

تغییرات آسپارات آمینوترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز تحت تأثیر سمیت جلبک *Nodularia spumigena* در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

متین دهقان نواز^۱، مسعود ستاری^{۱*}، زهره رمضانپور^۲

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران، صندوق پستی: ۱۱۴۴

۲- موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

تاریخ پذیرش: ۲۹ آبان ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱۹ تیر ۱۳۹۴

چکیده

در این مطالعه تأثیر سمیت نودولارین (NODLN)، از پنتاپتاید هپاتوکسین‌های حلقوی، روی آنزیم‌های پلاسما شامل آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) مورد بررسی قرار گرفت. نودولارین سم تولید شده توسط سیانوباکتر *Nodularia spumigena* می‌باشد که عمدتاً در آب‌های شور و لب‌شور یافت می‌شود. در این بررسی ماهی‌های آزاد در زمانهای ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت در معرض این گونه جلبکی با غلظت پایین، 1×10^4 سلول در هر میلی‌لیتر نمونه (تیمار سنگین) قرار گرفتند. پس از آن به مدت ۸ روز به آب عاری از جلبک منتقل شدند. طبق نتایج به دست آمده فعالیت آنزیم LDH اختلاف معنی‌داری را در زمان‌های مختلف در غلظت بالا و پایین نشان داد، که در غلظت بالادر زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۹۶ و در غلظت پایین در ۱۲ ساعت اول مواجهه اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده شد. فعالیت آنزیم LDH اختلاف معنی‌داری را بین دو غلظت در ۱۲ ساعت اول نشان داد، که این میزان در تیمار سنگین بالاتر بود. آنزیم AST در تیمار سنگین اختلاف معنی‌داری در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری نشان داد اما نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود. در فاز بازگشت به حالت اولیه اختلاف معنی‌داری در دو گروه مشاهده نشد. این مطالعه نشان داد که با توجه به اختلاف معنی‌دار فعالیت آنزیم LDH نسبت به AST، آنزیم لاکتات دهیدروژناز، شاخص بیوشیمیایی مناسب‌تری برای بررسی تأثیر ناشی از مواجهه با جلبک *N. spumigena* در این گونه ماهی می‌باشد.

کلمات کلیدی: *Nodularia spumigena*، نودولارین، AST، LDH، ماهی آزاد دریای خزر.

مقدمه

آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) یک آنزیم حیاتی برای ماهی محسوب می شود و سنجش این آنزیم به تشخیص آسیب های بافتی ایجاد شده از طریق مواد سمی کمک می کند. این آنزیم به صورت وسیع در بسیاری از بافت ها و اندام ها مثل کبد، ماهیچه، قلب، سیستم اسکلتی، عضلات و کلیه وجود دارد (Chimela, et al., 2014). LDH در تمام سلول های بدن یافت شده و افزایش مقدار این آنزیم شاخصی برای تعیین میزان شدت آسیب بافتی می باشد (Ramesh, et al., 1993). این آنزیم هم چنین به طور گسترده در مطالعات سم شناسی برای تشخیص آسیب های سلولی و بافتی مورد استفاده قرار می گیرد (Diamantino, et al., 2001).

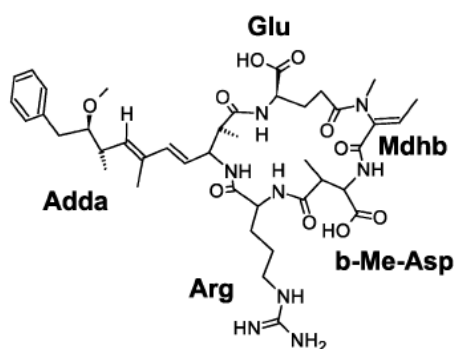
در شهریور ۱۳۸۴ گزارشی مبنی بر بروز یک شکوفایی غیرعادی در محدوده آب های دریای خزر داده شد. پس از بررسی های ریخت شناسی عامل این شکوفایی جنس *Nodularia* و گونه *Nodularia spumigena* شناخته شد (مکارمی و همکاران، ۱۳۹۰).

تأثیر منفی بلوم های جلبکی بر سلامت محیط، حیوانات و گیاهان HAB (Harmful Algal Bloom) یا شکوفایی مضر جلبکی نامیده می شود. این پدیده در محیط های آبی شیرین، دریاها و مصب ها رخ می دهد (Nasrollahzadeh, et al., 2011) و مشکلات جدی بسیاری را در این محیط ها هم چون کاهش ارزش تفریحی محیط آبی (Lehtonen, et al., 2003)، کاهش خاصیت احیایی آب، تأثیر مخرب روی زنجیره غذایی اکوسیستم، کاهش اکسیژن در آب های با عمق بیشتر (Graneli, et al., 1998)، مرگ و میر دسته جمعی

ماهیان، پستانداران دریایی و پرندگان ایجاد می کند (Anderson, et al., 2002).

