



اثرات غلظت‌های تحت‌کشنده کلرید روی بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهی کفال خاکستری (*Mugil Cephalus*) در شرایط آزمایشگاهی

پروین صادقی*، گیلان عطاران فریمان، نغمه کسلخه

گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۹۴/۱۰/۲۴	
اصلاح: ۹۴/۱۲/۱۲	
پذیرش: ۹۵/۰۲/۰۲	
کلمات کلیدی:	
آنزیم‌های کبدی	
کفال خاکستری	
کلرید روی	

مشکل آلودگی اکوسیستم‌های آبی به فلزات سنگین که یکی از مهم‌ترین آلاینده‌ها محسوب می‌شود ضرورت ارزیابی این عناصر را در ماهیان به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع غذایی انسان اثبات می‌کند. هدف از این تحقیق بررسی اثرات تحت‌کشنده کلرید روی به‌عنوان یکی از ترکیبات فراوان در اکوسیستم‌های آبی، بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی در ماهی کفال خاکستری می‌باشد. در این تحقیق بر اساس غلظت‌کشدگی متوسط، ۲ تیمار تحت‌کشنده از کلرید روی شامل ۱/۷۳ و ۳/۴۶ میلی‌گرم بر لیتر در نظر گرفته شد که هر تیمار دارای ۳ تکرار بود. ماهیان به مدت ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز در معرض دوزهای مختلف کلرید روی قرار گرفتند و در پایان جهت سنجش میزان آنزیم‌های کبدی از بافت کبد ماهیان نمونه‌برداری شد. نتایج نشان دادند که با افزایش غلظت‌های تحت‌کشنده میزان آنزیم‌های آسپارات آمینو ترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). همچنین با طولانی شدن زمان در معرض‌گذاری، میزان آنزیم‌های AST، ALP و ALT به صورت معنی‌داری روند افزایشی داشتند ($P \leq 0.05$). نتایج این آزمایش نشان می‌دهد، آنزیم‌های کبدی به عنوان شاخص‌های استرسی می‌توانند به‌عنوان پارامترهای مؤثری در پایش تغییرات بوم‌سمیت‌شناسی محسوب گردند.

مقدمه

امروزه آلودگی محیط‌های آبی یکی از مهم‌ترین و جدی‌ترین مسائل در دنیای رو به رشد می‌باشد (Yacoub and Gad, 2012). سیستم‌های آبی پیوسته با مشکلات ناشی از آلودگی مواجه هستند که از منابع مختلف مانند فاضلاب‌های صنعتی، پساب‌های کشاورزی و فاضلاب‌های شهری وارد آن‌ها می‌شوند. این آلاینده‌ها (فلزات سنگین، سموم و فرآورده‌های نفتی) برای سیستم‌های زیستی محیط‌های آبی، بیگانه و زیان آور بوده و اکثراً بدون هیچ تصفیه‌ای به آب‌ها رها می‌شوند. فلزات سنگین به عنوان یکی از گروه‌های اصلی آلاینده‌های محیط‌های آبی، در اثر فرآیندهای طبیعی و نیز به طور عمد در اثر فعالیت‌های انسانی به محیط‌های آبی راه می‌یابند (Humtsoe et al., 2007; Askary Sary et al., 2012). فلزات سنگین مس (Cu)، روی (Zn)، کادمیوم (Cd)، جیوه (Hg)، سرب (Pb) و نیکل (Ni) بیشترین فلزات سنگین موجود در اکوسیستم‌های آبی هستند که در مقادیر بیش از حد آستانه، سمی می‌باشند. روی و مس در غلظت‌های پایین ضروری می‌باشند (Jalali and Aghazadeh

