

تعیین میزان فعالیت برخی از آنزیم‌های سرم خون مولدین ماهی سفید

مرضیه کبیریان^۱، داور شاهسونی^۲ و حمیدرضا کازرانی^۳

تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۱

تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۱۸

خلاصه

دسترسی به مقادیر طبیعی پارامترهای سرمی از اهمیت ویژه‌ای جهت ارزیابی درمانگاهی و تشخیص بیماری‌ها در حیوانات مختلف و از جمله آبزیان برخوردار است. جهت تعیین مقادیر طبیعی برخی از آنزیم‌های سرم خون ماهی سفید، خون‌گیری از ساقه دمی ۲۵ ماهی نر و ۲۵ ماهی ماده صید شده از صیدگاه رودخانه تجن انجام گرفت. پس از جدا کردن سرم، مقادیر پارامترهای ALT، AST، ALP، CPK و LDH اندازه‌گیری گردید. علاوه بر تعیین مقادیر طبیعی جهت کل جمعیت ماهی سفید، مقادیر طبیعی مربوط به دو جنس نر و ماده نیز از نظر آماری با هم مقایسه شد. به علاوه میزان همبستگی هر یک از پارامترهای مورد مطالعه در جمعیت کل و همچنین در جنس‌های نر و ماده با دیگر پارامترها مورد ارزیابی قرار گرفت. بر این اساس در کل جمعیت ماهی سفید: AST: ۵۶۱/۳۰-۴۵۵/۰۰±۳۷۵، ALT: ۲۰/۰۰±۱۵/۵۰-۳۴/۵۰، ALP: ۱۰۱/۵۰±۷۹-۱۵۰/۵۰، CPK: ۶۵۵/۰۰-۲۴۱/۵۰±۳۹/۵۰ و LDH: ۲۷۲۷-۲۱۶۳±۱۷۰۱ واحد بین‌المللی بر لیتر بود. مقادیر ALT، AST و ALP به طور معنی‌داری در جنس نر بالاتر بود. بین مقادیر CPK و LDH در هر دو جنس همبستگی منفی وجود داشت. همچنین بین مقادیر ALT با AST و ALP و نیز بین AST و ALP در کل جمعیت همبستگی معنی‌داری وجود داشت. نتایج حاضر می‌تواند بخش مهمی از خلأ موجود در زمینه مقادیر طبیعی برخی از آنزیم‌های سرم خون ماهیان سفید را پوشش دهد.

کلمات کلیدی: خون، آنزیم، سرم، ماهی سفید

مقدمه

زود هنگام از آلودگی آب مورد استفاده قرار گیرند (۴، ۱۲ و ۲۲).

در شرایط بیماری و اختلالات، تغییراتی در فاکتورهای بیوشیمی خون (الکترولیت و غیر الکترولیت‌ها) و آنزیم‌ها ایجاد می‌شود، بنابراین اندازه‌گیری پارامترهای خون اطلاعات مفیدی را برای تشخیص بیماری‌ها در اختیار دامپزشک قرار می‌دهد. علاوه بر تشخیص بیماری‌ها، با کمک این اطلاعات در رابطه با پیش‌گویی وضعیت آینده بیماری هم می‌توان نظر داد. شرایط فیزیولوژیک بدن ماهی، از فاکتورهای داخلی و خارجی، تاثیر می‌پذیرد، برخی از این عوامل شامل وضعیت تولید

آنزیم‌ها برای متابولیسم طبیعی سلول‌ها لازم و ضروری هستند و میزان فعالیت آنها به عنوان مارکرهای بیوشیمیایی حساس در نظر گرفته می‌شود و به طور وسیعی برای ارزیابی وضعیت سلامت در انسان و حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرد. بررسی فعالیت آنزیم‌ها در بافت‌های مختلف حیوانات از اهمیت خاصی برخوردار است، در ماهیان به عنوان فراسنجه‌های مهم در ارزیابی کیفیت آب و نیز تشخیص حضور ترکیبات سمی در آب پیشنهاد شده است. پاسخ به عوامل آلوده کننده به صورت تغییر در میزان فعالیت برخی آنزیم‌ها انعکاس پیدا می‌نماید که این تغییرات می‌تواند به عنوان علامت هشدار

