

بافت‌شناسی گلبول‌های قرمز و بررسی برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون گربه کوسه لکه‌دار (*Chiloscyllium punctatum*) خلیج فارس

- **زهرابصیر*:** گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، صندوق‌پستی: 139
- **رحیم عیدی:** گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق‌پستی: 669

تاریخ پذیرش: شهریور 1393

تاریخ دریافت: خرداد 1393

چکیده

بررسی و آنالیز هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون شامل الکترولیت‌ها و غیرالکترولیت‌ها یکی از بهترین راه‌های تشخیص بیماری در آبزیان می‌باشد که عوامل متعددی آن را دستخوش تغییرات می‌کنند. در این تحقیق تعداد 30 قطعه گربه کوسه لکه‌دار (*Chiloscyllium punctatum*) با خصوصیات زیست‌سنجی مشابه از هر دو جنس از خور درویش در شمال خلیج فارس صید شدند. پس از خون‌گیری، رنگ‌آمیزی، تهیه گسترش و جداسازی سرم، اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی خون شامل گلوکز، کلسترول، آلبومین، پروتئین کل، اوره، کورتیزول، کراتینین و تری-گلیسرید با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و اتوالایزر و سطوح کورتیزول به روش RIA انجام پذیرفت. نتایج میکروسکوپی حاصل از گلبول قرمز نشان داد که این سلول‌ها به‌صورت بیضی بوده و واجد یک هسته در مرکز بوده‌اند. همچنین نتایج حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین فاکتورهای اندازه‌گیری شده به‌استثنای آلبومین بوده است ($P>0/05$). همچنین مقادیر کلسترول و کراتینین به‌ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار در هر دو جنس، گلوکز و اوره در جنس نر نسبت به جنس ماده بیش‌تر اما آلبومین، کورتیزول، پروتئین کل و تری‌گلیسرید در جنس ماده نسبت به جنس نر بیش‌تر گزارش گردید. فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون گربه کوسه لکه‌دار در تحقیق حاضر دارای تشابه و اختلافاتی با سایر آبزیان بوده که گزارش گردیده است.

کلمات کلیدی: فاکتورهای بیوشیمیایی، خون، گربه کوسه لکه‌دار، خلیج فارس

مقدمه

می‌باشند. در بخش قدامی سوراخ بینی دارای سبیلک و دارای 5 جفت شکاف آبششی کوچک که 2 تا 3 شکاف آن‌ها در بالای قاعده باله سینه‌ای قرار دارند (Zhou و همکاران، 2008). این آبزیان بیش‌تر در مناطق ساحلی و در نزدیک کف دریا سرتاسر خلیج فارس و دریای عمان زیست می‌کنند (Vecsei و همکاران، 2003). خون، به‌صورت یک بافت سیال یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن در کوسه‌ها بوده و تحت تأثیر حالات مختلف بدن موجود از جمله عوامل فیزیولوژیک و پاتولوژیک، ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد

براساس مطالعات مشخص گردید که گربه کوسه لکه‌دار (*Chiloscyllium punctatum*) دارای بدن و دم باریک بوده و قسمت جلوی پوزه دارای انحنای و فاقد برجستگی‌هایی بر روی تنه می‌باشد (Flynn و همکاران، 2006). همچنین باله‌های پشتی بزرگ و رنگ بدن در جنس‌های بالغ قهوه‌ای روشن و معمولاً بدون یک طرح رنگی ولی در جوان‌ها با لکه‌های مورب و تیره می‌باشد (Good، 2005). سوراخ‌های اسپیراکل درشت و در پشت چشم‌ها قرار دارند، چشم‌ها کوچک و فاقد پلک سوم



گردید. پس از صید، عملیات خون‌گیری از طریق سیاهرگ دمی و از پشت باله مخرجی کوسه‌ها در آزمایشگاه زیست-شناسی دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر صورت گرفت. پس از تهیه گسترش خونی و رنگ‌آمیزی گیمسا،

به‌منظور جداسازی سرم، خون با دور 4000 به مدت ده دقیقه سانتریفوژ شد. سرم‌ها به آرامی جدا و با استفاده از سمپلر به ویال‌های اپندورف منتقل شد و تا زمان آنالیزهای بیوشیمیایی، در فریزر با دمای 80- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت جداسازی پارامترهای بیوشیمیایی خون شامل گلوکز (دسی‌لیتر بر میلی‌گرم)، کلسترول (دسی‌لیتر/میلی‌گرم)، آلبومین (دسی‌لیتر بر گرم)، پروتئین کل (دسی‌لیتر/گرم)، اوره (دسی‌لیتر/میلی‌گرم)، کورتیزول (دسی‌لیتر/نانوگرم)، کراتینین (دسی‌لیتر/میلی‌گرم) و تری‌گلیسرید (دسی‌لیتر/میلی‌گرم) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل lightwave S2000 UV/VIS و اتوالایزر مدل Alpha-6 و سطوح کورتیزول به روش RIA انجام پذیرفت. در این تحقیق کیت‌های مورد استفاده جهت اندازه‌گیری پارامترهای خونی از شرکت پارس‌آزمون و زیست‌شیمی تهیه گردید. جهت مطالعه، تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل، از نرم-افزار SPSS نسخه 16 و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

در این تحقیق براساس نتایج زیست‌سنجی کوسه‌های جنس نر و ماده، به‌ترتیب دارای میانگین طول کل 87/27±3/6 و 86/27±4/22 سانتی‌متر و میانگین وزنی 1601/36±114/28 گرم بودند که اختلاف معنی‌داری بین طول و وزن آن‌ها وجود نداشت ($P>0/05$). نتایج میکروسکوپی حاصل از گلبول قرمز نشان داد که این سلول‌ها به‌صورت بیضی بوده و واجد یک هسته در مرکز می‌باشند. همچنین گلبول‌های قرمز نسبتاً بزرگ بوده که طول آن‌ها 23±1 میکرون و عرض آن‌ها 17±1 میکرون متغیر

(Asadi و همکاران، 2006). بنابراین در اختیار داشتن مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن‌ها در بیماری‌های مختلف از ابزارهای مهم تشخیص در بسیاری از بیماری‌های آبزیان بوده است. باید به‌خاطر داشت که در رابطه با آبزیان و از جمله ماهی‌ها و کوسه‌ها نیز، این مهم با تعیین مقادیر طبیعی پارامترهای خونی به‌عنوان مبنا و شاخصی مهم برای مقایسه و قضاوت در تشخیص بیماری‌ها مورد تأکید قرار گرفته است (Nakaya و همکاران 2013؛ Benetick و همکاران، 2001). ظرفیت حمل اکسیژن در خون کوسه‌ها و سپرماهیان و میزان واقعی اکسیژن به عوامل زیادی از جمله، فشار نسبی اکسیژن و دی‌اکسیدکربن در محیط، pH، میزان دما و میزان فعالیت آن بستگی دارد (Sreenivasa و همکاران، 2005؛ Ballard و همکاران، 2008). کوسه‌های این خانواده، مانند گربه کوسه لکه‌دار از جمله کوسه‌هایی می‌باشد که از سواحل و خورهای خلیج فارس همانند خور درویش که در ناحیه بندر امام و ماهشهر واقع شده است صید می‌شوند. این کوسه‌ها از اعضای خانواده گربه کوسه‌های دم‌بلند و بومی سواحل اقیانوس آرام و هند می‌باشند (Musick و همکاران، 2004). همچنین، پرورش این کوسه‌ها در آکواریوم‌ها رایج می‌باشد و به‌علت اندازه کوچک غیرمهاجر بودن و داشتن خوی آرام آن‌ها زمینه تحقیقات آزمایشگاهی فراوانی هستند (Morris، 2010؛ Rehulka و همکاران، 2005). به‌دلیل این خصوصیات فیزیکی، گونه گربه کوسه یک مدل ایده‌آل برای مطالعات بیولوژیکی در سطح آبزیان می‌باشد.

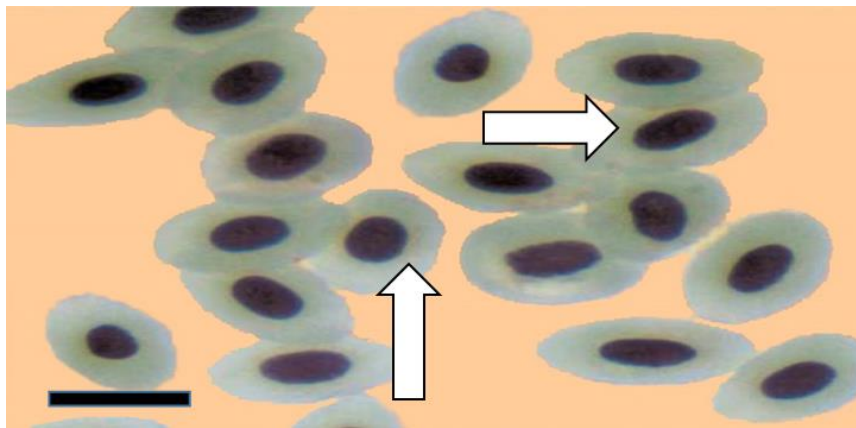
مواد و روش‌ها

برای این منظور در این پژوهش تعداد 30 قطعه گربه کوسه لکه‌دار (*Chiloscyllium punctatum*) از هر دو جنس با خصوصیات زیست‌سنجی مشابه از خور درویش در قسمت شمالی خلیج فارس که در منطقه ماهشهر قرار دارد و در زمستان سال 1392 صید



هر دو جنس بوده اند (جدول 1 و شکل های 2 و 3). همچنین مقادیر گلوکز و اوره در جنس نر نسبت به جنس ماده بیشتر اما مقادیر آلبومین، کورتیزول، پروتئین کل و تری گلیسرید در جنس ماده نسبت به جنس نر بیشتر گزارش گردید.

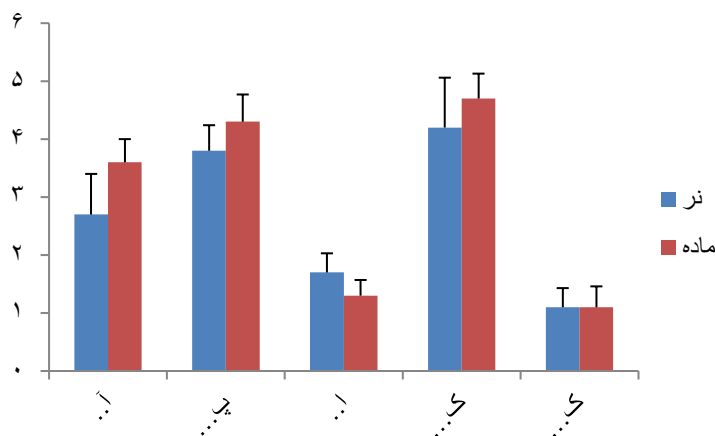
است (شکل 1). براساس جدول 1 مقادیر میانگین و انحراف معیار برخی از پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون کوسه های مورد مطالعه نشان داده شده است که بین هیچ کدام از مقادیر بیان شده اختلاف معنی دار به جز در مورد آلبومین وجود ندارد. مقدار کلسترول و کراتینین به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار در



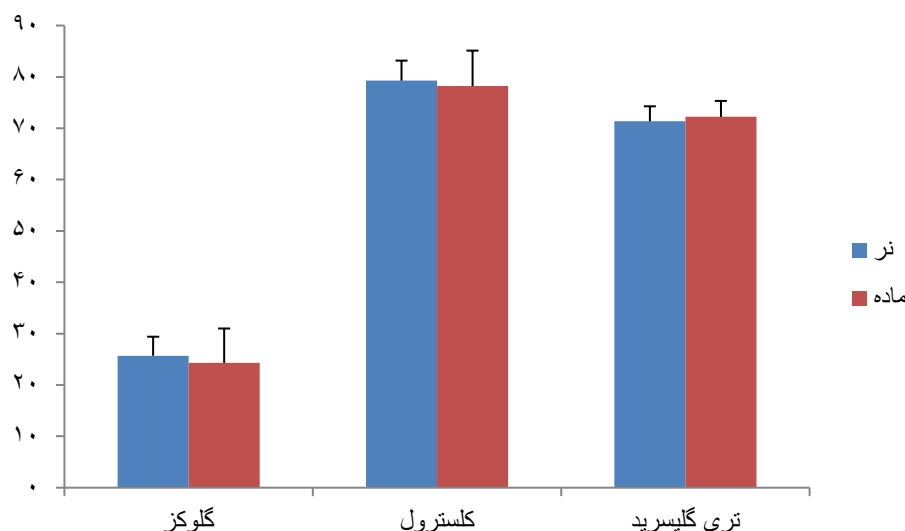
شکل 2: نمای میکروسکوپی گلبول های قرمز خون گربه کوسه لکه-دار با هسته های بیضی (فلش افقی) و هسته های کروی (فلش عمودی) (100X)

جدول 1: میانگین و خطای استاندارد میانگین مقادیر برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی در سرم خون گربه کوسه لکه دار نر و ماده

فاکتور جنس	گلوکز (دسی-لیتر/میلی-گرم)	آلبومین (دسی-لیتر/گرم)	پروتئین کل (دسی-لیتر/گرم)	اوره (دسی-لیتر/میلی-گرم)	کلسترول (دسی-لیتر/میلی-گرم)	کورتیزول (دسی-لیتر/نانوگرم)	کراتینین (دسی-لیتر/میلی-گرم)	تری گلیسرید (دسی-لیتر/میلی-گرم)
نر	25/7 ± 3/7	2/7 ± 0/7	3/8 ± 0/44	1/7 ± 0/33	79/27 ± 3/9	4/2 ± 0/86	1/1 ± 0/33	71/37 ± 2/9
ماده	24/3 ± 6/7	3/6 ± 0/4	4/3 ± 0/47	1/3 ± 0/27	78/22 ± 6/9	4/7 ± 0/43	1/1 ± 0/36	72/22 ± 3/1



شکل 2: مطابق نمودار که محور x فاکتورهای بیوشیمیایی و محور y نشان-دهنده مقدار آلبومین (دسی‌لیتر/گرم)، پروتئین کل (دسی‌لیتر/گرم)، اوره (دسی‌لیتر/میلی‌گرم)، کورتیزول (دسی‌لیتر/نانوگرم) و کراتینین (دسی-لیتر/میلی‌گرم) می‌باشد



شکل 3: مطابق نمودار که محور x نشان‌دهنده فاکتورهای بیوشیمیایی شامل گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید و محور y نشان‌دهنده مقدار (دسی-لیتر/میلی‌گرم) می‌باشد

بحث

پارامترهای بیوشیمیایی خون اطلاعات مهم و حیاتی در جهت تشخیص و مدیریت نمونه‌های آلوده و سالم فراهم می‌کنند. در یک تحقیق مشابه با مطالعه برخی پارامترهای آنزیمی و غیرالکترولیتی خون مانند گلوکز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورش یافته در یک دوره 45 روزه نشان داد که با افزایش سن باعث کاهش میزان آن می‌شود. همچنین در مطالعه حاضر مقدار گلوکز برای جنس نر مقدار اندکی بیشتر از جنس ماده به دست آمد بود که در مقایسه با مقدار آن در سرم خون سایر گونه‌ها اندکی کمتر بوده است اما از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است (Hazon و همکاران، 2005؛ Rehulka و همکاران، 2003). به‌طور کلی در بسیاری از آبزیان به‌عنوان حاضر یک قانون کلی در آغاز مهاجرت تولیدمثلی گونه‌های مختلف از جمله لامپری‌ها دارای مقادیر بالایی از گلوکز در خون خود می‌باشند، که به تدریج از مقدار آن کاسته می‌شود (Allen و همکاران، 2006). محققین همچنین گزارش کردند که در ماهی قزل‌آلا کم‌ترین پروتئین

از کارهای اصلی خون مایعی رساندن اکسیژن و مواد تغذیه‌کننده به بافت‌ها و کمک به دفع مواد زائد از بافت‌های بدن و دفاع در برابر میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. این مایع به توسط رگ‌ها، به تمام قسمت‌های بدن منتقل شده و هم یک نوع بافت، محسوب می‌شود که شامل مجموعه‌ای از سلول‌های ویژه است که وظایف و اعمال خاصی را به انجام می‌رسانند. این سلول‌ها در ماده زمینه‌ای مایعی به نام پلاسما شناور می‌باشند (Rehulka و همکاران، 2008). براساس بررسی متون گوناگون مشخص گردید که اطلاعات ناکافی در رابطه با ترکیبات بیوشیمیایی خون گونه‌هایی همانند گربه کوسه لکه-دار خلیج فارس وجود دارد. همچنین اطلاعات محدود در رابطه با عوامل مؤثر برای این پارامترها، از جمله فاکتورهای محیطی و عوامل فیزیولوژیک این تحقیق می‌تواند به عنوان پایه و معیاری برای مقایسه حالت سلامت و بیماری در گونه مورد مطالعه باشد. تعیین مقادیر



Rodriguez-Cabello و همکاران، 2007؛ Musick و همکاران 2004). اغلب شاخص‌های بیوشیمیایی در برابر عوامل استرس‌زا همانند آلودگی با مواد نفتی و مشتقات آن که در سواحل خلیج فارس نیز مشاهده می‌گردد، و مقدار آن‌ها معمولاً وابسته به شدت این عوامل می‌باشد (Zabelinskii و همکاران، 2006). اختلاف اوره در سرم خون در هر دو جنس نر و ماده که در جدول 1 نیز مشاهده شد به‌طوری‌که اختلاف در کوسه‌های نر این مقدار نسبت به کوسه‌های ماده $0/4 \pm 0/06$ می‌باشد که با مطالعه محققین دیگر که گزارش کردند که به علت فعالیت بیشتر در جنس نر می‌باشد همخوانی دارد (Piermarini و همکاران، 2000). مقایسه فاکتورهای آلبومین و به تبعیت آن تری‌گلیسرید در مطالعه حاضر در مورد دو جنس نر و ماده وجود سطح بالاتری از این دو در جنس ماده را نشان داد. براساس مطالعات این عامل نشان‌دهنده سطح بالاتر ایمنی در جنس ماده می‌باشد ولی باید توجه داشت عوامل مختلفی از جمله استرس‌های محیطی بر سطح آن‌ها اثرگذار هستند (Remyła و همکاران، 2007). Benetick و همکاران (2001) با بررسی بر روی کراتینین خون گربه ماهی روگای (*Ictalurus punctatus*) مقدار آن را $0/5$ گرم بر دسی‌لیتر اعلام کرده که با مقدار به‌دست آمده در گربه کوسه لکه‌دار بسیار نزدیک بوده و مقدار آن را نسبت به ماهی قره برون بیش‌تر گزارش گردیده است (Benetick و همکاران، 2001). در مجموع پارامترهای خونی در گونه مورد مطالعه تفاوت‌ها و تشابهات قابل توجهی با سایر گونه‌های عالی‌تر داشته است و با توجه به اهمیت این فاکتورها در مدیریت گونه‌ها و از آن‌جایی‌که نتایج به‌دست آمده در این تحقیق تنها منبع ارائه شده در این زمینه در مورد سرم خون گربه کوسه لکه‌دار خلیج فارس می‌باشد، امید است این تحقیق زمینه خوبی برای تحقیقات آتی و همچنین مدیریت این گونه و سایر گونه‌های موجود فراهم سازد.

منابع

کل و گلوکز سرم خون را در هنگام بیشینه وزن گناد دارا می‌باشند. در تحقیق حاضر مقدار کلسترول در جنس نر اندکی از جنس ماده بیش‌تر بوده است. کلسترول بخشی از ساختار دیواره سلول‌ها بوده و به‌عنوان یک پیش‌ساز برای صفرا و نیز هورمون‌های استروئیدی محسوب می‌گردد. مقدار کلسترول گزارش شده در این تحقیق از مقدار بالایی برخوردار بوده که با نتایج به‌دست آمده در مورد سایر گونه‌ها همخوانی دارد (Capae و همکاران، 2008؛ Kruger و همکاران، 2006). نتایج به‌دست آمده در خصوص میزان کورتیزول در دو جنس کوسه مورد مطالعه اندکی تفاوت نشان داد که در جنس ماده بیش‌تر گزارش گردید. محققین در مطالعات مختلف عوامل متعددی را در این خصوص دخیل دانسته و در گزارش‌ها بیان کردند که عوامل متعددی شامل استرس (Das و همکاران، 2006)، تراکم (Percin و همکاران، 2008)، نوع گونه مورد مطالعه، طراحی و شرایط آزمایش از جمله مهم‌ترین آن‌هاست (Mazon و همکاران، 2004). به‌طورکلی پاسخ به یک عامل استرس‌زا به طول دوره قرارگیری در معرض آن و شدت تأثیرگذاری آن بستگی دارد (Takabe و همکاران، 2012). همچنین تأثیر زمینه‌های ژنتیکی ماهیان در نوع و شدت پاسخ به یک عامل استرس‌زای خاص نیز در مطالعه Barton مورد توجه قرار گرفته است و در این بررسی او علی‌رغم این‌که سه گونه استروژن پالید (*Scaphirhynchus albus*) کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در معرض یک عامل استرس‌زای مشابه یعنی به مدت 30 دقیقه در معرض هوا قرار گرفته بودند ولی سطوح کورتیزول به‌ترتیب افزایش 1، 10 و 25 برابری را نشان دادند (Schaaf و همکاران، 2008). نوسان فاکتورهای بیوشیمیایی خون از جمله تغییر سطوح اوره، آلبومین و تری‌گلیسرید به‌عنوان شاخص‌های بیولوژیک که تحت تأثیر عوامل محیطی نظیر صید، استرس دستکاری، حمل و نقل، نگهداری و خواص فیزیکی‌وشیمیایی آب و غیره قرار می‌گیرند، دارای اهمیت به‌سزایی می‌باشد



- Carcharhiniformes: Scyliorhinidae) from Taiwanese waters. *Aqua International J of Ichthyology*. Vol. 3752, No. 1, pp: 101-129.
16. **Percin, F. and Konyalioglu, S., 2008.** Serum biochemical profiles of captive and wild northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L. 1758) in the Eastern Mediterranean. *J Fish Biol*. Vol. 56, pp: 1-20.
17. **Piermarini, P.M. and Evans, D.H., 2000.** Effects of environmental salinity on Na (+)/K (+)-ATPase in the gills and rectal gland of a euryhaline elasmobranch (*Dasyatis sabina*). *J. Exp. Biol*. Vol. 203, pp: 2957-2966.
18. **Rodriguez-Cabello, C.; Sanchez, F. and Olaso, I., 2007.** Distribution patterns and sexual segregations of *Scyliorhinus canicula* (L.) in the Cantabrian Sea. *J of Fish Biol*. Vol. 70, pp: 1568-1586.
19. **Rehulka, J.; Minarik, B.; Adamec, V. and Rehulkova, E.R., 2005.** Investigations of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquacul. Res*. Vol. 36, pp: 22-32.
20. **Remya, S.R.; Ramesh, M.; Sajwan, K.S. and Kumar, K.S., 2007.** Influence of zinc on cadmium induced hematological and biochemical responses in a freshwater teleost fish *Catla catla* *Fish Physiol Biochem*. Vol. 72, pp: 87-95.
21. **Schaaf-Da Silva, J.A. and Ebert, D.A., 2008.** A revision of the western North Pacific swellsharks, genus *Cephaloscyllium* Gill 1862 (Chondrichthys: Carcharhiniformes: Scyliorhinidae), including descriptions of two new species. *Zootaxa*. Vol. 18, pp: 1-8.
22. **Sreenivasa reddy, A.; Venkata reddy, M. and Radharkishnaiah, K., 2008.** Impact of copper on the oxidative metabolism of the fry of common carp at different pH. *J. of Environmental boils*. Vol. 29, pp: 721-724
23. **Takabe, S.; Teranishi, K.; Takaki, S.; Kusakabe, M.; Hirose, S. and Kaneko, T., 2012.** Morphological and functional characterization of a novel Na⁺/K⁺-ATPase-immunoreactive, follicle-like structure on the gill septum of Japanese banded houndshark, *Triakis scyllium*. *Cell Tissue Res*. Vol. 348, pp: 141-153.
24. **Vecsei, P.; Litvak, M.K.; Noakes, D.L.G.; Rien, T. and Hochleithner, M., 2003.** A noninvasive technique for determining sex of live adults North American Sturgeons. *J. of Env. Bio. Fish*. Vol. 68, pp: 333-338.
25. **Zabelinskii, S.A.; Chebotareva, M.A.; Shukolyukova, E.N.; Emel'yanova, L.V., Savina, M.V. and Belostotskaya, G.B., 2006.** Comparative Study of Lipids and Fatty Acids in Blood Plasma of River Lamprey *Lampetra fluviatilis* and Brown *Rana temporaria* at the periods of elimination of exogenous feeding. *J. Evol. Biochem. Physiol*. Vol. 42, pp: 376-382.
26. **Zhou, x.; Li, M.; Abbas, K. and Wang, W., 2008.** Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish. Physiol. Biochem*. Vol. 35, pp: 435-441.
1. **Allen, J.P. and Joseph, J.C., 2006.** Age/size effects on juvenile green sturgeon, *Acipenser medirostris*, oxygen consumption, growth, and osmoregulation in saline environments. *Environ Biol Fish*. Vol. 14, pp: 123-142.
2. **Aras, M.; Bayir, A.; Sirkecioglu, A.N., Polat, H. and Bayir, M., 2008.** Seasonal variations in serum lipids, lipoproteins and some haematological parameters of chub (*Leuciscus cephalus*). *Ital. J. Anim. Sci*. Vol. 7, pp: 439-448.
3. **Asadi, F.; Halajian, A.; Pourkabir, M.; Asadian, P. and Jadidizadeh, F., 2006.** Serum biochemical parameters of *Huso huso*. *Com. Clinical Pathol*. Vol. 15, No. 4, pp: 245- 248.
4. **Ballard, W.; Mellinger, J. and Lechenault, H., 2005.** A series of normal stages for development of *Scyliorhinus canicula* the lesser spotted dogfish (Chondrichthyes: Scyliorhinidae). *J of Experimental Zool*. Vol. 267, pp: 318-336.
5. **Benetick, j.; Bleau, M.H. and Waterstar, P.R., 2001.** Biochemical reference range for commercially reared channel cat fish. *J of fish. Biol*. Vol. 49, pp: 108-114.
6. **Capae, C.; Reynaud, C.; Vergne, Y. and Quignard, J., 2008.** Biological observations on the smallspotted catshark *Scyliorhinus canicula* (Chondrichthyes: Scyliorhinidae) off the Languedocian coast (southern France, northern Mediterranean). *Pan-American J of Aqua Sciences*. Vol. 3, pp: 282-289.
7. **Das, P.C.; Ayyappn, S. and Jena, J.K., 2006.** Haematological changes in the three Indian major carps, labeo, catla catla and Cirrhinus mrigala exposed to acidic and alkaline water pH; *Aquaculture*. Vol. 256, pp: 80-87.
8. **Flynn, S.R.; Matsuoka, M.; Reith, M.; Martin, D.J. and Benfey, T.J., 2006.** Gynogenesis and sex determination in shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum* Lesuere. *Aquaculture*. Vol. 253, No. 1-4. pp: 721-727.
9. **Good, J.P., 2005.** The rectal gland and euryhalinity in elasmobranch fish. PhD Thesis, University of St Andrews, St Andrews, Scotland. 130 p.
10. **Hazon, N.; Wells, A.; Pillans, R.D.; Good, J.P.; Gary Anderson, W. and Franklin, C.E., 2003.** Urea based osmoregulation and endocrine control in elasmobranch fish with special reference to euryhalinity. *Comp. Biochem. Physiol., Part B: Biochem. Mol. Biol*. Vol. 136, pp: 685-700.
11. **Kruger, J.C.; Smit, J.L.; Van Vuren, J.H.L. and Ferreira, J.T., 2006.** Some chemical and physical characteristics of the semen of *Cyprinus carpio* L. and *Oreochromis mossambicus* (Peters). *J Fish Biol*. Vol. 24, pp: 263-272.
12. **Mazon, A.F.; Nolan, D.T.; Lock, R.A.C.; Fernandes, M.N. and Wendelaar Bonga, S.E., 2004.** A short-term in vitro gill culture system to study the effects of toxic (copper) and non-toxic (cortisol) stressors on the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Toxicol. In Vitro*. Vol. 18, pp: 691-701.
13. **Morris, A.L., 2010.** The relationship between water chemistry and goiter development in two species of Bamboo sharks, *Chiloscyllium spp*. University of Florida. 25 p.
14. **Musick, J.A.; Harbin, M.M. and Compagno, L.J., 2004.** Historical zoogeography of Selachii. *CRC. Mar. Biol. Ser*. 33 P.
15. **Nakaya, K.; Inoue, S. and Hsuan, C.H., 2013.** A review of the genus *Cephaloscyllium* (Chondrichthyes:

