علوم و تکنولوژی محیط زیست ، دوره چهاردهم، شماره چهار، زمستان ۹۱

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

طاهره ناجی[1*]

علی عاطف یکتا[2]

شادروان امین کیوان [3]

تاریخ دریافت:۸۷/۲/۲۰ **تاریخ پذیرش:۸۷/۷/۳۰**

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 ۵ ± ۱۵ گرم در شش تیمار ده تایی با سه تکرار هم زمان و یک گروه شاهد، در معرض سولفات آهن هفت آبه ($Feso_4 , 7H_2o$) 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 ۰/۱ ± ۵/۵ 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 ارتوفنانترولین 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 ۱/۸۵و 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 .

Archive of SID

www.SID.ir

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 آبزی 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) وLoeffelman (۱۹۸۶) (۶) بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*)، Dalzell و MacFarlane (۱۹۹۹) (۷) بر روی ماهی قزل آلای قهوه ای (*Salmo trutta*) ، Menendez و Decker(۱۹۷۴) (۸) بر روی ماهی قزال آلای جویباری (*Salvelinus fontinalis*) ، Moughanو 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 Moughan و Alam(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 آلای رنگین کمان و آبنوس 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 سمی‌ترین شکل آهن برای آبزیان در اکوسیستم‌های آبی به شمار می‌رود، در ارتباط با اندازه‌گیری غلظت این فلز مانند سایر فلزات سنگین در آب ها جهت تعیین استانداردهای سلامت عمومی و حفاظت از محیط‌زیست‌آبی مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش بررسی

میزان LC_{50} بر اساس استاندارد سازمان توسعه و همکاری اقتصادی (O.E.C.D) به روش نیمه‌ساکن 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 تشت‌های پلاستیکی ۱۰۰ لیتری انتقال یافتند و به مدت یک هفته جهت سازگاری با شرایط جدید آزمایشگاه به حال خود رها شدند. ۱۹ عدد آکوآریوم ۴۰ لیتری برای ایجاد ۶ تیمار ۱۰ تایی در سه تکرار هم زمان ، همراه با یک گروه شاهد مهیا گردید. پس از نصب و راه‌اندازی آکوآریوم‌ها، تمامی آن‌ها با آب شهر پر و با هوادهی، کلرزدایی شدند و برخی از پارامترهای کیفی آب اندازه گیری و ثبت شدند (جدول ۱) . ماهی‌های مورد آزمایش از نوع کپور معمولی با میانگین وزنی ۵±۱۵ گرم بودند . برای شروع کار، ماهی‌ها از تشت‌های پلاستیکی به آکوآریوم‌ها انتقال یافتند و ۴۸ ساعت به حال خود رها شدند. پس از سازگار شدن ماهی‌ها، برای رساندن pH آب آکوآریوم‌های 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 می‌گیرد، 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

Archive of SID

www.SID.ir

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

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

سپس یکی از آکوآریوم‌ها به عنوان آکوآریوم شاهد در نظر گرفته شد و در بقیه آکوآریوم‌ها بر اساس نتایج حاصل از پژوهش های دیگر غلظت‌های ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ ، ۳ و ۳/۵ میلی گرم در لیتر Fe^{2+} با اضافه نمودن سولفات آهن هفت آبه به آب آکوآریوم‌ها 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 آکوآریوم‌های تحت تیمار برای ایجاد غلظت‌های مورد نظر، هر ۱۲ ساعت یک بار میزان کاهش یافته Fe^{2+} در آکوآریوم‌ها با اضافه نمودن سولفات آهن هفت جبران شد تا غلظت ثابتی از آهن فروس در طول آزمایش برای آکوآریوم‌های آزمایشی برقرار باشد . علاوه بر این، برای اطمینان هر چه بیشتر از ثبات غلظت‌های ایجاد شده در آکوآریوم‌ها هر ۲۴ ساعت یک بار آب آکوآریوم‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتری برای تعیین غلظت Fe^{2+} مورد سنجش قرار گرفت . غلظت آهن فروس در آکواریوم‌های مورد نظر با بهره گیری از دستگاه اسپکتروفتومتری و به روش ارتوفنانترولین (۱۲) مورد سنجش قرار گرفت .

