بررسی شاخصهای خونی در ماهیان کپور معمولی قرار گرفته در معرض غلظتهای تحت کشنده و ترکیبی مس و سرب

۱-اعظم آفاقی ۲- صمد زارع

۱- استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد صوفیان،دانشگاه آزاد اسلامی، صوفیان، ایران

۲- استاد گروه زیست شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

Email:azam.afaghi@gmail.com
Email: s.zare@urmia.ac.ir

چکیده

دراین تحقیق، ۳۰ ماهی در معرض دز ترکیبی مس و سرب (0.16mg Cu/l + 1.3mg Pb/l)، قرار گرفتند. بعد از ۲۱ روز، بعد از بی هوش نمودن ماهیها، از رگ دمی آنها خون گیری نموده و در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد برای انجام CBC ریخته شدند. نتایج نشان دهنده کاهش معنی دار ($P<0.05$) تعداد گلبولهای قرمز خونی (RBC)، میزان هموگلوبین (Hb) ، درصد هماتوکریت (Hct) و درصد MCHC در گروه آزمایشی نسبت به گروه شاهد بود. میزان MCV و MCH در گروه آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی داری ($P<0.05$) نشان داده است.

کلمات کلیدی: مس، سرب، کپور معمولی، شاخصهای خونی

۱.مقدمه

فلزات در نتیجه فعالیت های صنعتی مانند استخراج معدن (به ویژه تصفیه سنگ معدن روی، سرب و کادمیوم) و سوزاندن زغال سنگ و زباله ها در محیطهای دریایی رها می شوند [۱۳].

مس یک فلز واسطه با فراوانی بالا در محیط های آبی و خشکی است. مس، به عنوان یک ماده مغذی ضروری، نقش مهمی در عملکردهای مختلف در بیوشیمی سلولی، به ویژه به عنوان یک کوفاکتور برای بسیاری از آنزیم ها و به عنوان ترکیبی از آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی سرولوپلاسمین و متالوتیونین ها ایفا می کند [۲, ۸]. از طریق این مکانیسم ها، مس در دفاع آنتی اکسیدانی در برابر مواد مضر مختلف شرکت می کند [۷, ۱۸] . مس علیرغم اثر محافظتی خود ممکن است برای ماهی بسیار سمی باشد که سمیت مس به شدت به غلظت آن و پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب وابسته است [۳].

سرب، یکی از فلزات غیر ضروری و سمی است که به طور گسترده در محیط های آبی و پوسته زمین پراکنده است. فلزات سنگین مانند سرب، جیوه و کادمیوم به عنوان عامل خطرات بهداشت عمومی در نظر گرفته می شوند [۲۲, ۲۷]. سرب باعث نفروتوکسیتی، نوروتوکسیتی، کاهش سرعت رشد، بقا، متابولیسم می شود [۱۹]. استفاده از سوختهای فسیلی ، تخلیه فاضلابهای شهری و کشاورزی به آبها ، فرسایش زمین و استفاده از کودها و سموم شیمیایی ، باعث ورود مس و سرب به اکوسیستم های آبی می شود، مس و سرب موجود در آب نیز توسط ماهیان و سایر ارگانیسمهای موجود در آب جذب و در ترکیبات بدن آنها شرکت می نماید [۱۵]. مس و سرب از آلاینده های محیطی پایدار و ماندگار هستند و از فلزات سمی قوی برای موجودات آبزی محسوب می شوند. این آلاینده ها اثرات جدی بر رشد، فیزیولوژی ومیزان بقای موجودات آبزی به ویژه ماهیان دارند [۱۶].

پارامترهای هماتولوژیک شاخص خوبی برای بررسی تغییرات فیزیولوژیکی و وضعیت سلامت در ماهی هستند که می توانند تحت تأثیر طیف وسیعی از عوامل، هم درون زا و هم برون زا قرار گیرند [۲۳]. مطالعات زیادی در زمینه تاثیر فلزات سنگین بر فاکتورهای خونی صورت گرفته است. Abou.و همکاران (۲۰۰۵)، اثرات سمی مس و کادمیوم و تاثیر آنها بر روی شاخصهای بیوشیمیایی ماهی انگشت قد کفال دریایی (*Mugil seheli*) را مورد بررسی قرار دادند [۴]. جواد سپاهی و همکاران (۱۳۹۸) اثرات فلز سنگین مس بر برخی شاخصهای فیزیولوژیک در بچه ماهیان فیتوفاگ پرورشی (*Hypophthalmichthys molitrix*) را مورد آزمایش قرار دادند[۱].