از مهمترین گروه های تولید کننده سم در فیتوپلانکتون ها سیانوباکترها هستند که می توان به جنس های میکروسیستیس، آنابنا، اوسیلاتوریا و نودولاریا اشاره کرد (Dahlmann, et al., 2001). سیانوتوکسین ها در ساختار شیمیایی و سمیت متفاوتند و بسته به نوع عضوی که روی آن تأثیر می گذارند در چند دسته قرار می گیرند (Drobac, et al., 2013).

نودولارین (Nodularin) سم تولید شده توسط گونه جلبکی *N. spumigena* است (Dahlmann, et al., 2001). این سم در دسته پنتاپتاید هپاتوتوکسین های حلقوی قرار می گیرد (Lehtonen, et al., 2003) و اندام هدف آن کبد است (Kankaanpaa, et al., 2002). نودولارین عمده ترین سیانوتوکسینی است که موجب بروز بیماری و مرگ و میر می شود (Anon, 1998) و تنها توسط یک گونه سیانوباکتر تولید می گردد (Ibelings, et al., 2007).



شکل ۱: ساختار سم نودولارین (Kankaanpaa, et al., 2002)

N. spumigene از سیانوباکترهای رشته ای دارای هتروسیست است که تثبیت کننده نیتروژن بوده و در

(2010)، و هم‌چنین اهمیت و ارزش اقتصادی بالای ماهی آزاد در حوزه جنوبی دریای خزر و مضرات زیادی که بلوم این گونه جلبکی روی آبزیان و سلامت و بهداشت عمومی انسان دارد، ضرورت انجام این تحقیق بسیار حائز اهمیت است.

مواد و روش‌ها کشت جلبک

استوک جلبک *N. spumigena* از بلوم دریای خزر تهیه و پس از مشاهده با میکروسکوپ با استفاده از روش Lavens & Sorgeloos با کشت بر روی آگار خالص‌سازی شد (Lavens and Sorgeloos, 1996). کشت این گونه جلبکی در محیط کشت Zehnder تغییر یافته و با استفاده از آب فیلتر و اتوکلاو شده دریای خزر به طور متوالی در لوله آزمایش‌های ۲۰ سی سی، ارلن مایرهای ۲۵۰ سی سی و پس از اطمینان از خالص بودن جلبک در ارلن مایرهای یک لیتری انجام گردید و ۱۶/۰۸ سی سی محیط کشت Z-N به آن اضافه شد. ضد عفونی و استریل شدن ظروف حاوی محیط کشت در دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفت.

شرایط محیطی برای کشت جلبک *N. spumigena* دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد (Nichols, 1973).

کشت در ارلن مایرهای یک لیتری تا رسیدن به حجم ۳۲ لیتر (کشت انبوه) ادامه یافت که پس از تغلیظ غلظت مورد نیاز برای انجام آزمایش تهیه گردید.

آب‌های شور و لب‌شور یافت می‌شود (Akcaalan, et al., 2009). این جلبک با تولید سم هپاتوتوکسین نودولارین موجب تخریب ساختار کبد و در موارد بحرانی موجب مرگ موجودات می‌شود (Hobson and Fallowfield, 2003).

تجمع سموم سیانوباکتر در ماهی از طریق تغذیه مستقیم، جذب از آبشش و پوست، یا به صورت غیرمستقیم و از طریق زنجیره غذایی می‌باشد. مهم‌ترین مسیر جذب سیانوتوکسین‌ها جذب از مسیر دهانی است (Ernst, et al., 2001).

قرار گرفتن انسان در معرض نودولارین موجب اسهال، استفراغ، ضعف، بی‌اشتهایی، زردی غشای موکوسی، لرزش عضلات و دوز بالای نودولارین موجب کما و مرگ به دلیل آسیب به کبد و تجمع خون در آن می‌شود (Kankaanpaa, et al., 2002).

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) یکی از ۹ زیرگونه قزل‌آلای قهوه‌ای و بومی دریای خزر با بالاترین وزن، اندازه و نرخ رشد می‌باشد (Dorafshan, et al., 2008). این ماهی از گونه‌های بسیار مهم دریای خزر محسوب می‌شود و از ارزش تجاری بالایی برخوردار است (Yousefian, et al., 2012). ماهی آزاد دریای خزر آنادروموس بوده و به طور عمده در سواحل جنوبی دریای خزر زندگی می‌کند. از جمله مناطق تخم‌ریزی این ماهی رودخانه چالوس، بابلرود، سفیدرود، شفارود، تنکابن و سردآبرود می‌باشد (Dorafshan, et al., 2008).

