بررسی میزان تجمع روی و مس در بافت عضله و خاویار تاسماهی ایرانی (*A. persicus*) و ازون برون (*A. stellatus*) حوضه جنوبی دریای خزر

• **مرجان صادقی راد**، انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، بخش اکولوژی،
• **غلامرضا امینی رنجبر**، عضو هیات علمی‌دانشگاه و وزارت جهاد کشاورزی
• **عما ارشد**، انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری
• **هاشم جوشیده**، انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری

تاریخ دریافت: تیر ماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: دی ماه ۱۳۸۲

چکیده

اندازه‌گیری فلزات سنگین روی و مس در بافت ماهیچه و خاویار دو گونه تاسماهی ایرانی (*A. persicus*) و ازون برون (*A. stellatus*) حوضه جنوبی دریای خزر (از بندر آستارا تا بندر ترکمن) در ۵ ناحیه شیلاتی شمال ایران انجام شد. تعداد نمونه‌های مورد بررسی شامل ۱۳۹ عدد ماهی ازون برون و ۱۰۳ عدد تاسماهی ایرانی بوده است . که از ۱۸ صیدگاه مستقر در ۵ ناحیه شیلات در فصول صید سال‌های ۱۳۷۷ و ۱۳۷۸ جمع آوری شد.تجزیه شیمیایی نمونه‌ها به روش هضم تر (MOOPAM ۱۹۸۹,۱۹۸۳) انجام شد، از دستگاه طیف سنجی جذب اتمی‌با سیستم شعله جهت اندازه گیری فلزات مورد نظر استفاده شد. میانگین سن ماهیان مورد تجزیه قرار گرفته در قره برون ۲/۶±۱۷ و ازون برون ۱/۸±۱۱/۹ سال بوده است . میانگین فلز روی و مس در بافت عضله تاسماهی ایرانی و ازون برون در کل پنج منطقه شیلاتی به ترتیب µg/g ۸/۵ ± ۲۶/۹، ۰/۷ ± ۱/۸ وزن خشک µg/g ۶/۹۶ ± ۴۷/۴، ۰/۵۳ ± ۱/۴۶ وزن خشک به دست آمده است . همچنین میانگین مقادیراین فلزات (روی و مس) در خاویار این گونه‌ها به ترتیب برای تماس ماهی ایرانی µg/g ۱۶/۷ ± ۶۵/۹، ۱/۰۷ ± ۴/۲ وزن خشک و ازون برون µg/g ۱۰/۵۸ ± ۵۷ /۸، ۱/۱۵ ± ۴/۸۵ وزن خشک بوده است.

کلمات کلیدی : دریای خزر، تاسماهی ایرانی، ازون برون، بافت عضله، خاویار،روی، مس

Pajouhesh & Sazandegi No 61 pp: 51-55

Determination of Zn and Cu in muscle tissue and caviar in Persian sturgeon (*A. persicus*) and stellate (*A. Stellatus*) in The Caspian sea basin.

By: M. Sadeghi Rad, International Sturgeon Research Institute Ecology, Department. Amini Ranjbar Gh. Jihade Agricultural Ministry, U. Arshad and H. Jooshideh International Sturgeon Research Institute Ecology.

The concentrations of heavy metals zinc (Zn) and copper (Cu) were determined in muscle tissue and caviar in two sturgeon species *A. persicus and A. stellatus* caught in the five fishery zones in the southern Caspian Sea basin (extending from Astara Port to the Torkman Port). The samples studied included 139. *A. stellatus* specimens and 103 *A. persicus* specimens that were caught during the catch seasons in 1998 and 1999 from the 18 catch stations located in the five fishery zones. Specimens for chemical analysis were digested using the wet method (13, 14) and the concentrations of heavy metals were determined using Atomic Absorption Spectrophotometer (flame method). The mean age recorded for fishes studied was 17.6±2.6 years in *A. persicus* and 11.9±1.8 years in *A. stellatus*. The mean concentrations of Zn and Cu in muscle tissue inthe five fishery zones were 26.98.5µg/g and 1.8±0.7µg/g dry weight, respectively in *A. persicus* and 47.4±6.96µg/g, 1.46±0.53µg/g, respectively in *A. stellatus*. Themean concentrations of Zn and Cu in caviar speciemes studied were 65.9±16.7 µg/g and 4.2±1.07µg/g dry weight, respectively in *A. persicus* and 57.8±10.57µg/g and 4.85±1.15µg/g dry weight, respectively in *A. stellatus*.

Key word: Caspian sea, *A. Stellatus*, *A. Persicus*, Muscle tissue, Caviar, Zn, Cu

مقدمه

امروزه تحقیقات در خصوص جذب فلزات سنگین در موجودات دریایی به دلیل افزایش روز افزون این فلزات در اثر فعالیت‌های انسانی و سرازیر شدن آن به محیط‌های آبی تشدید شده است . این سوال که چه مقدار از غلظت این فلزات به اکوسیستم آسیب وارد می‌نماید، مورد تحقیق محافل علمی‌است و در این موارد هر گونه افزایش بیش ازغلظت‌های طبیعی اثرات مخرب خود را داشته است. فلزات سنگین با توجه به نقشی که در روندهای بیولوژیکی دارند به عنوان میکرونوترینتها (آهن، روی، مس، کبالت و...) و یا یک عامل سمی‌و غیر ضروری (جیوه، کادمیم،سرب) مورد توجه می‌باشند. بعضی از فلزات همچون روی و مس بر اساس غلظت‌های موجود در طبیعت می‌توانند نقش محرک یا بازدارنده را در روندهای بیولوژیکی ایفا نمایند (۳). این فلزات ازجمله عناصر ضروری واکنش‌های بیولوژیک می‌باشند و به صورت هوموستاتیک (*HomostatIcally*) تنظیم می‌شوند. غلظت‌های این عناصر در بافت‌های یکسان از گونه‌های متفاوت می‌تواند تغییرات زیادی داشته باشد. درمحیط‌های غیر آلوده عناصر ضروری همواره مقادیر بیشتری را نسبت به عناصر غیر ضروری در بافت موجودات نشان می‌دهند(۱۷).

ماهیان خاویاری دریای خزر از جمله موجوداتی می‌باشند که شدیداً تحت تأثیر عواملی همچون آلودگی و تخریب زیستگاه‌های طبیعی و صید بی‌رویه قرار دارند. این گونه‌ها از گرانبهاترین گونه‌های اقتصادی هستند که مشکل حفاظت از آنها از طرق مختلف تحت پیگیری است. بررسی غلظت فلزات سنگین روی و مس در دو گونه تاسماهی ایرانی و ازون برون حوضه جنوبی دریای خزر با هدف به‌دست آوردن مقادیر این فلزات در بافت ماهیچه و خاویار این دوگونه که بر اساس آمار سال ۱۳۷۸ جزو ماهیانی می‌باشند که در درجه اول و دوم اهمیت از نظر گوشت و خاویار قراردارند، انجام شد. عمده صید را ماهی قره برون با ۴۷/۴٪ استحصال گوشت، ۵۰/۱٪ استحصال خاویار و ازون برون به ترتیب با ۳۷/۵٪ درصد استحصال گوشت و ۳۱٪ استحصال خاویار تشکیل می‌دهند (۱).

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

ایستگاه‌های نمونه برداری در سواحل جنوبی دریای خزر از آستارا تا بندر ترکمن در ۱۸ صیدگاه واقع در ۵ ناحیه شیلاتی جنوب دریای خزر که سه استان گیلان، مازندران و گلستان را در بر می‌گیرد انتخاب شدند(شکل ۱).

ماهیان خاویاری در فصول صید نواحی فوق که توسط شیلات تعیین می‌گردد، از طریق دام‌های گوشگیر صید می‌شوند و جهت استحصال خاویار و گوشت به صید گاه آورده می‌شوند. در صیدگاه‌های انتخاب شده پس از بیومتری ماهیان، نمونه برداری از جنس ماده به صورت تکه برداری از بافت عضله و خاویار انجام شد و از اولین شعاع سخت باله سینه ای جهت تعیین سن نمونه برداری شد و نمونه‌ها تا قبل از تجزیه شیمیایی (هضم) دردمای ۱۷- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

هضم نمونه‌ها

در این بررسی از روش هضم تر سیستم باز (۱۳، ۱۴) برای آماده سازی نمونه‌ها جهت مراحل بعدی استفاده شد.

تجزیه دستگاهی

غلظت فلزات در نمونه‌های هضم شده با استفاده از دستگاه طیف سنجی جذب اتمی‌با شعله اندازه گیری شد. در این روش از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی(با سیستم شعله) مدل SHIMADZU Aa-۶۸۰ استفاده شد .

تجزیه تحلیل آماری

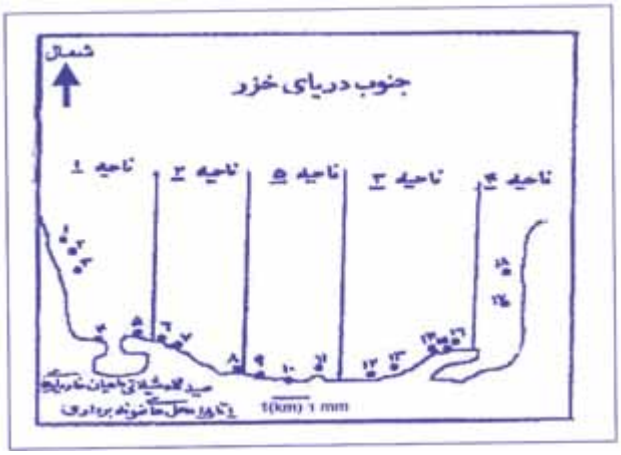
جهت تجزیه آماری داده‌های به‌دست آمده در این بررسی از نرم افزار آماری SAS (۱۶) و جهت رسم نمودارها نیز از نرم افزار Exell استفاده شده است.

نتایج

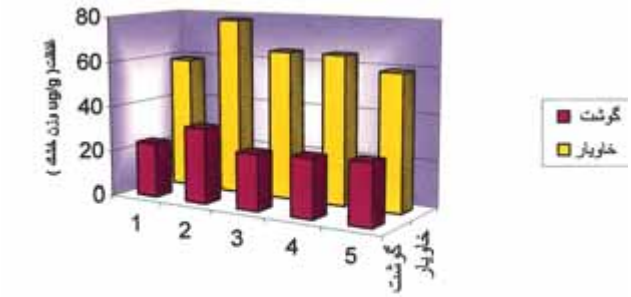
تعداد کل تاس ماهی ایرانی (قره برون) بررسی شده از ۵ منطقه شیلاتی ۱۰۳ عدد بوده است (۲۰ عدد ناحیه ۱، ۲۶عدد ناحیه ۲، ۱۶ عدد ناحیه ۳، ۲۸ عدد ناحیه ۴، ۱۲ عدد ناحیه ۵). میانگین سن ماهیان مورد بررسی ۶/۱۷±۲/۶سال به‌دست آمده است . تعداد کل نمونه‌های ازون برون از ۵ منطقه برابر ۱۳۹ عدد بوده است (۲۵ عددناحیه ۱، ۳۲عددناحیه ۲، ۲۵ عدد ناحیه ۳، ۲۸ عددناحیه ۴ و ۲۸ عدد ناحیه ۵) میانگین سن این ماهیان ۱۱/ ۹±۱/۸ سال به‌دست آمده است . حداقل، حداکثر و میانگین فلزات روی و مس در بافت عضله (گوشت) و خاویار تاسماهی ایرانی وازون برون در کل مناطق پنج گانه در جدول ۱ آورده شده است .

نمودارهای ۱ تا ۴ به ترتیب میانگین مقادیر روی و مس را در گوشت و خاویار تاسماهی ایرانی و ازون برون در نواحی پنج گانه شیلات شمال نشان می‌دهد.

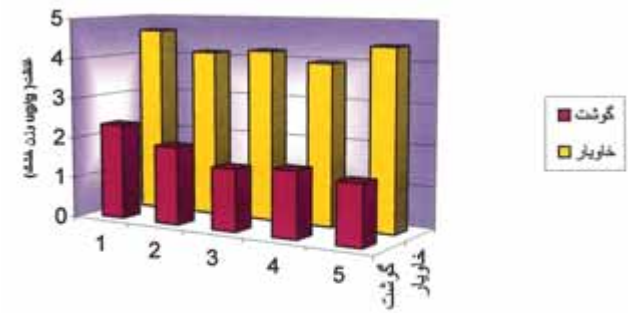
تجزیه واریانس متغیرهای مختلف تاسماهی ایرانی در مناطق صید پنجگانه نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار درسطح کمتر از ۱ درصد ($p>0/01$)



شکل (۱) ایستگاه‌های نمونه‌برداری



نمودار شماره ۱ - میانگین فلز روی در گوشت و خاویار تاسماهی ایرانی در نواحی پنجگانه شیلات شمال سال (۷۸-۱۳۷۷)



نمودار شماره ۲- میانگین فلز مس د رگوشت و خاویار تاسماهی ایرانی نواحی پنجگانه شیلات شمال (۷۸-۱۳۷۷)

بین میانگین‌های فلز مس در بافت ماهیچه مناطق مختلف شـیلاتی می‌باشد. منطقه یک شیلاتی با میانگین ۲/۲۳ µg/g وزن خشک، تفاوت معنی داری با میانگین‌های مناطق ۲، ۳،۴،۵ به ترتیب با مقادیر ۱/۹ µg/g، ۱/۵، ۱/۶، ۱/۴۶ وزن خشک داشته است.

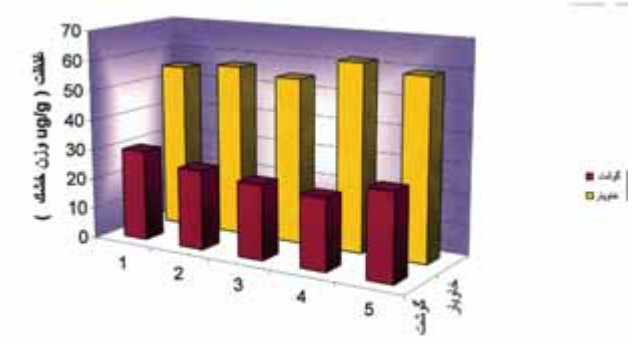
همچنیـن میانگین غلظـت روی در منطقه ۲ با مقـدار ۳۲/۸ µg/g وزن خشک تفاوت معنی دار در سطح ۲/۳۳ µg/g (p =۰/۰۵) با میانگین غلظـت این فلز در بافت ماهیچـه مناطق ۱و ۳و ۴ (به ترتیب ۲۳/۶ µg/g، ۲۴/۳، ۲۵/۳ وزن خشـک) نشـان می‌دهد. در مورد خاویار نیز این تفاوت برای منطقه ۲ به دسـت آمده اسـت (میانگین ۷۷/۹ µg/g وزن خشک). تجزیه واریانس متغیرهای مختلف ازون برون نشان دهنده تفاوت معنی دار بین میانگین‌های فلز روی در بافت ماهیچه درمناطق مختلف می‌باشـد. دو منطقه ۲ و ۳ شیلاتی با میانگین‌های ۲۶/۱ و ۲۴/۵ دارای تفاوت معنی دار در سطح ٪(p= ۰/۰۵) با سایر مناطق می‌باشد.

بحث

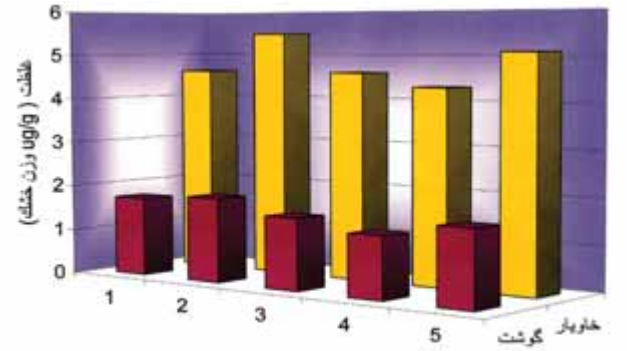
در بررسی حاضر مقادیر روی و مس در بافت عضله ماهیان قره برون در مناطق پنج گانه شیلاتی طبق مقادیر آورده شده در نتایج و نمودارهای ۱ تا ۴ می‌باشـد. همانطوریکه مشاهده می‌شود، میانگین غلظت‌های روی و مس در خاویار بیشـتراز مقادیر میانگین در بافت عضله بوده اسـت. غلظت‌های روی و مـس در یک اندام می‌تواند نشـانگر نیازهای فزاینـده موجود زنده باشد(۱۹).

Sergeeva سطوح قابل مقایسه‌ای از فلزات روی و مس را در ماهیچه تاس ماهی شرح داده است(۱۶). در این بررسی مقادیر روی و مس در بافت ماهیچه تاس ماهیان در دو رژیم غذایی مختلف به ترتیب µg/g ۲۴/۶، ۲/۴ و µg/g ۳۱/۹، ۲/۶ به‌دست آمده است. بالاترین میزان روی و مس و منگنز در سـتون فقرات یافت شده اسـت . در این بررسی ثابت شده است که ارتباط نزدیکی بین مقادیر روی و مس در اسـتخوان مهره و مقادیر این فلزات در رژیم غذایی مورد اسـتفاده قرار گرفته برای بچه ماهیان وجود دارد. میزان پائین مس در یک رژیم غذایی باعث انتقال مس از مهره به ماهیچه می‌شود. تا نیاز ماهیچه به مس تامین شـود. اطلاعات به دسـت آمده از این بررسی مؤید این نظریه اسـت که محـل تجمع مواد معدنـی در ماهیان خاویاری ستون فقرات می‌باشد(۱۶).

در بعضی از بررسـی‌ها چنین به‌دسـت آمده اسـت که تجمـع فلزات روی و مس در کلیه در مقایسـه با بافت عضله بیشـتر بوده و این مسئله به حضـور پروتئین‌های با وزن مولکولی پاییـن (Metal lothionein) در این بافت‌ها که فلزات سنگین را محبوس می‌کنند، مرتبط می‌باشد. فلزات روی و مس می‌توانند در محل‌هایی ذخیره شـوند به بافت‌های دیگر انتقال داده شـوند. یا اینکه مجدداً در گردش در آیند تـا در چرخه‌های حیاتی متعدد وارد واکنش شـوند (۲). در آزمایشات انجام شـده روی خاویار از گونه‌های مختلف تاس‌ماهیان صید شـده از کشورهای مختلف مقادیر روی و مس از گونه‌های با منشـا ایرانی به ترتیب در فیل ماهی (*H. huso*) ۱/۴۱ وزن‌تر،



نمودار شماره ۳- میانگین فلز روی در گوشت و خاویار ماهی ازون برون نواحی پنجگانه شیلات شمال (۷۸-۱۳۷۷)



نمودار شماره ۴ - میانگین فلز مس در گوشت و خاویار ماهی ازون برون نواحی پنجگانه شیلات شمال (۷۸ - ۱۳۷۸)

چالباش(*A. guldenstaedti*) µg/g ۱۳و ۱/۵۷ وزن‌تر و ازون برون (*A. stellatus*) µg/g ۱۱/۱۴۴ و ۱/۳وزن تربه‌دست آمده است(۱۹).

در بررسی حاضر میانگین غلظت فلز روی در بافت ماهیچه در نواحی مختلف شیلاتی در دو گونه قره برون و ازون برون اختلاف معنی دار را نشان نمی‌دهد (p=۰/۰۵) ولیکن غلظت فلز روی در خاویار این دو گونه تفاوت معنی داری را برای دو ناحیه ۳ و ۵ با نواحی دیگر نشان می‌دهد. همچنین در خصوص فلز مس تفاوت معنی داری بین میانگین غلظت این فلز در بافت ماهیچه این دو گونه در نواحی ۱ و ۲ شیلاتی با سه ناحیه دیگر وجود دارد. این تفاوت معنی دار همچنین در غلظت فلز مس در خاویار این دو گونه برای این نواحی مشاهده می‌شود. از آنجائی‌که سطوح مختلف جذب یک فلز منعکس کننده تفاوت در رژیم غذایی و توانائی‌های کنترل هومو استاتیکی دارد و مطالعات زیادی ارتباط سطوح فلزات در ماهیان و مکان‌های تغذیه را ثابت کرده است (۵، ۱۲، ۱۵) می‌توان تفاوت در غلظت‌های به‌دست آمده رابه آن ارتباط داد.

مطالعات فلزات سنگین همچنین از نقطه نظر سلامتی و بهداشت و تعیین محدوده مجاز غلظتی این عناصر برای انسان حائز اهمیت است . بررسی قوانین ملی موجود در کشورهای حاشیه دریای مدیترانه نشان می‌دهد که ایتالیا،یونان، لیبی، فرانسه، اسپانیا، تونس و ترکیه قوانین مشترکی در مورد روی و مس دارند و در سایر کشورها نیز احتمالاً نظیر همین قوانین برقرار است . در قانون اصلی منتشر شده برای حفاظت آبهای دریایی در Europe Union بر اساس قرار داد E.C.(European Country) ۷۶/۴۶۴روی و مس در لیست II مواد دسته بندی شده اند. این فهرست شامل موادی است که اگرچه دارای اثرات مضر در محیطهای آبی می‌باشند. اما اثرات آنها معتدل تر می‌باشد و بستگی به منطقه تخلیه و میزان تخلیه آن دارد و همچنین مقدار جذب(Intake) روزانه مشخصی نیز برای آنها تعیین نشده است (۱۸).

جدول ۲ مقایسه حداکثر غلظت‌های مجاز فلزات روی و مس در غذاهای دریایی جهت مصرف انسانی و مقادیر به‌دست آمده در این تحقیق و سایر مطالعات انجام شده را نشان می‌دهد. همانطوری که ملاحظه می‌شود در مقایسه با استاندارد سازمان بهداشت جهانی WHO مقادیر به‌دست آمده بسیار پائین تر از حد مجاز می‌باشد. علی رغم وجود مقادیر پائین برای این دو عنصر بررسی آلودگی دریای خزر جهت رفع نگرانی‌های ناشی از اثرات بر ذخایر آبزیان و همچنین مصرف غذاهای دریایی به‌طور مستمر باید طراحی و انجام شود.

تقدیر و تشکر

در اینجا لازم می‌داند از کلیه کسانی که در انجام این تحقیق مارا یاری نموده اند تشکر به‌عمل آید. معاونت تولید و بهره برداری شیلات ایران و کلیه پرسنل محترم صیدگاه‌های نواحی پنجگانه شیلات شمال، مسئولین محترم مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر به‌خصوص بخش آب شناسی (اکولوژی فعلی) و همکاران انستیتو در سایر بخش‌های تحقیقاتی، خدمات وترابری .

جدول ۱- حداقل، حداکثر و میانگین فلزات روی و مس در بافت عضله و خاویار تا سماهی ایرانی و ازون برون در کل مناطق پنجگانه شیلاتی جنوب دریای خزر

گونه	بافت	Cu (µg/g وزن خشک) حداقل	حداکثر	میانگین	Cu (µg/g وزن خشک) حداقل	حداکثر	میانگین
تاسماهی ایرانی	عضله	۱۳	۶۲/۴	۲۶/۹ ± ۸/۵	۰/۷۳	۴/۵۱	۱/۸ ± ۰/۷
	خاویار	۳۳/۸	۱۳۱	۶۵/۹ ± ۱۶/۷	۱/۷۴	۶/۸	۴/۲ ± ۱/۰۷
ازون برون	عضله	۱۵/۱	۴۷/۵	۲۷/۴ ± ۶/۶۹	۰/۷۷	۳/۷۳	۱/۶۴ ± ۰/۵۳
	خاویار	۳۲/۹	۹۲/۱	۵۷/۸ ± ۱۰	۲/۲	۷/۹	۴/۸۵ ± ۱/۱۵

منابع مورد استفاده

۱- بخش ارزیابی ذخایر انستیتو، ۱۳۷۹. گزارشات آماری جمع آوری شده از ادارات کل شیلات استان‌های گیلان،مازندران، گلستان .

2- Aaseth, J. & Norseth, T. 1986. Copper. In Handbook on the Toxicology of Metals , 2nd. Ed.Vol II (L. Friberg, G.F. Nordberg & V.B. Vouk, eds) pp. 233-254. Elsevier Amesterdam.

3- Anderson, D. M., and F. M. Morel., 1978 Copper sensitivity of *Gonyaulax tamarensis*. Limnol.Oceanogr. 23: 283-295

4- Anon. .1993, Monitoring and surveilance of non-radioactive

جدول ۲- مقایسه حداکثر غلظت‌های مجاز (µg/g وزن تر) فلزات سنگین روی و مس در غذاهای دریای جهت مصرف انسانی با میانگین‌های (وزن خشک µg/g) و به‌دست آمده در این بررسی و سایر بررسی‌های انجام شده در دریای خزر

استانداردها و گونه ها	Zn	Cu	منابع
WHO۱	۱۰۰۰	۱۰	Biny & Ameyibor, ۱۹۹۲; Madany et al.,۱۹۹۶
NHMR۲	۱۵۰	۱۰	Maher,۱۹۸۶; Darmono & Denton ۱۹۹۰
MAFF۳ (انگلستان)	۵۰	۲۰	Anon,۱۹۹۳; Collings et al., ۱۹۹۶
بافت عضله (ازون برون)	۲۷/۴	۱/۶	بررسی حاضر
بافت عضله (تاسماهی ایرانی)	۶۵/۹	۴/۲	بررسی حاضر
خاویار (ازون برون)	۵۷/۸	۴/۸۵	بررسی حاضر
خاویار(تاسماهی ایرانی)	۶۵/۹	۴/۲	بررسی حاضر
بافت عضله (ازون برون)	۱۷/۹۵	۱/۲۳	CEP, ۲۰۰۲
بافت عضله (تاسماهی ایرانی)	۱۸/۸۵	۱/۷۲	CEP, ۲۰۰۲

1 Word Health Organization

2 Australian National Health and Medical Research Council

3 Ministry of Agriculture Fisheries and Food

contaminants in the aquatic environment and activities regulating the disposal of waste at the sea. Aquatic environment monitoring report. No. 36, Ministry of Agriculture, Fisheries & Food, Lowestoft, 78pp.

5- Badsha K.S. & Goldspink C.R. 1982. Preliminary observation on the heavy metal content of species of freshwater fish in NW England. Journal of Fish Biology 21, 251-267.

6- Biney, C.A. and E. Ameyibor. 1992. Trace metal concentration in the pink shrimp *Penaeus notialis* from the coast of Ghana. Water, Air and Soil Pollution, 63, 273-279.

7- Caspian Environment Program. 2001, Ecotoxicological study: Investigation into toxic contaminant accumulation and related pathology in the Caspian sturgeon, seal and bony fish (Ecotoxstudy).

8- Collings, S.E., M.S. Johnson and R.T. Leach.1996. Metal contamination of Angler-caughtfish from the Mersey estuary. Marine environmetal research, 41(3), 281-297.

9- Darmono, D. and G.R.W. Denton. 1990. Heavy metal concentrations in the banana prawn *Penaeus merguiensis* and leader prawnP. monodonin the townsvile region of Australia. Bull. Environ. Contam. toxicol. 44, 479-486.

10- Madany, C.M., A.A.A. Wahab and Z. Al-Alawi. 1996. Trace metals concentrations in marine organisms from the coastal areas of Bahrain, Arabian Gulf. Water, Air & Soil Pollution,91, 233-248.

11- Maher, W.A. 1986. Trace metals concentrations in marine organisms from St. Vincent Gulf,South Australia, Water, Air & Soil Pollution, 29, 77-84.

12- Mathis, B.J., & Cummings T.F. 1973; Selected metals in sediment, water and and biota in the Illinois River. Journal of the Water Pollution Control Federation 45,1573-1583.

13- M00PAM .1983; Manual of Oceanographic and pollutant analysis methods. Kuwait.

14- MooPAM. 1989; Manual of oceanographic and pollutant analysis methods. Kuwait.

15- Murphy B.R., Atchison G.J. & McIntosh A.W. 1978; Cadmium and zinc content of fish froman in dustrially contaminated lake. Journal of Fish Biology 13, 327-335.

16- Snedeer, G.W. and Cochran, 1989. Statistical Methods. The Iowa State Univrsity Press.

17- Wagemann R. & Muir. D.C.G. 1984. Concentration of heavy metals and organochlorines in marine mammals of northern waters overview and evaluation. Can. Tech. Rep. Fish. Aq.Sci. No 1279.

18- WHO .1990. Methylmercury. In environmental Health Criteria 101. Geneva: World Health organization.

19- Wirth, M., F. Kirschbaum, Y. Gessner, A. Kruger and R. Billard. .1998; Discrimination of caviarfrom different sturgeon species. Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries,Muggelseedumm 310, D-12587 Berlin, Germany.