Witeska و همکاران در سال ۲۰۰۷، پیشنهاد نمودند که قرار گرفتن در معرض سطوح غیر کشنده سرب باعث تغییر در پارامترهای خون مانند تعداد گلبول های قرمز (RBC) و مقدار هموگلوبین در ماهی می شود [۲۸]. Shah و همکاران بیان نمودند که قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین علت اصلی کاهش تعداد گلبول های قرمز و غلظت هموگلوبین است [۲۴].

ماهی کپور معمولی، از جمله گونه هایی می باشد که به طور گسترده ای در کشور ایران برای تهیه غذا پرورش و صید می شود [۲۱]. در این مطالعه، میزان شاخصهای خونی در ماهیان کپور معمولی که به مدت ۲۱ روز در معرض دز ترکیبی و زیر حد کشندگی فلزات مس و سرب قرار داشتند، مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روشها:

حیوانات مورد استفاده در این تحقیق، ماهیانی از خانواده *Cyprinidae* (کپور ماهیان) و از نوع کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با میانگین وزنی (۵۰g ±۲۰۰) بودند . این ماهیان از محل پرورش ماهیان گرم آبی در ارومیه خریداری و به آزمایشگاه در مرکز تحقیقات آرتمیای کشور منتقل شدند. ماهیان در تانکهای ۲۰۰ لیتری که با آب شیر هوادهی شده پر شده بودند، قرار گرفتند. شاخص های فیزیکی و شیمیایی آب مورد استفاده در این آزمون : اکسیژن محلول :mg/L ۳ ± ۷/۲۵، شوری: ۱/۷g/l، سختی کل mg/l: ۵۲۶، ۸ =PH، دمای آب : ۱±۱۷ درجه سانتی گراد.

قبل از شروع آزمایش ماهیان حدود دو هفته در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند تا به شرایط جدید آداپته شوند. بعد به مدت ۲۱ روز، فلز سرب و مس (مس به صورت سولفات مس آبدار (CuSO4,5H2O) و سرب به صورت نیترات سرب (PbNO3)، در مقدار مشخص وزن شده و هر روز به آب ماهی ها اضافه شد. پس از گذشت ۲۱ روز، با زدن ضربه به سر ماهی ها، آنها را بی هوش نموده وتوسط سرنگ ۵ میلی آغشته به هپارین، از ساقه دمی آن‌ها خون‌گیری نموده و در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد برای انجام CBC ریخته شدند. شمارش تعداد گلبولهای قرمز خونی در زیر میکروسکوپ نوری دوچشمی ساخت کشور آلمان با استفاده از لام نئوبار و محلول‌های رقیق کننده اختصاصی شمارش سلول‌های خونی (محلول‌هایم) صورت گرفت [۲۰]. میزان هموگلوبین خون به کمک کیت معمولی هموگلوبین (شرکت زیست شیمی) و روش سیان مت هموگلوبین، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد [۱۰]. درصد هماتوکریت توسط روش میکروهماتوکریت، با استفاده از لوله های موئین هپارینه میکروهماتوکریت و دستگاه سانتریفوژ مخصوص سنجیده شد [۱۵]. شاخصهای یاخته های قرمز (MCH ، MCVو MCHC)، که برای توصیف اندازه یاخته ها و میزان هموگلوبین آنها به کار می رود و از شمارش یاخته های قرمز، غلظت هموگلوبین و هماتوکریت به دست می آید از روابط زیر محاسبه گردید:

میانگین غلظت هموگلوبین ذره ای (MCHC= Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration):

MCHC = هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر) / هماتوکریت × ۱۰۰ (گرم بر دسی لیتر)

میانگین هموگلوبین ذره ای (MCH= Mean Corpuscular Haemoglobin):

MCH پیکوگرم (pg) = هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)/ تعداد یاخته های قرمز (میلیون در میلی متر مکعب) × ۱۰