با توجه به اینکه پارامترهای خونی در شرایط محیطی نامناسب و استرس‌زا می‌تواند اطلاعات مهمی در ارتباط با سلامت کلی ماهی و پاسخ‌های فیزیولوژیکی آن‌ها ارائه دهند (Danabas, et al.,

خون گیری

به طور تصادفی سه ماهی از هر تیمار انتخاب و خون گیری از قسمت سیاهرگ دمی در انتهای باله مخرجی به وسیله سرنگ های ۲ سی سی هیارینه شده در ساعات ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ مرحله در معرض گذاری و هم چنین روزهای اول، دوم، چهارم و هشتم مرحله ریکاوری انجام شد. سپس نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۶۰۰ g سانتریفیوژ و پلاسما جدا گردید.

آنالیز آنزیم ها

سنجش آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) با استفاده از روش فوتومتریک (IFCC) Reitman-Frankel (1957) و کیت شرکت پارس آزمون در طول موج ۳۴۰ نانومتر انجام شد. سنجش آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) با استفاده از روش رنگ سنجی (DGKC) Wroblewski and Ladua (1955) و کیت شرکت پارس آزمون در طول موج ۳۴۰ انجام شد.

آنالیز آماری

کلیه آنالیزها و تحلیل های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۱۶ (Chicago, IL, USA) انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده ها و همگنی واریانس ها به ترتیب با استفاده از آزمون Kolmogorov-smirnov و Levene بررسی شد. مقایسه میزان فعالیت آنزیم های LDH و AST در غلظت های متفاوت جلبک با استفاده از آزمون T-Test و بررسی فعالیت آنزیم های مورد نظر در زمان های مختلف نمونه برداری، با آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام شد و از آزمون چند دامنه ای Tukey برای مقایسه بین میانگین ها استفاده

فراوانی سلول ها در هر میلی لیتر نمونه با استفاده از فرمول زیر به دست آمد:

تعداد ریشه ها در یک میلی لیتر نمونه $\times$ میانگین تعداد سلول ها در ۲۰ ریشه = تعداد سلول در هر میلی لیتر

در معرض گذاری

این تحقیق در زمستان ۱۳۹۳ در دانشکده منابع طبیعی صومعه سرا انجام شد.

به منظور انجام آزمایش تعداد ۹ مخزن فایبرگلاس ۴۰۰ لیتری به میزان ۱۲۰ لیتر (با شوری ۱۳ در هزار) آبگیری شد و تعداد ۱۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی $0.75 \pm 32/16$ گرم و میانگین طولی $16/50 \pm 0/16$ سانتی متر به طور تصادفی در هر کدام از مخازن قرار گرفت. در طول دوره آزمایش میانگین دمای آب $13/0$ $\pm$ ، $5 \pm 16/5$ درجه سانتی گراد، $41/8 \pm 0/16$ pH، استفاده از دستگاه pH متر Jrnway-370، انگلیس) و اکسیژن محلول $53/8 \pm 0/11$ میلی گرم در لیتر (با استفاده از دستگاه اکسی متر Lutron-Do-5510، تایوان) بود. ماهی ها قبل از شروع آزمایش به مدت ۲ هفته به منظور سازگاری با شرایط آزمایش در مخازن نگهداری و روزانه ۲ نوبت به میزان ۳ درصد وزن بدن غذادهی شدند. یک روز قبل از شروع آزمایش غذادهی قطع گردید.

این تحقیق در سه تیمار و سه تکرار انجام شد که شامل تیمار با غلظت پایین سم (1×10^4 سلول در هر میلی لیتر)، تیمار با غلظت بالای سم (1×10^8 سلول در هر میلی لیتر) و تیمار شاهد بود. ماهی ها به مدت ۹۶ ساعت در معرض جلبک قرار گرفتند. بعد از این مرحله ماهیان به آب فاقد جلبک منتقل شدند.

شد. تمام آنالیزها هم در فاز تخریب و هم در فاز ریکاوری انجام شد.

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار ارائه شدند.