^۱ دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۲ دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران E-mail: shahsavani@ferdowsi.um.ac.ir (نویسنده مسئول)

^۳ دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

پاتولوژیک و تلفات بعد از فعالیت تولید مثلی استفاده کرد.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری در حوزه جنوبی دریای خزر در محل صیدگاه واقع در رودخانه تجن بین دو رودخانه سیاه رود و نکارود در فروردین ماه که زمان صید مولدین می‌باشد، قبل از تخلیه تخم و اسپرم انجام شد. پس از انتقال ماهیان به محل جمع‌آوری بر اساس برخی معیارهای سلامتی ۲۵ ماهی نر و ۲۵ ماهی ماده بالغ انتخاب گردید. طول متوسط ماهیان مورد مطالعه 5 ± 60 سانتی‌متر و وزن متوسط آنها $50 \pm 1997/5$ گرم بود. ماهیان به روش لام مرطوب مورد ارزیابی انگلی قرار گرفتند، نمونه‌های که فاقد انگل‌های خارجی و ضایعات جلدی بودند، به عنوان نمونه انتخاب گردیدند. پس از مقید شدن ماهی عمل خون‌گیری از ناحیه ساقه دمی به وسیله سرنگ انجام گردید. نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی به آزمایشگاه منتقل شدند. خون‌های ارسالی به آزمایشگاه سانتریفیوژ و سرم آنها جدا گردید. آزمایشات بیوشیمیایی توسط دستگاه اتوآنالیزور (هیتاچی مدل ۹۱۱) و توسط کیت‌های تجاری (پارس آزمون، تهران-ایران) در آزمایشگاه تشخیص پزشکی (شهرستان ساری) مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. فعالیت آنزیم AST (آسپارات آمینوترانسفراز) به روش IFCC، آنزیم ALT (آلانین آمینوترانسفراز) به روش IFCC، آنزیم ALP (فسفاتاز قلیایی) به روش DGKC، آنزیم LDH (لاکتات هیدروناز) به روش DGKC(P-L) و آنزیم CK (کراتین کیناز) به روش IFCC/DGKC اندازه‌گیری شدند.

در آنالیز آماری داده‌ها، از آنجایی که برخی داده‌ها توزیع نرمال نداشته‌اند، از آزمون‌های آماری غیر پارامتریک استفاده شد. جهت بررسی ارتباط بین پارامترهای سرمی مختلف از آزمون ارتباط غیرپارامتریک اسپیرمن (Spearman non-parametric correlation) استفاده و جهت مقایسه پارامترها بین دو جنس نر و ماده

مثل، دمای آب، میزان دسترسی به غذا، گونه، سن، جنس، فصل، تکنیک‌های نمونه‌گیری و روش‌های آنالیز خون ماهی هم بر روی یافته‌های بیوشیمیایی خون موثر بوده و در تفسیر این پارامترها مد نظر قرار می‌گیرد (۱۱، ۱۳ و ۱۷).

Melloti و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی اثر فصول بر فعالیت آنزیم‌های سرم و عضلات (LDH, CK و ALP) در مزارع پرورش گربه ماهی و ماهی کپور معمولی، دریافتند در گربه ماهی در شرایط مختلف محیطی اختلاف معنی‌داری در آنزیم‌های سرم خون ایجاد نمی‌شود، در حالی که آنزیم‌های LDH و ALP در سرم ماهی کپور معمولی، افزایشی را در فصل سرما نشان می‌دهد، فعالیت آنزیم‌های عضلات در هر دو گونه با کاهش دما و کاهش فعالیت متابولیسمی کاهش یافته است (۱۷). Cangleton و همکار (۲۰۰۶) تاثیر تغذیه بر برخی پارامترهای خونی آزاد ماهیان جوان را مورد مطالعه قرار دادند، دریافتند به ماهیانی که گرسنگی داده می‌شود نسبت به ماهیان تغذیه شده میزان ALP به سرعت کاهش می‌یابد (۱۰).

ماهی سفید (از خانواده کپور ماهیان) یکی از انواع مهم ماهیان استخوانی شمال ایران است که در دریای خزر، دریای سیاه و دریای آزوف و رودخانه‌های اطراف آنها یافت می‌شود. این ماهی از مرغوبترین انواع ماهی و یکی از مهمترین و ارزشمندترین ماهیان اقتصادی دریای خزر محسوب می‌شود، آمار موجود در دهه‌های ۱۳۳۰ و ۱۳۴۰، بیش از ۳۰ هزار تن از این ماهی در تالاب انزلی صید شده است، اما به مرور زمان با نوسانات آب تالاب انزلی، افزایش صید ماهیان مولد و افزایش آلودگی، ذخایر ماهی سفید در فرم پاییزه به تدریج کاهش یافت تا اینکه از آمار صید تجاری خارج شد و به طور رسمی در خطر انقراض قرار گرفت (۳ و ۵). به طور کلی هدف از اجرای این تحقیق، به دست آوردن مقادیر برخی از آنزیم‌های سرمی مولدین ماهی سفید دریای خزر در شرایط فیزیولوژیک تولید مثلی در طبیعت بوده است، تا بتوان از آن به عنوان شاخصی برای مقایسه با حالات

اندازه‌گیری کردند در بررسی فوق میزان ALP (۷۷۲±۳۲۰) و ALT (۲۹±۲۴) بود که از ماهی سفید بیشتر است (۲).

پیغان و همکاران (۱۳۸۲) آنزیم‌های سه گونه از کپور ماهیان (معمولی، نقره‌ای و علفخوار) را مورد مطالعه و مقایسه قرار دادند که در بررسی ایشان محدوده فعالیت آنزیم ALP در ماهی کپور علفخوار ۱۹۷-۳۱۴ Iu/L، در ماهی کپور نقره‌ای ۹۷-۱۵۶ Iu/L و در ماهی کپور معمولی ۲۳۴-۳۳۷ Iu/L بود. هم چنین محدوده فعالیت آنزیم AST در ماهی کپور علفخوار ۲۶-۴۲ Iu/L، در ماهی کپور نقره‌ای ۳۳-۴۶ و در ماهی کپور معمولی ۶۳-۴۳ گزارش شده است. تمامی مقادیر آنزیم‌های سه گونه فوق در مقایسه با مقادیر مربوط به آنزیم‌های مورد مطالعه در سرم خون ماهی سفید، به جز میزان آنزیم ALP کمتر بود (۱). Halovova (۱۹۸۹) فعالیت سرمی آنزیم‌های

AST, ALP, LDH و CPK را در تیمالوس در دوره‌های قبل از تخم‌ریزی، زمان تخم‌ریزی و بعد از تخم‌ریزی اندازه‌گیری کرده است. فعالیت آنزیم‌ها در دوره تخم‌ریزی به بیشترین حد خود افزایش یافته و سپس به تدریج کاهش یافته و بعد از تخم‌ریزی فعالیت آنزیم‌ها مجدداً به میزان اولیه خود بازگشته است. ولی میزان فعالیت آنزیم AST بعد از تخم‌ریزی همچنان افزایش نشان داده است. افزایش سرمی آنزیم‌ها در ماهیان قزل آلا به طور طبیعی یک پدیده فیزیولوژیک محسوب می‌شود (۱۴). Asadi و همکاران (۷-۲۰۰۶) بر روی برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهی تحقیقی انجام دادند و آنزیم ALP را در سرم خون دو جنس اندازه‌گیری کردند که این مقادیر در مقایسه با آنزیم ALP در سرم خون ماهی سفید در هر دو جنس کمتر است. آنها همچنین در پژوهشی دیگر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی و آنزیم‌های AST, CPK, ALP و ALT سرم خون ماهی خاویاری (قره برون) را در ۴ گروه ماده بالغ و نابالغ، نر بالغ و نابالغ تعیین نمودند که مقادیر آنزیم‌های AST و ALT در هر ۴ گروه کمتر ولی میزان آنزیم ALP در هر ۴

از آزمون Mann Whitney استفاده شد. در کلیه موارد، جز در مواردی که خلاف آن ذکر شده است، جهت بیان داده‌ها از میانه و چارک‌های اول و سوم ($median \pm Q1-Q3$) استفاده شده است. مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار تلقی گردید. ارزیابی آماری و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار آماری GraphPad Prism V 5.0 صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

در این پژوهش مقادیر آنزیم‌های خون در سرم ماهیان مورد سنجش قرار گرفت و علاوه بر مقایسه طبیعی بین دو جنس (جدول ۱ و ۲) میزان همبستگی بین پارامترهای سرمی مختلف نیز مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، فعالیت سرمی آنزیم‌های ALT، AST و ALP در جنس نر به طور معنی‌داری از جنس ماده بیشتر بود ($p < 0/01$). با این حال، در فعالیت سرمی دو آنزیم دیگر شامل CPK و LDH تفاوت معنی‌داری بین دو جنس مشاهده نشد ($p > 0/05$). بر اساس آزمون همبستگی اسپیرمن، بین مقادیر CPK و LDH در جنس نر همبستگی منفی وجود داشت ($p < 0/001$)، در جنس ماده نیز، همبستگی بین CPK و LDH از نوع منفی بود ($p < 0/001$)، در کل جمعیت نیز بین CPK و LDH همبستگی منفی و معنی‌دار بود ($p < 0/001$). در جنس ماده، بین ALT با AST همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت.

گزارش‌های علمی قابل توجهی در زمینه مقادیر طبیعی آنزیم‌های سرم خون ماهی سفید در سنین و شرایط محیطی و فیزیولوژیک مختلف در دسترس نمی‌باشد تا بتوان نتایج را با توجه به جنسیت ماهیان دقیقاً تفسیر نمود، لذا مقادیر آنزیم‌های سرم آنها را به صورت مقایسه‌ای با چندین گونه از ماهیان استخوانی و غضروفی مورد بررسی قرار می‌دهیم. خواجه و همکاران (۱۳۸۶) برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل آلا رنگین کمان پرورش یافته در استخرهای خاکی را

ماهیان قزل آلا را در آلودگی به آثروموناس اندازه‌گیری کرد و افزایش سرمی آنزیم‌ها را در آنها مشاهده نمود (۱۸). در مورد همبستگی بین آنزیم‌های خون ماهی در شرایط طبیعی مطالعه زیادی صورت نگرفته است. تغییرات آنزیم‌های سرمی ماهی در بسیاری از بیماری‌ها از جمله ویبریوز و آلودگی به بعضی از انگل‌ها و سموم گزارش شده (۴ و ۱۵)، که بیانگر این است که تنها در زمان آلودگی‌ها و عفونت‌ها این همبستگی‌ها معنی خاص خود را دارند و چون نمونه‌های این پژوهش به ظاهر سالم و علائم غیرطبیعی (زخم، انگل، نقص و غیره) نداشتند، این نتایج را می‌توان به عنوان مقادیر طبیعی در نظر گرفت. اما اختلاف معنی‌دار آنزیم‌ها بین دو جنس نر و ماده علاوه بر تفاوت‌های مربوط به جنس، همچنین می‌تواند متأثر از عواملی نظیر مهاجرت از محیط آب شور دریا (PPT ۱۳- (۱۲) به رودخانه (PPT ۱-۰/۵)، کاهش شدید تغذیه در فصل تولید مثل به خصوص در جنس ماده و به دنبال آن تغییرات در فرایند متابولیسم در بافت‌های مختلف در زمان تولید مثل باشد. به نظر می‌رسد با توجه به فصل نمونه‌گیری (زمان تولید مثل)، اثرات هورمون‌های جنسی و هم چنین استرس ناشی از این تغییرات، نقش مهمتری در به وجود آمدن تفاوت‌های معنی‌دار داشته باشد. با این حال پژوهش‌های بیشتری در این راستا باید صورت پذیرد.

