دراسة فعالية أنزيم P-450 المحدد لفعالية الإيتوكسي ريزوريوفين–O–دي ألكيلاز EROD في أسماك البوري *Liza aurat* لمنطقة مصب نهر الكبير الشمالي

د. سمر اختيار*

نورا سلمان**

(تاريخ الإيداع 9 / 5 / 2021. قبل للنشر في 13 / 7 / 2021)

ملخّص

نعرض في دراستنا هذه فعالية Cyt-P450 عند أسماك *L.aurata* التي تم جمعها من منطقة مصب نهر الكبير الشمالي التي تمتد على مساحة بين 2–5 كم^2، التي تعتبر أحد طرق دراسة الملوثات العضوية حيث تعمل الدلائل الحيوية كإشارات إنذار مبكر على المخاطر السمية الناتجة كرد فعل لدخول الملوثات على جسم الكائن الحي.

تراوحت فعالية Cyt-P450 المدروسة عند ذكور *L.aurata* بين 2.132 و29.905 nmol/min/nmol p450، وعند إناث *L.aurata* سجلت فعاليات مختلفة كثيراً فيما بينها هي 2.450 و3.373 و 32.296 nmol/min/nmol p450.

هذه الدراسة أخذت بعين الاعتبار بعض العوامل البيئية الهامة مثل درجة الحرارة والملوحة والناقلية التي أظهرت تأثيرها المباشر على فعالية Cyt-P450 وخاصة في فترات الإخصاب.

الكلمات المفتاحية: *liza urata* ، الدلائل الحيوية، EROD، Cyt-P450، مصب نهر الكبير الشمالي.

* أستاذ مساعد – المعهد العالي للبحوث البحرية – جامعة تشرين –اللاذقية – سورية.

** طالب ماجستير– قسم البيولوجيا البحرية– المعهد العالي للبحوث البحرية – جامعة تشرين –اللاذقية – سورية.

Study Of P_{450} Enzyme Activity In *Liza aurata* In The ALKabeer AL Shamaly River Estuary Area

Dr. Samar Ikhtiyar*
Noura Salman**

(Received 9 / 5 / 2021. Accepted 13 / 7 /2021)

□ ABSTRACT □

In this study, we showed that the activity of Cyt-P450 in *Liza aurata* fish collected from the estuary of the river of Al Kabeer Al Shamaly area, ranges between 2-5 km^2. It is considered as one of the methods studying organic pollutants. the biomarkers act as early warning signals on the resulting toxic risks as a reaction to the entry of pollutants into the body.

The activity of Cyt-P450 has been studied for male and female of *Liza aurata.* The result showed that the activity ranged between 2.132 - 29.905 nmol/min/nmol P450 for the males and 2.450, 3.373 and 32.296 nmol / min / nmol p450 for the females.

Our research took into consideration some of the environmental factors such as temperature, salinity and conductivity, which showed their direct effects on the activity of Cyt-P450, especially during fertilization periods.

Keywords: *liza urata,* biomarkers, EROD, Cyt-P450, Estuary of Kabeer AL Shamaly River Area.

* **Associate Professor, Marine Biology Department – High Institute of Marine Research**.

** **Ms. S. Student- Marine Biology Department – High Institute of Marine Research .**

مقدمة

تعد البحار والمحيطات المستودع النهائي الذي تستقر فيه العديد من المواد الكيميائية العضوية كالهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات (PCBs) والمبيدات الكلورية العضوية (OCs) وثنائي الفينيل متعدد الكلور (PCBs) وثنائي متعدد الكلور ثنائي الديوكسين/فيوران (PCDDs/PCDFs) (Perelo,2010). تقوم الأحياء المائية باستجابات ضد الملوثات السامة عن طريق تحريض عدد من الإنزيمات الرئيسة، بما في ذلك إنزيمات أنظمة التحول الأحيائي (Ozmen *et al.*,2006) ، وبشكل خاص إنزيمات السيتوكروم CYP(P450) التي تحفز تفاعلات التمثيل الغذائي في المرحلة الأولى لإنتاج جزيئات أكثر قطبية من المركبات الملوثة(Burkina *et al.*,2015; Quesada-García *et al.*,2015). تدعى هذه الاستجابات بالدلائل الحيوية Biomarker، وهي التغيرات الخلوية والكيميائية الحيوية والجزيئية والمقاسة في خلايا الجسم، أو سوائله أو أنسجته أو أعضائه والتي تعمل كمؤشرات لتعرض الكائنات الحية للمواد الملوثة (Lam and Gray,2003 ; Moore *et al.*,2006; Sanchez *et al.*,2008) ، أكدت الدراسات المرجعية أن زيادة فعالية EROD هو نتيجة تعرض الأسماك لمصادر التلوث، بالاضافة للتراكم البيولوجي للملوثات (Codi et al.,2004; Humphrey et al.,2007)، وفشلت دراسات أخرى في العثور على نشاط EROD في الأسماك التي كان من المتوقع أن تتعرض لمحفزات CYP1 في البيئة (King *et al.*,2005).

تعتبر فعالية EROD (EthoxyResorufin-O-Deethylase) أحد أهم المؤشرات الحيوية المستعملة لقياس الإستجابة للتعرض للملوثات العضوية في الأسماك ذات الأهمية الاقتصادية للانسان (Whyte *et al.*,2000)، هذا بالإضافة لما تتمتع به الأسماك ببعض الميزات التي تجعلها كائنات مناسبة ومثالية لاستعمالها في مراقبة التلوث (Whyte *et al.*,2000; Van Der Oost *et al.*,2003; Güngördü *et al.*,2012; Yildirim et al.,2014).

عند تعرّض المتعضيات الحية للملوثات الكيميائية يتركب أنزيم (P-450 1A)، والذي يرتبط دورها الرئيس في تحويل المواد الكيمائية العضوية (مثل المواد الكيميائية متعددة الحلقات وثنائي الفينيل متعدد الكلور وغيرها) إلى منتجات أكثر ألفة للماء، وبالتالي استقلابها، وبتقديره يمكننا الإشارة لتعرض هذه المتعضيات الحية للتحريض الكيميائي العضوي، هذه الخصائص تجعل من (EROD) دليل حيوي نوعي حساس للتلوث بالملوثات الكيميائية العضوية (Livingstone,1998; Whyte et al.,2000; Ikhtiyar and Ibrahim,2006).

تشير المستويات المتزايدة من EROD إلى ارتفاع نشاط استقلاب السموم الناتجة عن التعرض للملوثات العضوية (Van Der Oost *et al.*,2003). وأهم ما يتميز به استخدام الفعاليات الأنزيمية كمؤشرات حيوية هي أن الاستجابة تحدث عند المستويات المنخفضة جداً من الملوثات. ويعتبر بمثابة إنذار مبكر يسمح باتخاذ الإجراءات اللازمة لمنع استمرار زيادة الملوثات، فتحريض أنزيم CYP1A1 في الأحياء البحرية حساس للغاية عند مستويات منخفضة من التعرض للملوثات، ويكون أكثر حساسية من القياس المباشر لتلك الملوثات (Habila *et al.*,2017).

تعمل الدلائل الحيوية كإشارات إنذار مبكر على المخاطر السمية البيئية الناجمة عن هذا التأثير بسبب ردود أفعالها السريعة على دخول الملوثات السامة، وذلك على المستويين الجزيئي والخلوي، وتعكس بشكل فعال الاستجابات البيولوجية تجاه السموم البيئية حتى بالتراكيز المنخفضة للتلوث البيئي (Walker *et al.*,2012)، وقد جرى استعمال الدلائل الحيوية Biomarkers بشكل شائع من قبل علماء السمية البيئية كأدوات رصد للتلوث وذلك لتقييم فعالية عمليات الترميم لدى الكائنات في منطقة متأثرة بالضغوط البيئية (Colin *et al.*,2016).

تم إيلاء اهتمام خاص للأنزيم CYP1A1 الذي يتحفز بعد تفعيل مستقبلات الأريل الهيدروكربون بواسطة العديد من الملوثات، بما في ذلك الديوكسينات ومركبات ثنائي الفينيل متعدد الكلور PCB والـPAHs (Behrens Whyte *et al.*,2000 ; and Segner,2005; Ortiz-Delgado *et al.*,2008; Chivittz *et al.*,2016). يمكن رصد نشاط تحريض CYP1A عن طريق قياس متابعة فعالية نشاط الأنزيمات التي تعتمد على السيتوكروم مثل EROD (Whyte et al.,2000; EROD Viarengo et al.,2007; Danion et al.,2014; Wunderlich et al.,2015). تعتبر دراستنا هذه هي الثانية في الساحل السوري بعد دراسة وحيدة سابقة جرت على أسماك البوري والغريبة في منطقتي وادي قنديل وميناء الصيد والنزهة (Ikhtiyar,2005).

أهمية البحث وأهدافه

يهدف البحث إلى تقييم الحالة البيئية والصحية للكائنات الحية من خلال تقييم صحة أسماك *L.aurata* في منطقة ممتدة حوالي5 كم^2 من مصب نهر الكبير الشمالي إلى الكورنيش الجنوبي. والكشف عن الملوثات العضوية بطرق أنزيمية من خلال استعمال مفهوم فعالية P-450 و EROD وآلية تفاعلها مع مختلف العوامل البيئية كالحرارة والملوحة والناقلية.

طرائق البحث ومواده

تقع منطقة الدراسة المعتمدة في بحثنا هذا عند مصب نهر الكبير الشمالي، حيث تنتشر على ضفافه العديد من المنشآت الصناعية مثل معمل المحركات الكهربائية ومعمل الألمنيوم، معمل جود للمياه الغازية فضلاً عن منشآت أخرى والتي تصب مخلفاتها في النهر مباشرة، مما يسهم في زيادة تركيز الملوثات المختلفة كالمعادن الثقيلة والمواد العضوية والتي تصل إلى البحر. تم جمع العينات من 4 محطات تم توضيحها في (الشكل1):

S1 محطة رقم 1 (Nº35.8121433 ، Eº35.4995804): من مصب النهر مباشرة، الشاطئ رملي والقاع رملي تتخلله الحصى وعمق الماء بين1 و 2 م.

S2 محطة رقم2 (Nº35.8067611، Eº235.501457): تقع في منطقة الشاليهات، الشاطئ رملي والقاع رملي أيضاً ويتراوح العمق بين 5 و6 م.

S3 محطة رقم 3 (Eº35.5035397، Nº35.8024257): تقع في منطقة الطلائع، حيث الشاطئ رملي والقاع رملي تتخلله بعض الصخور ويتراوح العمق بين 4 و7 م.

S4 محطة رقم 4 (Nº35.5062009, Eº 35.7890619):تقع في منطقة مسبح الشعب، حيث الشاطئ رملي والقاع رملي تتخلله بعض الصخور ويتراوح العمق بين 5 و7 م.

الشكل (1): التموضع الجغرافي لنقاط الاعتيان في منطقة الدراسة (مصب نهر الكبير الشمالي).

تم تنفيذ 4 طلعات بحرية فصلية اعتباراً من تشرين أول 2018 ولغاية تموز 2019، تم الحصول عى أسماك *L.aurata* في الطلعتين الخريفية والربيعية حيث تم جمع 11 عينة 5عينات في فصل الخريف و 6 في فصل الربيع
8 ذكور في الخريف والربيع و3 إناث في الخريف.

فصلت الذكور عن الإناث العائدة لأسماك *Liza aurata*، وذلك بمساعدة الصيادين المحليين، وتسجيل الملاحظات الحقلية حول حالتها الصحية.

كما تمت دراسة العوامل البيئية (الحرارة °C والناقلية ms/cm والملوحة ‰) مباشرة، باستعمال جهاز WTW MULTYLIN P4 UNEVERSALMETER، ثم نقلت العينات إلى المخبر حية لإجراء التحاليل اللازمة.

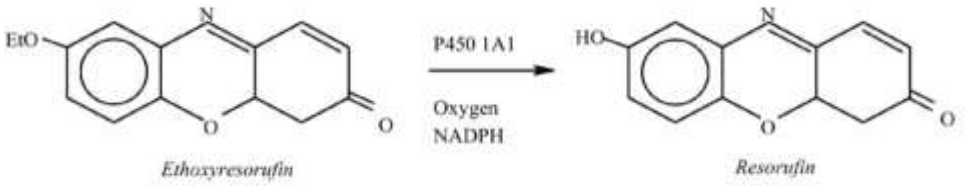
تم تحديد عمر الأسماك باستخدام طريقة عد الحلقات في الحراشف.

تم حساب الوزن النسبي للكبد RHS (RAPPORT HEPATO SOMATIQUE) بعد وزن الجسم بالإضافة لوزن الكبد وتطبيق العلاقة الآتية: RHS= وزن الكبدx100/وزن الجسم

تم حساب معامل الحالة بالعلاقة الآتية:K=(W/L^3)*100

K= معامل الحالة، L = الطول الكلي ،= W وزن الجسم الكلي

يتمثل مبدأ قياس الإيتوكسي ريزوريوفين_O_دي ألكيلاز EROD: بتحديد نشاط السيتوكروم P450 حيث يصف نشاط EROD معدل CYP1A بوساطة نزع مجموعة إيثيل من الركيزة 7 ethoxyresorufin لتشكيل resorufin المنتج في الأسماك باعتباره دليل حيوي للاستجابة البيولوجية نتيجة وجود الملوثات العضوية في البيئة البحرية. تم تحضير MFO الذي يحتوي على أجزاء تحت خلوية، وتحديد النشاط التحفيزي (EROD) Ethoxyresorufin-O-Deethylase وتقدير محتوى البروتين. يستند تقدير التحفيز على حضانة الركيزة (Ethoxyresorufin) جنبا إلى جنب مع إعداد أو تحضير الأنزيم والعامل المساعد (NADPH) في الموقي المناسب، ثم يتم تقييم زيادة الفعالية بزيادة إنتاج Resorufin من خلال جهاز السبيكترو فوتومتر (وفق المعادلة الآتية:). (الشكل 2)



الشكل (2): ألية عمل الأنزيم

تم اجراء الدراسة الإحصائية التي هدفت إلى إظهار علاقات الارتباط بين العوامل المختلفة المدروسة، وشمل التحليل الإحصائي للنتائج عدد من المعاملات الإحصائية، كما حُللت المعطيات باستعمال البرنامج الإحصائي (Statistical Package for Social Sciences) SPSS Statistics 17.0.

النتائج والمناقشة

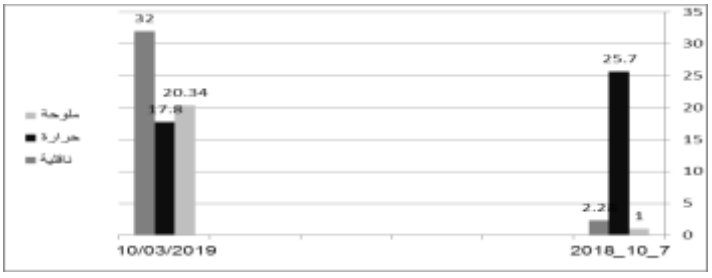
تنتمي أسماك البوري دهبان *Liza aurata* إلى صف: Actinopterygii ورتبة: Mugiliformes وفصيلة: Mugilidae وهي أسماك بحرية ذات انتشار واسع، في جميع البحار المعتدلة وشبه المدارية والإستوائية، تقضي بعض أنواعها جزءاً من حياتها أو كامل دورة حياتها في الأوساط المائية العذبة (Crosetti and Blaber,2015)، و تتكاثر بين تموز وتشرين الثاني (Whitehead *et al.*,1986).

تعد أسماك *L.aurata* ذات أهمية اقتصادية لكونها مورداً غذائياً هاماً لمعظم السكان حول العالم (Crosetti and Blaber,2015). وتعتبر واسعة التحمل البيئي لدرجات الحرارة Eurytherma والملوحة Euryhaline (De Pina and Chaves,2005; Katselis *et al.*,2006; Küçükgülmez *et al.*,2011). تدخل الأسماك البالغة البحيرات ومصبات الأنهار (Turan,2015)، ونادراً ما تدخل المياه العذبة (Kottelat and Freyhof,2007)، وتنتقل الأسماك اليافعة إلى البحيرات الساحلية ومصبات الأنهار في الشتاء وخاصة في الربيع (Kottelat and Freyhof,2007). تتغذى على الكائنات القاعية الصغيرة و المخلفات، وأحيانًا على الحشرات والعوالق(Whitehead *et al.*,1986). تتغذى الإصبعيات على العوالق الحيوانية فقط(Kottelat and Freyhof,2007). تستطيع أسماك *L.aurata* مراكمة المواد الكيميائية العضوية في أعضائها بشكل أكبر من الأوساط التي تعيش فيها ويمكن أن تؤثر هذه المركبات على صحة الكائن الحي(Blasco *et al.*,1998).

1-ذكور وإناث *L.aurata*:

1-1-العوامل الهيدرولوجية:

تم الحصول على الذكور في الخريف والربيع و الإناث في الخريف فقط وكانت درجات حرارة المياه في الفترة الخريفية 25.7 °C تقريباً أما في الفترة الربيعية فقد كانت 17.8 °C. أما درجات ملوحة المياه انخفضت في الخريف1‰ (وهذا يتعلق بمكان أخذ العينات من منطقة مصب نهر الكبير الشمالي في نقطة التقاء النهر بالبحر حيث تختلط المياه المالحة مع المياه العذبة)، وفي الربيع كانت ملوحة المياه 20.34 ‰ (حيث تم الحصول على العينات من نقطة بحرية في منطقة المصب فكانت الملوحة أعلى). الناقلية أيضا كانت منخفضة في فصل الخريف حيث بلغت 2.28 ms/ cmأما في فصل الربيع فبلغت 32 ms/ cm. (الشكل 3)



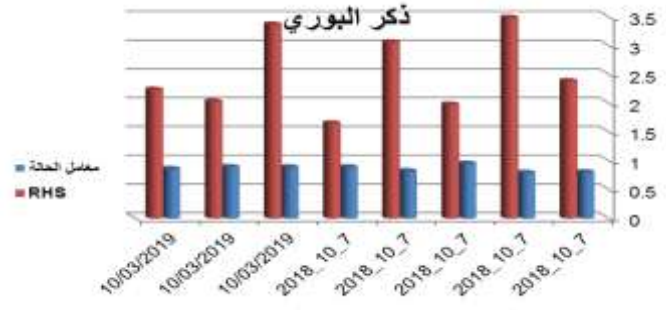
الشكل(3) : تغيرات الحرارة والملوحة والناقلية عند اعتيان أسماك البوري*Liza aurata*

1-2-الوزن النسبي للكبد ومعامل الحالة:

عند ذكور *L.aurata*:

–معامل الحالة: تراوحت قيم معامل الحالة المسجلة عند الذكور المدروسة بين 0.75غ/سم^3 و0.96غ/سم^3، حيث تناوبت قيم معامل الحالة بين ارتفاع وانخفاض خلال الفترة الربيعية والخريفية وكانت التبدلات في الخريف متفاوتة بشكل جيد أما في فصل الربيع فقد كانت التبدلات طفيفة وكان متوسط معامل الحالة خلال الفترة الخريفية 0.855 غ/سم^3، ومتوسط معامل الحالة خلال الفترة الربيعية 0.884 غ/سم^3

–الوزن النسبي للكبد: تراوحت قيم الوزن النسبي للكبد عند الذكور بين 1.65 و2.5 غ، وقد تناوبت القيم أيضا بين الإرتفاع والإنخفاض بشكل كبير، وكانت التبدلات متفاوتة بشكل واضح في فصل الخريف وسجلت أعلى قيمة 3.49غ وأقل قيمة 1.65غ وقد لوحظ هذا التفاوت أيضاً في فصل الربيع حيث كانت أعلى قيمة 3.37غ وأقل قيمة 2.03 وكان متوسط قيم الوزن النسبي للكبد في الخريف2.516 غ وفي الربيع 2.548 غ. (الشكل 4)



الشكل(4): تغيرات الوزن النسبي للكبد ومعامل الحالة عند ذكور *L.aurata*

عند إناث *L.aurata*:

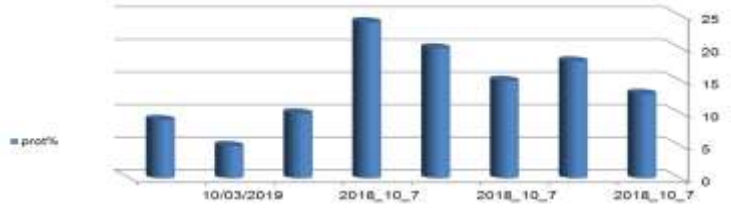
تراوحت قيم معامل الحالة عند عند الإناث التي جمعت في فصل الخريف (0.8 و0.839 و0.791) غ/سم^3، بمتوسط 0.810 غ/سم^3، وسجلت قيم الوزن النسبي للكبد (1.567و3.226 و1.763)غ بمتوسط 2.185 غ. (الشكل5)

الشكل(5): تغيرات الوزن النسبي للكبد و معامل الحالة عند إناث *L.aurata*

1-3–النسبة المئوية للبروتين%:

بينت نتائج النسبة المئوية للبروتين وجود تأرجح واضح بقيم البروتين عند ذكور البوري التي تم الحصول عليها في فصلي الخريف والربيع، ويمكن أن يعود هذا الاختلاف الظروف البيئية الفيزيائية والكيميائية خلال فترتي الاعتيان (كدرجة الحموضة والتلوث)، التي تؤثر على قيم البروتينات. أظهرت النتائج وجود تغيرات زمانية ومكانية واضحة في المحتوى

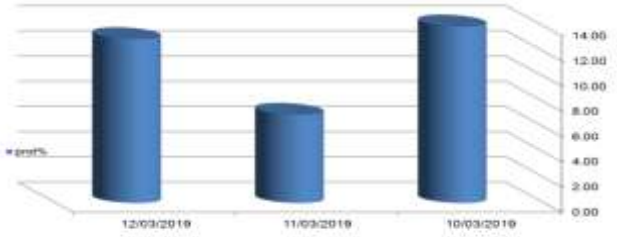
الإجمالي للأسماك من البروتين، ، حيث لوحظ أن أعلى قيم البروتين تم تسجيلها خلال تشرين الأول 24.% من الوزن الرطب، وسجل انخفاض واضح بالنسبة المئوية للبروتين بلغت 0.52 % في فصل الخريف. (الشكل6)



النسبة المئوية لتركيز البروتينات عند ذكر البوري%prot

الشكل (6): النسبة المئوية للبروتين عند ذكور *L.aurata*

سجلت نسبة البروتين عند إناث البوري القيم 1.25% و1.36% و0.73% . (الشكل 7)



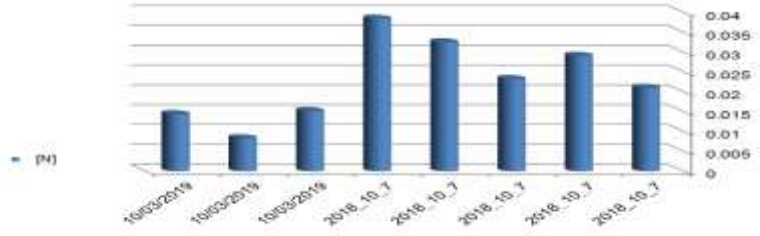
النسبة المئوية لتركيز البروتينات عند أنثى البوري%prot

الشكل (7): النسبة المئوية للبروتين عند إناث *L.aurata*.

1-4-النسبة المئوية للآزوت%:

تغيرت النسبة المئوية للآزوت% بشكل متوافق مع تغيرات قيم البروتين عند ذكور البوري التي تم الحصول عليها خلال فصلي الخريف والربيع كما أظهرت النتائج وجود تغيرات زمانية ومكانية واضحة في المحتوى الإجمالي للأسماك من الآزوت.

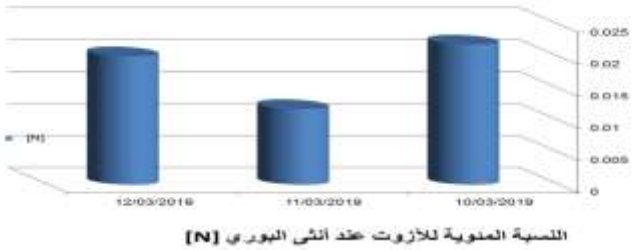
تراوحت النسبة المئوية للآزوت بين 0.008 و0.38 % من الوزن الرطب، حيث كانت أعلى القيم للآزوت في شهر تشرين الأول حيث سجلت نسبة الآزوت (0.38 % من الوزن الرطب)، و سجلت أقل نسبة تم تسجيلها ربيعا خلال شهر آذار(0.008%) . (الشكل 8)



النسبة المئوية للآزوت عند ذكر البوري[N]

الشكل (8): النسبة المئوية للآزوت عند ذكور *L.aurata*.

وبمراقبة النسب المئوية للآزوت المسجلة عند إناث البوري نجد أنها لم تتجاوز 0.025%، و تراوحت القيم بين 0.011 % و0.021%. (الشكل9)



الشكل(9): النسبة المئوية للآزوت عند إناث *L.aurata*

1-5-فعالية البروتين Protein p-450 Activity :

اختلفت فعالية البروتين P-450 عند ذكور البوري بين (2.355 و0.657) nmol/min/mg protein، كانت التغيرات بسيطة في الفترة الربيعية ولم تتجاوز 0.9 nmol/min/mg, protein، بينما كانت التغيرات كبيرة خلال الفترة الخريفية وتراوحت بين 0.1 و1.5 nmol/min/mg, protein.(الشكل10)

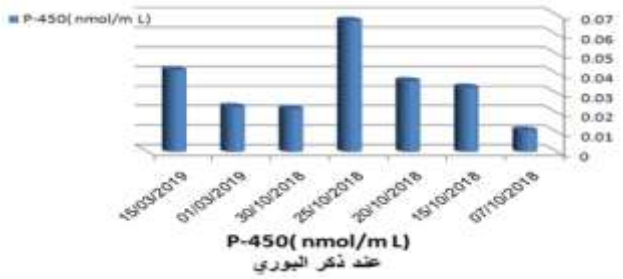
الشكل (10): فعالية البروتين p-450 عند ذكور *L.aurata*

اختلفت فعالية البروتين P-450 عند إناث البوري خلال الفترة الربيعية، وتراوحت بين 0.37 و4.968 nmol/min/mg, protein، وتراوحت تغيرات فعالية البروتين بين فردين لأنثى البوري بين 3.568 و 4,6 nmol/min/mg, protein. (الشكل 11)

الشكل (11): فعالية البروتين p-450 عند إناث *L.aurata*

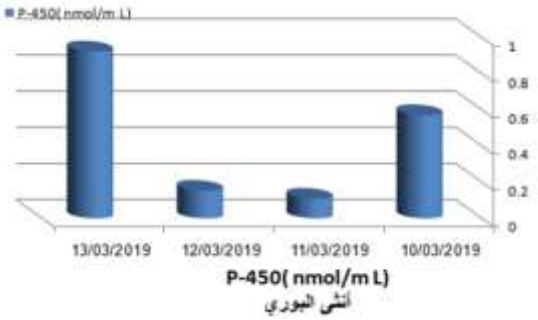
1-6-تركيز السيتوكروم Cytochrom p-450:

تراوح تركيز السيتوكروم P-450 في ذكور البوري بين 0.0109 و0.0671 nmol/ml، حيث تناقص تركيز Cytochrom p-450 خلال الفترة الربيعية من 0,04 إلى 0,02 nmol/ml.(الشكل 12)



الشكل (12): تركيز السيتوكروم Cytochrom p-450 عند ذكور *L.aurata*

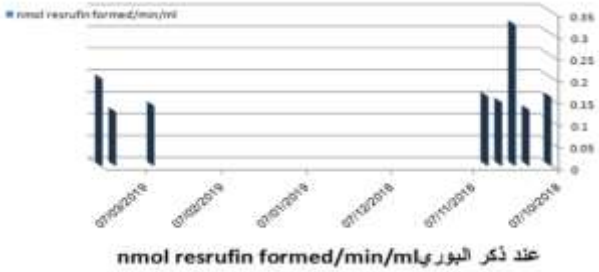
أما في إناث البوري تراوحت تراكيز السيتوكروم P-450 خلال الفترة الربيعية بين0.109 و0.923 nmol/ml. (الشكل13)



الشكل (13): تركيز السيتوكروم Cytochrom p-450 عند إناث *L.aurata*

7-1-فعالية الريزوريوفين Resorufin Activity :

تراوحت قيم فعالية الريزوريوفين في ذكور البوري بين0.123 ربيعاً و nmol/min/ml خريفاً 0.321 . (الشكل14)



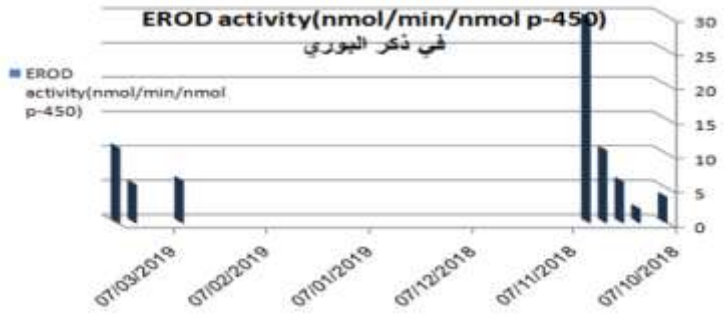
الشكل (14): فعالية الريزوريوفين عند ذكور *L.aurata*

تراوحت فعالية الريزريوفين عند إناث البوري مابين (0.027 و0.623) nmol/min/ml، كما لوحظ الاختلاف في قيم فعالية الريزريوفين للأفراد المدروسة مجتمعة والتي تراوحت بين(0.596 و0.432) nmol/min/ml .(الشكل 15)

الشكل (15): فعالية الريزوريوفين عند إناث *L.aurata*

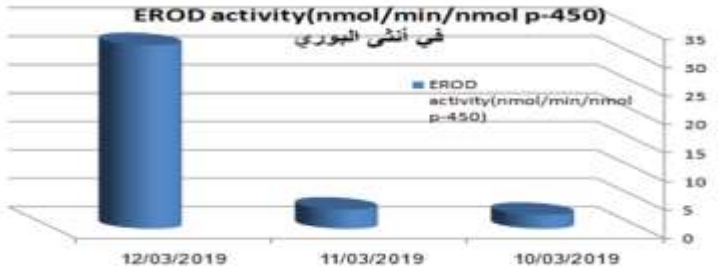
8-1-فعالية الايتوكسي ريزوريوفين–O–دي ايتيلاز EROD Activity:

تراوحت فعالية الايتوكسي ريزوريوفين- دي ايتيلاز المدروسة عند ذكر البوري بين 2.132 و nmol/min/nmol p450 29.905، وكانت الفعالية متباينة بشكل كبير بين الأفراد المدروسة وتراوحت خلال الفترة الربيعية بين5 و10 nmol/min/nmol p450، أما خلال الفترة الخريفية فقد تباينت بشكل أكبر وتراوحت مابين (1، 4، 5، 10، 30) nmol/min/nmol p450. (الشكل 16)



الشكل (16): فعالية EROD عند ذكور *L.aurata*

سجلت فعالية الايتوكسي ريزوريوفين–O–دي ايتيلاز لإناث البوري فعاليات مختلفة كثيراً فيما بينها وهي (2.450 و 3.373و 32.296 nmol/min/nmol p450). وتراوحت الاختلافات بين الأفراد بين 29.846 و 28.923 nmol/min/nmol p450، وكانت أدنى الاختلافات المسجلة لفعالية الايتوكسي ريزوريوفين–O–دي ايتيلاز عند إناث البوري 0.973 nmol/min/nmol p450. (الشكل 17)



الشكل (17): فعلية EROD عند إناث *L.aurata*

تبين نتائج الجدول (1) أن متوسط فعالية EROD عند ذكور البوري (9.434 ±8.808) nmol/min/nmol p450 بلغ متوسط P450(0.003 ±0.018) nmol/ml، كما بلغ متوسط فعالية activity protein 1.434±0.731 nmol/min/ml.

بلغ متوسط فعالية الريزوريوفين resurufin عند ذكور البوري 0.065±0.171 nmol/min/ml ، وسجل متوسط النسبة المئوية للبروتين الكلي عند ذكور البوري 0.063±0.143 nmol/min/mg,protein .

سجل متوسط معامل الحالة 0.866±0.054غ/سم3، وبلغ متوسط معامل الكبد RSH 2.528±0.69غ .

بلغ متوسط الملوحة الكلي عند ذكور البوري 6.526± 9.437‰. أما متوسط درجة الحرارة فقد بلغ 23.443 °C±3.855، وكان متوسط الناقلية عند ذكور البوري10.771 ±14.502 ms/cm.

بلغ متوسط النسبة المئوية للآزوت N عند ذكور البوري المدروسة 0.023 ±0.010.

الجدول(1): الدراسة الاحصائي وعلاقات الارتباط بالنسبة لمختلف العوامل المدروسة عند ذكور *L.aurata*:

% [N] MB	CON MB	T MB	S MB	RHS MB	MB	معدل الحالة	prot%	pl resrufin formed/min/	CTIVITY)/nmol/min/mg protein	P-450(nmol/m L)	EROD activity/nmol/min/nmol p-450)	
0,023	10,771	23,443	6,528	2,528	0,886		0,143	0,171	1,434	0,033	9,434	Mean
0,004	5,481	1,457	3,567	0,244	0,019		0,022	0,023	0,259	0,007	3,114	Standard Error
0,022	2,280	25,700	1,000	2,314	0,878		0,139	0,151	1,317	0,033	6,163	Median
0,010	14,502	3,855	9,437	0,690	0,054		0,063	0,065	0,731	0,018	8,808	Standard Deviation
0,000	210,304	14,860	89,056	0,476	0,003		0,004	0,004	0,535	0,000	77,581	Sample Variance
0,030	29,720	7,900	19,340	1,837	0,161		0,188	0,199	1,698	0,056	27,772	Range
0,008	2,280	17,800	1,000	1,654	0,794		0,052	0,123	0,657	0,011	2,133	Minimum
0,039	32,000	25,700	20,340	3,491	0,956		0,241	0,322	2,355	0,067	29,905	Maximum
0,039	32,000	25,700	20,340	3,491	0,956		0,241	0,322	2,355	0,067	29,905	Largest(1)
0,008	2,280	17,800	1,000	1,654	0,794		0,052	0,123	0,657	0,011	2,133	Smallest(1)
0,008	13,412	3,565	8,728	0,577	0,048		0,053	0,065	0,611	0,017	7,364	Confidence Level(95.0%)

% [N] MB	CON MB	T MB	S MB	RHS MB	MB	معدل الحالة	prot% MB	resrufin formed/min/	CTIVITY)/nmol/min/mg protein)	P-450(nmol/m L)	EROD activity/nmol/min/nmol p-450) MB	MB
												1,000 EROD activity/nmol/min/
										1,000	-0,072 P-450(nmol/m L) MB	
									1,000	0,002	-0,401 ACTIVITY)/nmol/min/mg p	
								1,000	0,446	-0,002	-0,031 nmol resrufin formed/mi	
							1,000	0,082	-0,798	0,129	0,639 prot% MB	
						1,000	-0,250	0,643	0,683	-0,005	0,257 MB معدل الحالة	
					1,000	-0,567	-0,045	-0,419	-0,387	0,205	-0,537 RHS MB	
				1,000	0,124	0,327	-0,808	-0,366	0,545	-0,039	-0,236 S MB	
			1,000	-1,000	-0,124	-0,327	0,808	0,366	-0,545	0,039	0,236 T MB	
		1,000	-1,000	1,000	0,124	0,327	-0,808	-0,366	0,545	-0,039	-0,236 CON MB	
	1,000	-1,000	1,000	0,124	0,327	-0,808	-0,366	0,545	-0,039	-0,236 CON MB		
1,000	-0,808	0,808	-0,808	-0,045	-0,250	1,000	0,082	-0,798	0,129	0,639 % [N] MB		