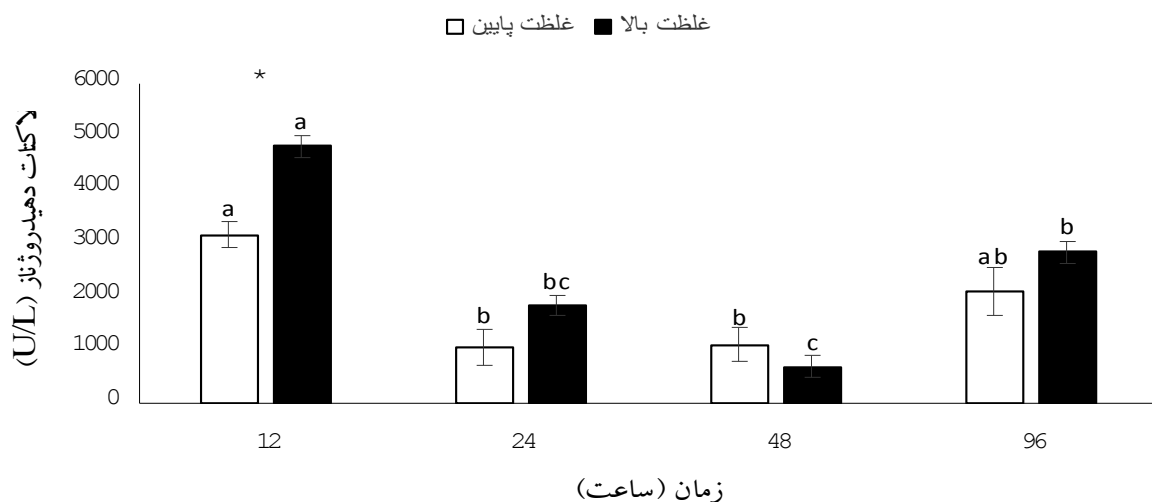
نتایج

لاکتات دهیدروژناز- در معرض گذاری

میزان تغییرات LDH در زمان‌های مختلف نمونه برداری اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$) و با شاهد در زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۹۶ ساعت در غلظت بالا و

در غلظت پایین در ۱۲ ساعت اول اختلاف معنی‌دار داشت. حداکثر میزان فعالیت آنزیم در غلظت بالای جلبک، ۱۲ ساعت اول و حداقل میزان فعالیت آن ۴۸ ساعت پس از در معرض گذاری بود. حداکثر میزان فعالیت LDH در غلظت پایین، در ۱۲ ساعت اول مواجهه و حداقل آن، ۲۴ ساعت پس از مواجهه با سم مشاهده شد ($P < 0.05$).

بین غلظت بالا و پایین در ۱۲ ساعت اول اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.05$) (شکل ۱).

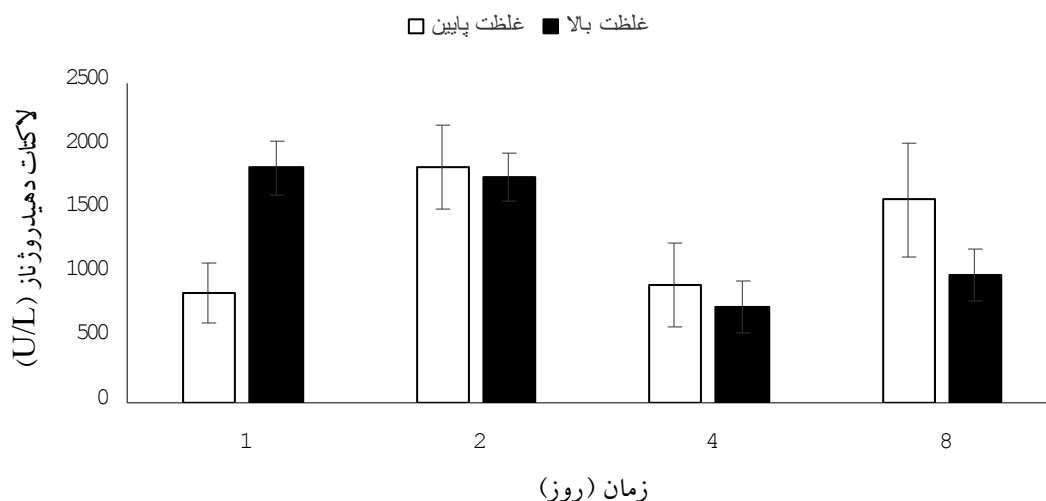


شکل ۱: تغییرات آنزیم لاکتات دهیدروژناز در غلظت بالا و پایین جلبک- مرحله در معرض گذاری حروف a, b, c نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در بین زمان‌های مختلف نمونه‌برداری است. * نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین دو غلظت بالا و پایین است.

