

مقاله علمی - ترویجی

بررسی اثر آلاینده‌ها بر آنزیم‌های کبدی در آبزیان

معصومه درویشی^{*}، نرگس عالیشاه^۱

*M_darvishi_m71@yahoo.com

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و علوم دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۰

چکیده

برآورد خطرات مواجهه ماهی با ترکیبی از ترکیبات زراعی شیمیایی مانند آفت‌کش‌ها و کود زیستی یکی از مهم‌ترین عوامل در ارزیابی این ترکیبات در مطالعات سم‌شناسی است. این آلاینده‌های شیمیایی می‌توانند از طریق مواد غذایی، پوست یا مخاط وارد بدن ماهی شده و با توجه به ساختار شیمیایی و شرایط محیطی ممکن است موجب اختلالات فیزیولوژیک مانند تغییرات در پارامترهای خونی، فعالیت آنزیم‌ها در بافت‌های مختلف از جمله کبد، کلیه، روده و آبشش و ... شوند. سطح ALT، AST و ALP سرم خون ماهی به عنوان نشانگر زیستی برای وضعیت سلامتی و فعالیت کبد در مهره‌داران عمل می‌کند و معمولاً در تشخیص بیماری‌های ماهی به علت سمیت و آلودگی آبی استفاده می‌شود. بنابراین، هر گونه تغییر و آسیب در ساختار و عملکرد کبد ناشی از تجمع آلاینده‌ها منجر به تغییر در میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی می‌شود و با سنجش این آنزیم‌ها می‌توان پی به آسیب‌های کبدی و نهایتاً آلودگی محیط برد. مطالعه حاضر به بررسی اثر آلاینده‌ها بر آنزیم‌های کبدی در آبزیان می‌پردازد.

کلمات کلیدی: آفت‌کش‌ها، ALT، AST، ALP، بیومارکر

مقدمه

آلودگی اکوسیستم‌های آبی موجب تغییراتی در شرایط محیطی و پارامترهای فیزیکی می‌شود که همه آنها بر تعادل یک اکوسیستم تاثیر می‌گذارد. سیستم‌های آبی به طور مداوم به‌وسیله بسیاری از آلاینده‌های تخلیه شده از منابع انسانی مانند صنعت، فاضلاب و فعالیت‌های کشاورزی آلوده می‌شوند. در واقع، تقریباً تمام آلاینده‌ها به دلیل قابلیت شستشو در آب باران، در سیستم‌های آبی قرار می‌گیرند (Canli *et al.*, 2018). بخش کشاورزی به عنوان منبع مهم آلودگی اکوسیستم آبی به طور غیر مستقیم بیش از ۷۰ درصد از رودخانه‌ها، جریان‌های آبی و دریاچه‌ها را در سراسر جهان آلوده می‌کند (Wang *et al.*, 2016). کنترل آفات و حشرات در کشاورزی به میزان استفاده از حشره‌کش‌های مصنوعی بستگی دارد. اما استفاده گسترده از آنها منجر به بروز مشکلات جدی از جمله باقی‌مانده‌های سمی در مزارع و مسمومیت با ارگانسیم‌های غیر هدف مانند پستانداران، پرندگان و ماهی‌ها می‌شود (Salih, 2010) و تا زمانی که شیوه‌های مبارزه بیولوژیک با آفات گیاهی مرسوم نشود، قطع کامل مصرف آنها بعید به نظر می‌رسد. آلودگی آبزیان به راحتی می‌تواند از طریق نشانگرهای زیستی تشخیص داده شود، زیرا دومین شاخص‌های حساسی هستند که نشان‌دهنده ورود مواد سمی به داخل بدن ارگانسیم و توزیع آنها بین بافت‌ها می‌باشند که در حال ایجاد اثر سمی در اهداف حیاتی هستند. نشانگرهای زیستی پاسخ‌های قابل اندازه‌گیری مواجهه ارگانسیم با زنبوبوتیک و نیز حس‌گرهای زیستی بسیار خوب آلاینده‌های آب هستند. این نشانگرها اندازه‌گیری مایعات بدن، سلول‌های بافت‌ها هستند که نشان‌دهنده تغییرات بیوشیمیایی یا سلولی به دلیل وجود و میزان مواد سمی یا پاسخ میزبان است (Mohamed *et al.*, 2019). ماهی‌ها به عنوان شاخص‌هایی برای نظارت بر آلودگی‌های اکوسیستم‌های آبی پیشنهاد شده‌اند، زیرا ممکن است آلاینده‌های شاخص را مستقیماً از آب از طریق تنفس و نیز از طریق رژیم غذایی در بافت خود متمرکز کنند که می‌توانند موجب اختلالات فیزیولوژیک (تغییرات در فعالیت آنزیم‌ها)، اختلالات عصبی و رفتاری، آسیب DNA، استرس اکسیداتیو و اختلال در پاسخ ایمنی شوند (Xu *et al.*, 2017). ماهی‌ها به طور مکرر در معرض