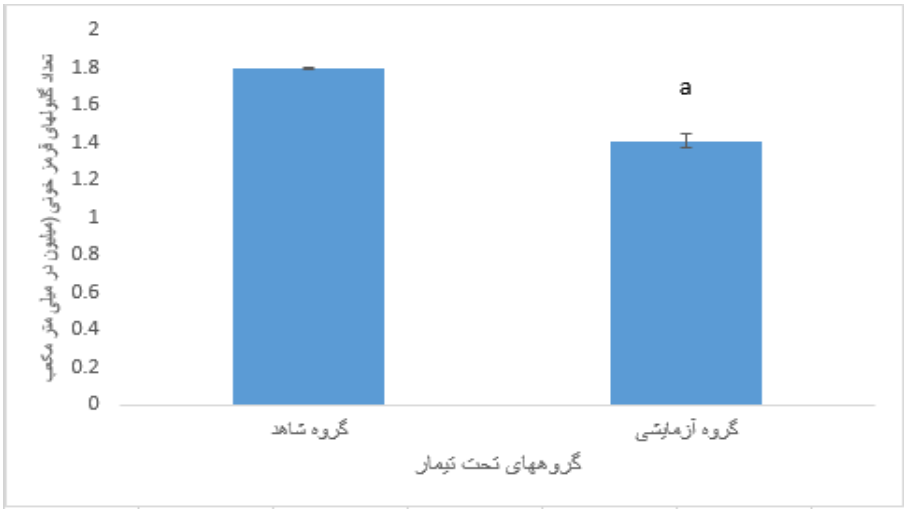
حجم متوسط گلبول قرمز (MCV =Mean Corpuscular Volume):

MCV فمتولیتر (FL) = هماتوکریت/ تعداد گلبولهای قرمز(میلیون در میلی متر مکعب) × ۱۰ [۱]

از نرم افزار SPSS برای آنالیز داده ها استفاده شد. نتایج به صورت خطای استاندارد ± میانگین نشان داده شدند. برای سنجش وجود اختلاف معنی دار بین گروهها از تست دانکن و One-way ANOVA استفاده شد. اختلاف معنی دار بین گروهها با $P<0.05$ نشان داده شده است. نمودارها با استفاده از نرم افزارMiicrosoft Excel 2016 رسم شدند

۳. نتایج و بحث

همانطور که در نمودار ۱ نشان داده شده، تعداد اریتروسیتهای خونی در ماهیان کپور معمولی قرار گرفته در معرض (0.16mg Cu/l + 1.3mg Pb/l)، به مدت ۲۱ روز (۰/۰۳۶ ± ۱/۴۱) به طور معنی داری ($P<0.05$) در مقایسه با گروه شاهد(۰/۰۰۵ ± ۱/۸)کاهش یافته است. نمودارهای ۲ و ۳ نیز به ترتیب نشان دهنده کاهش معنی دار ($P<0.05$) میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت در گروه آزمایشی به ترتیب (۰/۰۳۷ ±۶/۰۲ mg/dl ٪ ۰/۲۸ ±۲۷/۵)، نسبت به گروه شاهد (به ترتیب ۰/۰۲ ±۶/۹۴ mg/dl ٪ ۰/۱۷۶ ±۲۹/۰۳) است. میزان MCV و MCH در گروه آزمایشی به ترتیب (۶/۴ FL ± ۱۹۵/۳۵) و (۰/۸۴ pg ± ۴۲/۷۸) است که نسبت به میزان MCV گروه شاهد (۱/۴۸ FL ± ۱۶۱/۳) و میزان MCH گروه شاهد (۰/۲۱ pg ± ۳۸/۵۵)افزایش معنی داری ($P<0.05$) نشان داد (نمودار ۴و ۵). درصد MCHC در ماهیان کپور معمولی قرار گرفته در معرض (0.16 mg Cu/l +1.3 mg Pb/l) ، ۰/۳۶ ± ۲۱/۹۱ گرم بر دسی لیتر است که نسبت به گروه شاهد (۰/۱۲ ± ۲۲/۸۳ گرم بر دسی لیتر) کاهش معنی داری ($P<0.05$) داشته است (نمودار ۶).

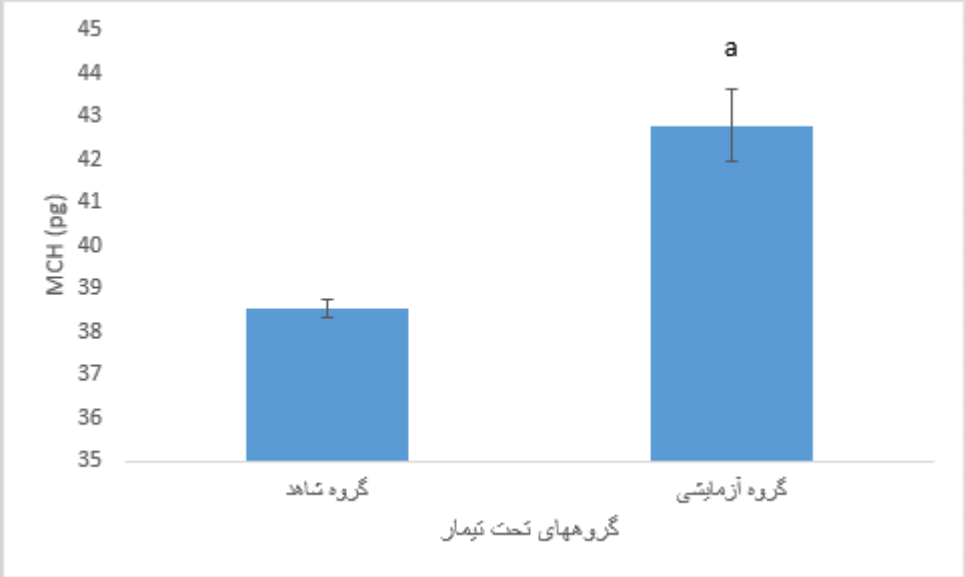


نمودار ۱: مقایسه تعداد گلبولهای قرمز خونی در گروه شاهد و گروه آزمایشی قرار گرفته در معرض دز ترکیبی مس و سرب (0.16mgCu/l + 1.3mgPb/l)، a : نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار (P<0.05) بین گروهها است.

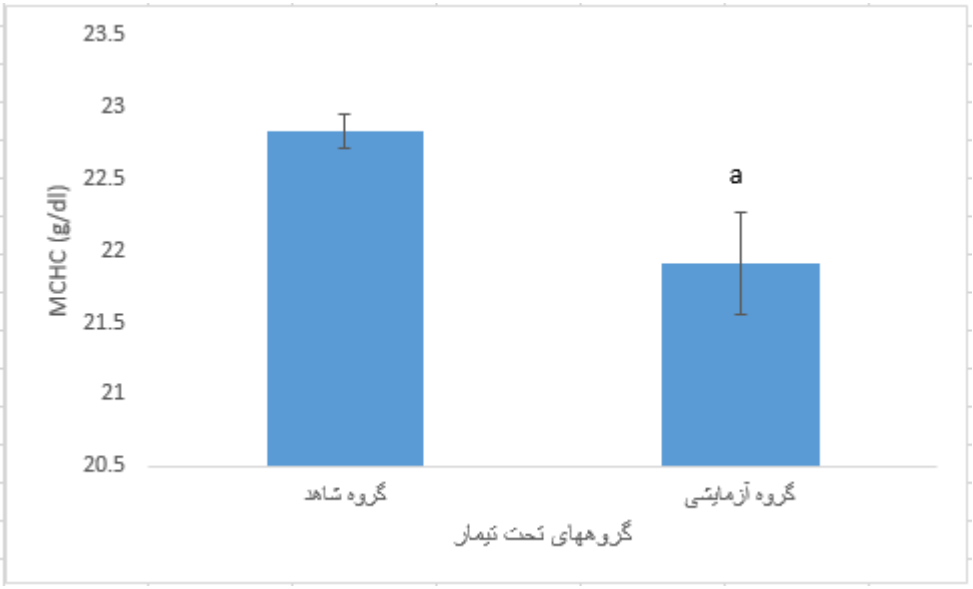
نمودار ۲: مقایسه میزان هموگلوبین خون در گروه شاهد و گروه آزمایشی قرار گرفته در معرض دز ترکیبی مس و سرب (0.16mgCu/l +1.3mgPb/l)،a: نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار (P<0.05) بین گروهها است.

نمودار ۳: مقایسه میزان هماتوکریت در گروه شاهد و گروه آزمایشی قرار گرفته در معرض دز ترکیبی مس و سرب (0.16mgCu/l+1.3mgPb/l)، a: نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار (P<0.05) بین گروهها است.

نمودار ٤: مقایسه میزان MCV در گروه شاهد و گروه آزمایشی قرار گرفته در معرض دز ترکیبی مس و سرب ، (0.16mgCu/l +1.3mgPb/l)، a: نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار (P<0.05) بین گروهها است.



نمودار ٥: مقایسه میزان MCH در گروه شاهد و گروه آزمایشی قرار گرفته در معرض دز ترکیبی مس و سرب (0.16mg Cu/l+1.3mgPb/l) a : نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار (P<0.05) بین گروهها است.



نمودار ٦: مقایسه میزان MCHC در گروه شاهد و گروه آزمایشی قرار گرفته در معرض دز ترکیبی مس و سرب (0.16mgCu/l+1.3mg Pb/l) a: نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار (P<0.05) بین گروهها است.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که میزان RBC, Hb, HCT, MCHC در ماهیان گروه آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت. یافته‌های سایر محققان نیز نشان داده است که کاهش معنی‌داری در میزان RBC، HCT و Hb ماهیان مواجهه یافته با سرب مشاهده شده است [۱۲, ۱۴]. سطوح هماتوکریت، MCV، تعداد گلبول‌های قرمز در ماهی *Oreochromis niloticus* قرار گرفته در معرض ppm ۴مس و ppm ۰/۲ سرب در طی ۷، ۱۵ و ۳۰ روز به‌طور معنی‌داری تغییر یافت [۹]. مواجهه با مس، سرب و کروم باعث کاهش تعداد گلیولهای قرمز و درصد هماتوکریت در ماهی *Ctenopharyngodon idella* شده است [۲۴]. غلظت‌های کشنده سرب باعث کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در *Oreochromis aureus* شد که مربوط به همولیز گلبول های قرمز تحت تأثیر فلزات بود [۷]. شواهد واضحی از کاهش تعداد RBC و محتوای Hb در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با سرب گزارش شده است [۲۸]. Singhو همکاران (۲۰۰۸) ، اثر مس بر پروفیل خون خامه ماهی (*Channa punctatus*) آب شیرین را مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبولهای قرمز در پایان دوره ۴۵ روز به طور معنی داری درمقایسه با شاهد کاهش یافت [۲۵].

استرس، بیماریها و مواد سمی باعث تغییر فاکتورهای هماتولوژیکی می شوند. تغییرات در این شاخصها بسته به نوع ماهی، میزان فلز و دوره مسمومیت متفاوت است و موجود تا حد امکان سعی می کند تا با استفاده از مکانیسمهای فیزیولوژیکی جبرانی آنها را در یک محدوده استاندارد نگه دارند و این شاخصها به عنوان پاسخهای ثانویه یک ارگانیسم در مقابل محرک محسوب می شوند[۱].

فلزات سنگین مثل مس و سرب با گروههای تیول (SH)، پروتئینهای غشاء گلبولهای قرمز پیوند تشکیل داده و باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشای گلبولهای قرمز، تخریب و همولیزیس این گلبولها می شوند. تخریب و اختلالات عملکردی ناشی از تجمع فلزات در بافت‌های خونساز و سایر بافت‌ها، مسدود شدن ژن‌ها در مغز استخوان، ایجاد اختلال در تنظیم اسمزی بدن به علت تخریب بافت آبشش (ورود آب از محیط به بدن) و کلیه (عدم توانایی در دفع اضافه آب از بدن) ، ایجاد اختلال در نفوذ پذیری غشای گلبولهای قرمز و عدم تعادل فشار اسمزی داخل و خارج سلولهای خونی، از علتهای کاهش تعداد گلبولهای قرمز در ماهیان گروه آزمایشی هستند[۳]. کاهش میانگین غلظت هموگلوبین خون در گروه آزمایشی عمدتاً ناشی ازفقر آهن یا ناتوانی استفاده از آهن موجود در جیره غذایی است. کاهش تعداد گلبول های قرمز به علت همولیز یا اختلالات اریتروپوئیتیک و همچنین کاهش میزان هموگلوبین در اثر اختلالات خونی (هموپوئیتیک) باعث ایجادکم خونی در ماهی می شود. کم خونی نیز بر سلامت عمومی ماهی تأثیر می گذارد [۱]. خواص هموگلوبین توسط فلزات سنگین مانند کادمیوم، کروم، نیکل و سرب به علت از دست دادن خاصیت اتصال اکسیژن آنها تغییر می یابد که در نهایت باعث آسیب گلبول های قرمز می شود [۱]. کاهش میزان هماتوکریت خون در ارتباط با کاهش تعداد گلبولهای قرمز است. کاهش در میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبولهای قرمز خونی باعث همودیلاسون و رقیق شدن خون می شود، مکانیسمی که میزان مواد سمی در گردش خون را کاهش می دهد[۲۶]. در مطالعه صورت گرفته توسط Abdel-Warith و همکاران (۲۰۲۰)، مشاهده شده که نیترات سرب باعث ایجاد تغییراتی همچون افزایش و کاهش سطوح MCHC, MCH, MCV در ماهیان قرار گرفته در معرض سرب شده است. افزایش MCV در ماهی