لاکتات دهیدروژناز- ریکاوری

در این دوره در غلظت بالا تا روز چهارم روند کاهشی در فعالیت آنزیم دیده شد و از روز چهارم تا هشتم ریکاوری افزایش پیدا کرد که معنی‌دار نبود.

در غلظت پایین تا روز دوم افزایش در میزان LDH مشاهده شد، سپس تا روز چهارم کاهش و پس از آن افزایش را نشان داد که معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). هم چنین اختلاف معنی‌دار بین دو غلظت بالا و پایین مشاهده نشد ($P > 0.05$) (شکل ۲).

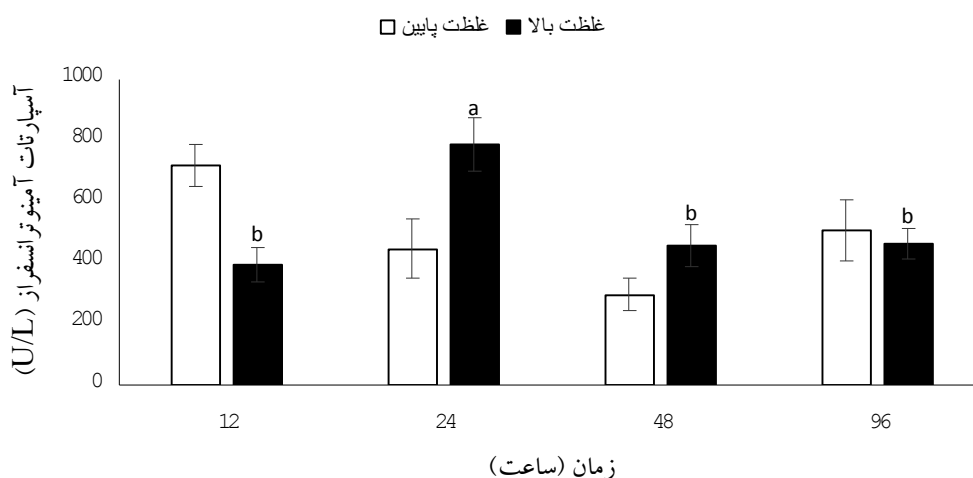


شکل ۲: تغییرات آنزیم لاکتات دهیدروژناز در غلظت بالا و پایین - مرحله ریکاوری

AST در غلظت‌های مختلف جلبک اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($P > 0.05$). کمترین میزان فعالیت آنزیم در غلظت پایین و در ۴۸ ساعت بعد از مواجهه با سم مشاهده شد. بیشترین میزان فعالیت در غلظت بالا و در ۲۴ ساعت پس از مواجهه با سم مشاهده شد و پس از آن کاهش پیدا کرد (شکل ۳).

آسپاراتات آمینوترانسفراز - در معرض گذاری

فعالیت آنزیم AST در غلظت پایین اختلاف معنی‌داری در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری نشان نداد و با شاهد نیز اختلاف معنی‌دار نداشت ($P > 0.05$). تغییرات آنزیم AST در غلظت بالا در زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نشان داد ولی با شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت ($P > 0.05$). در روند تغییرات

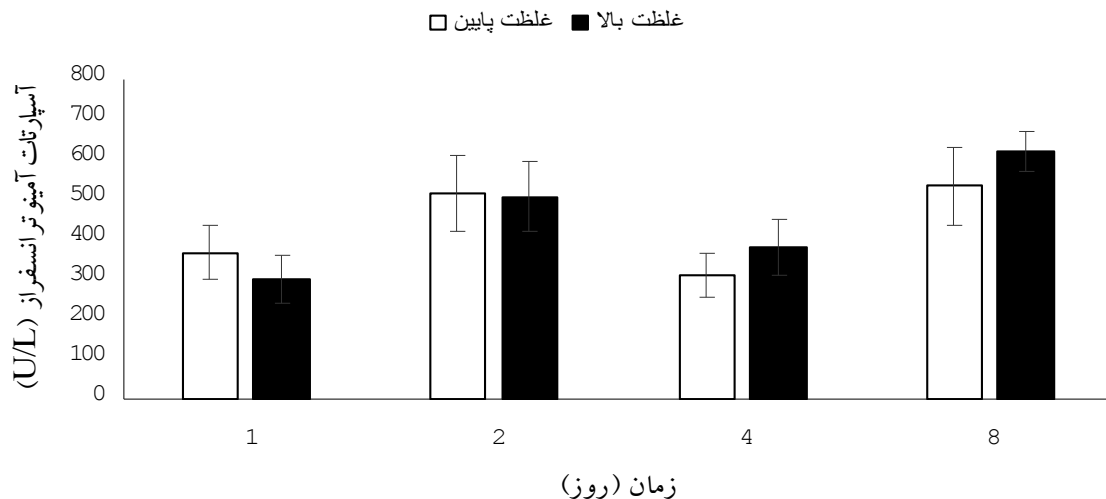


شکل ۳: تغییرات آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز در غلظت بالا و پایین - مرحله در معرض گذاری

