکتون ها و در نتیجه افزایش رشد ماهی به آب استخرها اضافه می شود. از آنجائیکه ماهی فیتوفاگ پرورشی از این فیتوپلانکتونها تغذیه می کند از این رو هدف ازاین تحقیق بررسی آسیب شناسی بافت کبد در ماهیانی که در معرض نیترات روی $Zn(NO_3)_2$ در سیستم پرورشی قرار گرفته اند، بود. بدین منظور ماهیان در ۱۲ عدد آکواریوم ۲۰۰ لیتری و درگروههای۱۵تایی بامیانگین وزنی۱۰±۵۰ گرم در ۳ تیمار (شاهد، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) در شرایط آزمایشگاهی تقسیم بندی شدند. جهت بررسی بافت کبد از ماهیان در زمان های۱۲ الی۹۶ ساعت نمونه برداری و پس از تثبیت نمونه ها درمحلول بوئن، بااستفاده ازروش های مرسوم بافت شناسی مقاطع بافتی به ضخامت ۷ میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین – ائوزین رنگ آمیزی شدند. نتایج مطالعات میکروسکوپی عوارضی از قبیل آتروفی سلولی، نکروز سلولی، دژنرسانس چربی، پرخونی و رکود صفرا وی در تیمارهای مورد آزمون و در زمان های نمونه برداری در مقایسه با شاهد نشان داد. با افزایش غلظت نیترات روی و با افزایش زمان مجاورت ماهی در معرض سم تا ۹۶ ساعت، شدت آسیب های بافتی در کبد هم بیشتر شد، بطوریکه عوارض فوق در غلظت ۱۰ و در زمانهای ۷۲ و ۹۶ ساعت نسبت به سایر زمانها و تیمارها شدیدتر بود.

واژگان کلیدی: ماهی فیتوفاگ*(Hypophthalmichthys molitrix)*، نیترات روی $Zn(NO_3)_2$ ، کبد ، آسیب شناسی.

*نویسنده مسئول

Archive of SID

www.SID.ir

۱.مقدمه

نوسانات عوامل زیستی و غیرزیستی در تعادل و پایداری هر اکوسیستم نقش عمده ای دارند. کلیه این عوامل در حد مطلوب مفید بوده، ولی کاهش یا افزایش زیاد آنها سبب بر هم زدن تعادل یا روابط موجود در محیط می گردد، که این امر تغییرات شدید در جمعیت موجودات زنده را به دنبال خواهد داشت. فلزات سنگین از جمله این عوامل می باشند، که بطور طبیعی کمتر از ۱ درصد از وزن بدن موجودات زنده را تشکیل می دهند و نوسانات غلظتی آنها سبب ناپایداری محیط و ایجاد اختلال در موجود می شود (۱۲). رشد روزافزون صنایع وآلودگی بیرویه محیط زیست به موادشیمیایی موجب گردیده است که زندگی موجودات زنده بویژه آبزیان موردتهدید قرارگیرد. فاضلاب های صنعتی حاوی انواع آلاینده های سمی از جمله مواد جامد معلق، ترکیبات آلی، ترکیبات معدنی، سموم و آفت کشها و انواع ترکیبات فلز سمی می باشد (۲۰). آلودگی محیطهای آبی با فلزات سنگین به طور جدی در سراسر جهان افزایش یافته و با توجه به اینکه ماهی در شرایط محیطی خاصی زیست می کند ممکن است مقادیر زیادی از برخی فلزات سنگین موجود در آب در بافت های ماهی متمرکز شوند (۲۱). از این رو فلزات سنگین بعلت سمیت و تجمع در بافت های بدن ماهی بعنوان یکی از آلوده کننده ترین اکوسیستم های آبی مشکلات اساسی بویژه برای انسان می تواند ایجاد کنند (۱۸)، بنابراین آلودگی فلزات سنگین می تواند اثرات مخربی بر توازن زیست محیطی و تنوع موجودات آبزی بگذارد(۲۶). یکی ازاین عناصرآلوده کننده، فلزروی (Zn) ازگروه عناصرکمیاب است. این فلز به عنوان یک ریز مغذی به منظور افزایش تولید پلانکتون ها و در نتیجه افزایش رشد ماهی به آب استخرها اضافه می شود(۸). ماهی فیتوفاگ یکی از آندسته از ماهیان گرم آبی پرطرفدار است که از پلانکتون ها تغذیه می کنند، بنابراین تاثیر مصرف زیاد روی از این نظر هم حائز اهمیت بوده و احتمال جذب روی از طریق پلانکتون به ماهی و از ماهی به انسان وجود دارد و در نهایت ایجاد عارضه در ماهی و بدنبال آن انسان می نماید. مقادیر بیش از آن باعث بروز ضایعات پاتولوژیک در بافت های ماهی و در نهایت میتواند منجربه مرگ ماهی گردد.

فلزروی به طبقه میکروالمانها تعلق داردکه برای فعالیت مناسب بدن موردنیازاست (۱۹). افزایش سطوح روی درسیستم های آبی میتواندناشی ازتخلیه مایعات،رسوبات اتمسفر،نشت فاضلابهای خانگی وحشره کشها وفرایندهای مربوطبه گالوانیزه کردن وسایل باشد(۲۳).سمیت روی در حیات آبی به طوروسیع طی دهه های اخیرموردمطالعه قرارگرفته واطلاعات زیادی دردسترس میباشد .درهمه موارد مطالعه شده، فلزروی سبب ایجادآسیبهای ساختاری دربدن ماهیان گردید و رشد، تکامل وزندگی آنهارا تحت تأثیرقرارداد(۱۰). Ololade و Ogini (۲۰۰۹)اثرات روی رفتارگربه ماهی آفریقایی(*Clarias gariepinus*) را مورد مطالعه قراردادند(۱).

بنابراین اثرات زیست محیطی فلز روی بیش از اندازه می تواند به طور جدی در بقای موجوداتآبزی مانند ماهی تاثیر گذار باشد (۲۷ و ۲۸). میزان LC_{50} روی در زمان ۹۶ ساعت برای آب های سبک ۱ تا ۱۰ میلی گرم در لیتر و برای آبهای سخت ۳ تا ۲۰ میلی گرم در لیتر و دامنه نوسانات آن را ۰/۰۹ تا ۴۰ میلی گرم در لیتر تخمین می زنند (۱۶).

بسیاری از فلزات، یا به تنهایی و یا بصورت ترکیبی در انواع مختلفی از ماهی مورد مطالعه قرار گرفته است، که در ایران می توان به اثرفلز رویبربافتهای مختلف درماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۲،۳،۶) در قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)(۵) و در بچه

www.SID.ir
Archive of SID

تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) (۴،۷) اشاره نمود. از این رو هدف ازاین تحقیق تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد ناشی از اثرات نیترات روی در ماهی فیتوفاگ پرورشی بوده است.

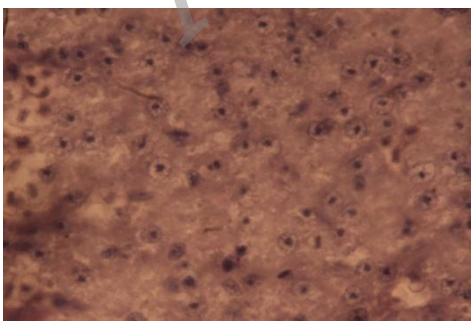
۲.مواد و روشها

جهت انجام این تحقیق، تعداد ۱۳۵ عدد ماهی فیتوفاگ پرورشی در بهار ۱۳۹۰ از استخرهایخاکی پرورشی ماهیان-گرمابی بخش خصوصی واقع در رشت (استان گیلان) خریداری و به آکواریوم‌های با گنجایش حجمی ۲۰۰ لیتر در آزمایشگاه بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انتقال یافتند. پس از زیست سنجی، ماهیان در ۳ تیمار شامل شاهد، و غلظت های ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر از نیترات روی $Zn(NO_3)_2$ (۱۶) و هر تیمار با ۳ تکرار، در هر آکواریوم ۱۵ عدد ماهی فیتوفاگ پرورشی با متوسط وزنی ۱۰±۵۰ گرم و متوسط طول کل ۱±۱۳سانتی متر ریخته شد. در این بررسی ابتدا ماهیان به شرایط آزمایشگاهی سازگار شده سپس در غلظت‌های تعیین شده معرفی گردیدند. جهت بررسی ضایعات بافتی، نمونه بافت کبد از ماهیان زنده در زمان های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تهیه گردید. این نمونه-هادرمحلول بوئنتثبیت، سپس بااستفاده ازروش استاندارد بافتشناسی به کمک دستگاه عمل آوری بافت (Tissue processers)ساخت ارومیه مدل DS2000/H آب گیری، شفاف سازی، بعد قالب گیری، و با استفاده از میکروتوم ساخت آلمان مدل Litz 1512 برش های ۷میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) رنگ آمیزی شدند(۱)،درنهایت بااستفاده ازمیکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرارگرفتند.

۳.نتایج

درمطالعات بالینی درماهیانی که درمعرض غلظتهای نیترات روی قرارداشتند،علائم ظاهری از قبیل بیقراری شدید، باز وبسته شدن شدید سرپوشهای آبششی وحفره دهان، حرکات تشنجی وبرخورد باکناره های آکواریوم، بلعیدن هوا از سطح آب وقرمزشدن آبشش در هر دو تیمار نسبت به شاهد مشاهده گردید و با گذشت زمان شدت آن بیشتر شده بطوریکه در ۹۶ ساعت در تیمار ۱۰ میلی گرم بیشترین شدت را دارا بودند.

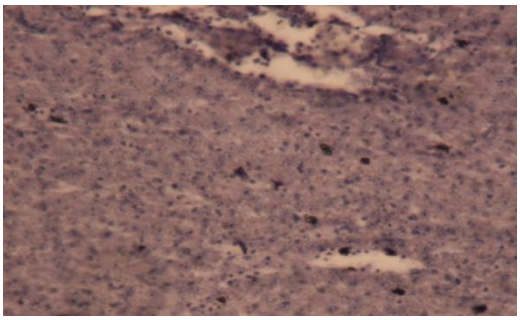
در بررسی و مطالعه نمونه های میکروسکوپی تهیه شده در بافت کبد ضایعاتی از قبیل آتروفی سلولی، نکروز سلولی، دزنرسانس چربی، پرخونی، رکود صفرا و ملانوماکروفاژ در هر دو تیمار ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر نسبت به شاهد مشاهده گردید. شکلهای ۱ تا ۳ کبد ماهی شاهد و ضایعات ایجاد شده در این بافت در تیمارهای مورد آزمون را نشان می دهد. جدول ۱ میزان کیفی تغییرات آسیب شناسی بافت کبد هر تیمار در زمانهای مختلف را نشان می دهد. طبق جدول فوق ضایعات کبدی در غلظت ۵ میلی گرم نسبت به ۱۰ میلی گرم در لیتر کمتر بود بنابراین، با افزایش غلظت نیترات روی و با افزایش زمانی از ۰ تا ۷۲ ساعت که ماهی ها در معرض این فلز قرار داشتند شدت آسیب های بافتی در کبد هم تشدید گردید، و در ساعات ۷۲ و ۹۶ ساعت ضایعات آسیبی نزدیک به هم بود.



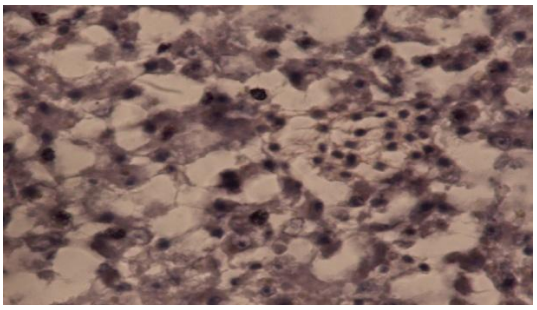
شکل ۱: نمایی از سلولهای هپاتوسیت کبدی(H)در تیمار شاهد (H&E, X۷۵۰)

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲: پرخونی(H) و رکود صفراوی(Bs) بافت کبد در تیمار با غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت(H&E, X۳۵۰)



شکل ۳: نکروز سلولی(N) و دژنرسانس چربی(F) بافت کبد در تیمار با غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت(H&E, X۷۵۰)

جدول ۱: تغییرات آسیب شناسی بافت کبد (Camargo & Martinez;2007) مطالعه شده با میکرسکوپ نوری متصل به مانیتور (علامت + میزان شدت عوارض مشاهده شده در زمانهای مختلف (بر حسب ساعت) را نشان می دهد)

تیمار / عوارض آسیبی	غلظت ۵ میلی گرم در لیتر				غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر					
	۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
آتروفی سلولی		+	+	++	++	+	+	++	+++	+++
نکروز سلولی		+	+	++	++	+	+	++	+++	++++
دزنرسانس چربی	+	+	+	++	+++	+	+	++	+++	++++
پرخونی	+	+	+	++	++	+	+	++	++	+++
رکود صفرا	+		+	++	++		+	+	++	++
ملانوماکروفاژ		+	+	+	++	+	+	++	++	++

Archive of SID

٤.بحث

اکوسیستمهای آبی هر روز توسط منابع مختلف آلودگی، آلوده شده وعواقب شوم آن سلامت انسان راتهدید می نماید(۲۲) که از آن جمله می توان به آبزیان اشاره نمود بطور غیر مستقیم به مصرف انسان می رسد. فلز روی، عنصری ضروری برای گیاهان وحیوانات محسوب میشود. درمحیطهای آبی غلظتهای بالای روی اثرات معکوسی بررشد، تکامل وزندگی ماهی ازطریق اثر بر ساختار بدن میگذارد (۲۵). کبد در تمام ماهیان استخوانی حقیقی اولین اندام است که در اوایل دوران زندگی بوجود می آید.

www.SID.ir

چند ضلعی هستند، این سلول های اعمال حیاتی زیادی از جمله دفع مواد زاید (شامل مواد سمی، هورمون‌ها، داروها و مواد خارجی) از خون انجام می دهند.

فلزات سنگین آلاینده های خطرناک زیست محیطی هستند که قادر به تجمع در طول زنجیره غذایی آبزیان می باشد و خطر جدی برای سلامت انسان ها و حیوانات گزارش شده است (۱۵). این فلزات باوجود مقادیر بسیار اندک،تاثیرات فیزیولوژیک قابل ملاحظه ای ایجاد میکنند،کمبودیا افزایش این عناصرباعث بروز بیماریهای متعدد میشود، فلزروی که یکی ازاین عناصر کمیاب بدن محسوب میشود، مسمومیت باآن آثار سوء متعددی دراندامهای مختلف بدن به جای میگذارد (۱۴).

مطالعات هیستوپاتولوژی کبد در گروه شاهد طبیعی بوده ولی در گروه های آزمایشی ضایعات حاد ناشی از به کارگیری فلز نیترات روی بر بافت کبد بطور واضح به مواردی همچون آتروفی سلولی، نکروز سلولی، پرخونی و رکود صفراوی اشاره کرد که بعد از ۱۲ ساعت مجاورت با روی در هر دو تیمار حادث گردید ولی بیشترین شدت ضایعات در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر بوده است. بنابراین با افزایش غلظت نیترات روی و ماندگاری بیشتر در چنین محیطی، ماهی با مسمومیت بیشتری مواجه می شود. بطوریکه کبد این ماهیان در زمان ۷۲ ساعت با افزایش سلولهای کوپفر همراه بود. در این پژوهش ضایعات مشاهده شده در تیمار با غلظت ۵ میلی گرم در لیتر نسبت به غلظت ۱۰ میلیگرم در لیتر کمتر بود. ولی با گذشت زمان ضایعات کبدی هر تیمار بیشتر شد، بطوریکه بیشترین ضایعات در نمونه های ۷۲ ساعت نسبت به نمونه های ۱۲ ساعت در هر تیمار مشاهده شد.

کبد نقش عمده ای در فرایند سم زدایی دارد. در مطالعه حاضر بنظر می رسد که بافت کبد بعد از ۷۲ ساعت خاصیت خودپالایشی پیدا کرد، بطوریکه در ۹۶ ساعت ضایعات در حد ضایعات ۷۲ ساعت بوده است. از این رو سمیت فلز با توجه به اثرات ایجاد شده در ماهی و انسان بعنوان مصرف کننده از اهمیت بسزایی بر خوردار می باشد.

در پژوهش فوق ضایعات هیستوپاتولوژیک مشاهده شده در بافت کبد ماهی فیتوفاگ همانند مطالعات صورت گرفته توسط سایر محققین بود. مطالعات صورت گرفته توسط Dobrevaو همکاران (۲۰۰۸) بر روی ماهی کاراس که در معرض سولفات روی قرار گرفته بودند همانند تحقیق حاضر نشان داد که با گذشت ۹۶ ساعت، ماهیان با کاهش شدید اکسیژن و تلفات در ماهیان همراه بود. مطالعات صورت گرفته توسط رستمی بشمن و همکاران (۱۳۷۹)، رستمی بشمن و سلطانی (۱۳۸۸)، نشان داد که در مجاورت قرار گرفتن ماهی کپور با فلزات سنگین از جمله سولفات روی ضایعاتی چون نکروز سلولی، پرخونی، افزایش رنگدانه هموسیدرین و التهاب همراه بوده است.افزایش غلظت کلرید نیکل در کبد ماهی فیتوفاگ با کاهش سطوح کلیگوژن (۱۷) و باافزایش غلظت روی (Zn) باعث تیره ترشدن رنگبدن و با تلفات بیشتر گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) (۲۴)، همچنین افزایش غلظت سولفات کادمیوم در گونه (*Leuciscus cephalus*) از خانواده کپورماهیان با افزایش ضایعات کبدی همچون دژنرسانس چربی، نکروز سلولی و سلولهای کوپفر همراهبوده است(۲۹).

با توجه به نتایج حاصل نیترات روی با غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر باعث ظهور ضایعات هیستوپاتولوژی و به دنبال آن با گذشت زمان از ۷۲ ساعت به بعد علی الخصوص در ۹۶ ساعت با مرگ ماهی همراه گردید. غلظت های کمتر از ۵ میلی گرم بر لیتر ضایعات بافتی نیز ایجاد می گردد. از آنجاییکه کبد خاصیت سم زدایی دارد، با گذشت زمان

Archive of SID

www.SID.ir

خود را ترمیم خواهد نمود. بطور کلی ازنقطه نظربهداشت عمومی چنانچه موادآلاینده زیست محیطی از جمله فلز روی باعث بروزچنین آسیبهای بافتی شده میزان این آلاینده هادربدن ماهیها ازحد مجاز واستاندارد بیشترشود، مصرف چنین ماهیانی میتواند برای انسان خطرآفرین وبیماریزا باشد. به علت تاثیر سوء سمیت فلزات سنگین، مطالعات تحقیقاتی بیشتر در مورد هیستوپاتولوژیک بافت های مختلف در ماهی بایستی ارزیابی شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله ازریاست و معاونین محترم وقت موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، از مسئولین محترم حراست و ترابری آن مرکز و همچنین از جناب آقای مهندس مروتی در اجرای این طرح کمال همکاری را داشتند تشکروقدردانی راداریم.