گروه بیشتر از ماهی سفید بوده است. به علاوه میزان آنزیم CPK در ماده بالغ و نابالغ و نر بالغ بیشتر از میزان آن در سرم خون ماهی سفید می‌باشد (۶ و ۷). Mawdesly و همکار (۱۹۷۰)، Sanders و همکار (۱۹۸۸) نشان دادند که فعالیت آنزیم‌های سرم بین گونه‌های مختلف ماهیان فرق می‌کند و برای اندازه‌گیری هر آنزیم و بررسی فعالیت آن باید از جمعیت یک گونه نمونه گرفته شود و مورد سنجش قرار گیرد (۱۶ و ۱۹). Brenden و همکار (۱۹۸۶) دو آنزیم ALT و AST سرم خون ماهی قرمز را در حالت سلامت و آلوده شده به آثروموناس هیدروفیلا اندازه‌گیری کردند که در مقایسه با ماهی سفید، میزان دو آنزیم در هر دو حالت بسیار بیشتر از میزان آنها در ماهی سفید بوده است (۹). Bentinck و همکاران (۱۹۹۷) مقادیر طبیعی برخی از آنزیم‌های سرم خون گربه ماهی روگامی^۱ را تعیین کردند که میزان AST، LDH، ALP و ALT آنها کمتر از ماهی سفید می‌باشد (۸). Warner و همکاران (۱۹۸۷)، بر روی ۴ آنزیم سرم خون قزل‌آلای رنگین کمان تحقیقی انجام دادند که نتایج نشان می‌دهد میزان تمامی آنزیم‌های سرم خون ماهی سفید بیشتر از خون قزل‌آلای رنگین کمان است (۲۱). Shalaby (۲۰۰۵) با تحقیق بر روی نیل تیلایپا نشان داد که تغییرات فعالیت سرمی ALT و AST به طور آشکار در مسمومیت‌ها وابسته به گونه ماهی می‌باشد (۲۰). Rehulka (۲۰۰۲) برخی از پارامترهای بیوشیمیایی سرم

جدول ۱: مقادیر طبیعی برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون مولدین ماهی سفید (بدون توجه به جنس)

LDH (IU/L)	CPK (IU/L)	ALP (IU/L)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	پارامترها
					صدک
۱۷۰۱	۳۹/۵۰	۷۹/۰۰	۱۵/۵۰	۳۷۵/۰۰	۲۵
۲۱۶۳	۲۴۱/۵۰	۱۰۱/۵۰	۲۰/۰۰	۴۵۵/۰۰	۵۰
۲۷۲۷	۶۵۵/۰۰	۱۵۰/۵۰	۳۴/۵۰	۵۶۱/۳۰	۷۵

جدول ۲: مقادیر طبیعی برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون مولدین ماهی سفید در دو جنس نر $n=25$ و ماده $n=25$

LDH (IU/L)	CPK (IU/L)	ALP (IU/L)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	پارامترها	نر
					صدک*	
۱۹۹۰	۲۳	۱۲۳	۲۱	۴۵۰	۲۵	نر
۲۳۷۵	۱۷۳	۱۵۰	۳۱	۵۵۰	۵۰	
۵۹۱۰	۵۸۰	۱۷۸	۴۸	۶۲۵	۷۵	
۱۶۰۵	۷۰	۶۶	۱۳	۳۴۰	۲۵	ماده
۱۹۱۰	۲۴۸	۸۰***	۱۷**	۴۲۵**	۵۰	
۲۳۹۰	۶۹۰	۹۳	۱۹	۴۵۵	۷۵	

علامت *** بیانگر تفاوت معنی‌دار ($p < 0/01$) و علامت ** بیانگر تفاوت معنی‌دار ($p < 0/01$) در مقایسه با مقادیر مربوط به جنس نر می‌باشد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر حمایت مالی از این پروژه تحقیقاتی (پژوهه شماره ۱۰۴۲) و سایر همکاران شیلاتی قدردانی می‌شود.

منابع

۵- مخلوق مرجان (۱۳۸۸). تعیین مقادیر برخی از الکترولیت‌ها و غیرالکترولیت‌ها در سرم خون ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum kamenskii*, 1901). پایان نامه دکترای عمومی، شماره ۳۰۶، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، صفحات ۲۱-۵.

6- Asadi F., Halajian A., Pourkabir M. and Asadian P. (2007). Serum biochemical parameters of *Huso huso*. *Comparative Clinical Pathology*, 15: 245-248.

7- Asadi F., Masoudifard M., Vajhi A., Pourkabir M. and Khazraeinia P. (2006). Serum biochemical parameters of *Acipenser persicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 32: 43 – 47.

8- Bentinck S.J., Belleau M.H., Waterstart P.R., Tucker C.S., Stile F., Bowser P.R and Brown L.A. (1997). Biochemistry references range for commercially reared channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *The Progressive Fish-Culturist Journal*, 49: 108-114.

9- Brenden R.A. and Huizinga H.W. (1986). Pathophysiology of experimental *Aeromonas hydrophila* infection gold fish (*Carassius auratus*). *Journal of Fish Disease*, 9:163-167.

۱- پیغان رحیم، راضی جلالی محمد و دستورنژاد فیروزه (۱۳۸۲). بررسی فعالیت طبیعی آنزیم‌های سرمی در سه گونه ماهی کپور معمولی، کپور علفخوار و کپور نقره‌ای. مجله پژوهش و سازندگی (در امور دام و آبزیان)، شماره ۵۸، صفحات ۹۳-۹۰.

۲- خواجه غلامحسین و پیغان رحیم (۱۳۸۶). بررسی برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل آلی رنگین کمان پرورش یافته در استخرهای خاکی. مجله تحقیقات دامپزشکی (دانشگاه تهران). د (۶۲)، شماره ۳، صفحه ۱۹۷.

۳- ستاری مسعود، شاهسونی داور و شفیعی شهنام (۱۳۸۲). ماهی شناسی سیستماتیک جلد ۲. انتشارات حق شناس، صفحات ۲۰۳-۲۰۲.

۴- مجابی علی (۱۳۷۸). بیوشیمی درمانگاهی دامپزشکی. انتشارات نوربخش. تهران. صفحات ۱۰-۳.

- 10- Cangleton J.L. and Wagnes T. (2006). Blood-chemistry of nutritional status in juvenile Salmonids (*Oncorhynchus tshawytscha*). Journal of Fish Biology, 69: 473-478.
- 11- Celik E.S. and Payane R.B. (2004). Blood chemistry (electrolytes, lipoproteins and enzymes) values of black corpion fish (*Scorpanea procus* L. 1758) in the Dardanelles. Turkish Journal of Biology, 4(6): 716-719.
- 12- Gill T.S, Tewari H. and Pande J. (1990). Use of the fish enzymes system in monitoring water quality: Effects of mercury on tissue enzymes. Comparative Biochemistry and Physiology, 97:287-292.
- 13- Hart P.I. and Reynolds J.D. (2002). Handbook of Fish Biology and Fisheries. Blackwell, New York, 107-108.
- 14- Halvova V. (1989). Enzyme activities in the blood plasma of grayling, *Thymallus thymallus*. (Linn) , in the breeding season. Journal of Fish Biology, 34(5): 779-789.
- 15- Heath A.G. (1997). Water Pollution and Fish Physiology. CRC Press. PP:31-46, 51-57.
- 16- Mawdesly T.L.E. and Barry D.H. (1970). Acid and alkaline phosphatase activity in the liver of brown and rainbow trout. Nature International weekly Journal of Science, 227:738-739.
- 17- Melloti P., Meluzzi A., Zucchi P., Giordani G. and Cataudella S. (2007). Seasonal effects on some serum and muscle enzymes of catfish (*Ictalurus melas*) and common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Applied Ichthyology, 5: 74-79.
- 18- Rehulka J. (2002). Aeromonas causes severe skin lesions in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*):Clinical Pathology, Haematology and Biochemistry. Acta Veterinaria of Bruno, 71: 351 - 360.
- 19- Sanders K.L. and Waagbo R. (1988). Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon (*salmo salar*). Journal of Fih Biology, 32 :729-736.
- 20- Shalaby A. (2005). The opposing effect of ascorbic acid (Vitamin C) on ochratoxin toxicity in Nile tilapia(*Oreochromis niloticus*). 6th International Symposium. Philipina, 150-157.
- 21- Warner M.C., Dieh S.A. and Tomb A.M. (1987). Effects of dilution and temperature of analysis on blood serum values in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of Fish Biology, 13(3): 315-319.
- 22- Wieser W. and Hinterleitner S. (1980). Serum enzymes in Rainbow trout as tool in the diagnosis of water quality., Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 25: 188.