

تعیین LC_{50} آهن فروس (Fe^{2+}) در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

طاهره ناجی^{*۱}

علی عاطف یکتا^۲

شادروان امین کیوان^۳

تاریخ پذیرش: ۸۷/۷/۳۰

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۲۰

چکیده

در تحقیق حاضر برای تعیین میزان سمیت حاد آهن فروس به روش نیمه ساکن و بر اساس استاندارد *O.E.C.D*، تعداد ۱۹۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی 5 ± 15 گرم در شش تیمار ده تایی با سه تکرار هم زمان و یک گروه شاهد، در معرض سولفات آهن هفت آبه ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) قرار گرفتند. برخی از پارامترهای کیفی آب (اکسیژن محلول، دما، *pH*، هدایت الکتریکی و سختی کل و ...) در طول آزمایش اندازه گیری و ثبت شدند. *pH* جهت پایداری بیشتر غلظت آهن فروس، در طول آزمایش در محدوده 0.1 ± 0.5 نگه داشته شد. علاوه بر این برای اطمینان از ایجاد غلظت های مورد نظر از آهن فروس و ثبات آن ها در آکواریوم های آزمایشی، غلظت آهن فروس به روش ارتوفناترولین و با بهره گیری از دستگاه اسپکتروفتومتری مورد سنجش قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل از آزمون سمیت حاد، میزان LC_{50} با استفاده از برنامه آماری تجزیه پروبیت در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب برابر با ۲/۳۵، ۲/۱۵، ۱/۹۵ و ۱/۸۵ و میزان *NOEC*، *MATC* و *LOEC* به روش آنالیز واریانس یک طرفه (*ANOVA*) به ترتیب برابر با ۱/۱، ۱/۳ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر آهن فروس محاسبه شدند.

واژه های کلیدی: آهن فروس، LC_{50} ، غلظت نیمه کشنده، کپور معمولی.

۱- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی، تهران، ایران* (مسئول مکاتبات).

۲- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد مهندسی منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، باشگاه پژوهشگران جوان.

مقدمه

آهن از نظر فراوانی، چهارمین عنصر سازنده پوسته زمین به شمار می رود و در بسیاری از سنگ ها و خاک مناطق مختلف از جمله خاک های رسی به وفور یافت می شود. این عنصر بسته به خواص شیمیایی خاک منطقه و سایر ترکیباتی که در مسیر جریان آب قرار دارند، به میزان متفاوتی حضور دارد (۱). آهن، جزء فلزات واسطه طبقه بندی می شود و علی رغم این که به میزان جزئی برای حفظ سلامت بسیاری از آبزیان ضروری می باشد، اما در مقادیر بیش از حد مجاز از طریق مسمومیت های خونی، آسیب های غشایی و بروز ناتوانی در اعمال فیزیولوژیک برای موجودات آبی و از طریق ایجاد رسوب بر روی بستر یا کدورت در آب برای تولیدات اولیه آب ها اثرات نامطلوبی دارد (۲). این عنصر به علت توانایی در تشکیل دامنه وسیعی از اشکال هندسی مولکولی و حالات اکسایش- کاهش در همه جا حضور دارد (۳). آهن از مسیرهای گوناگون مانند تخلیه مواد زاید، تخلیه آب توازن کشتی ها، تخلیه فاضلاب های صنعتی، کشاورزی و خانگی و فرسایش خاک به محیط های آبی منتقل می شود (۴).

تاکنون محققان متعددی چون Cherry (۱۹۸۳) (۵) و Loeffelman (۱۹۸۶) (۶) بر روی ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) Dalzell، و MacFarlane (۱۹۹۹) (۷) بر روی ماهی قزل آلی قهوه ای (*Salmo trutta*) Decker و Menendez (۱۹۷۴) (۸) بر روی ماهی قزال آلی جویباری (*Salvelinus fontinalis*) Moughan و Alam (۱۹۹۲) (۹) بر روی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) سمیت حاد آهن را مورد سنجش قرار داده اند. میزان LC_{50} آهن فروس توسط Alam و Moughan (۱۹۹۲) برای گونه کپور معمولی در اندازه های متفاوت ۳ و ۶ سانتی متری، ۱/۲ و ۳/۷ میلی گرم در لیتر (۹) و توسط Cherry (۱۹۹۳) برای قزل آلی رنگین کمان و آبئوس سر گنده به ترتیب ۴/۴ و ۳/۷ میلی گرم در لیتر اندازه گیری شدند (۵). در این تحقیق نیز سعی شده است تا با توجه به نقش مهم ماهی کپور در اقتصاد شیلاتی، میزان دقیق