آسپارات آمینوترانسفراز - ریکاوری

در این دوره در غلظت بالا و پایین تا روز دوم روند افزایشی در میزان فعالیت AST دیده شد، سپس تا روز

چهارم کاهش پیدا کرد و بعد از آن تا روز هشتم افزایش داشت ولی معنی دار نبود ($P > 0.05$) (شکل ۴).



شکل ۴: تغییرات آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز در غلظت بالا و پایین - مرحله ریکاوری

بحث

در مطالعه حاضر مرگ و میری در ماهی‌ها مشاهده نشد که با مطالعه Qiu و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت داشت. در این مطالعه فعالیت AST در غلظت بالای جلبک اختلاف معنی‌داری را در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری نشان داد اما این تغییرات نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود. در مطالعه Qiu و همکاران (۲۰۰۹) که در شرایط مصنوعی و در قفس روی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) انجام شد، در کپور نقره‌ای LDH افزایش معنی‌دار داشت ولی AST به صورت قابل توجه کاهش یافت. در کپور سرگنده نیز افزایش LDH به صورت معنادار بود و در AST نیز افزایش میزان فعالیت مشاهده شد که معنادار نبود. Kopp و همکاران (۲۰۰۹) نیز در مطالعه خود روی بچه ماهیان

کپور (*Cyprinus carpio*) که ۱۶۸ ساعت در معرض بلوم سیانوباکتر ریشه‌ای *Anabaena flos-aquae* و *Aphanizomenon flos-aquae* قرار داشتند افزایش میزان فعالیت AST را مشاهده کردند لیکن این افزایش معنی‌دار نبود که با بررسی حاضر مطابقت دارد. LDH در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری را در غلظت بالا و غلظت پایین جلبک نشان داد. این اختلاف در تیمار سبک نسبت به گروه شاهد در ۱۲ ساعت بعد از مواجهه با جلبک و در تیمار سنگین در زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۹۶ معنی‌دار بود. Kopp و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده کردند در گروهی از ماهی‌ها که به مدت ۹۶ ساعت در معرض سیانوباکترهای کلنی *Microcystis ichthyoblabe* و *Microcystis aeruginosa* بودند تغییر معنی‌دار در سطح آنزیم LDH به وجود آمد که با مطالعه حاضر مطابقت دارد.

LDH به طور وسیع در اکوتوکسیسیتی برای تشخیص آسیب‌های سلولی، بافتی و اندام‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. (Diamantino, et al., 2001). با توجه به اینکه فعالیت LDH در غلظت پایین و بالای جلبک اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد در ۱۲ ساعت بعد از مواجهه با سم نشان داد و با توجه به اینکه حداکثر میزان فعالیت آنزیم LDH در همین زمان و در غلظت بالای سم بود، بنابراین حداکثر میزان تخریب در بافت کبد در ۱۲ ساعت اول مواجهه با سم رخ داد. همچنین کمترین میزان فعالیت آنزیم ۴۸ ساعت پس از معرض‌گذاری مشاهده شد. توجیه این است که در نتیجه تخریب بخش زیادی از کبد، سلول‌ها قادر به رهاسازی این آنزیم به سیستم گردش خون نخواهند بود، لذا میزان آن در پلاسما خون کاهش می‌یابد.

در این بررسی میزان تغییرات AST و LDH اختلاف معنی‌داری را در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری و غلظت‌های متفاوت جلبک در فاز ریکاوری نشان نداد. توجیه این است که میزان آنزیم‌ها بعد از ۹۶ ساعت و انتقال به آب عاری از جلبک در پلاسما خون به ثبات رسید و سطح تغییرات معنی‌داری را نشان ندادند. حداکثر میزان فعالیت LDH در تیمار سنگین بوده، بنابراین بیشترین میزان تخریب در غلظت بالای جلبک اتفاق افتاد، چرا که سلول‌های کبدی در دوز بالای سم تخریب نشان می‌دهند و آنزیم‌هایی مانند LDH را رهاسازی می‌کنند.