Clarias gariepinus قرار گرفته در معرض سرب، در تحقیق انجام گرفته توسط Adeyemo (۲۰۰۷)، گزارش شده است [۵]. Oluahو Omerebele در سال (۲۰۱۰) ، کاهش در MCH و MCHC ماهی *Clarias gariepinus* قرار گرفته در معرض سرب را بیان نمودند [۱۷]. مواد شیمیایی و فلزات باعث تغییر سطوح MCV، MCH و MCHC شده اند که این تغییرات در نتیجه پاسخهای مستقیم یا فیدبکی به آسیب ساختاری غشای گلبولهای قرمز که باعث همولیز و تخریب ساختار هموگلوبین می شوند، ایجاد شده اند [۱۶]. از این رو، تغییرات در پارامترهای خونی تحت تاثیر فلزات منعکس کننده شرایط فیزیولوژیکی موجودات است و از جمله شاخصهای تعیین کننده کیفیت آب است.

منابع

۱. سپاهی، جواد، نخبه زارع، دل آرام، فدایی راینی، رها؛ بررسی اثرات فلز سنگین مس بر برخی شاخصهای فیزیولوژیکی ماهی فیتوفاگ پرورشی *(Hypophthalmichthys molitrix)*، فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری، ۱۳۹۸، شماره ۲، صفحات ۲۱۴-۲۰۵.

2. *Abdel-Tawwab, Mohsen. et al, The use of calcium pre-exposure as a protective agent against environmental copper toxicity for juvenile Nile tilapia, Oreochromis niloticus (L.). Aquaculture. 264(1-4), 2007, pp. 236-246*

3- *Abdel-Warith, Abdel-Wahab, A. et al, Bioaccumulation of lead nitrate in tissues and its effects on hematological and biochemical parameters of Clarias gariepinus. Saudi Journal of Biological Sciences. 27, 2020, pp. 840-845.*

4- *Abou, El-Naga. et al, Toxicity of cadmium and cooper and their effect on some biochemical parameters of marine fish Mugil seheli. Egyptian Journal of Aquatic Research, 31, 2005. pp: 60-71*

5- *Adeyemo, Olanike Kudirat, Haematological profile of Clarias gariepinus (Burchell, 1822) exposed to lead. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 7, 2007, pp.163-169.*

6- *Ahmad, Iqbal. et al, Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (Channa punctatus Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1523(1), 2000, pp. 37-48.*

7- *Al-Kahtani, Mohammed A,Accumulation of heavy metals in tilapia fish (Oreochromis niloticus) from Al-Khadoud Spring, Al Hassa, Saudi Arabia, American Journal of Applied Sciences, 6 (12), 2009. pp. 2024–2029.*

8- *Amiard, Jean-Claude. et al, Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. Aquatic toxicology, 76(2), 2006.pp. 160-202*

9- *Çiftçi, Nuray. et al, Effects of copper and lead on some haematological parameters of Oreochromis niloticus. Fresenius Environmental Bulletin, 24 (9), 2015. pp. 2771-2775.*

10- *Drabkin, D.L, Spectrophotometric studies: XIV. The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species. Journal of Biological Chemistry, 164, 1946. pp. 703-723.*

11- Grosell, Marthin. et al, Influence of Ca, humic acid and pH on lead accumulation and toxicity in the minnow during prolonged water-borne lead exposure. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 143(4), 2006, pp. 473-483.

12- Ikeogu, Chika Florence. et al, Haematological and serological responses of Clarias gariepinus to sublethal concentrations of lead nitrate. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 73, 2004, pp. 911-918.

13- Kim, Jun-Hwan. et al, Toxic effects on hematological parameters and oxidative stress in juvenile olive flounder, Paralichthys olivaceus exposed to waterborne zinc. Aquaculture Reports, 15, 2019.

14- Mahmoud, Usama M. et al, Effect of lead on some haematological and biochemical characteristics of Clarias gariepinus dietary supplemented with lycopene and vitamin E. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology, 5, 2013, pp. 67-89.

15- Mazon, Ade F. et al, Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, Prochilodus scrofa. Brazilian Journal of Biology, 62(4A), 2002, pp. 621-631.

16- Ololade, I. and Oginni, O, Toxic stress and hematological effects of nickel on African catfish, Clarias gariepinus, fingerlings. Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 2, 2010, pp.014-019.

17- Oluah, Ndubuisi Stanley, Omerebele, Ulasi A.M, Changes in haematological parameters of Clarias gariepinus exposed to lead poisoning. Journal of Fisheries International 5(4), 2010, pp. 72-76.

18- Pandey, S. et al, Effect of endosulfan on antioxidants of freshwater fish Channa punctatus Bloch: 1. Protection against lipid peroxidation in liver by copper preexposure. Archives of environmental contamination and toxicology, 41(3), 2001, pp. 345-352.

19- Rahman, M.S. et al, Study on heavy metals levels and its risk assessment in some edible fishes from Bangshi River, Savar, Dhaka, Bangladesh. Food chemistry, 134(4), 2012, pp. 1847-1854

20- Rusia, V. and Sood, S.K, Routine haematological test In: Medical laboratory technology Mukerjee, K.L. (ed) Tata McGraw Hill Publishing Company Limited, 1992, pp. 252-258.

21- Salehi, Hasan, An analysis of the consumer market for carp and carp products in Iran, 2006.

22- Sastry, K. and Gupta, P, The effect of cadmium on the digestive system of the teleost fish, Heteropneustes fossilis. Environmental research, 19(2), 1979, pp. 221-230.

23- Sevcikova, M. et al, Biochemical, haematological and oxidative stress responses of common carp (Cyprinus carpio L.) after sub-chronic exposure to copper. Veterinarni Medicina, 61, 2016

24- Shah, Nazish. et al, Monitoring bioaccumulation (in gills and muscle tissues), hematology, and genotoxic alteration in Ctenopharyngodon idella exposed to selected heavy metals. BioMed Research International, 2020, pp. 1-16.

25- Singh, Dharam, et al, Impact of copper on haematological profile of freshwater fish, Channa punctatus. Journal of Environmental Biology, 29, 2008, pp: 253-257

26- Schmitt, Christopher J. et al, Biomonitoring of Environmental Status and Trends (BEST) Program: Field Procedures for Assessing the Exposure of Fish to Environmental Contaminants. Information and Technology Report 1999-0007, Geological Surgery. Biological Resources Division, Columbia, 1999. pp. 67.

27- Tamizhazhagan, V. et al, The toxicity effect of monocrotophos 36% EC on the biochemical change in Catla catla (Hamilton, 1882). Global Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences, 2(2), 2017, pp. 47-53.

28- Witeska, Małgorzata. et al, Hematological changes in common carp (Cyprinus carpio L.) after short-term Lead) Pb) exposure. Polish Journal of Environmental Studies, 2010, 19(4), pp. 825- 831

29-Witeska, Małgorzata and Wakulska, Marta, The effects of heavy metals on common carp white blood cells in vitro. Alternatives to Laboratory Animals, 2007, 35, 87-92.

30- Yılmaz, Ayşe Bahar. et al, Metals (major, essential to non-essential) composition of the different tissues of three demersal fish species from Iskenderun Bay, Turkey. Food chemistry, 123(2), 2010, pp. 410-415