منابع

۱-حلاجیان، ع. ۱۳۸۹. روشهای آزمایشگاهی بافت شناسی. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان: ۲۱۲ صفحه

۲-رستمی بشمن،م. و م. سلطانی. ۱۳۸۸. مطالعه اثرات بافتی دوز مزمن سولفات مس بر برخی اندام های ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی تهران. دوره ۶۴. شماره ۳: ص ۱۹۳ تا ۱۹۸.

۳-رستمی بشمن،م.، م. سلطانی و ف. ساسانی. ۱۳۷۹ مطالعه اثرات هیستوپاتولوژی برخی از فلزات سنگین (سولفات مس، سولفات روی، سولفات جیوه و کلرورکادمیوم) بر بافت های ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۵. شماره ۴: ص ۱ تا ۳.

۴-فتح الهی،ر.، ح. خارا، ذ. پژند، ع.ر. شناور، ع. حلاجیان و ب. مشتاقی. ۱۳۸۹. تعیین غلظت کشندگی (LC50 96h) کلرید سدیم و اثرات آن بر بافت آبشش بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، مجله علوم زیستی. دانشگاه آزاد اسلامی واحدلاهیجان. سال چهارم. شماره ۳: ص ۶۵ تا ۷۲.

۵-فرهنگی،م و ع.م. حاجی مرادلو. ۱۳۸۶. علائم بالینی واثرات آسیب شناسی مسمومیت حاد باآمونیاک درقزل آلای (*Oncorhynchus mykiss*) رنگین کمان. مجله شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر. سال اول.پیش شماره چهارم: ص ۷۲ تا ۷۹.

۶-محمد خانلو عشایری،ص. ۱۳۸۲. تعیین LC50 بررسی اثرات حاد فلز روی بر تغییرات بافتهای عضله، گنادها و کبد در ماهی کپور معمولی. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال: ۱۱۴صفحه.

۷-مشتاقی،ب.، ش.ع. نظامی، ح. خارا، ذ. پژند، ع.ر. شناور، ع. حلاجیان و ر. فتح الهی. ۱۳۸۸. تعیین غلظت کشندگی پرمنگنات پتاسیم (Kmno4) و سولفات مس ($Cuso_4.5H_2o$) در بچه تاسماهیان ایرانی(*Acipenser persicus*)، مجله علوم زیستی. دانشگاه آزاد اسلامی واحدلاهیجان. شماره ۴ (شماره پیاپی ۱۱): ص ۶۷ تا ۸۷.

8-Adhikari, S. and S. Ayyappan, 2004. Behavioral role of zinc on primary productivity, plankton and grow of a fresh

17-Kamaraju, S. and K. Ramasamy, 2011. Effect of camium chloride on glycogen content in gill, liver and kidney of edible

Archive of SID

www.SID.ir

Water teleost.Labeo rohita. (Homilton). Aquaculture. 231 (14): 327- 336

9-Akaheri, A. and Z. jozwiak, 1999. Effect of zinc on common carp (*cyprinus carpio*)erythrocytes,El-sevier Science Inc.:16-17

10-Bagdonas, E. and M.Z. Vosylien, 2006.A study of toxicity and genotoxicity of copper, zinc and their mixture to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).Biologija. 1: 8-13.

11-Camargo, M.M.P., and C.B.R. Martinez, 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. Neotrop.Ichthyol. 5(3): 327-336.