در مطالعه‌ای که Marzouk و همکاران (۲۰۱۳)، روی *Oerochromis niloticus* در مواجهه با سویه سمی و غیر سمی سیانوباکتر *Microcystis aeruginosa* انجام دادند، میزان فعالیت LDH نسبت به گروه کنترل افزایش اندکی را نشان داد که این

افزایش معنی‌دار نبود. این بدین معناست که سویه سمی و غیر سمی گونه *Microcystis aeruginosa* تأثیر یکسانی روی آنزیم LDH در پلاسما خون ماهی مورد آزمایش داشت.

تفاوت در پاسخ ماهی‌ها در مطالعه حاضر و مطالعات دیگر در برخی از پارامترهای خونی ممکن است به علت تفاوت در حساسیت گونه‌های مختلف ماهی، نوع جلبک، سم تولید شده توسط آن‌ها، دوز و مدت زمان قرارگیری در معرض سم باشد. با توجه به اختلاف معنی‌دار که بین میزان فعالیت LDH در ماهی‌های در معرض سم و ماهی‌های تیمار شاهد در این مطالعه وجود داشت و با توجه به معنی‌دار نبودن فعالیت آنزیم AST نسبت به تیمار شاهد، می‌توان گفت LDH شاخص مناسب‌تری نسبت به AST برای تشخیص اثرات حاصل از جلبک *Nodularia spumigena* در بافت کبد ماهی آزاد دریای خزر می‌باشد. قابل ذکر است که برای درک بهتر تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی خون مطالعات گسترده‌ای به منظور بررسی رابطه بین این تغییرات و آسیب‌های بافتی مورد نیاز است. پیشگیری و کنترل آلودگی‌های معدنی و آلی که نقش قابل توجهی در بروز شکوفایی‌های مضر جلبکی دارند می‌تواند اثرات منفی روی سلات آبزیان به ویژه ماهی‌ها و هم‌چنین انسان‌ها را کاهش دهد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب آقای دکتر جاوید ایمانپور، جناب آقای مهندس مهدی رزاقی، سرکار خانم مهندس محدثه باقری، و پرسنل محترم دانشکده منابع طبیعی صومعه‌سرا به پاس همکاری و مساعدت‌هایشان در

9. Dimantino, T.C., Almedia, E., Soares, A.M.V.M., Guilhermino, L., 2001. Lactate dehydrogenase activity as an effect criterion in toxicity tests with (*Daphnia magna straus*). Journal of Chemosphere, 45, 556-560.
10. Dorafshan, S., Kalbasi, M.R., Pourkazemi, M., Mojazi Amiri, B., Soltan Karimi, S., 2008. Effects of triploidy on the Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*) haematology. Fish Physiology and Biochemistry, 34, 195-200.
11. Drobac, D., Tokodi, N., Simeunovic, J., Baltic, V., Stanic, D., Svircev, Z., 2013. Human exposure to cyanotoxin and their effects on healths. Arh Hig Rada Toksikol, 64, 305-316.
12. Ernst, B., Hitzfeld, B., Dietrich, B., 2001. Precens of Planktothrix sp and cyanobacterial toxins in Lake Ammersee, Germany and their impact on white fish (*Coregonus lavaretus L.*), Environmental Toxicology, 16(6), 483-488.
13. Granéli, E., Carlsson, P., 1998. The ecological significance of phagotrophy in photosynthetic flagellates. In: Anderson, D.M., Cembella, A.D., Hallegraeff, G.M. (eds) physiological ecology of harmful algal bloom. NATO ASI series 41. Springer, Berlin Heidelberg New York, 539-557.
14. Hobson, P., Fallowfield, H.G., 2003. Effect of irradiance, temperature and salinity on growth and toxin production by *Nodularia spumigena*, Hydrobiologia, 493, 7-15.
15. Ibelings, W.B., Chorus, I., 2007. Accumulation toxins in freshwater seafood and its consequences for public health. A review. Environmental Pollution, 150, 177-192.
16. Kankaanpaa, H., Vuorinen, P.J., Sipia, V., Keinanen, M., 2002. Acute effects and bioaccumulation of nodularin in sea trout (*Salmo trutta m. trutta L.*) exposed to *Nodularia spumigena* under laboratory coundition. Aquatic toxicology, 61, 155-168.
17. Kopp, R., Mares, J., Palikova, M., Navratil, S., Kubicek, Z., Zikova, A., Hlavkova, J., Blaha, L., 2009. Biochemical parameters of blood plasma and content of microcystins in tissues of common carp (*Cyprinus carpio L.*) from a hyper trophic pond with cyanobacterial water bloom. Aquaculture research, 40, 1683-1693.
18. Lavens, P., Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO fisheries Technical Paper 361, 295 p.
19. Lehtonen, K.K., Kankaanpaa, H., Leinio, Sari. Sipia, V.O., Pflugmacher, S., Sandberg-Kilpi, E., 2003. Accumulation of nodularin-like compounds from the cyanobacterium *Nodularia spimigena* and changes in acetylcholinesterase activity in the clam

اجرای این پروژه نهایت تشکر و سپاسگزاری به عمل می آید.