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: parvin.sadeghi@gmail.com

(Meshgi, 2007). در زمینه آلودگی فلزات سنگین در محیط‌های آبی تحقیقات متعددی صورت گرفته است که از نظر سلامت انسان و بهداشت عمومی بسیار با اهمیت می‌باشند. از سوی دیگر هدف ثانویه این تحقیقات نگهداری حالت تعادل اکوسیستم‌های آبی می‌باشد (Dadolahi-Sohrab *et al.*, 2008). آلودگی‌های ناشی از فلزات سنگین در محیط‌های آبی، هم در حالت سمیت حاد و هم به صورت مزمن می‌تواند باعث ایجاد استرس برای ارگانیسم‌های آبی شود (Kori-Siakpere and Ubogu, 2008) که میزان اثر این آلاینده‌ها را می‌توان با استفاده از اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی در ماهیان که پاسخ‌های خاصی به نوع و درجه آلودگی از خود نشان می‌دهند مشخص کرد. پارامترهای خونی بیشتر به عنوان شاخص‌هایی از پاسخ‌های استرس‌های تحت کشنده یا تغییرات فیزیولوژیکی به کار برده می‌شوند، متداول‌ترین پارامترهای مورد بررسی در مطالعات آبزیان، فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی مانند آنزیم‌ها و پروتئین‌های درگیر در متابولیسم سم‌زدایی این فلزات هستند (Firat and Kargin, 2010). اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی سرم می‌تواند برای کمک به تشخیص اندام‌های هدف در آزمایشات سم‌شناسی و در تعیین سلامت عمومی موجودات بسیار مفید باشد (Jacobson-Kram and Keller, 2001). سرم و پلاسمای خون به عنوان محصولات حدواسط متابولیسم، نشان دهنده شرایط فیزیولوژیکی بدن موجودات می‌باشند (Artacho *et al.*, 2007). شاخص‌های بیوشیمیایی خون شامل آنزیم‌ها، مواد مغذی، متابولیت‌ها، تولیدات زائد و یون‌های غیر آلی برای پیدا کردن آسیب‌های سلولی و تعیین پاسخ‌های فیزیولوژیکی به فلزات به کار برده می‌شوند (Congleton and La Voie, 2001). آنزیم‌هایی همانند آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) از مهمترین آنزیم‌های بیوشیمیایی هستند که برای بررسی اثر فلزات سنگین و همچنین سلامت موجودات به عنوان نشانگر زیستی استفاده می‌شوند (Oner *et al.*, 2008). با توجه به اهمیت ماهیان که از منابع غذایی مهم برای انسان می‌باشند و با توجه به آلودگی محیط‌زیست این ماهیان به ویژه افزایش روز افزون فاضلاب‌ها و پساب‌های صنعتی که حاوی آلاینده‌های فلزات سنگین و سموم کشاورزی می‌باشند، تحقیقات گسترده‌ای در زمینه فلزات سنگین در حال انجام است. فلز روی در طبیعت به ندرت به صورت یون‌های آزاد وجود دارد و اغلب در ترکیب با سایر عناصر معدنی یافت می‌شود. این عنصر در مقادیر بالاتر از نیاز زیستی برای آبزیان سمی است. افزایش سطوح روی در اکوسیستم‌های آبی می‌تواند بر اثر تخلیه پساب‌های صنعتی، تخلیه و رسوب روی از طریق اتمسفر، شستشوی فاضلاب‌های محلی و مواد زائد فعالیت‌های معدنی، آفت‌کش‌ها و فرآیندهای گالوانیزاسیون باشد (Yim and Kim, 2006). نمک‌های روی از جمله کلرید روی کاربردهای متعددی در حفاظت چوب، کاتالیزور، کنترل خوردگی در سیستم‌های آب آشامیدنی، کاغذ عکاسی، سرامیک، منسوجات، کود، رنگدانه، باتری، و همچنین مکمل‌های تغذیه‌ای و دارویی مختلف دارد (ATSDR, 1995). ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) متعلق به خانواده Mugilidae می‌باشد و از مهم‌ترین ماهیان خوراکی مناطق گرمسیری و تحت گرمسیری به حساب می‌آیند (Sattari and Shahsavani, 2003). برای تعیین میزان خطرات این فلزات باید مشخص شود چه غلظتی از این فلزات برای ماهیان خطرناک است. لذا در این تحقیق سمیت کلرید روی به دلیل اینکه مقادیر قابل ملاحظه‌ای از آن‌ها در فاضلاب‌ها و پساب‌های صنعتی وجود دارد با هدف تعیین اثر تحت کشنده آن بر میزان آنزیم‌های کبدی به عنوان یک شاخص در ماهی کفال خاکستری انجام شد. از سوی دیگر در خصوص اثر این آلاینده بر میزان تغییرات سطوح آنزیم‌های کبدی در ماهی کفال خاکستری در منطقه دریای عمان تحقیقی صورت نگرفته است و نتایج بدیع حاصل از این پژوهش می‌تواند پایه مطالعات آتی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این بررسی در آزمایشگاه مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور چابهار انجام شد. تعداد ۲۷۲ قطعه ماهی کفال خاکستری صید شده از دریا به منظور سازش با موقعیت جدید و شرایط آزمایشگاهی به مدت یک هفته در تانک‌های فایبرگلاس نگهداری شدند. در دوره آداپتاسیون دوبار غذادهی صورت گرفت. غذای مصرف نشده پس از زمان غذادهی، با سیفون نمودن از کف تانک‌ها خارج شد تا مانع از آلودگی آب تانک گردد. شرایط فیزیکیوشیمیایی آب شامل: میانگین دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، میانگین pH ۷/۷۵، میانگین اکسیژن محلول ۸/۲۵ میلی‌گرم اکسیژن بر لیتر بود. بعد از سازگاری ماهیان با شرایط آزمایشگاهی و تعیین LC₅₀ کلرید روی (۱۷/۳۳ میلی‌گرم بر لیتر) برای ماهی کفال خاکستری آزمایش جداگانه‌ای طراحی