12-Clark, R. , 1986. Marine pollution clarendon press. oxford. Pp: 64-82

13-Dobreva, V., A. Tsekov and I. Velchva, 2008. Study of the effect of zinc on gill functions of the cruclan carp *Carassius gibelio* Bloch. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 14 (No 2) 2008, 182-185

14-Donmez H., N. Dursun, Y. Ozkul and H. Demiratas, 1993.Increased sister chromatid exchange in workers exposed to occupationl lead and zinc. Biol. Trace Elem. Res. 61(1): 105-109

15-Hassanin S.I.A., 2008.Metals residues, histologigal alterations and cooking methods of fish cultured in wastewter ponds. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 2008. Cairo International Convention & Exhibition Center (CICC), Cairo. 12 -14 Oct 2008

16-Hogstrand, C. and C. M. Wood, 1996.The physiologyand toxicology of zinc in fish.In Toxicology of AquaticPollution. Physiological, Cellular and MolecularApproaches (ed. Taylor, E. W.), pp. 61–84. CambridgeUniversity Press, Cambridge.

exotic fish *Hypophthalmichthys molitrix*.International Journal of Current Research Vol. 33.Issue 5. pp: 053-057

18-Karan, V., S. Victoric, V. Tutundic, and V. Poleksic, 2002.Functional Enzymes Activity and Histology of Carp after Copper Sulfate Exposure and Recovery.Ecotoxicol. Environ. Saf. 40: 49-55.

19-Kotze, P., H.H. Preez, and J.H.J. Van Vuren, 1999.Bioaccumulation of copper and in Oreochromis mossabicus and Clarias gariepinus from the Olifants River, Mpumalaga, South Africa. Water SA. 25: 99-110

20-Kumar, P. and A. Singh, 2010. Cadmium toxicity in fish: An overview. GERF Bulletin of Biosciences, 1(1): 41-47

21-Mansour, S. A. and M.M. Sidky, 2002.Ecotoxicological studies. 3: Heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt. Food Chem., 78: 15-22.

22-Morhit, M. El., M. Fekhaoui, A. El. Morhit, P. Elie, A. Yahyaoui, 2013. Hydrochemical characteristics and metallic quality in fish in the Loukkos river estuary of Morocco.J. Mater. Environ. Sci. 4 (6) 893-904

23-Nussey, G. 1998.Metal ecotoxicology of the upper Olifants River at selectedlocalities and the effect of copper and zinc on fish blood physiology.Ph.D.Thesis, Rand Afrikaans University, South Africa.105p.

24-Ololade, I.A. and O.Ogini, 2009.Behavioural and hematological effects of zinc on African Catfish (*Clarias gariepinus*).International Journal of Fisheries and Aquaculture. 2: 022-027.

Archive of SID

www.SID.ir

25-Turala, H. and Soivio, A. 1982.Structural and circulatory changes in thesecondary lamellae of *Salmo gaidneri* gills to ehydioabietic acid and zinc.Aquatic Toxicology. 2: 21-29.

26-Vinodhini, R. and M. Narayanan, 2008. Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). Int. J. Environ. Sci. Tech., 5 (2): 179-182

27-Widianarko, B., C. A. M.van Gestel, R. A.Verweij and N. M. van Straalen,

2000.Associations betweentrace metals in sediment, water, and guppy, *Poeciliareticulata* (Peters), from urban streams of Semarag, Indonesia. Ecotoxicology and Environmental Safety46B, 101–107.

28-Widianarko, B., F. X. S. Kuntoro, C. A. M. van Gestel, R. A. Verweij, and N.

M.van Straalen, 2001.Toxicokinetics and toxicity of zinc undertime-varying exposure in the guppy (*Poeciliareticulata*). Environmental Toxicology and Chemistry20, 763–768.

29-Yilmaz, M., Y. Ersan, E. Koc, H. Ozen, and M. Karaman, 2011.Toxic Effects of Cadmium Sulphate on Tissue Histopathology and Serum Protein Expression in European Chub, (*Leuciscus cephalus*) (Linnaeus, 1758). Kafkas Univ Vet Fak Derg 17(Suppl A): S131-S135.

Archive of SID

www.SID.ir