منابع

۱. مکارمی، م.، سبک آرا، ج.، میرزاجانی، ع.، ۱۳۹۰. بررسی شکوفایی جلبک *Nodularia* (AAB) در حوضه جنوب غربی دریای خزر (محدوده آب‌های گیلان) سال‌های ۸۵-۱۳۸۴. مجله علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۵(۱)، ۹۴-۷۹.
2. Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C.T., Ayyappan, S., 2004. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and predication of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). Ecotoxical Environ, 58, 220-226.
3. Akcaalan, P., Mazur-marzec, H., Zalewska, A., Albay, M., 2009. Phenotypic and toxicological characterization of toxic *Nodularia spumigena* from a freshwater lake in turkey. Harmful Algae, 8, 273-278.
4. Anderson, D.M., Glibert, P.M., Burkholder, J.M., 2002. Harmful algal bloom and eutrophication: Nutrient sources, composition, and consequences. Estuarine Research Federation, 25, 704-726.
5. Anon, 1998. Harmful Algal Blooms in European Marine and brackish waters (Granely, E., Codd, G. A., Dale, B., Lipiatou, E., Maestrini, S. Y. & Rosenthal, H., eds). European Commission, Belgium.
6. Chimela, W., Nwibari, M., Abdulraheem, B.A., 2014. Aspartate transminaze (AST) activity in selected tissues & organs of *Clarias Gariepinus* Exposed to Different Levels of paraquat. Environmental & Analytical Toxicology, 4 (3).
7. Dahlmann, J., Ruhl, A., Hummert, C., Liebezeit, G., Carlsson, P., Granéli, E., 2001. Different method for toxin analysis in the cyanobacterium *Nodularia spumigena* (cyanophyceae). Toxicon, 39, 1183-1190.
8. Danabas, D., Yilidirim, N.C., Gulec, A.K., Yildirim, N., Kaplan, O., 2010. An investigation on some haemotological parameters in *Capoeta trutta* (Heckel 1843) from Munzur River (Tunceli, Turkey). Journal of Animal and Veterinary Advances, 10, 2578-2582.

- carp (*Aristichthys nobilis*) to prolonged toxic cyanobacterial blooms in natural waters. Environmental toxicology and pharmacology, 27, 350-356.
24. Ramesh, K., Sivakumari, M.K., Kanagaraj, K. Manavalaramanu-jam, 1993. Toxicity of dye eZuent in lactate dehydrogenase activity in *Labeo rohita*, J. Environ. Prot. 13, 124-127.
 25. Reitman, S., Frankel, S., 1957. Colorimetric determination of glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases Am. J. Clin. Pathol, 28, 53-56.
 26. Yousefian, M., Hosseinzadeh-sahafi, H., Golshahi, H., Laloei, F., Tagavi, M., Taheri, A., Seidanloo, Y., 2012. Genetic parameters estimation of grow in *Salmo trutta caspius* as a function of body and weight and Length. Iranian Journal of fisheries Sciences, 11(1), 214-222.
 27. Wroblewski, L., Ladue, M., 1955. LDH activity in blood. Proceedings of Society for Experimental Biology and Medicine, 90, 210-213.
 - Macoma balthica* during short-term laboratory exposure. Aquatic toxicology, 64, 461-476.
 20. Marzouk, M.S., Mostafa, M., Ibrahim, N.A., Pick, F.R., Sharaf, M.S. 2013. Effect of freshwater toxic and non toxic cyanobacteria, (*Microcystis aeruginosa*) strains on some biochemical parameters of *Oreochromis niloticus*. Egypt. J. Aquat. Bio. & Fish, 17(1), 1110-1131.
 21. Nasrollahzadeh, H.S., Makhloogh, A., Pourgholam, A., Vahedi, F., Qanqermeh, A., Foong, S.Y., 2011. The study of *Nodularia spumigena* bloom event in the southern Caspian Sea. Applied ecology and environmental research, 9(2), 142-155.
 22. Nichols, N.W., 1973. Growth media-freshwater, in: stein, j.r. (Ed), handbook of phycological methods- culture methods and growth measurements, Cambridge university press, Cambridge, 7-24.
 23. Qiu, T., Xie, P., Z.X., Li, L., Guo, L.G, Zhang, D., 2009. Plasma biochemical responses of the planktivorous feelter-feeding silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead