الگوی الکتروفورتیک پروتئین‌های سرم خون ماهی شیربت (*Barbus grypus*) پرورشی

غلامحسین خواجه[۱]

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۸

خلاصه

به منظور تعیین مقادیر پروتئین تام سرم خون ماهی شیربت (*Barbus grypus*) پرورشی و تعیین اجزاء تشکیل دهنده آن از ۶۸ قطعه ماهی بالغ شیربت پرورشی به ظاهر سالم پرورش یافته در استخرهای خاکی مرکز پرورش آزادگان واقع در حومه شهرستان اهواز شامل ۳۸ قطعه نر و ۳۰ قطعه ماده، از طریق ورید ساقه دمی خون‌گیری به عمل آمد. پس از جداسازی سرم، پروتئین تام سرم خون به روش بیوره (Biuret) و اجزاء تشکیل دهنده پروتئین تام سرم خون به روش الکتروفورز با استفاده از ژل استات سلولز (Cellogell Myl) از هم تفکیک گردیدند. در این مطالعه، میانگین و خطای استاندارد میانگین پروتئین تام سرم خون ماهی شیربت بدون در نظر گرفتن جنس ۶/۳+۰/۹ گرم در دسی‌لیتر به دست آمد. در الکتروفورز پروتئین‌های سرم خون شش بخش پروتئینی شامل: آلبومین، آلفا یک، آلفا دو، بتا، گاما یک و گاما دو تفکیک گردید. آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری بین جنس نر و ماده از نظر میزان پروتئین تام سرم خون نشان نداد، اما میانگین میزان گاما یک و گاما دو در جنس نر به طور معنی‌داری بیشتر از جنس ماده و میانگین میزان آلفا یک در جنس ماده به طور معنی‌داری بیشتر از جنس نر بود ($p<۰/۰۵$).

کلمات کلیدی: خون، پروتئین سرم، الکتروفورز، ماهی شیربت (*Barbus grypus*)

مقدمه

پروتئین‌های سرم خون و اهمیت بالینی آن در انسان و سایر پستانداران از دیرباز تا کنون مورد توجه بوده است، به همین دلیل نیز علاوه بر مطالعه و تعیین مقادیر پروتئین تام خون، تفکیک پروتئین‌های سرم خون به روش‌های مختلف مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفته است. از میان روش‌های مختلف تفکیک پروتئین‌های سرم خون استفاده از تکنیک الکتروفورز با بهره‌گیری از محیط‌های مختلف (استات سلولز، ژل آگارز، ژل پلی‌اکریل‌آمید.....) به طور گسترده‌ای در مطالعه پروتئین‌های سرم خون مورد استفاده می‌باشد. Lepkovsky (۱۹۲۹) یکی از اولین کسانی بود که مطالعه پروتئین‌های سرم خون ماهی را مورد توجه قرار داد و به روش جداسازی پروتئین‌ها به وسیله نمک (Salting out) اقدام به تفکیک پروتئین‌های سرم خون در سه گونه ماهی نمود (۱۲). به دنبال او Moore (۱۹۴۵)، Hess و Smith (۱۹۶۷)، Badawi (۱۹۷۱)، Hattingh (۱۹۷۴)، Harris (۱۹۷۴) و Manera و Britti (۲۰۰۸) و برخی دیگر از محققین اطلاعات بیشتری در رابطه با تفاوت‌ها و شباهت‌های گونه‌های مختلف ماهی از نظر پروتئین‌های سرم خون آشکار نمودند (۱، ۶، ۷، ۸، ۱۳ و ۱۴).

اهمیت پروتئین‌های سرم خون و تغییر مقادیر آنها در شرایط و حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک و اثر تفاوت‌های گونه‌ای (۵، ۱۴ و ۱۸) بر مقادیر آنها ضرورت تعیین میزان پروتئین تام و بخش‌های مختلف پروتئین‌های سرم خون را نمایان می‌سازد. از آنجایی که پروتئین‌های سرم خون برخی گونه‌های باربوس ماهیان که زیستگاه آنها محدود به آب‌های ایران و برخی کشورهای همجوار می‌باشد، کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. لذا مطالعه

[۱] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز E-mail: gh_khadjeh@yahoo.com (نویسنده مسئول)

حاضر با هدف تعیین مقادیر پروتئین تام سرم خون و نیز اجزاء تشکیل دهنده آن در دو جنس نر و ماده ماهی شیربت پرورشی به روش الکتروفورز صورت گرفته است.

مواد و روش کار

الف) تهیه نمونه

تعداد ۶۸ قطعه ماهی شیربت پرورشی از مرکز پرورش ماهی آزادگان واقع در حومه شهرستان اهواز به وسیله تور ماهی‌گیری صید و در محل صید اقدام به خون‌گیری از آنها گردید. صید ماهی در فصل زمستان صورت گرفت و درجه حرارت آب در زمان صید ۱۹/۴ درجه سانتی‌گراد، میزان اکسیژن ۹/۲ میلی‌گرم در لیتر و pH آب ۷/۷ بود.

ب) خون‌گیری

خونگیری از طریق ورید ساقه دمی (Caudal vein) با استفاده از سرنگ و سرسوزن شماره ۲۱ و پس از بیهوش نمودن ماهی با وارد کردن ضربه به سر ماهی صورت می‌گرفت. نمونه‌های خون در لوله‌های آزمایش فاقد ماده ضد انعقاد جمع‌آوری و پس از لخته شدن نمونه، به مدت ۲۰ دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و پس از تفکیک سرم از سلول‌های خون، نمونه‌های سرم در میکروتیوب‌های یک میلی‌لیتری تخلیه و تا زمان انجام آزمایش در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌گردید. تعیین جنسیت ماهیان مورد آزمایش پس از خون‌گیری، به روش ماکروسکوپی، پس از کالبدگشایی ماهی و مشاهده دستگاه تناسلی صورت گرفت. از ۶۸ قطعه ماهی مورد آزمایش تعداد ۳۰ قطعه ماده و ۳۸ قطعه نر بود.

ج) اندازه‌گیری پروتئین‌های سرم خون

پروتئین تام سرم خون به روش استاندارد بیوره (۱۱) با استفاده از کیت آزمایشگاهی زیست شیمی ساخت ایران و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Bousch & Lamb) مدل ۷۰ ساخت کشور بلژیک در طول موج ۵۴۰ نانومتر تعیین مقدار گردید. برای تفکیک پروتئین‌های سرم خون از روش الکتروفورز با استفاده از محیط سلوژل میل و بافر تریس هیپورات با pH برابر ۸/۸ هر دو تولید کشور ایتالیا (Malta Chemetron) و تانک الکتروفورز ساخت شرکت اختریان ایران و پاور ساپلای ساخت شرکت مهندسی پزشکی پایا پژوهش پارس صورت گرفت. مدت زمان انجام الکتروفورز ۳۵ دقیقه و ولتاژ مورد استفاده ۸۰ ولت بود. رنگ‌آمیزی نمونه‌ها با استفاده از رنگ پونسه‌آاس و مدت زمان آن ۶ دقیقه بود. تعیین میزان بخش‌های پروتئینی به درصد و گرم درصد با استفاده از اسکنر و نرم‌افزار Photo-EP صورت گرفت.

آنالیز آماری

آنالیز آماری شامل محاسبه میانگین پروتئین تام و بخش‌های تفکیکی آن با حدود اطمینان ۹۵ درصد در هر دو جنس به طور جداگانه و در کل (بدون در نظر گرفتن جنس) با استفاده برنامه نرم‌افزاری SPSS نسخه ۱۱/۵ انجام گرفت و برای مقایسه پارامترهای مشابه در دو جنس نر و ماده از آزمون t استفاده گردید.

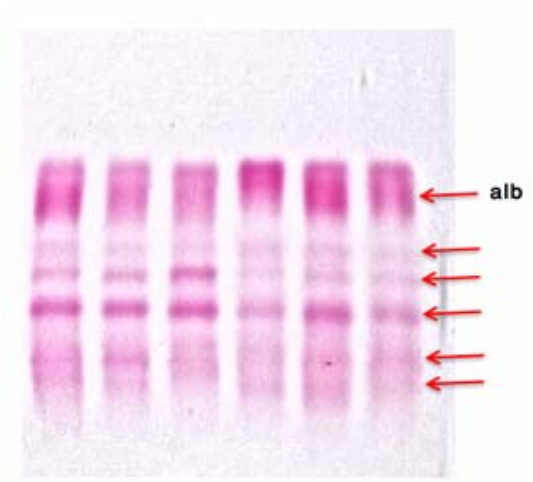
نتایج

نتایج حاصل از مطالعه پروتئین‌های سرم خون ماهی شیربت پرورشی شامل میانگین پروتئین تام، میانگین بخش‌های پروتئینی تفکیک شده در الکتروفورز و نسبت آلبومین به گلوبولین در جنس نر، ماده و در کل (بدون در نظر گرفتن جنس) در جدول ۱ و نمونه الکتروفورتوگرام پروتئین‌های سرم خون و تصویر ژل حاوی پروتئین‌های تفکیک شده به ترتیب در تصاویر ۱ و ۲ نشان داده شده است.

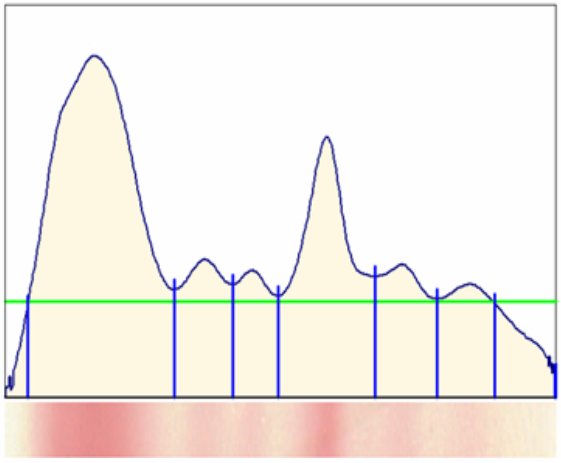
جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار (Mean±SD) پروتئین‌های سرم خون ماهی شیربت پرورشی (Barbus grypus)

پارامترها / گروه‌ها		نر	ماده	میانگین نر و ماده	محدوده مقادیر طبیعی *	P.value
پروتئین تام (g/dl)		۶/۶±۰/۸	۶/۲±۰/۹	۶/۳±۰/۹	۶-۶/۷	۰/۲۹۴
آلبومین	g/dl	۳/۲±۰/۵	۳/۴±۰/۷	۳/۳±۰/۶	۳-۳/۶	۰/۳۹۷
	درصد	۵۱/۶±۵/۱	۵۴/۷±۶/۷			
آلفا یک گلوبولین	g/dl	۰/۱۹±۰/۰۸	۰/۳۴±۰/۲	۰/۳±۰/۲	۰/۲-۰/۴	۰/۰۴۲
	درصد	۳/۰±۱/۴	۵/۴±۲/۵			
آلفا دو گلوبولین	g/dl	۰/۴±۰/۲	۰/۴±۰/۱	۰/۴±۰/۲	۰/۳±۰/۵	۰/۳۴۰
	درصد	۵/۴±۱/۹	۶/۸±۱/۵			
بتا گلوبولین	g/dl	۱/۱±۰/۳	۱/۲±۰/۱	۱/۲±۰/۲	۱/۰±۱/۳	۰/۲۱۷
	درصد	۱۷/۱±۴/۲	۱۹/۸±۲/۶			
گاما یک گلوبولین	g/dl	۰/۸۵±۰/۴	۰/۵±۰/۳	۰/۶±۰/۴	۰/۵±۰/۸	۰/۰۳۵
	درصد	۱۴/۲±۶/۱	۸/۸±۵/۲			
گاما دو گلوبولین	g/dl	۰/۵۳±۰/۲	۰/۳±۰/۳	۰/۴±۰/۳	۰/۳±۰/۵	۰/۰۴۵
	درصد	۸/۴±۳/۴	۵/۰±۴/۱			
A/G		۱/۳±۰/۳	۱/۴±۰/۴	۱/۴±۰/۳	۱/۲±۱/۵	۰/۶۶۲

* با حدود اطمینان ۹۵٪



تصویر ۱: تفکیک پروتئین‌های سرم خون ماهی شیربت (Barbus grypus) پرورشی به روش الکتروفورز روی استات سلولز.



تصویر ۲: الکتروفورتوگرام پروتئین‌های سرم خون ماهی شیربت پرورشی (Barbus grypus).

در این مطالعه میانگین میزان پروتئین تام سرم خون ماهی شیربت پرورشی در جنس نر و ماده بدون وجود اختلاف معنی‌دار به ترتیب ۸/ ±۶/۶ و ۰/۹ ±۶/۲ گرم در دسی‌لیتر و میانگین کل پروتئین تام (بدون توجه به جنس) ۰/۹ ±۶/۳ گرم در دسی‌لیتر با حدود اطمینان ۶ تا ۶/۷ گرم در دسی‌لیتر به دست آمد (جدول ۱).

نتایج حاصل از الکتروفورز پروتئین تام سرم خون ماهی شیربت پرورشی منجر به تفکیک شش بخش پروتئینی شامل: آلبومین، آلفا یک، آلفا دو، بتا، گاما یک و گاما دو گردید. در میان پروتئین‌های تفکیک شده، آلبومین که سریع‌ترین حرکت را در میدان الکتریکی داشته است دارای بیشترین مقدار و آلفا یک دارای کمترین مقدار می‌باشد (جدول و تصویر ۱). نسبت آلبومین به گلوبولین بدون وجود اختلاف معنی‌دار در جنس نر ۱/۳ و در جنس ماده ۱/۴ و در کل (بدون توجه به جنس) ۱/۴ با حدود اطمینان ۱/۲ تا ۱/۵ می‌باشد (جدول ۱).

مقایسه بخش‌های پروتئینی تفکیک شده در دو جنس نر و ماده نشان می‌دهد که گاما یک و گاما دو در جنس نر در مقایسه با جنس ماده به طور معنی‌داری بالاتر می‌باشد و میانگین میزان آلفا یک در جنس ماده به طور معنی‌داری بالاتر از جنس نر می‌باشد ($p<۰/۰۵$). سایر بخش‌های پروتئینی و پروتئین تام سرم اختلاف معنی‌داری را در دو جنس نشان ندادند (جدول ۱).

بحث

در مطالعه حاضر با استفاده از تکنیک الکتروفورز الگوی الکتروفورتیک پروتئین‌های سرم خون ماهی شیربت با استفاده از محیط استات سلولز تعیین گردید. در این مطالعه که به نظر می‌رسد برای اولین بار در ایران روی ماهی شیربت صورت می‌گیرد، شش بخش پروتئینی در هر دو جنس نر و ماده تفکیک گردید. هر چند در این مطالعه تفاوتی از نظر تعداد بخش‌های تفکیکی در دو جنس نر و ماده مشاهده نگردید، اما تفاوت‌های معنی‌داری در مقادیر برخی از بخش‌های تفکیکی در دو جنس نر و ماده به دست آمد (جدول ۱) که با نتایج به دست آمده توسط Das (۱۹۶۱)، Nakagava و همکاران (۱۹۷۶)، Nakagava و همکاران (۱۹۷۷) و Manera و Britti (۲۰۰۸) در گونه‌های دیگر از نظر تعداد بخش‌های پروتئینی تفکیک شده قرابت و همخوانی دارد، اما از نظر میزان پروتئین تام با مقادیر گزارش شده توسط محققین مذکور همخوانی نداشته و از میزان بالاتری برخوردار می‌باشد (۴، ۱۳، ۱۵ و ۱۶).

Das (۱۹۶۱) پارامترهای بیوشیمیایی خون از جمله پروتئین تام و بخش‌های پروتئینی پلاسمای خون سه گونه ماهی کپور هندی (*Catla Catla ,Cirrhina,Labeo rohita*) را به روش الکتروفورز مورد مطالعه و ضمن جداسازی شش بخش پروتئینی تحت عنوان پره‌آلبومین، آلبومین، α_1، α_2، β و γ گلوبولین تفاوت معنی‌دار بین مقادیر α_1، α_2، β و γ گلوبولین را در سه گونه مذکور گزارش نموده است (۴).

Nakagava و همکاران (۱۹۷۶) میانگین میزان پروتئین تام و آلبومین پلاسمای خون ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) را به ترتیب ۲/۶۲ و ۱/۱۷ گرم در دسی‌لیتر و در تفکیک پروتئین‌های سرم خون به روش الکتروفوزاستات سلولز ۶ بخش پروتئینی با مقادیر ۴/۶، ۳۴/۶، ۱۵/۴، ۱۲/۷، ۲۱ و ۱۱/۷ درصد به ترتیب حرکت در میدان الکتروفورزی و نسبت آلبومین به گلوبولین را برابر ۰/۶۴ گزارش نموده‌اند (۱۵).

Nakagava و همکاران (۱۹۷۷) شش بخش پروتئینی را در تفکیک پروتئین‌های پلاسمای خون ماهی دم زرد پرورشی (seriola quinqueradiata) به روش الکتروفورز سلولز گزارش کرده‌اند و میانگین هر یک از بخش‌های تفکیکی را به ترتیب سرعت حرکت در میدان الکتروفورزی ۲/۵±۵/۷، ۴/۵±۲۵/۹، ۵/۱±۲۵/۲، ۳/۳±۱۲/۶، ۲±۴/۷ درصد و میانگین میزان پروتئین تام پلاسما را در گونه یاد شده ۱/۰۹±۴/۹۳ گرم در دسی‌لیتر ذکر نموده‌اند (۱۶).

Manera و Britti (۲۰۰۸) در تفکیک پروتئین‌های سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به روش الکتروفورز به کمک استات سلولز حداکثر ۶ و حداقل ۴ بخش پروتئینی را جدا سازی نموده‌اند. بر اساس آنچه که توسط محققین فوق‌الذکر گزارش گردیده است پروتئین تام سرم خون ۱۲ درصد ماهیان قزل آلای مورد مطالعه از ۶ بخش پروتئینی،۷۲ درصد از ۵ بخش و ۱۶ درصد از ۴ بخش پروتیئنی تشکیل گردیده‌اند (۱۳)، که با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر تفاوت‌ها و شباهت‌هایی دارد.

Jondeung و Nakorn (۱۹۸۶) دو گونه *Clarias batrachus* و *C.macrocephalus* را به روش الکتروفوز با استفاده از سدیم دو دوسیل سولفات پلی‌اکریل‌آمید ژل (SDS –polyacrylamidegel) ده درصد تفکیک و دو الگوی متفاوت الکتروفورتیکی برای هر گونه گزارش نموده‌اند (۱۰). بر اساس آنچه که محققین مذکور گزارش نموده‌اند پروتئین‌های سرم خون گونه، *C.batrachus* از ۱۱ باند و پروتئین‌های سرم خون گونه *C.macrocephalus* از ۹ باند پروتئینی تشکیل گردیده است ضمن اینکه الگوی الکتروفورتیکی پروتئین‌های دو گونه مذکور در دو جنس نر و ماده نیز دارای تفاوت‌هایی بوده‌اند که این تفاوت‌ها به عنوان کلید تعیین جنسیت مورد شناسایی و تائید قرار گرفته‌اند.

Yilmaz و همکاران (۲۰۰۷) در تفکیک پروتئین‌های سرم خون گونه‌های *Leuciscus cephalus*، *Acanthobrama marmid* و *Chondrostoma regium* از خانواده (*Cyprinidae*) به روش الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید (SDS-PAGE) و (Native-PAGE) تفاوت‌ها و شباهت‌هایی را در بین سه گونه‌ماهی مورد مطالعه از نظر تعداد بخش‌های پروتئینی و نیز وزن مولکولی پروتئین‌های تفکیکی گزارش نموده‌اند. محققین مذکور در روش Native–PAGE در سه گونه *L.cephalus*، *A.marmid* و *C.regium* به ترتیب ۵، ۸، ۷ بخش پروتئینی و در روش SDS-PAGE در سه گونه فوق به ترتیب ۱۳،۱۱،۱۱ بخش پروتئینی را تفکیک و جداسازی نموده‌اند (۲۱).

Yilmaz و Ayaz (۲۰۰۵) در الکتروفورز پروتئین‌های سرم خون گونه‌های *Carassius carassius* و *Capoeta capoeta capoeta* از خانواده *Cyprinidae*, و گونه *Siluris glanis* از خانواده *Siluridae* به روش الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید (SDS-PAGE) تفاوت‌ها و شباهت‌هایی را از نظر تعداد بخش‌های پروتئینی تفکیک شده و همچنین وزن مولکولی پروتئین‌های جدا شده آشکار نمود. محققین مذکور در مطالعه خود ۸ بخش پروتئینی را در گونه‌های *Capoeta capoeta capoeta* و *Siluris glanis* و ۱۰ بخش پروتئینی را در گونه *Carassius carassius* جداسازی و گزارش کرده‌اند (۲۰).

Beelen و همکاران (۱۹۹۸) ضمن گزارش دامنه تغییرات پروتئین تام پلاسمای خون گربه ماهی برزیلی (*Pseudoplatystoma corruscans*) از ۰/۷۴ تا ۱/۵ گرم در دسی‌لیتر و در الکتروفورز پروتئین‌های پلاسمای خون به روش استات سلولز پنج بخش پروتئینی را تفکیک و گزارش کرده‌اند (۲).

Sabri و همکاران (۲۰۰۹) میزان طبیعی پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین خون ماهی گونه *Clarias gariepinus* را به ترتیب ۵/۳۱ ، ۳/۹۳ و ۱/۳۸ گرم در دسی‌لیتر و نسبت آلبومین به گلوبولین را ۲/۲۶ ذکر نموده‌اند (۱۸).

Jara و Szerow (۱۹۸۱) پروتئین‌های سرم خون ماهی کپور را به روش الکتروفورز با استفاده از کاغذ صافی تفکیک و چهار بخش پروتئینی آلبومین، آلفا، بتا و گاما گلوبولین را گزارش و میانگین میزان پروتئین تام، آلبومین، آلفا، بتا و گاما گلبولین‌های سرم خون را به ترتیب ۲/۳۶، ۱/۲۴، ۰/۴۸ و ۰/۴ گرم در دسی‌لیتر و نسبت آلبومین به گلوبولین را ۱/۱ گزارش نموده‌اند (۹).

Steinbagen و همکاران (۱۹۹۷) پروتئین‌های سرم خون ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) را به روش استات سلولز مورد مطالعه و سه بخش پروتئینی را در تفکیک پروتئین‌های سرم خون گزارش کرده‌اند (۱۹).

Cowan (۱۹۷۱) تغییرات پروتئین‌های سرم خون را در مراحل مختلف رشد ماهی Bull shark (*Carcharhinus leucas*) مورد مطالعه و میانگین میزان پروتئین تام را در ماهیانی که کمتر از ۱۰۰ سانتی‌متر طول دارند برابر ۱/۹۲ گرم در دسی‌لیتر و در ماهیانی که بیش از ۱۰۰ سانتی‌متر طول دارند ۲/۹۹ گرم در دسی‌لیتر گزارش نموده است (۳).

Rehulka (۱۹۹۳) ضمن تعیین میزان پروتئین تام، آلبومین و نسبت آلبومین به گلوبولین ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) شش بخش پروتئینی را در الکتروفورز پروتئین‌های سرم خون شامل آلبومین، بتا گلوبولین (با سه زیر بخش) و گاما گلوبولین (با دو زیر بخش) تفکیک و گزارش نموده است (۱۷).

بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعات صورت گرفته توسط سایر محققین و همین طور نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر، می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که عوامل متعددی از جمله سن، جنس، شرایط محیطی، مراحل رشد و از همه مهمتر گونه از عوامل تاثیرگذار بر میزان پروتئین تام و همین طور تعداد و مقادیر بخش‌های پروتئینی سرم خون در آبزیان می‌باشد. بنابراین نمی‌توان الگوی الکتروفورتیک واحدی را برای همه گونه‌ها تعریف و در نظر گرفت و لازم است الگوی الکتروفورتیک پروتئین‌های سرم خون هر گونه جداگانه تعیین و ارائه گردد.

منابع

1- Badawi H.K. (1971). Electrophoretic studies of serum proteins of four Tilapia species (Pisces). Marine Biology, 8: 96-98.

2- Beelen R., Heijden T.V.D., Booms R., Verdegem M. and Pavanelli G.C. (1998). Blood values of young Brazilian catfish *Pseudoplatystoma Corruscans* (Agassiz, 1829). Acta Scientiarum, 20 (2): 147-150.

3- Cowan C.M. (1971). Serum protein variation in the Bull shark, *Carcharhinus leucas* mullel and henle, 1841. International Journal of Biochemistry, 2, 691-696.

4- Das B.C. (1961). Comparative study of the blood biochemistry of three species of Indian carp. Transactions of the American Fisheries Society, 90, 1-5.

5- Georgiev G.S. and Kamenov I. (1980). Serum proteins of rainbow trout in viral hemorrhagic septicemia. Veterinary Medicine Nauki, 17(1): 52-57.

6- Harris J.E. (1974). Electrophoretic patterns of blood serum proteins of the cyprinid fish, *Leuciscus leuciscus* (L.). Comparative Biochemistry and Physiology, 48(3): 389-399.

7- Hattingh J. (1974). The plasma proteins of *Lebeo umbratus* (Smith) and *Lebeo capensis* (Smith). Journal of Fish Biology, 6: 439-446.

8- Hess P.W. and Smith R.A. (1967). Electrophoresis of elasmobranch serum proteins with cellulose acetate. Transactions of the American Fisheries Society, 96: 131-133.

9- Jara Z. and Szerow D. (1981). Electrophoretic examination of the serum of carps (*Syprinus carpio L.*) infected with the tapeworm Caryophyllaeus sp. Wiadomosci Parazytologiczne, 27 (6): 713-716.

10- Jondeung A. and Nakorn U.N. (1986). Analysis of serum proteins of *Clarias batrachus* (Linnaeus) and *C. macrocephalus* (Gunther) by electrophoresis. Kasetsart J. (Nat. Sci.), 20: (1) 108-111.

11- Lawrence M.S. (1986). Amino acids and proteins. In: Textbook of Clinical Chemistry. Tiezt, N.W. (editor) WB Sounders Company, US. PP: 519-618.

12- Lepkovsky S. (1929). The distribution of serum and plasma proteins in fish. The Journal of Biological Chemistry, 667-673.

13- Manera M. and Britti D. (2008). Assessment of serum protein fractions in rainbow trout using automated electrophoresis and densitometry. Veterinary Clinical Pathology, 37 (4): 452-456.

14- Moore D.H. (1945). Species differences. in serum protein patterns. Journal of Biological Chemistry, 6: 21-32.

15- Nakagava H., Kayama M. and Asakawa S. (1976). Biochemical studies on carp plasma protein-I. Isolation and nature of an albumin. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 42 (6): 677-685.

16- Nakagawa H., Nanba K., Kayama M. and Murachi S. (1977). Electrophoretic properties of plasma protein relating to some blood properties in cultured yellow tilapia. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 43 (1): 75-81.

17- Rehulka J. (1993). Erythrodermatitis of carp, *Cyprinus carpio (L)*: An electrophoretic study of blood serum protein fraction levels. Acta Veterinary Brno, 60: 187-197.

18- Sabri D.M., Danasoury M.M., Eissa I.A.M. and Khouraiba H.M. (2009). Alteration in serum protein fractions and Na- K ATpase activity in *Clarias gariepinus* infected with henneguyosis in Ismailia Egypt. African Journal of Aquatic Science, 34(1): 103-107.

19- Steinbagen D., Oesterreich B. and Korting W. (1997). Carp coccidiosis: Clinical and hematological observations of carp infected with *Goussia carpelli*. Diseases of Aquatic Organisms, 30: 137-143.

20- Yilmaz M. and Ayaz N. (2005). A taxonomic study on *Carassius carassius*, *Capoeta capoeta* capoeta and *Siluris glanis* by serum protein electrophoresis. Bu Bildiri USG, Trabzonda sunuldu, 784-787.

21- Yilmaz M., Yilmaz H.R. and Alas A. (2007). An electrophoretic taxonomic study on serum proteins of *Acanthobramr marmid, Leuciscus cephalus*, and *Chondrostoma regium*. Eurasian Journal of Biology Sciences, 3: 22-27.