تبين من خلال دراسة علاقات الارتباط عند ذكور *L.aurata*: ارتباط فعاليةEROD مع معامل الكبد بعلاقة سلبية 50%، ومع النسبة المئوية للبروتين بعلاقة ايجابية 60%، ومع النسبة المئوية للآزوت بعلاقة 60%، وسجلت علاقة ارتباط لفعالية نشاط بروتين p450 مع النسبة المئوية للبروتين 70%، كما سجلت علاقة ارتباط فعالية نشاط بروتين p450 مع النسبة المئوية للآزوت 70%، كما وجدنا علاقة سلبية متوسطة بين السيتوكروم p450 والنسبة المئوية للبروتين بسبب تحول البروتين إلي أنزيمات p450 50%، ونجد علاقة ارتباط ايجابية بين فعالية الريزوريوفين مع معامل الحالة بلغت 60%، وسجلت علاقة ارتباط إيجابية بين النسبة المئوية للبروتين والملوحة والناقلية 80% ومع الحرارة سلبية 80%، كما نجد علاقة سلبية متوسطة بين معامل الحالة ومعامل الكبد50%، وعلاقة إيجابية قوية بين النسبة المئوية للآزوت والملوحة 80%، وهناك علاقة إيجابية قوية النسبة المئوية للآزوت والناقلية 80%، وعلاقة سلبية قوية للنسبة المئوية للآزوت والحرارة 80%، كما وجدنا أن الأسماك الأكثر عمراً والمعرضة للملوثات لفترة أطول قد راكمت بشكل أكبر، مما أدى لزيادة فعالية EROD (Ortiz-Delgado *et al.*,2007; Nahrgang Andersson *et al.*,2007 ; *et al.*,2010).

ومن الجدول(2) نجد أنه قد تم تسجيل متوسط فعالية EROD عند إناث البوري المدروسة 16.971 nmol/min/nmol ± p45012.707 .

بلغ متوسط P450 بالنسبة إناث البوري المدروسة 0.255±0.278 nmol/mL ، وسجل متوسط فعالية البروتين activity 2.247±2.413protein nmol/min/mg,protein .

بلغ متوسط فعالية resurufin عند إناث البوري المدروسة المدروسة 0.308±0.281 nmol/min/mL.

سجل متوسط النسبة المئوية للبروتين الكلي عند إناث البوري المدروسة 0.034±0.112%، وبلغ متوسط معامل الحالة عند إناث البوري المدروسة 0.026±0.810 غ/سم3 .

كان متوسط معامل الكبد RSH عند إناث البوري المدروسة 2.186 ± 0.907 غ.

وبلغ متوسط النسبة المئوية للآزوت N عند إناث البوري المدروسة 0.018± 0.005%.

الجدول(2): الوصف الاحصائي وعلاقات الارتباط بالنسبة لمختلف العوامل المدروسة لأنثى البوري بشكل عام:

FB [N]	FB CON	FB T	FB S	FB RHS	FB معامل الحالة	FB prot%	nmol resrufin formed/ml	ACTIVITY(nmol/min/mg protein)	P-450(nmol/m	EROD activity(nmol/min/nmol p-450)	FB
0,018	32,000	17,800	20,340	2,186	0,810	0,112	0,281	2,247	0,278	12,707	Mean
0,003	0,000	0,000	0,000	0,523	0,015	0,019	0,178	1,393	0,147	9,799	Standard Error
0,020	32,000	17,800	20,340	1,764	0,800	0,125	0,192	1,401	0,154	3,374	Median
0,005	0,000	0,000	0,000	0,907	0,026	0,034	0,308	2,413	0,255	16,971	Standard Deviation
0,000	0,000	0,000	0,000	0,822	0,001	0,001	0,095	5,822	0,065	288,022	Sample Variance
0,010	0,000	0,000	0,000	1,659	0,048	0,063	0,596	4,596	0,462	29,845	Range
0,012	32,000	17,800	20,340	1,567	0,792	0,074	0,027	0,371	0,110	2,451	Minimum
0,022	32,000	17,800	20,340	3,226	0,840	0,137	0,623	4,968	0,571	32,296	Maximum
0,022	32,000	17,800	20,340	3,226	0,840	0,137	0,623	4,968	0,571	32,296	Largest(1)
0,012	32,000	17,800	20,340	1,567	0,792	0,074	0,027	0,371	0,110	2,451	Smallest(1)
0,013	0,000	0,000	0,000	2,252	0,064	0,083	0,785	5,994	0,633	42,159	Confidence Level(95 0%)

FB [N]	FB CON	FB T	FB S	FB RHS	FB معامل الحالة	FB prot%	nmol resrufin formed/ml	ACTIVITY(nmol/min/mg protein	P-450(nmol/m L	EROD activity(nmol/min/nmol p-450	FB	
										1,000	FB	EROD activity(nm
									1,000	-0,448	FB	P-450(nmol/m L)
								1,000	-0,220	0,971	FB	ACTIVITY(nmol/m
							1,000	0,998	-0,166	0,966	FB	nmol resrufin form
						1,000	0,583	0,537	0,705	0,319	FB	prot%
					1,000	-0,943	-0,819	-0,786	-0,429	-0,615		معامل الحالةFB
				1,000	0,962	-0,998	-0,633	-0,589	-0,658	-0,378	FB	RHS
			1,000	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	FB	S
		1,000	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	FB	T
	1,000	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	FB	CON
1,000	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	-0,998	-0,943	1,000	0,583	0,537	0,705	0,319	FB	[N]

من علاقات الإرتباط المسجلة عند أنثى البوري نذكر: ارتباط فعالية EROD مع فعالية الريزوريوفين بعلاقة ايجابية قوية 90%، ومع فعالية نشاط بروتين بعلاقة ايجابية قوية 90%، وارتبطت فعالية EROD مع معامل الحالة بعلاقة سلبية متوسطة 60%.

وكان زيادة حجم أنثى البوري والسوري أكثر من ذكورها سبباً لارتفاع مستويات فعالية EROD (Habila et al.,2017). وجمع عينات أسماك البوري والسوري خلال موسم الأمطار(تشرين الثاني وكانون الثاني وآذار)، بعد فترة جفاف طويلة، التي سمحت بتراكم الملوثات في البقع المائية وتابعت طريقها بعد ذلك لمجرى النهر من خلال الجريان السطحي، مما كان سبباً لزيادة فعالية EROD.

كما سجلت علاقة إيجابية بين السيتوكروم p450 والنسبة المئوية للبروتين بسبب تحول البروتين إلي أنزيمات p450 70%، وارتبطت فعالية السيتوكروم p450 ومعامل الكبد بعلاقة سلبية متوسطة 60%، كما ارتبطت فعالية نشاط بروتين مع فعالية الريزوريوفين بعلاقة ايجابية قوية 99%، وارتبطت فعالية نشاط بروتين والنسبة المئوية للبروتين بعلاقة ايجابية متوسطة 50%، وارتبطت فعالية نشاط بروتين مع معامل الحالة بعلاقة سلبية 70%، وارتبطت فعالية نشاط بروتين مع معامل الكبد بعلاقة سلبية متوسطة 50%ولوحظت علاقة سلبية قوية بين معامل الحالة ومعامل الكبد96%.

كما ارتبطت فعالية الريزوريوفين والنسبة المئوية للبروتين بعلاقة ايجابية متوسطة 50%، ومع النسبة المئوية للآزوت بعلاقة ايجابية متوسطة 50%، ومع معامل الحالة بعلاقة سلبية قوية 80%، ومع معامل الكبد بعلاقة سلبية متوسطة 60%.

وسجلت علاقة ارتباط بين النسبة المئوية للبروتين مع معامل الحالة بعلاقة سلبية 90% ومعامل الكبد 94%، وسجلت علاقة مع معامل الكبد بعلاقة سلبية 94%، وعلاقة إيجابية قوية بين معامل الحالة ومعامل الكبد90%، علاقة سلبية قوية بين معامل الحالة و والنسبة المئوية الآزوت90%، علاقة سلبية قوية بين معامل الكبد و والنسبة المئوية الآزوت99%.

ويتوافق ارتفاع فعالية EROD عند أسماك البوري مع نتائج الدراسات البحثية التي أثبتت قدرة أسماك البوري الكبيرة على مراكمة المركبات العضوية في أعضائها(Blasco *et al.*,1998). كما أن ارتفاع فعالية EROD في الأسماك الناضجة أكثر من الأسماك الفتية كان واضحاً وهذا ما توافق مع دراسة(Yılmaz *et al.*,2016) التي سجلت ارتفاع فعالية EROD مع زيادة حجم في *Mullus barbatus* التي تم اعتيانها من خليج مرسين بتركيا. وفي دراسة (Rawson *et al.*,2009) استبعد الاناث، أما(Van Den Heuvel *et al.*,2006) فقد اعتمد بالاعتيان على الذكور والاناث الفتية حيث كانت الهرمونات الجنسية متماثلة تقريبا. تتغذى الأنواع السمكية المدروسة إما بيلاجيا أوقاعياً لذلك فهي تركم الملوثات الموجودة في المنطقة أما من العمود المائي أو من الرسوبيات (Ikhtiyar,2005).

كما أن العديد من الدراسات المرجعية مثل (Whyte et al.,2000) تؤكد تأثير الجنس على فعالية EROD في الأسماك. وفي دراستنا كانت أهم الاختلافات لفعالية الكبدية لـ EROD بين الجنسين التي ظهرت بشكل واضح، وكانت الفعالية مرتفعة عند الإناث، التي ظهرت واضحة عند إناث البوري والسوري عند مقارنتها مع الذكور. حيث أثبتت العديد من الدراسات أنه مع نهاية فترة التزاوج للأسماك يظهر انخفاض تركيز هرمون الاستروجين في الدم المتحكم بعملية التبويض تزداد فعالية EROD، كما تبين أن هرمون الاستروجين يؤدي إلى انخفاض فعالية EROD (Navas and Segner,2001)، فمع انخفاض تركيز هرمون الاستروجين لوحظ زيادة في فعالية EROD، الأمر الذي توافق مع نتائجنا حيث تم جمع عينات أسماك أنثى البوري خارج موسم التزاوج (Wunderlich *et al.*,2015).

الاستنتاجات والتوصيات

– يعد مصب نهر الكبير الشمالي منطقة ملوثة بالنفايات الزراعية والصناعية والصرف الصحي مما أدى لارتفاع لفعالية EROD.

–تحريض CYP1A بواسطة الهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات أثر على فعالية EROD.

–بينت النتائج تأثير العوامل البيئية والفيزيولوجية على فعالية EROD.

–نوصي باستخدام فعالية EROD للمراقبة الحيوية.

–نوصي باستخدام أسماك البوري كنوع مفيد للرصد الحيوي للنظام البيئي المائي كونها تستطيع مراكمة المواد الكيميائية العضوية في أعضائها بشكل كبير، بالإضافة إلى انتشارها الكبير في مياهنا الساحلية.

References

●ANDERSSON, CARIN،KATSIADAKI, IOANNA،LUNDSTEDT-ENKEL, KATRIN and ÖRBERG, JAN.*Effects of 17 α -ethynylestradiol on EROD activity, spiggin and vitellogenin in three-spined stickleback (Gasterosteus aculeatus)*.Aquatic toxicology,83,1,2007,33-42.

●BEHRENS ،ANJA and SEGNER, HELMUT.*Cytochrome P4501A induction in brown trout exposed to small streams of an urbanised area: results of a five-year-study*.Environmental Pollution,136,2,2005,231-242.

●BLASCO, J،RUBIO, JA،FORJA, J،GOMEZ-PARRA, A and ESTABLIER, R.*Heavy metals in some fishes of the Mugilidae family from salt-ponds of Cadiz bay SW Spain*.Ecotoxicol Environ Rest,1,2,1998,71-77.

●BURKINA, VIKTORIIA،ZLABEK, VLADIMIR and ZAMARATSKAIA, GALIA.*Effects of pharmaceuticals present in aquatic environment on Phase I metabolism in fish*.Environmental toxicology and pharmacology,40,2,2015,430-444.

●CHIVITTZ, CÍNTIA C،PINTO, DEBORA P،FERREIRA, ROGER S،SOPEZKI, MAURICIO DA S،FILLMANN, GILBERTO and ZANETTE, JULIANO.*Responses of the CYP1A biomarker in Jenynsia multidentata and Phalloceros caudimaculatus and evaluation of a CYP1A refractory phenotype*.Chemosphere,144,2016,925-931.

●CODI, SUSAN،HUMPHREY, CRAIG،KLUMPP, DAVID and DELEAN, STEVEN.*Barramundi as an indicator species for environmental monitoring in north Queensland, Australia: laboratory versus field studies*.Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal,23,11,2004,2737-2744.

●COLIN, NICOLE،PORTE, CINTA،FERNANDES, DENISE،BARATA, CARLOS،PADRÓS, FRANCESC،CARRASSÓN, MAITE،MONROY, MARIO،CANO-ROCABAYERA, ORIOL،DE SOSTOA, ADOLFO and PIÑA, BENJAMÍN.*Ecological relevance of biomarkers in monitoring studies of macro-invertebrates and fish in Mediterranean rivers*.Science of the Total Environment,540,2016,307-323.

●CROSETTI, DONATELLA and BLABER, STEPHEN JM.*Biology, ecology and culture of grey mullets (Mugilidae),CRC Press*,2015،

●DANION, MORGANE،LE FLOCH, STÉPHANE،LAMOUR, FRANÇOIS and QUENTEL, CLAIRE.*Effects of in vivo chronic exposure to pendimethalin on EROD activity and antioxidant defenses in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*.Ecotoxicology and environmental safety,99,2014,21-27.

●DE PINA, JULIANA VENTURA and CHAVES, PAULO DE TARSO.*A pesca de tainha e parati na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil*.Acta Biológica Paranaense,34,2005

●GÜNGÖRDÜ, ABBAS،ERKMEN, BELDA and KOLANKAYA, DÜRDANE.*Evaluation of spatial and temporal changes in biomarker responses in the*

common carp (Cyprinus carpio L.) for biomonitoring the Meriç Delta, Turkey.Environmental toxicology and pharmacology,33,3,2012,431439.

●HABILA, SAFIA،LEGHOUCHI, ESSAID،VALDEHITA, ANA،BERMEJO-NOGALES, AZUCENA،KHELILI, SMAIL and NAVAS, JOSÉ M.*Induction of EROD and BFCOD activities in tissues of barbel (Barbus callensis) from a water reservoir in Algeria*.Ecotoxicology and environmental safety,142,2017,129-138.

●HUMPHREY, CA،KING, S CODI and KLUMPP, DW.*A multibiomarker approach in barramundi (Lates calcarifer) to measure exposure to contaminants in estuaries of tropical North Queensland*.Marine Pollution Bulletin,54,10,2007,1569-1.581

●IKHTIYAR, SAMAR.*Biomarker and Bioaccumulation of Some Chemical Pollutant in Syrian Marine Ecosystem.* Ph.D, Tishreen University& High Institute of Marine Researches,2005, 336

●IKHTIYAR, SAMAR and IBRAHIM, AMIR *Laboratory Study On Bioaccumulation Of Aromatic Compound In Chelon Labrosus With EROD Analysis*.Aleppo University,2006.

●KATSELIS, GEORGE،HOTOS, GEORGE،MINOS, GEORGE and VIDALIS, KOSMAS.*Phenotypic affinities on fry of four Mediterranean grey mullet species*.Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,6,1,2006,49-55.

●KING, SUSAN CODI،JOHNSON, JOHANNA E،HAASCH, MARY L،RYAN, DANIEL AJ،AHOKAS, JORMA T and BURNS, KATHRYN A.*Summary results from a pilot study conducted around an oil production platform on the Northwest Shelf of Australia*.Marine Pollution Bulletin,50,11,2005,1163-1172.

●KOTTELAT, MAURICE and FREYHOF, JÖRG.*Handbook of European freshwater fishes,Publications Kottelat*,2007،

●KÜÇÜKGÜLMEZ, AYGÜL،ÇELİK, MEHMET،KADAK, A ESLEM and CIKRIKCI, MUSTAFA.*Proximate and Fatty Acid Composition of the Keeled Mullet (Liza carinata) from the North East Mediterranean Sea*.Journal of Applied Biological Sciences,5,1,2011,17-19.

●LAM, PAUL KS and GRAY, JOHN S.*The use of biomarkers in environmental monitoring programmes*.Marine Pollution Bulletin,46,2,2003,182-186.

●LIVINGSTONE, DR.*The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish*.Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology,120,1,1998,43-49.

●MOORE, MICHAEL N،ALLEN, J ICARUS and MCVEIGH, ALLAN.*Environmental prognostics: an integrated model supporting lysosomal stress responses as predictive biomarkers of animal health status*.Marine Environmental Research,61,3,2006,278-304.

●NAHRGANG, JASMINE،JÖNSSON, MARTINA and CAMUS, LIONEL.*EROD activity in liver and gills of polar cod (Boreogadus saida) exposed to waterborne and dietary crude oil*.Marine environmental research,70,1,2010,120-123.

●NAVAS, JOSÉ MARIA and SEGNER, HELMUT.*Estrogen-mediated suppression of cytochrome P4501A (CYP1A) expression in rainbow trout hepatocytes: role of estrogen receptor*.Chemico-biological interactions,138,3,2001,285-298.

●ORTIZ-DELGADO, JUAN B،BEHRENS, A،SEGNER, HELMUT and SARASQUETE, CARMEN.*Tissue-specific induction of EROD activity and CYP1A protein in Sparus aurata exposed to B (a) P and TCDD*.Ecotoxicology and environmental safety,69,1,2008,80-88.

●ORTIZ-DELGADO, JUAN B،SEGNER, HELMUT،ARELLANO, JUANA M and SARASQUETE, CARMEN.*Histopathological alterations, EROD activity, CYP1A protein and biliary metabolites in gilthead seabream Sparus aurata exposed to Benzo (a) pyrene*.2007.

●OZMEN, MURAT،GÜNGÖRDÜ, ABBAS،KUCUKBAY, F ZEHRA and GÜLER, R ELIF.*Monitoring the effects of water pollution on Cyprinus carpio in Karakaya Dam Lake, Turkey*.Ecotoxicology,15,2,2006,157-169.

●PERELO, LOUISA WESSELS.*In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments*.Journal of hazardous materials,177,1-3,2010,81-89.

●QUESADA-GARCÍA, ALBA،VALDEHITA, ANA،DEL OLMO, IVAN،GÓMEZ, M JOSÉ and NAVAS, JOSÉ M.*Detection of effects caused by very low levels of contaminants in riverine sediments through a combination of chemical analysis, in vitro bioassays, and farmed fish as sentinel*.Archives of environmental contamination and toxicology,68,4,2015,663-677.

●RAWSON, CHRISTOPHER A،TREMBLAY, LOUIS A،WARNE, MICHAEL ST J،YING, GUANG-GUO،KOOKANA, RAI،LAGINESTRA, EDWINA،CHAPMAN, JOHN C and LIM, RICHARD P.*Bioactivity of POPs and their effects in mosquitofish in Sydney Olympic Park, Australia*.Science of the total environment,407,12,2009,3721-3730.

●SANCHEZ, WILFRIED،PICCINI, BENJAMIN،DITCHE, JEAN-MAXENCE and PORCHER, JEAN-MARC.*Assessment of seasonal variability of biomarkers in three-spined stickleback (Gasterosteus aculeatus L.) from a low contaminated stream: implication for environmental biomonitoring*.Environment International,34,6,2008,791-798.

●TURAN, CEMAL.*Biogeography and distribution of Mugilidae in the Mediterranean and the Black Sea, and North-East Atlantic*.Biology, ecology and culture of grey mullet (Mugilidae). CRC Press, USA,2015,116-127.

●VAN DEN HEUVEL, MICHAEL R،LANDMAN, MICHAEL J and TREMBLAY, LOUIS A.*Responses of shortfin eel (Anguilla australis) exposed in situ to pulp and paper effluent*.Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A,69,19,2006,1763-1779.

●VAN DER OOST, RON،BEYER, JONNY and VERMEULEN, NICO PE.*Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review*.Environmental toxicology and pharmacology,13,2,2003,57-149.

●VIARENGO, ALDO،LOWE, DAVID،BOLOGNESI, CLAUDIA،FABBRI, ELENA and KOEHLER, ANGELA.*The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms*.Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology,146,3,2007,281-300.

●WALKER, COLIN HAROLD،SIBLY, RM،HOPKIN, STEPHEN P and PEAKALL, DAVID B.*Principles of ecotoxicology,CRC press*,2012,321.

●WHITEHEAD, PJ،BAUCHOT, M.L،HUREAU, J. C،NILSON, J and TORTONESE, E.*Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean,Unesco*،1986،

●WHYTE, JJ،JUNG, RE،SCHMITT, CJ and TILLITT, DE.*Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in fish as a biomarker of chemical exposure*.Critical reviews in toxicology,30,4,2000,347-570.

●WUNDERLICH, ALISON C،SILVA, REINALDO J،ZICA, ÉRICA OP،REBELO, MAURO F،PARENTE, THIAGO EM and VIDAL-MARTÍNEZ, VICTOR M.*The influence of seasonality, fish size and reproductive status on EROD activity in Plagioscion squamosissimus: Implications for biomonitoring of tropical/subtropical reservoirs*.Ecological Indicators,58,2015,267-276.

●YILDIRIM, NURAN CIKCIKOGLU،YILDIRIM, NUMAN،DANABAS, DURALI and DANABAS, SEVAL.*Use of acetylcholinesterase, glutathione S-transferase and cytochrome P450 1A1 in Capoeta umbla as biomarkers for monitoring of pollution in Uzuncayir Dam Lake (Tunceli, Turkey)*.Environmental toxicology and pharmacology,37,3,2014,1169-1176.

●YıLMAZ, DORUK،KALAY, MUSTAFA،DÖNMEZ, ERDEM and YıLMAZ, NEJAT.*Assessment of biological effects of environmental pollution in Mersin Bay (Turkey, northeastern Mediterranean Sea) using Mullus barbatus and Liza ramada as target organisms*.Environmental Pollution,208,2016,361-370.