LC_{50} آهن فروس که سمی ترین شکل آهن برای آبزیان در اکوسیستم های آبی به شمار می رود، در ارتباط با اندازه گیری غلظت این فلز مانند سایر فلزات سنگین در آب ها جهت تعیین استانداردهای سلامت عمومی و حفاظت از محیط زیست آبی مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش بررسی

میزان LC_{50} بر اساس استاندارد سازمان توسعه و همکاری اقتصادی (O.E.C.D) به روش نیمه ساکن و با ثابت نگه داشتن غلظت ترکیب شیمیایی در طول آزمایش، تعیین گردید (۱۰). برای ایجاد شرایط استاندارد، مطابق راهنمای استاندارد آمریکا برای آزمایش سمیت با ماهی عمل شد (۱۱). ماهی ها پس از تخلیه از ماشین مخصوص حمل و نقل ماهی، به تشت های پلاستیکی ۱۰۰ لیتری انتقال یافتند و به مدت یک هفته جهت سازگاری با شرایط جدید آزمایشگاه به حال خود رها شدند. ۱۹ عدد آکواریوم ۴۰ لیتری برای ایجاد ۶ تیمار ۱۰ تایی در سه تکرار هم زمان، همراه با یک گروه شاهد مهیا گردید. پس از نصب و راه اندازی آکواریوم ها، تمامی آن ها با آب شهر پر و با هوادهی، کلرزدایی شدند و برخی از پارامترهای کیفی آب اندازه گیری و ثبت شدند (جدول ۱). ماهی های مورد آزمایش از نوع کپور معمولی با میانگین وزنی 15 ± 5 گرم بودند. برای شروع کار، ماهی ها از تشت های پلاستیکی به آکواریوم ها انتقال یافتند و ۴۸ ساعت به حال خود رها شدند. پس از سازگار شدن ماهی ها، برای رساندن pH آب آکواریوم های آزمایشی به pH مورد نظر برای آزمایش (pH ۵/۵) از اسید سولفوریک ۹۸٪ (ساخت شرکت Merck) استفاده شد. فرآیند اکسیداسیون آهن فروس به آهن فریک و در نهایت تشکیل رسوب، در محیط حاوی اکسیژن اشباع و pH های خنثی به بالا بسیار سریع صورت می گیرد، بنابراین قبل از شروع آزمایش، pH مناسبی انتخاب شد تا در آن محدوده نه تنها Fe^{2+} پایداری نسبتاً بالایی داشته باشد، بلکه موجود زنده نیز دچار مشکل نگردد. کاهش pH از ۷/۱ به ۵/۵ به صورت تدریجی و در طول سه روز صورت گرفت تا تغییر pH اثر سوئی بر ماهیان

آزمایشی نداشته باشد. پس از رسیدن به pH ۵/۵ ماهی‌ها ۹۶ ساعت به حال خود رها شدند تا مرگ و میز احتمالی حاصل از تغییر pH اثری بر روند تعیین کشندگی آهن فروس در طی آزمایش نداشته باشد (ماهی‌ها تلفاتی نداشتند).

جدول ۱ - برخی از پارامترهای کیفی آب مورد استفاده برای آزمایش

۲۱-۲۳	دما (سانتی گراد)
بیش از ۵	اکسیژن محلول (میلی گرم / لیتر)
۱۹۸	سختی کل (میلی گرم / لیتر کربنات کلسیم)
۵/۵	PH
۰/۵ - ۰/۷	هدایت الکتریکی (میکروزیمنس / سانتی متر)
۰/۳ - ۰/۵	TDS (گرم / لیتر)
۰/۱	فسفات (گرم / لیتر)
۰/۰۰۳	نیتريت (گرم / لیتر)
۰/۴	نیترات (گرم / لیتر)

در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت، میزان LC₅₀ آهن فروس در زمان‌های مذکور با استفاده از بسته‌های نرم‌افزاری Excel و SPSS و به روش analysis Probit محاسبه شدند.

میزان NOEC (No observable effect concentration) ، غلظتی که هیچ اثر قابل توجهی در مقایسه با نمونه‌های شاهد، روی جمعیت نمونه‌هایی که در معرض ماده سمی قرار گرفتند ندارد و LOEC (Low observable effect concentration) ، کمترین غلظت از یک ماده که از نظر آماری اثر قابل توجهی روی جمعیت‌های مورد آزمایش آن ماده سمی قرار گرفته‌اند، ندارد به روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تعیین گردیدند (۱۲).

Maximum acceptable toxicant MATC (Concentration) ، حداکثر غلظتی که در طول مدت آزمایش هیچ اثر سوئی در ماهی مورد آزمایش نگذارد و سلامت آن را به خطر نیاندازد نیز با محاسبه میانگین هندسی LOEC و NOEC محاسبه شد (۱۲).

سپس یکی از آکواریوم‌ها به عنوان آکواریوم شاهد در نظر گرفته شد و در بقیه آکواریوم‌ها بر اساس نتایج حاصل از پژوهش‌های دیگر غلظت‌های ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳ و ۳/۵ میلی گرم در لیتر Fe²⁺ با اضافه نمودن سولفات آهن هفت آبه به آب آکواریوم‌ها ایجاد گردید. چون درصد خلوص سولفات آهن هفت آبه مصرفی بیش از ۹۹/۸٪ بود، لذا از محاسبه آن چشم‌پوشی شد. پس از اضافه نمودن سولفات آهن به آکواریوم‌های تحت تیمار برای ایجاد غلظت‌های مورد نظر، هر ۱۲ ساعت یک بار میزان کاهش یافته Fe²⁺ در آکواریوم‌ها با اضافه نمودن سولفات آهن هفت جبران شد تا غلظت ثابتی از آهن فروس در طول آزمایش برای آکواریوم‌های آزمایشی برقرار باشد. علاوه بر این، برای اطمینان هر چه بیشتر از ثبات غلظت‌های ایجاد شده در آکواریوم‌ها هر ۲۴ ساعت یک بار آب آکواریوم‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتری برای تعیین غلظت Fe²⁺ مورد سنجش قرار گرفت. غلظت آهن فروس در آکواریوم‌های مورد نظر با بهره‌گیری از دستگاه اسپکتروفتومتری و به روش ارتوفانتروپولین (۱۲) مورد سنجش قرار گرفت.

پس از شروع آزمایش، میزان تلفات ماهی‌ها در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت گردیدند. بر اساس داده‌های حاصل از سمیت حاد آهن فروس و میزان تلفات ماهی‌ها

نتایج

میزان تلفات ماهی های هر تیمار پس از قرار گرفتن در معرض غلظت های مشخصی از آهن فرس در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ در جداول ۲ تا ۵ آمده است.

جدول ۲ - میزان تلفات ماهی ها در غلظت های مختلف Fe^{2+} در ۲۴ ساعت

میزان تلفات در ۲۴ ساعت			تعداد اولیه ماهی ها	غلظت Fe^{2+} (mg/l)
تکرار سوم	تکرار دوم	تکرار اول		
۰	۰	۰	۱۰	۰
۰	۰	۰	۱۰	۱
۱	۱	۱	۱۰	۱/۵
۲	۳	۲	۱۰	۲
۷	۶	۷	۱۰	۲/۵
۹	۹	۹	۱۰	۳
۱۰	۹	۹	۱۰	۳/۵

جدول ۳ - میزان تلفات ماهی ها در غلظت های مختلف Fe^{2+} در ۴۸ ساعت

میزان تلفات در ۴۸ ساعت			تعداد اولیه ماهی ها	غلظت Fe^{2+} (mg/l)
تکرار سوم	تکرار دوم	تکرار اول		
۰	۰	۰	۱۰	۰
۰	۰	۱	۱۰	۱
۲	۱	۱	۱۰	۱/۵
۵	۴	۴	۱۰	۲
۷	۷	۷	۱۰	۲/۵
۹	۹	۹	۱۰	۳
۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۳/۵

جدول ۴ - میزان تلفات ماهی‌ها در غلظت‌های مختلف Fe^{2+} در ۷۲ ساعت

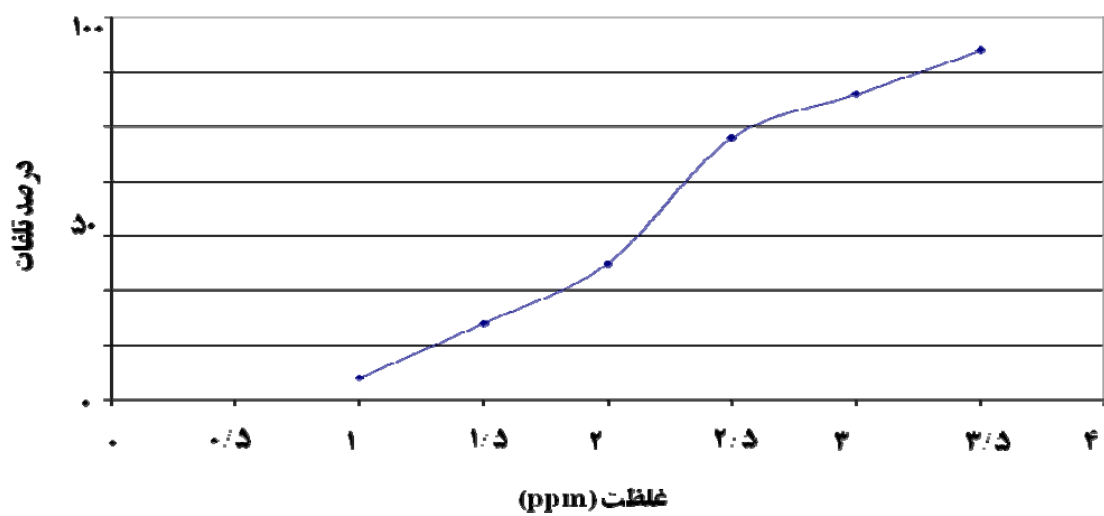
میزان تلفات در ۲۴ ساعت			تعداد اولیه ماهی‌ها	غلظت Fe^{2+} (mg/l)
تکرار سوم	تکرار دوم	تکرار اول		
۰	۰	۰	۱۰	۰
۰	۰	۰	۱۰	۱
۱	۱	۱	۱۰	۱/۵
۲	۳	۲	۱۰	۲
۷	۶	۷	۱۰	۲/۵
۹	۹	۹	۱۰	۳
۱۰	۹	۹	۱۰	۳/۵

جدول ۵ - میزان تلفات ماهی‌ها در غلظت‌های مختلف Fe^{2+} در ۹۶ ساعت

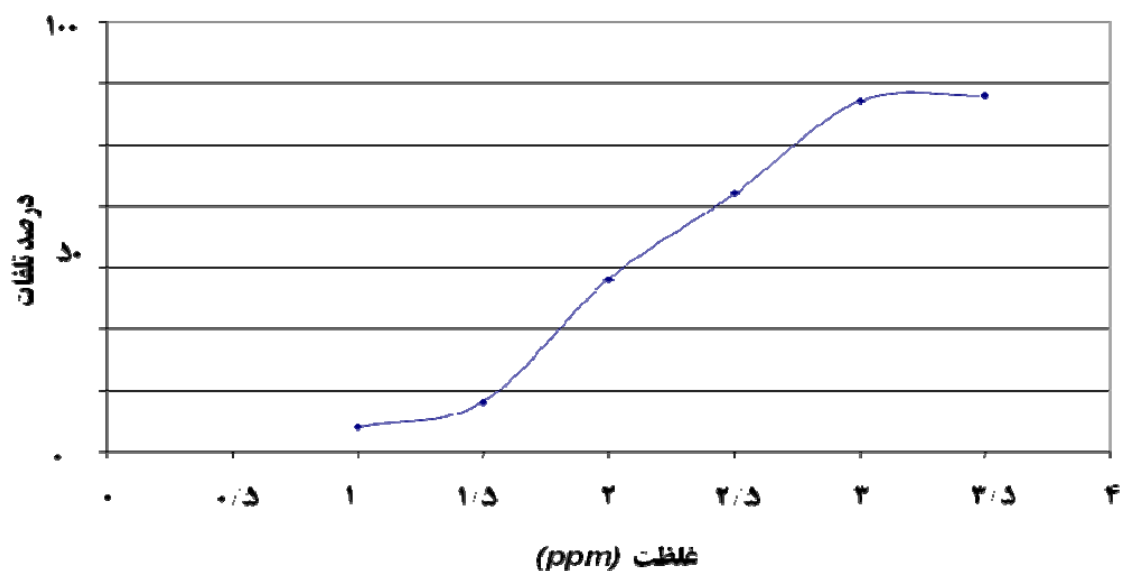
میزان تلفات در ۲۴ ساعت			تعداد اولیه ماهی‌ها	غلظت Fe^{2+} (mg/l)
تکرار سوم	تکرار دوم	تکرار اول		
۰	۰	۰	۱۰	۰
۰	۰	۰	۱۰	۱
۱	۱	۱	۱۰	۱/۵
۲	۳	۲	۱۰	۲
۷	۶	۷	۱۰	۲/۵
۹	۹	۹	۱۰	۳
۱۰	۹	۹	۱۰	۳/۵

پروبیته به ترتیب برابر با ۲/۳۵، ۲/۱۵، ۱/۹۵ و ۱/۸۵ میلی گرم در لیتر محاسبه شد (نمودارهای ۱ تا ۴).

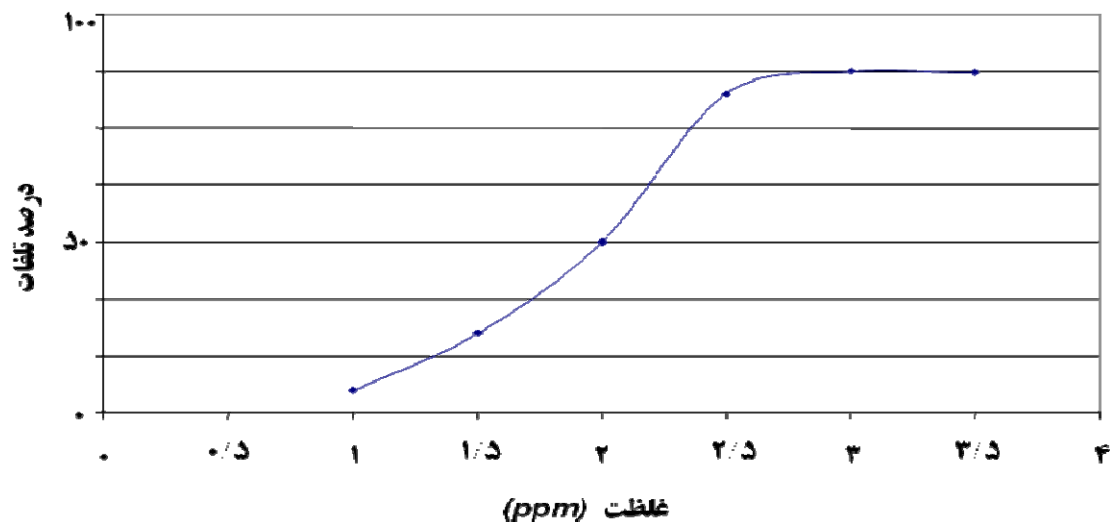
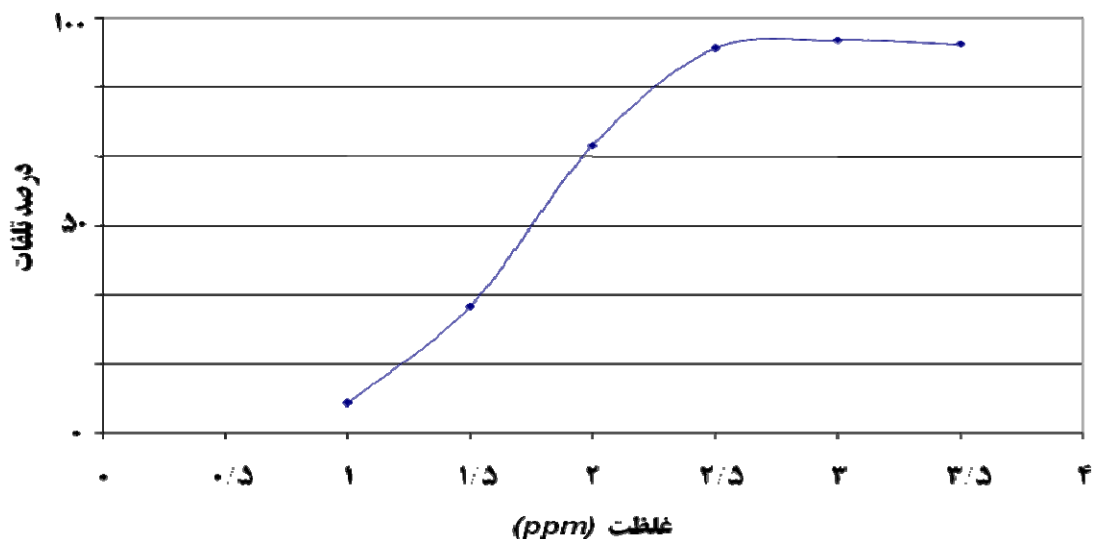
براین اساس میزان LC_{50} آهن فرسوس در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت با استفاده از برنامه آماری تجزیه



نمودار ۱ - تعیین میزان LC_{50} به روش تجزیه پروبیت در ۲۴ ساعت



نمودار ۲ - تعیین میزان LC_{50} به روش تجزیه پروبیت در ۴۸ ساعت

نمودار ۳ - تعیین میزان LC_{50} به روش تجزیه پروبیت در ۷۲ ساعتنمودار ۴ - تعیین میزان LC_{50} به روش تجزیه پروبیت در ۹۶ ساعت

حساس مانند آزادماهیان، آسیب‌پذیری بیشتری را در مقایسه با گونه‌های مقاوم مثل کپور ماهیان نشان می‌دهند (۱۴). حتی بین افراد یک گونه نیز در شرایط محیطی و زیستی مختلف، میزان سمیت فلزات سنگین متفاوت است. در این پژوهش میزان LC_{50} آهن فرسوس برای گونه کپور معمولی، برابر با ۱/۸۵ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید. در حالی که Brandt در سال ۱۹۴۸ میزان LC_{50} آهن فرسوس را در pH

مقادیر NOEC، MATC و LOEC نیز به ترتیب برابر با ۱/۱، ۱/۳ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شدند.

تفسیر نتایج

میزان سمیت آهن در محیط‌های آبی با فاکتورهای زیستی و غیرزیستی متعددی هم‌چون سن، اندازه، توان سازگاری و تفاوت‌های بین گونه‌ای و درون گونه‌ای، شوری و درجه حرارت در ارتباط مستقیم است. در اکثر موارد، گونه‌های

برابر با ۱/۸۵ و ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد در حالی که Cherry در سال ۱۹۸۳a میزان LC₅₀ را بر پایه آهن فروس و آهن کل را برای گونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به ترتیب برابر با ۴/۴ و ۱۷/۶ میلی‌گرم در لیتر محاسبه نمود. او در آزمایش دیگری در سال ۱۹۸۳b، میزان LC₅₀ را بر پایه آهن فروس و آهن کل برای گونه ماهی آبنوس سرگنده (*Pimephales promelas*) به ترتیب برابر با ۳/۷ و ۱۴/۵ میلی‌گرم در لیتر تعیین کرد (۱۹). نتایج آزمایش های انجام شده، نشان می‌دهند که تمامی آهن اضافه شده به محیط آزمایش به Fe²⁺ تبدیل نمی‌شود و جهت تعیین میزان دقیق LC₅₀ بر پایه آهن فروس حتماً باید از روش‌های تجزیه دستگاهی و دستگاه اسپکتروفتومتری استفاده نمود.

از آن جایی که آهن فروس در آب محلول است و قابلیت جذب بالایی دارد، معیار استاندارد آهن در آب‌ها باید بر اساس میزان سمیت Fe²⁺ قابل دسترس برای موجودات آبی تعیین گردد که متأسفانه تاکنون مطالعات کمی، سمیت Fe²⁺ را بر موجودات آبی به‌ویژه ماهی‌ها تعیین کرده‌اند. از طرفی مقادیر زیر حد کشنده آهن فروس در آب‌ها که در مدت زمان کوتاه نمی‌تواند اثر سویی بر موجودات آبی داشته باشد ممکن است در دراز مدت و به صورت مزمن برای آبیان تأثیرات سویی به همراه داشته باشد. Smith و همکاران در سال ۱۹۷۳ میزان سمیت مزمن آهن فروس را برای گونه‌های آبنوس سرگنده (*P. promelas*) در محدوده pH بین ۷/۲ تا ۶/۹ برابر با ۰/۲۴ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر محاسبه کردند (۲۰)، در حالی که Cherry در سال ۱۹۸۳b میزان سمیت حاد آهن فروس را برای همین گونه برابر با ۳/۷ میلی‌گرم در لیتر محاسبه نمود (۱۹)، در نتیجه جهت تعیین دقیق معیار استاندارد آهن در آب‌ها باید به تمامی موارد فوق توجه نمود.

در مورد با تأثیرات سمی سایر فلزات سنگین بر ماهی کپور معمولی نیز مطالعات زیادی صورت گرفته است، محققانی از جمله عشایری در سال ۱۳۸۲، میزان LC₅₀ فلز روی را در مدت زمان ۹۶ ساعت برابر با ۱۲ میلی‌گرم در

۵/۵ برای گونه کپور معمولی برابر با ۰/۹ میلی‌گرم در لیتر گزارش کرد (۱۵)، اما به سختی آب و اندازه ماهی اشاره نکرد. Alam و Moughan نیز در سال ۱۹۹۲ میزان LC₅₀ آهن فروس را برای گونه کپور معمولی در دو اندازه طولی ۳ و ۲ سانتی متری به ترتیب برابر با ۱/۲ و ۳/۷ میلی‌گرم در لیتر گزارش کردند (۱۶). آن‌ها نیز شرایط آب آزمایش را ارایه نکردند. با بررسی نتایج فوق می‌توان نتیجه گرفت که به دلیل وجود فاکتورهای زیاد مؤثر بر سمیت حاد فلزات سنگین به‌ویژه آهن، مانند اختلافات فردی، جنسی، وزنی، طولی و عوامل محیطی، میزان LC₅₀ هیچ‌گاه مقدار مطلق و ثابتی نبوده اندازه‌گیری آن به تنهایی نمی‌تواند برای ارزیابی سمیت حاد مواد سمی از جمله فلزات سنگین کافی باشد. اجرای آزمایش های مکمل مانند اندازه‌گیری فاکتورهای خونی و هورمونی، بررسی‌های آسیب شناسی بافتی و تعیین میزان تجمع زیستی این فلزات در بافت های مختلف ماهی، ضروری به نظر می‌رسد (۱۷).

از طرفی در تجربیات سم‌شناسی آزمایشگاهی، پاسخ موجودات زنده به افزایش غلظت یک ماده سمی در غیاب سایر عوامل استرس‌زا محاسبه می‌شود و غالباً مواد سمی به‌ویژه فلزات سنگین در مقادیر پایین‌تر از غلظت‌های نهایی تعیین شده آزمایشگاهی، قادرند در طبیعت برای موجودات زنده اثرات سمی داشته باشند. مثلاً وجود یک فلز سنگین در محیط می‌تواند سمیت فلز سنگین دیگر را افزایش دهد و مخلوط فلزات سنگین در محیط می‌تواند در مقادیر بسیار پایین، منجر به تلفات موجودات زنده گردد (۱).

شیمی ترکیبات آهن در محیط آبی، بسیار پیچیده است و درک آن قبل از آزمایش با موجود زنده باید صورت گیرد. از بین اشکال یونی آهن، Fe²⁺ حلالیت و قابلیت دسترسی بالاتری دارد و به‌عنوان سمی‌ترین شکل آهن در آب‌ها به شمار می‌رود (۱۸).

رابطه بین آهن کل (Fe) و غلظت و قابلیت دسترسی آهن فروس (Fe²⁺) از مکانی به مکان دیگر به علت وجود متغیرهای زیستی و غیرزیستی زیادی متفاوت است. در این پژوهش میزان LC₅₀ بر پایه آهن فروس و آهن کل به ترتیب

6. Loeffleman, P.H., Van Hassel, J.H., Arnold, T.E. and Hendricks, J.C., 1986. A new approach for regulating iron in water quality standards, Am. Soc testing and Materials. Vol.897, pp. 137-152.
 7. Dallzel, D.J.B. and MacFarlane, N.A.A., 1999. The toxicity of iron to brown trout and effects on the gills. A comparison of two grades of ironsulphate, J. of fish boil. Vol.55, pp.301-315.
 8. Decker, C. and Menendez, R., 1997. Acute toxicity of iron and aluminum to brook trout, proceedings of west Virginia Academy of Science. Vol.46, pp.159-167.
 9. Alam, M.K. and Maughan, O.E., 1992. The effect of malatin, diazinon and various concentrations of zinc, copper, nickel, iron and mercury on fish, Biol. Trace Element Res. Vol.34, pp. 225-236.
 10. TRC., 1984. OECD. Guideline for testing of chemicals, section 2, Effect on biotic system, pp: 1-39.
 11. ASTM., 1998. Standard Guide for conducting early life-stage toxicity tests with fishes, American society for testing and material. E: 1241-88, P.26.
 12. Marry, Ann. H. and franson, I., 1992. Standard methods: for examination of water and wastewater. Washington. American Publichealth association.
 13. Rand, G.M., 1995. Fundamental of aquatic toxicology effects, environmental fate and risk assessment. Second edition. Tylor & Francis Washington D.C., U.S.A. 1125P.
- لیتر (۲۱) و شاپوری در سال ۱۳۸۲، میزان LC₅₀ فلز مس را در مدت زمان ۹۶ ساعت برابر با ۰/۲۷ میلی گرم در لیتر (۲۲) گزارش کردند. این نتایج نشان می دهند که آهن فرسوس نسبت به مس سمیت و نسبت به روی سمیت بیشتری دارد.
- معیاری که هم‌اکنون توسط سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا برای حد مجاز آهن در آبها به کار می‌رود یک میلی‌گرم در لیتر می‌باشد اما بر اساس اعلام این سازمان، این معیار نمی‌تواند معیار درست و کاملی برای کل آبزیان باشد و احتیاج به تحقیق و بررسی بیشتری دارد (۱).
- ### سپاس‌گزاری
- از سرکار خانم مریم خسروی به دلیل زحمات ارزنده‌شان، نهایت تشکر و قدردانی را دارم.
- ### منابع
1. U.S.Environmental Protection Agency. 2004. Washington, D.C. No.20460, Quality criteria for water, pp. 78-81.
 ۲. اسماعیلی ساری، ع.، ۱۳۸۳، هیدروشیمی، بنیان آبرزی‌پروری. انتشارات اصلانی، ۲۷۶ صفحه.
 3. Bury, N.R., Walker, P.A. and Glover, C.N., 2003. Nutritive metal uptake in teleost fish, J. of Experimental Biology, vol.206, pp.11-23.
 4. Karadede, H., Oymak, S.A and Unlu, 2003. Heavy metals in mullet, *Liza abu*, and Catfish, *Silurus triostegus*, from the Ataturk Dam Lake, Turkey. Environm. International. In press, corrected proof available online at www.science direct.com.
 5. Cherry, D.S., 1983a. Static, acute toxicity of total recoverable and BPA-reactive ferrous iron to rainbow trout, Virginia polytechnic institute and state university, Blacksburg, V.A.

- J. of Environ. Toxicol. Chem. vol.20, No.1, pp: 122-126.
19. Cherry, D.S., 1983. Static, acute toxicity of total recoverable and BPA-reactive ferrous iron to rainbow trout, Virginia polytechnic institute and state university, Blacksburg, V.A.
20. Smith, E.J., Sykora, J.L. and Shapiro, M.A., 1973, Effect of lime-neutralized iron hydroxide suspensions on brook trout and coho salmon, Trans. Am. Fish. Soc. Vol.2, pp. 308-372.
۲۱. محمدخانلو عشایری، ص.، ۱۳۸۲. بررسی اثرات حاد فلز روی و تعیین LC_{50} آن بر تغییرات بافت‌های عضله، گنادها و کبد کپور معمولی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، ۷۴ صفحه.
۲۲. شاپوری، م.، ۱۳۸۲. بررسی اثرات حاد فلز مس و تعیین LC_{50} آن بر تغییرات بافت‌های عضله، گنادها و کبد کپور معمولی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، ۱۰۰ صفحه.
14. Mance, G., 1990. Pollution threat of heavy metals in aquatic environments. Elsevier science. London. UK. 372 P.
15. Brandt, N.H., 1948, intensified injurious on fish, especially the increased toxic effect produced by a combination of sewage poisons. Beitrwass. Abwass. Fisherei chemi. 15.
16. Alam, M. K. and Maughan, O.E., 1992. The effect of malatin, diazinon and various concentrations of zinc, copper, nickel, iron and mercury on fish, Biol. Trace Element Res. Vol.34, pp. 225-236.
۱۷. میرستاری، ق.، ۱۳۶۹. اصول زهرشناسی، مرکز نشر دانشگاهی تهران، صفحات ۱۸۱ تا ۲۲۰.
18. Martinez, C.E. and McBride, M.C., 2001, "Cd, Cu, Pb and Zn" corecipitates in Fe oxide formed at different pH: Aging effects on metal solubility and extractability by citrate,