گردید. دو غلظت مختلف از فلز روی ($1/73$ و $3/46$ میلی‌گرم بر لیتر روی برابر با یک دهم و یک پنجم غلظت حدکشندگی (LC_{50}) برای آزمایش سمیت تحت‌کشنده در نظر گرفته شد. با القای غلظت‌های تحت کشنده کلرید روی در دو دوز ذکر شده در تانک‌های فایبرگلاس 40 لیتری، بعد از روزهای 1 ، 7 ، 14 و 21 نمونه کبد از ماهیان گرفته شد و از نظر تغییرات آنزیمی بررسی شدند.

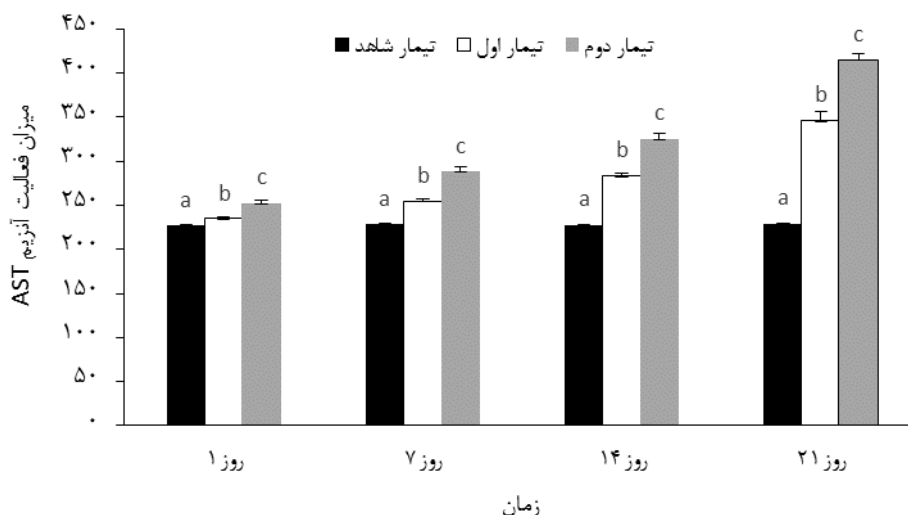
بعد از روزهای 1 ، 7 ، 14 و 21 جهت نمونه برداری از بافت کبد ماهیان، ابتدا ماهیان به آرامی و به وسیله یک تور دستی از مخازن آزمایش صید شدند، سپس در داخل تشت های 30 لیتری که حاوی پودر گل میخک به میزان یک گرم در لیتر بود بیهوش شدند و پس از بیهوشی کامل، ماهیان از تشت خارج شده و با استفاده از یک حوله سطح بدن آنها کاملاً خشک گردید. وزن هر ماهی به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت $1/10$ اندازه گیری و ثبت شد. پس از زیست سنجی با استفاده از تیغ جراحی قسمت شکمی ماهی باز و از کبد نمونه برداری صورت گرفت. برای اندازه گیری میزان آنزیم در کبد از روش تهیه سرم فیزیولوژی استفاده شد که پس از استخراج بافت کبد از ماهیان سه بار با PBS استریل با $pH 7/2$ شسته و با یک حجم بافر فسفات نمکی هموزنیزه و در دمای $4^{\circ}C$ به مدت 10 دقیقه با سرعت 3000 هزار دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس مایع رویی جمع‌آوری و در دمای $20^{\circ}C$ به مدت 5 دقیقه با سرعت 3000 هزار دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. عصاره استخراج شده برای تعیین مقادیر ALT، AST و ALP بافت کبد که تا زمان سنجش در دمای 80 درجه زیر صفر نگهداری شده بود، با استفاده از کیت تشخیص آنزیم پارس آزمون و روش فوتومتري اندازه گیری شد و مقادیر سنجیده شده بر حسب U/L بیان گردید (Barzegarzadeh-Zarandi and Dabidy-Roshan, 2012). اطلاعات حاصل از آنالیزهای آنزیمی با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20 و با انجام آزمون ANOVA یک طرفه و تست توکی در سطح معناداری 5% ($P \leq 0.05$) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. همه نتایج به دست آمده به وسیله میانگین \pm انحراف معیار محاسبه شدند. نمودارهای مربوطه با استفاده از Excel 2016 رسم گردید.

نتایج

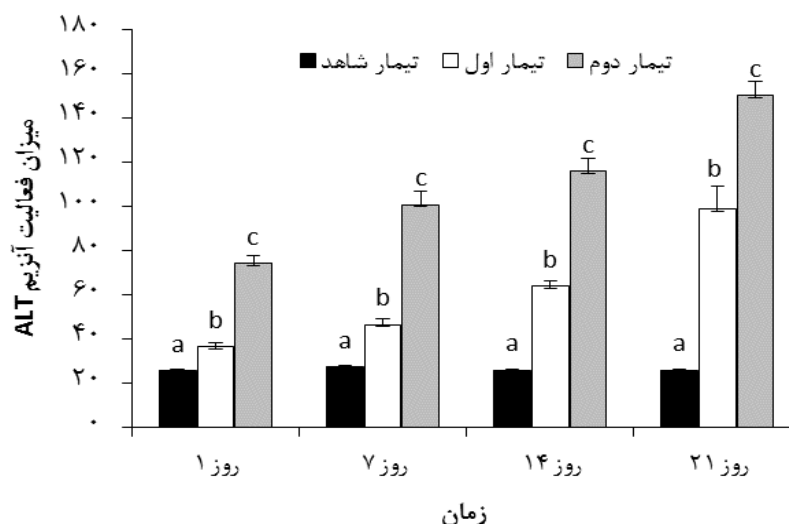
نرمال بودن داده ها با آزمون کولموگراف- اسمیرنوف و همگنی واریانس داده‌ها نیز از طریق آزمون لون مورد ارزیابی قرار گرفتند که با توجه به نتایج این آزمونها ($P \geq 0.05$) داده‌ها نرمال و واریانس یکسانی دارا بوده‌اند که به دنبال آن برای آزمون فرضیه آماری از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه استفاده گردید. بر این اساس تأثیر سطوح مختلف تحت کشنده کلرید روی بر میزان آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) در ماهی کفال خاکستری در شکل ۱ آمده است.

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود میزان آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) با افزایش میزان دوزهای تحت کشنده به صورت معنی‌داری افزایش یافته است ($P \leq 0.05$). همچنین مشاهده گردید که با گذشت زمان و طولانی شدن در معرض قرار گیری میزان آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز افزایش می‌یابد. کم‌ترین میزان آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز در غلظت $1/73 \text{ mg/L}$ روز ۱ برابر $1/73 \pm 235 \text{ U/L}$ و بیش‌ترین مقدار آن در غلظت $3/46 \text{ mg/L}$ روز ۲۱ برابر با $6/56 \pm \text{U/L}$ می‌باشد.

تأثیر سطوح مختلف تحت کشنده کلرید روی بر میزان آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در ماهی کفال خاکستری در شکل ۲ آمده است. همان‌گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود میزان آلانین آمینوترانسفراز (ALT) با افزایش میزان دوزهای تحت‌کشنده به صورت معنی‌داری افزایش یافته است ($P \leq 0.05$). همچنین مشاهده گردید که با طولانی شدن زمان در معرض قرارگیری میزان آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) افزایش می‌یابد. کم‌ترین میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در غلظت $1/73 \text{ mg/L}$ روز ۱ برابر با $1/20 \pm 36/66 \text{ U/L}$ و بیش‌ترین مقدار آن در غلظت $3/46 \text{ mg/L}$ روز ۲۱ برابر با $8/41 \pm 150/33 \text{ U/L}$ ثبت گردید.

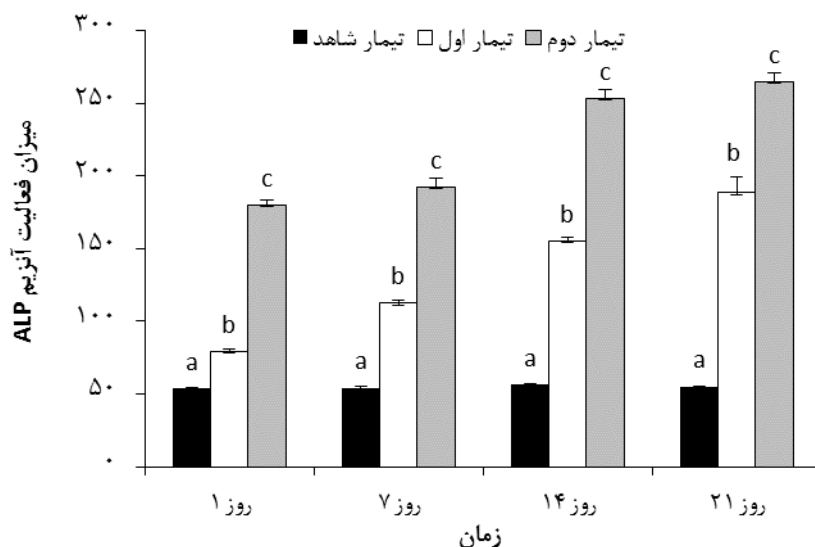


شکل ۱. تأثیر سطوح مختلف تحت کشنده کلرید روی بر میزان آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز (AST) بر حسب U/L در ماهی کفال خاکستری. ستون سیاه تیمار شاهد (بدون افزودن کلرید روی)، ستون سفید تیمار اول با غلظت ۱/۷۳ میلی گرم بر لیتر روی، ستون خاکستری تیمار دوم با غلظت ۳/۴۶ میلی گرم بر لیتر کلرید روی. حروف انگلیسی غیر مشترک نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۰/۰۵ در بین تیمارها در یک روز می باشد ($P \leq 0.05$) (میللهای خطا میانگین \pm انحراف معیار).



شکل ۲. تأثیر سطوح مختلف تحت کشنده کلرید روی بر میزان آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) بر حسب U/L در ماهی کفال خاکستری. ستون سیاه تیمار شاهد (بدون افزودن کلرید روی)، ستون سفید تیمار اول با غلظت ۱/۷۳ میلی گرم بر لیتر روی، ستون خاکستری تیمار دوم با غلظت ۳/۴۶ میلی گرم بر لیتر کلرید روی. حروف انگلیسی غیر مشترک نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۰/۰۵ در بین تیمارها در یک روز می باشد ($P \leq 0.05$) (میللهای خطا میانگین \pm انحراف معیار).

تأثیر سطوح مختلف تحت کشنده کلرید روی بر میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در ماهی کفال خاکستری در شکل شماره ۳ قابل مشاهده است. همان طور که در شکل ۳ مشاهده می شود میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) با افزایش میزان دوزهای تحت کشنده به صورت معنی داری افزایش یافته است ($P \leq 0.05$). همچنین همانند دو آنزیم AST و ALT که با گذشت زمان مقدار آنها افزایش یافت میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز نیز با طولانی شدن در معرض قرار گیری افزایش می یابد. کمترین میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در غلظت ۱/۷۳ mg/L در برابر ۱ برابر $U/L \pm 4/09$ و بیشترین مقدار آن در غلظت ۳/۴۶ mg/L روز ۲۱ برابر با $U/L \pm 3/48$ می باشد.



شکل ۳. تأثیر سطوح مختلف تحت کشنده کلرید روی بر میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) بر حسب U/L در ماهی کفال خاکستری. ستون سیاه تیمار شاهد (بدون افزودن کلرید روی)، ستون سفید تیمار اول با غلظت ۱/۷۳ میلی گرم بر لیتر روی، ستون خاکستری تیمار دوم با غلظت ۳/۴۶ میلی گرم بر لیتر کلرید روی. حروف انگلیسی غیر مشترک نشان‌دهنده معنی دار بودن در سطح ۰/۰۵ در بین تیمارها در یک روز می‌باشد ($P \leq 0.05$) (میل‌های خطا میانگین \pm انحراف معیار).

بحث

مطالعات آزمایشگاهی نشان دهنده خطر بالقوه سموم در محیط‌های آبی می‌باشد. داده‌ها و اطلاعات حاصل از آزمایشات سم‌شناسی در علم بوم‌سمیت‌شناسی نمایانگر تأثیرات وارد شده از سوی این سموم بر جمعیت ماهیان است (Francisco *et al.*, 1994). این مطالعه به منظور بررسی اثرات تحت کشنده کلرید روی بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی در ماهی کفال خاکستری انجام شد که نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد غلظت‌های مختلف تحت کشنده کلرید روی حتی در دوزهای پایین می‌تواند بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهی کفال خاکستری تأثیر گذار باشد. در تمام دوره ۲۱ روزه آزمایش هیچ تلفاتی بین تیمارهای مختلف آزمایشی دیده نشد. اما نتایج حاصل از آزمایش نشان دهنده موثر بودن غلظت‌های ۱/۷۳ و ۳/۴۶ میلی گرم بر لیتر کلرید روی بر فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهی کفال خاکستری می‌باشد (اشکال ۱، ۲ و ۳). همچنین با افزایش دوزهای آزمایش، مقدار دوز پایین‌تری از این فلز سنگین دارای اثر گذاری بیشتری بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهی کفال خاکستری گردید. در مطالعه حاضر میزان فعالیت آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در مواجهه با دوزهای مختلف تحت کشنده کلرید روی به صورت معنی‌داری ($P \leq 0.05$) در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافتند و در واقع تمام دوزهای تحت کشنده کلرید روی تحریک‌کننده فعالیت آنزیم‌های کبدی در ماهی کفال خاکستری بودند. میزان فعالیت آنزیم‌های AST, ALT و ALP در روز ۲۱ و در تیمار با دوز ۱/۷۳ به ترتیب ۴۱۵/۲۳، ۲۶۴/۳۳ و ۱۵۰/۳۳ بود که بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی در ماهی کفال خاکستری را نشان می‌دهد. Oner و همکاران در سال ۲۰۰۹ اعلام کردند که این تغییرات در میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی احتمالاً وابسته به تخریب بافت‌های کبد بر اثر استرس‌های ناشی از فلزات سنگین می‌باشد. تحقیقات مشابهی بر روی اثرات تحت کشنده فلزات سنگین بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهیان صورت گرفته است. در تحقیق Safari و همکاران (2015)، تأثیر غلظت‌های تحت کشنده کلرید کادمیوم بر برخی شاخص‌های خونی استرس در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) را مورد بررسی قرار دادند، نتایج این مطالعه نشان داد که میزان AST و ALT با افزایش غلظت کلرید کادمیوم افزایش می‌یابد که نتایج حاصل با نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر مطابقت دارد. در تحقیق دیگری Ghovati و همکاران (2011) مقایسه و بررسی تغییرات سختی و قلیائیت با مسمومیت فلز سنگین روی در ماهی کپور معمولی را مورد بررسی قرار دادند و بیان

داشتند که تغییرات معنادار آنزیم‌ها و فاکتورهای بیوشیمیایی خون، بیانگر تاثیر سوء فلز سنگین روی بر سیستم ایمنی و فیزیولوژیک ماهیان می‌باشد. در همین راستا Firat و Kargan در سال ۲۰۱۰ به مطالعه اثر فلزات سنگین بر فاکتورهای بیوشیمیایی ماهی نیل تیلاپیا پرداختند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان فعالیت AST و ALT در ماهیان در معرض دوز تحت کشنده فلزات سنگین به مدت ۷ و ۱۴ روز به صورت معنی‌داری افزایش یافته است که نتایج، مشابه نتایج تحقیق اخیر می‌باشد. در مطالعه ای دیگر Oner و همکاران (2009) تأثیر فلزات سنگین روی، کادمیوم، نقره، کروم و مس را بر برخی شاخص‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در ماهی تیلاپیا نیل مورد بررسی قرار دادند که نتایج به دست آمده نشان داد القای فلزات سنگین باعث افزایش میزان AST و کاهش میزان ALT در ماهی تیلاپیا نیل می‌گردد. همچنین بیان داشتند که مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌توانند برای تشخیص درجه سمیت فلزات سنگین در کبد مفید باشند. نتایج مشابهی از بررسی اثرات فلزات سنگین کادمیوم و سرب بر روی خامه ماهی در شرایط آزمایشگاهی نشان داد میزان آنزیم‌های کبدی در این ماهی با افزایش دوز آلاینده و مدت زمان در معرض بودن ماهی افزایش می‌یابد (Amrollahi Biuki *et al.*, 2010). از سوی دیگر مطالعه‌ای توسط Firat و همکاران (۲۰۱۱) در خصوص اثرات فلزات سرب و مس روی آنزیم‌های کبدی ماهی *Oreochromis niloticus* انجام گرفته است. نتایج این تحقیق نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار میزان آنزیم‌های AST، ALT و ALP بعد از ۲۱ روز القاء آلاینده در این ماهی می‌باشد.

به طور کلی، نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف تحت کشنده کلرید روی و زمان در معرض‌گذاری این فلز می‌تواند بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهی کفال خاکستری مؤثر باشد و همچنین آنزیم‌های کبدی به عنوان شاخص‌های استرسی می‌توانند پارامترهای مؤثری در پایش تغییرات بوم‌سمیت‌شناسی محسوب گردند.

منابع

- Amrollahi Biuki, N., Savari, A., Mortazavi, M.S., Zolgharnein, H. 2010. Acute toxicity of cadmium chloride on *Chanos chanos* and their behavior responses. *World Journal Fish Marine Sciences*. 2(6): 481-486.
- Artacho, P., Soto-Gamboa, M., Verdugo, C., Nespolo, R.F. 2007. Blood biochemistry reveals malnutrition in black-necked swans (*Cygnus melanocoryphus*) living in a conservation priority area. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 146: 283-29.
- Askary Sary, A., Javaheri Baboli., M., Mahjob, S., Velayatzadeh, M. 2012. The comparison of heavy metals (Hg, Cd, Pb) in the muscle of *Otolithes ruber* in Abadan and Bandar Abbas Ports, the Persian Gulf. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 21(3): 99-106.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 1995. Toxicological profile for zinc. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA. Available from <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles>.
- Barzegarzadeh-Zarandi, H., Dabidy-Roshan, V. 2012. Change in some liver enzymes and blood lipid level following interval and continuous regular aerobic training in old rat. *Journal of Shahrekord University Medical Science*. 14(5): 13-23. (in Persian).
- Congleton, J.L., La Voie, W. 2001. Comparison of blood chemistry values of samples collected from juvenile Chinook salmon by three methods. *Journal of Aquatic Animal Health*. 13: 168-172.
- Dadolahi-Sohrab, A., Nabavi, S.M.B. Kheyrvan, N. 2008. Relationship of some biometrics characteristics with heavy metals accumulation in muscle and gill scales of *Barbus grypus* in Arvandrod River. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 17(4): 27-34. (in Persian).
- Firat, O., Cogun, H.Y., Yüzereroğlu, T.A., Gök, G., Firat, O., Kargin, F., Kötemen, Y. 2011. A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 37(3): 657-666.
- Firat, O., Kargin, F. 2010. Individual and Combined Effects of Heavy Metals on Serum Biochemistry of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 58: 151-157.

- Francisco, A.A., Eugenio, L., Megdalena, D.A. 1994. Acute toxicity of the herbicide glyphosate to fish. *Chemospher*. 28: 735-745.
- Ghovati, N., Mohammadi, S. Mohammadi, V. 2011. Comparison and study of hardness and alkalinity change with heavy metal of zinc in common carp (*Cyprinus carpio*). *Scientific Journal of Wetland* . 2(8): 21-28. (in Persian).
- Humtsoe, N., Davoodi, R., Kulkarni, B.G., Chavan, B. 2007. Effect of arsenic on the enzymes of the Rohu Carp, *Labeo rohita*. *Raffles Bulletin of Zoology*. 14: 17-19.
- Jacobson-Kram, D., Keller, K.A. 2001. *Toxicology testing handbook*. Marcel Dekker, New York, NY.
- Jalali, B., Aghazadeh Meshgi, M. 2007. Fish intoxication by heavy metals its significance on public health. 1th edition. Maan Ketab Press. Tehran, Iran. 134p. (in Persian).
- Kori-Siakpere, O., Ubogu, E.O. 2008. Sublethal haematological effects of zinc on the freshwater fish, *Heteroclaris* sp. (Osteichthyes: Clariidae). *African Journal of Biotechnology*. 7: 2068-2073.
- Oner, M., Atli, G., Canli, M. 2008. Change in serum biochemical parameters of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposure. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 27(2): 360-366.
- Oner, M., Atli, G., Canli, M. 2009. Effects of Metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) Exposures on Some Enzymatic and Non-Enzymatic Indicators in the Liver of *Oreochromis niloticus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 82: 317-321.
- Safari, R., Shabani, A., Imanpour, M.R. 2015. Effect of sub lethal doses of CdCL₂ on some blood parameters of stress in Juveniles of *Asipencer persicus*. *Journal of Animal Environment*. 6(4): 65-76. (in Persian).
- Sattari, M., Shahsavani, Sh. 2003. *Fish systematics*, Haghshenas publication. Gilan university. 502 p. (in Persian).
- Yacoub, A.M., Gad, N.S. 2012. Accumulation of some heavy metals and biochemical alternations in muscles of *Oreochromis niloticus* from the River Nil in Upper Egypt. *International journal of environmental science and engineering*. 3: 1-10.
- Yim, J.H., Kim, S.D. 2006. Effects of hardness on acute toxicity of metal mixtures using *Daphnia magna*. *Journal of Hazardous Materials*.138: 16-21.