اثرات پروکسیدانی آلاینده‌های مختلفی هستند که اغلب در محیط‌های آبی وجود دارند. آنزیم‌ها تمام واکنش‌های شیمیایی در سلول‌ها را کاتالیز می‌کنند. از این‌رو، ورود مواد شیمیایی خارجی در سلول، عملکرد آنزیم را به طور کلی مختل می‌کند. فعالیت‌های آنزیمی قبل از بروز اثرات خطرناک در ماهی به عنوان شاخص‌های بیوشیمیایی حساس در نظر گرفته می‌شوند و تغییرات فعالیت‌های آنزیمی در ماهی به طور مکرر به عنوان شاخص مسمومیت و آلودگی آب استفاده می‌شود. در مطالعات مختلف آبشش، کبد، کلیه و روده به عنوان بهترین بافت‌ها در مطالعات توکسیکولوژی معرفی شده‌اند (Bais and Lokhande, 2012) که می‌توانند اطلاعات زیادی در مورد اثرات تحت کشنده مواد تنش‌زا در موجود آبی موردنظر در اختیار ما قرار دهند.

کبد به عنوان نخستین اندام در معرض آلاینده‌های جذب شده در روده، به دلیل وجود مقادیر آنزیم‌های متابولیزکننده و متابولیسم‌های متعدد، مستعد بروز عوارض مختلف از جمله انواع نکروز، تغییرات هسته‌ای سلول‌های کبدی، تورم و رقیق شدن سینوزوئیدها می‌باشد (Ashish and Banalata, 2008). این اندام دارای آنزیم‌هایی است که دفع و تغییر ماهیت آلاینده‌های شیمیایی را تسهیل می‌کند. آمینوترانسفرازها (ALT و AST) از حساس‌ترین و پرمصرف‌ترین این آنزیم‌ها هستند که به عنوان شاخص‌های مربوط به استرس و نشانگرهای زیستی آسیب کبدی پذیرفته می‌شوند. آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) سبب کاتالیز واکنش‌های شیمیایی در سلول‌ها می‌شوند که در آن گروه آمین از یک مولکول دهنده به مولکول گیرنده منتقل می‌گردد (Bacankas *et al.*, 2004). آلکالین فسفاتاز (ALP) به عنوان یک آنزیم چند منظوره در کبد فسفوریلاسیون ترانس را در PH قلیایی کنترل می‌کند و در کانی‌سازی اسکلت موجودات زنده آبی و فعالیت‌های حمل و نقل غشاء نقش دارد (Zikic, 2001). سرم مهره‌داران داده‌های قابل توجهی را برای متابولیسم‌ها و وضعیت سلامتی حیوانات از جمله ماهی فراهم می‌کند. بنابراین، اغلب برای درک سطح آنزیم‌ها، مواد مغذی، متابولیت‌ها، مواد زائد، هورمون‌ها و یون‌ها اندازه‌گیری می‌شود. با در نظر گرفتن اثرات نشانگرهای زیستی سرم در تخم

وضعیت سلامت حیوانات، پارامترهای بیوشیمیایی ارزیابی شده در ماهی‌ها به عنوان ابزاری قدرتمند در تأمین اثرات آلاینده‌ها پذیرفته شدند (Canli et al., 2018).

ترانس آمینازها (AST و ALT)

آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) گروه مهمی از آنزیم‌های کبدی و داخل سلولی هستند که در بافت‌های کبد، قلب، ماهیچه‌های اسکلتی، کلیه، پانکراس، طحال، گلبول قرمز و آبشش ماهی‌ها وجود دارند. ترانس آمینازها، آنزیم‌های مهمی هستند که نقش مهمی در متابولیز اسیدهای آمینه L برای گلوکونئوز دارند و به عنوان پیوند بین متابولیسم کربوهیدرات و پروتئین در شرایط پاتولوژیک تغییر یافته عمل می‌کنند (Mohamed et al., 2019). این آنزیم‌ها با انتقال واحدهای آمین، آلفا کتو اسید را به آمینواسیدها کاتالیز و در شرایط استرس‌زا به منظور برآورده شدن نیاز به انرژی بالا در بدن ارگانیسم، اجازه تبدیل بین متابولیسم کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها را می‌دهد. ALT انتقال گروه آمین و از آلانین به α -کتوگلوکوتارات را برای تشکیل گلوتاماتوپیروات کاتالیز می‌کند درحالی‌که AST انتقال گروه آمین و از آسپاراتات به α -کتوگلوکوتارات را تشکیل می‌دهد تا گلوتامات (Mohamed et al., 2019) و اگزالو ایجاد شود. آلانینیک، اسید آمینه غیر ضروری است که نقشی اساسی در چرخه گلوکز - آلانین بین بافت عضلانی و کبد دارد. آسپاراتات، آنیون کربوکسیلات اسیدآسپاراتیک، یک اسید آمینه اسیدی و غیر ضروری است که در سنتز پروتئین و مسیرهای بیوشیمیایی سلولی متعدد دیگری نقش دارد. ALT و AST نه تنها به عنوان آنزیم‌های اتصال بین متابولیسم کربوهیدرات و پروتئین عمل می‌کنند بلکه نشان‌دهنده شاخص‌های مهم استرس و شرایط فیزیولوژیک است (Amjad et al., 2018). این آنزیم‌ها غالباً در داخل میتوکندری سلول‌ها به‌ویژه در سلول‌های کبدی قرار دارند. اگرچه نمی‌توان گفت که این آنزیم‌ها منحصرراً در کبد قرار دارند، اما کبد مکانی است که در برگیرنده بیشترین غلظت این آنزیم‌ها می‌باشد (Di Giulio and Hinton, 2008). در حالت طبیعی، مقادیر این آنزیم‌ها در داخل سلول بیشتر از خارج سلول است. تغییر در نفوذپذیری غشاء هپاتوسیت‌ها می‌تواند ترشح

آمینوترانسفرازها را به خون تغییر دهد (Philip and Rajjasree, 1996) که شدت این تغییر با توجه به تعداد هپاتوسیت‌های در معرض آلودگی است (Di Giulio and Hinton, 2008). بنابراین، هر گونه آسیب خفیف، التهاب یا نکرز سلول‌های کبد موجب آزاد شدن این آنزیم‌ها و افزایش سطح آن در پلاسما می‌گردد. همچنین وقوع آسیب‌های شدید و بروز اختلالات در عضلات اسکلتی، نارسایی و اختلالات قلبی نیز منجر به افزایش سطح این آنزیم در پلاسما می‌گردد (Banaee et al., 2008).

آلکالین فسفاتاز (ALP)

ALP یکی از آنزیم‌های اصلی درگیر در سم زدایی کبد، در اپی تلیوم مجاری صفراوی، سلول‌های کبدی و نیز در مخاط روده و کلیه‌ها یافت می‌شود. این آنزیم نقش مهمی در هیدرولیز فسفات و حمل و نقل غشاء دارد و به عنوان یک نشانگر زیست شناختی خوب در مواقع استرس در سیستم‌های بیولوژیک عمل می‌کند (Banaee et al., 2014). ALP یک آنزیم غشایی سلولی است که موجب فسفوریلاسیون بسیاری از مولکول‌ها از جمله نوکلئوتیدها، پروتئین‌ها و آلکانوئیدها در pH قلیایی می‌شود. در نتیجه، کاهش فعالیت ALP می‌تواند به بسیاری از عوامل از جمله ناشی از غشاء سلولی، اختلال در عملکرد کانال‌های یونی و اختلال ناتوانی در جذب یون‌های روی، منیزیم و فسفر مرتبط باشد. بنابراین، کاهش فعالیت ALP ممکن است بر روند فسفوریلاسیون سلولی تأثیر گذارد. علاوه بر این، همولیز اریتروسیت‌ها می‌تواند بر فعالیت ALP اثرگذار باشد. آسیب به گلبول‌های قرمز، کم خونی شدید و کاهش بیوسنتز ALP در سلول‌های کبدی و روده می‌تواند کاهش فعالیت ALP را در خون توجیه نماید (Hatami et al., 2019).

بحث

مطالعات بیوشیمیایی می‌تواند ابزاری در دسترس برای شناسایی اکوسیستم‌های آلوده به آلاینده‌های مختلف یا ردیابی تغییرات در اکوسیستم‌ها در طول زمان باشد. تجزیه و تحلیل پارامترهای بیوشیمیایی به شناسایی اندام‌های سمی و وضعیت سلامت عمومی حیوانات کمک می‌کند و ممکن است

گزارش شده است (Ullah et al., 2019). Oner و همکاران (۲۰۰۸) تغییر فعالیت آنزیم‌های ALT و AST را در *Oreochromis niloticus* در مواجهه با مس و کادمیوم مشاهده و گزارش نمودند که فلزات مس و کادمیوم هر دو باعث کاهش فعالیت ALT و افزایش فعالیت AST و ALP گردیدند. اکسیژن واکنشی که در طول متابولیسم دیازینون در کبد ماهی تولید می‌شود، می‌تواند منجر به افزایش نفوذپذیری سلول‌های کبدی، کلیوی آبشش، طحال و قلب شود که منجر به نشت ALT، AST و سایر آنزیم‌ها در پلاسما شود (Srivastava et al., 2004). همچنین افزایش فعالیت پلاسمایی ALT و AST در ماهی‌های *O. mykiss* و *Channa punctatus* در مواجهه با سم دیازینون و منوکروتوفوس را Banaee و همکاران (۲۰۱۰) و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند. اسفندیار و همکاران (۱۳۹۵) با تجویز سم کلرپیرفوس افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP را در سرم ماهی کپور معمولی مشاهده کردند. در این مطالعه اثر متقابل غلظت و زمان فقط در فعالیت آنزیم AST مشاهده شد. مواجهه ماهی قرل آلا با علف کش در مطالعه Ali و همکاران (۲۰۱۴) نیز موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های ALT و AST شد. این دو آنزیم نقش مهمی را در مراحل نهایی تجزیه پروتئین جهت تولید ATP بر عهده دارند. در واقع، افزایش سطح فعالیت این آنزیم‌ها نقش موثری در استفاده از اسیدهای آمینه در فرآیند اکسیداسیون یا گلوکوز را نشان می‌دهد (Rao, 2006) که شاخص مناسبی برای تشخیص آسیب‌های وارده به کبد به‌شمار می‌رود.

آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در سلول‌های کبدی، اپی‌تلیوم مجاری صفراوی و مخاط روده و کلیه‌ها وجود دارد که در اثر انسداد مجاری صفراوی داخل و خارج کبدی، سیروزی، اختلالات کبدی و نیز نکرور بافت کبد منجر به افزایش سطح این آنزیم می‌شود (Banaee et al., 2008; Saha and Kaviraj, 2003). آسیب‌های وارده به کبد و انسداد مجاری صفراوی در ماهی قرل آلا رنگین کمان پس از مواجهه با سم دیازینون می‌تواند از دلایل افزایش سطح فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در مطالعه بنایی و همکاران (۱۳۹۱) باشد. Farah و همکاران (۲۰۱۲) دریافتند که همولیز اریتروسیت‌ها می‌تواند

یک سیگنال هشداردهنده اولیه در ارگان‌های تحت استرس نیز باشد (Mohamed et al., 2019). فعالیت‌های ALT و AST در متابولیسم نیتروژن سلولی، اکسیداسیون اسید آمینه و گلوکونوژنز کبدی ضروری است. در مطالعه حاتمی و همکاران (۲۰۱۹) افزایش فعالیت‌های ALT و AST ممکن است به افزایش ترانس‌آمینازهای اسیدهای آمینه به چرخه تری‌کربوکسیلیک اسید (TCA) مربوط شود. علاوه‌براین، افزایش فعالیت‌های ALT و AST به ترمیم و سنتز این آنزیم‌ها در شرایط تنش‌زدایی کمک می‌کند تا از تولید گلوکز برای تولید انرژی بیشتر حمایت کند. از آنجایی‌که آمینوترانسفراز در میتوکندری قرار دارد و نشانگر زیست‌شناختی مفید برای آسیب سلولی است (Perez et al., 2018; Yousefi et al., 2018)، تغییر در فعالیت آمینوترانسفراز در خون می‌تواند با اختلالات میتوکندری و آسیب بافت همراه باشد. در مطالعه Shadegan و Banaee (۲۰۱۸) افزایش ALT و AST در بافت‌های مختلف ماهی کپور معمولی نشان‌دهنده افزایش سم‌زدایی و تغییر شکل زیستی dimethoate و Bacilar بود. اما این افزایش سبب آسیب به بافت‌ها می‌شود که علت آن می‌تواند به غشاء سلولی آسیب‌دیده و اختلالات در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مانند چرخه کربس و چرخه تری‌کربوکسیلیک مربوط باشد. Hoseini و همکاران (۲۰۱۶) بیش از ۱۴ روز کپور معمولی را در معرض سولفات مس و نانو ذرات مس قرار دادند. نتایج آنها نشان داد، فعالیت ALT پلاسما در هر دو تیمار مس افزایش یافته است. علاوه‌براین، نانو ذرات‌های مس موجب کاهش فعالیت ALP در پلاسما و سولفات مس موجب افزایش فعالیت AST می‌شود. Kumar و همکاران (۲۰۱۶) افزایش سطح ALT و AST را در کبد و روده Milkfish و *Chanos chanos* در معرض سم آندوسولفان گزارش کردند. همچنین افزایش فعالیت ALT و AST در پلاسمای *Cyprinus carpio* در معرض ذرات میکروپلاستیک و پاراکوات مشاهده شد (Nematdoost Hagi and Banaee, 2017). Rangasamy و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که فعالیت ALT و AST در پرورش ماهیان زراعی به طور معنی‌داری پس از داروهای ضد التهابی کتوپروفن افزایش یافت. نتایج مشابهی در ماهی موجود در معرض دالتمترین

فیزیولوژیک موجودات آبی را نشان دهد (Banaee et al., 2013). در نتیجه، از افزایش مقادیر جزئی این آنزیم‌ها در محیط خارج از سلول به عنوان یک نشانگر حساس جهت آسیب‌های سلولی در مواجهه با آلاینده‌های وارده به بدن موجود زنده استفاده می‌شود.

منابع

اسفندیار، ف.، فیروز بخش ف.، رحمانی، ح.، و خسروخلیلی، خ.، ۱۳۹۵. بررسی اثرات غلظت‌های تحت کشنده کلریپیروفس بر فعالیت آنزیم‌های سرمی و برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه شیلات. مجله منابع طبیعی ایران، ۶۹(۳): ۲۹۹-۳۰۷.

بنایی، م.، میرواقفی، ع. ر.، سوردا گومیل، آ.، رفیعی، غ. ر.، و احمدی، ک.، ۱۳۹۱. مطالعه تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی خون و آسیب شناسی بافتی کبد ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در تماس با غلظت‌های زیر کشنده دیازینون. نشریه محیط زیست طبیعی، مجله منابع طبیعی ایران، ۶۵(۳): ۲۹۷-۳۱۳.

Agrahari, S. Pandey, K.C. and Gopal, K., 2007. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88: 268-272.

Ali, M., Ghiasi, F. and Badakhshan, M., 2014. Acute effects of combined herbicides (2,4 dichlorophenoxyacetic acid) and (2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid) on blood factors and ALT and AST liver enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Jornal of Health and Environment*, 7: 95-105.

فعالیت ALP را در سرم کاهش دهد. از آنجایی که ALP نقش مهمی در کانی‌سازی دارد، کاهش فعالیت آن ممکن است منجر به اختلال در جذب کلسیم شود. در مقابل Ullah و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که دالتمترین موجب افزایش فعالیت ALP در خون کپور نقره‌ای می‌شود. در ماهی‌های کپور معمولی (*C. carpio*)، تیلاپیا (*O. mossambicus*)، سرماری (*C. punctatus*) و اشلمبو (*H. fossilis*) نیز افزایش سطح ALP در تماس با انواع آلاینده‌ها به عنوان یک شاخص جهت آسیب وارده به بافت کبد و نیز ایجاد اختلال در عملکرد کبد این ماهی‌ها معرفی شده است (Saha and Kaviraj, 2003; Roa, 2006; Agrahari et al., 2007; Borges et al., 2007; E1-Sayed and saad, 2008). افزایش ALP در بافت‌های مختلف می‌تواند با آسیب به غشاء سلولی و افزایش تقاضای انرژی برای مقابله با استرس ناشی از آفت‌کش‌ها توجیه شود همان‌طوری که این افزایش در مطالعه Shadegan و Banaee (۲۰۱۸) در ماهی کپور معمولی مشاهده و توجیه شد.

نتیجه‌گیری

ویژگی‌های بیوشیمیایی خون به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های وضعیت فیزیولوژیک ماهی به‌شمار می‌رود که با ورود آلاینده‌ها به بدن موجود زنده دچار تغییرات معنی‌داری می‌شود. در حالت طبیعی آنزیم‌های سرمی در غشاء سلولی، میتوکندری‌ها و سیتوپلاسم سلول‌های بافت‌های بدن فعالیت می‌کنند و به مقدار ناچیزی در سرم خون وجود دارند، اما هنگامی که سلول دچار آشفتگی شود، آنزیم‌ها به مایعات بین بافت و از آنجا به سرم خون و مایع مغزی-نخاعی وارد شده و باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در سرم می‌شوند. از جمله فاکتورهای موجود در سرم خون که میزان آنها در اثر سموم مختلف دچار تغییر می‌گردد، آنزیم‌هایی از قبیل ALT, AST و ALP می‌باشد. در واقع، بازتابی از ایجاد تغییرات در پروسه متابولیسم طبیعی بدن ماهی و در نتیجه متابولیسم آلاینده طی فرآیند سم‌زدایی حاصل می‌شود که افزایش بسیاری از آنزیم‌ها در پلاسما به دلیل نکرز کبدی خواهد بود و هر تغییری که فراتر از سطح طبیعی در این پارامترها رخ دهد، می‌تواند آسیب به بافت‌های حیاتی و اختلالات در فرایندهای

- Amjad, S., Sharma, A.K. and Serajuddin M., 2018.** Toxicity assessment of cypermethrin nanoparticles in *Channa punctatus*: Behavioural response, micronuclei induction and enzyme alteration. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 100: 127-133.
- Ashish, K.M. and Banalata, M., 2008.** Acute toxicology impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of freshwater fish, Bloch (*Channa punctatus*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26(2): 136-141.
- Bacankas, L.R., Whitaker, J. and Giulio, R.T.D., 2004.** Oxidative stress in two population of killifish (*Fundulus fundulus*) with differing contaminant exposure histories. *Marine Environment Research*, 58(2-5): 597-601.
- Bais, U.E. and Lokhande, M.V., 2012.** Effect of cadmium chloride on histopathological changes in the freshwater fish *Channa (Ophiocephalus striatus)*. *International Journal of Zoological Research*, 8(1): 23-32.
- Banaee, M., Mirvaghefi, A.R., Rafiee, G.R. and Mojazi Amiri, B., 2008.** Effect of sublethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. *International Journal of Environmenalt Research*, 2(2): 189-198.
- Banaee, M., Mirvaghefi, A.R., Ahmadi, K. and Banaee, S., 2008.** Acute toxic effects of diazinon on hematology and biochemical parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Marine Science and Technology, Azad University, Tehran North Unit*, pp.1-10.
- Banaee, M., 2010.** InOuence of silymarin in decline of sub-lethal diazinon-induced oxidative stress inrainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Ph.D. Thesis, Aquaculture and Environmental Department, NaturalResource Faculty, Natural Resource and Agriculture Collage, Tehran University, Iran, 149 P.
- Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R. and Ahmadi, K., 2013.** Biochemical and histological changes inthe liver tissue of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sub-lethal concentrations of diazinon. *Fish Physiology and Biochemistry*, 39(3): 489-501.
- Banaee, M., Sureda, A., Zohiery, F., Nematdoust, Hagi, B. and Garanzini, D.S., 2014.** Alterations in biochemical parameters of the freshwater fish, *Alburnus mossulensis*, exposed to sub-lethal concentrations of Fenpropathrin. *International Journal of Aquatic Biology*, 2(2): 58-68.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Zanini, R., Amaral, F.do., Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F., 2007.** Changes in hematological and serum biochemical values in jundia *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cypermethrin. *Chemosphere*, 69: 920-926.
- Canli, E.G., Dogan, A. and Canli, M., 2018.** Serum biomarker levels alter following nanoparticle (Al_2O_3 , CuO, TiO_2) exposures in freshwater fish (*Oreochromis niloticus*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 62: 181-187.
- Di Giulio, R.T. and Hinton, D.E., 2008.** The Toxicology of Fishes. Taylor and Francis, pp. 632-884.

- El-Sayed, Y.S. and Saad, T.T., 2008. Sub-acute intoxication of a deltamethrin-based preparation (Butox 5% EC) in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 102: 293–299.
- Farah, H.S., Al Atoom, A.A. and Shehab, G.M., 2012. Explanation of the decrease in alkaline phosphatase (ALP) activity in hemoly sed blood samples from the clinical point of View: in vitro study. *Jordan Jordan Journal of Biological Sciences*, 147(618): 1-4.
- Hatami, M., Banaee, M. and Haghi, B.N., 2019. Sub-lethal toxicity of chlorpyrifos alone and in combination with polyethylene glycol to common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*, 219: 981-988.
- Hoseini, S.M., Hedayati, A., Mirghaed, A.T. and Ghelichpour, M., 2016. Toxic effects of copper sulfate and copper nanoparticles on minerals, enzymes, thyroid hormones and protein fractions of plasma and histopathology in common carp *Cyprinus carpio*. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 68(9): 493–503.
- Kumar, N.K., Ambasankar K.K., Krishnani, S.K., Gupta, S., Bhushan, P. and Minhas, S., 2016. Acute toxicity, biochemical and histopathological responses of endosulfan in *Chanos chanos*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 131: 79-88.
- Mohamed, A.S., Gad, N.S. and El Desoky, M.A., 2019. Liver Enzyme Activity of Tilapia zillii and Mugil capito Collected Seasonally from Qarun Lake, Egypt. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 10(1): 1-5.
- Nematdoost, Haghi, B. and Banaee, M., 2017. Effects of micro-plastic particles on paraquat toxicity to common carp (*Cyprinus carpio*): biochemical changes. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14(3): 521-530.
- 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. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(2): 306-366.
- Perez, M.R., Rossi, A.S., Bacchetta, C., Elorriaga, Y., Carriquiriborde, P. and Cazenave, J., 2018. In situ evaluation of the toxicological impact of a wastewater effluent on the fish *Prochilodus lineatus*: biochemical and histological assessment. *Ecological Indicators*, 84: 345-353.
- Philip, G.H. and Rajjasree, B.H., 1996. Action of cypermethrin on tissue transamination during nitrogen metabolism in (*Cyprino carpio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 34(2): 174-179.
- Rangasamy, B., Hemalatha, D., Shobana, C., Nataraj, B. and Ramesh, M., 2018. Developmental toxicity and biological responses of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to anti-inflammatory drug ketoprofen. *Chemosphere*, 213: 423-433.
- Rao, J.V., 2006. Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86: 78 -84.

- Saha, S. and Kaviraj, A., 2003.** Acute toxicity synthetic pyrethroid cypermethrin freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis* (Block). *International Journal of Toxicology*, 22: 325–328.
- Salih, E., 2010.** Toxic effect of dimethoate and diazinon on the biochemical and hematological parameters in male rabbits. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 147(613): 1-12.
- Shadegan, M.R. and Banaee, M., 2018.** Effects of dimethoate alone and in combination with Bacilar fertilizer on oxidative stress in common carp, *Cyprinus carpio*. *Chemosphere*, 208: 101-107.
- Srivastava, A.S., Oohara, I., Suzuki, T., Shenouda, S., Singh, S.N., Chauhan, D.P. and Carrier, E., 2004.** Purification and properties of cytosolic alanine aminotransferase from the liver of two freshwater fish, *Clarias batrachus* and *Labeo rohita*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 137(2): 197-207.
- Ullah, S., Li, Z., Ul Arifeen, M.Z., Khan, S.U. and Fahad, S., 2019.** Multiple biomarkers based appraisal of deltamethrin induced toxicity in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Chemosphere*, 214: 519-533.
- Wang, W., Zeng, C., Sardans, J., Wang, C., Zeng, D. and Peñuelas, J., 2016.** Amendment with Industrial and Agricultural Wastes Reduces Surface-water Nutrient Loss and Storage of Dissolved Greenhouse Gases in a Subtropical Paddy Field, 231 P.
- Xu, M.Y., Wang, P., Sun, Y.J., Yang, L. and Wu, Y.J., 2017.** Joint toxicity of chlorpyrifos and cadmium on the oxidative stress and mitochondrial damage in neuronal cells. *Food and Chemical Toxicology*, 103: 246-252.
- Yousefi, M., Hoseinifar, S.H., Ghelichpour, M. and Hoseini, S.M., 2018.** Anesthetic efficacy and biochemical effects of citronellal and linalool in common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) juveniles. *Aquaculture*, 493: 107-112.
- Zikic, R.V., Stajn, S., Pavlovic, Z., Ognjanovic, B.I., and Saicic, Z.S., 2001.** Activities of superoxide dismutase and catalase in erythrocyte and plasma transaminases of goldfish (*Carassius auratus gibelio* Bloch.) exposed to cadmium. *Physiological Research*, 50(1): 105–111.