پس از شروع آزمایش ، میزان تلفات ماهی‌ها در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت گردیدند . بر اساس داده های حاصل از سمیت حاد آهن فروس و میزان تلفات ماهی‌ها در زمان‌های ۲۴، ۴۸ ، ۷۲ و ۹۶ ساعت، میزان LC_{50} آهن فروس در زمان‌های مذکور با استفاده از بسته‌های نرم‌افزاری Excel و SPSS و به روش Probit analysis محاسبه شدند .

میزان NOEC (No observable effect concentration)، غلظتی که هیچ اثر قابل توجهی در مقایسه با نمونه های شاهد، روی جمعیت نمونه هایی 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 جمعیت های مورد آزمایش آن ماده سمی قرار گرفته اند، ندارد به روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تعیین گردیدند (۱۲) . MATC (Maximum acceptable toxicant 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).

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

میزان تلفات ماهی های هر تیمار پس از قرارگرفتن در معرض غلظت‌های مشخصی از آهن فروس در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸ ، ۷۲ و ۹۶ در جداول ۲ تا ۵ آمده است.

جدول ۲ - میزان تلفات ماهی‌ها در غلظت‌های مختلف Fe^{2+} در ۲۴ ساعت

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

جدول ۳ - میزان تلفات ماهی‌ها در غلظت‌های مختلف Fe^{2+} در ۴۸ ساعت

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

Archive of SID

www.SID.ir

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

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

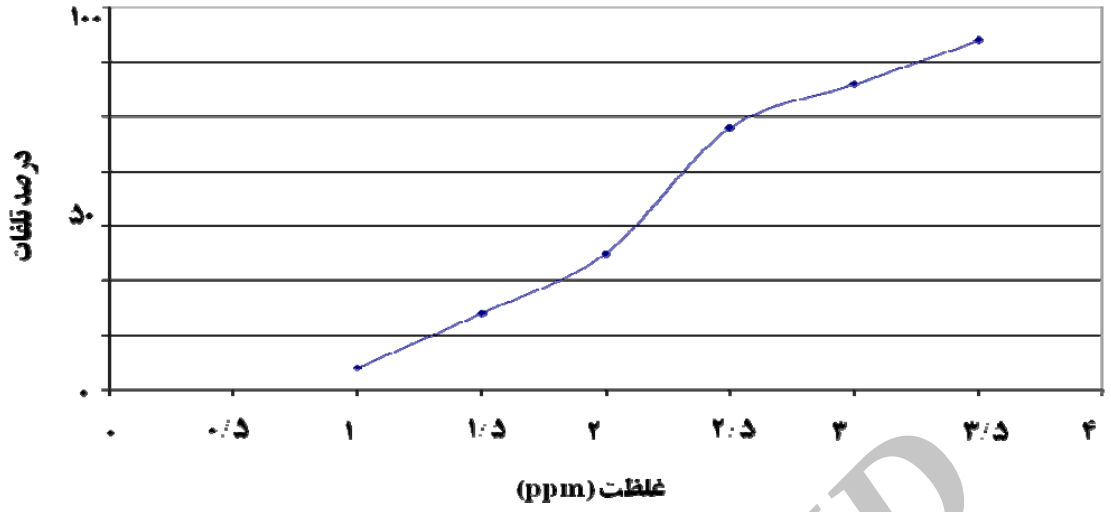
جدول ۵ - میزان تلفات ماهی‌ها در غلظت‌های مختلف Fe^{2+} در ۹۶ ساعت

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

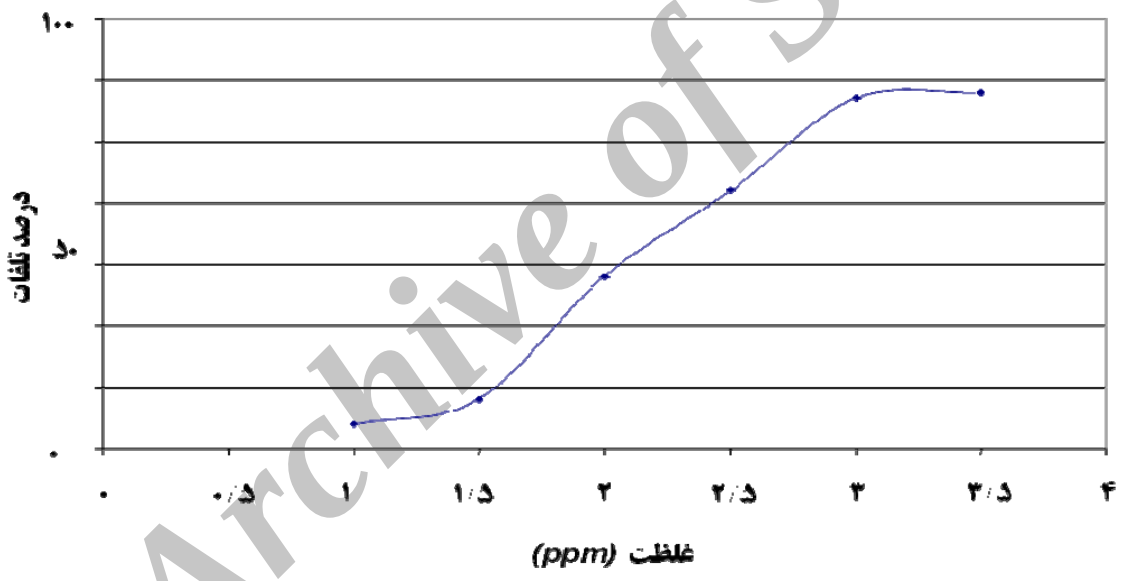
براین اساس میزان LC_{50} آهن فروس در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت با استفاده از برنامه آماری تجزیه پروبیت به ترتیب برابر با ۲/۳۵، ۲/۱۵ ، ۱/۹۵ و ۱/۸۵ میلی گرم در لیترمحاسبه شد (نمودارهای ۱ تا ۴) .

Archive of SID

www.SID.ir



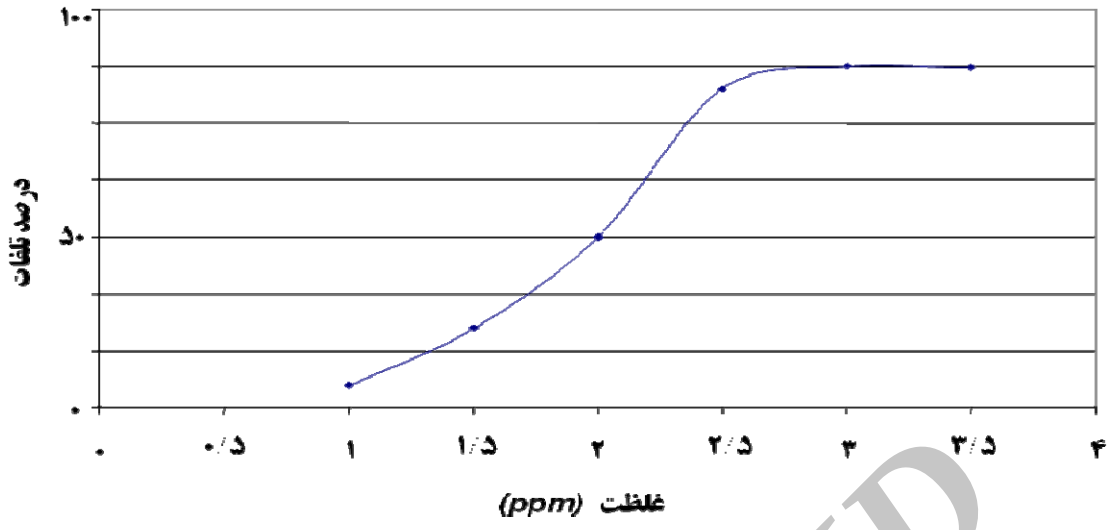
نمودار ۱ - تعیین میزان LC_{50} به روش تجزیه پروبیت در ۲۴ ساعت



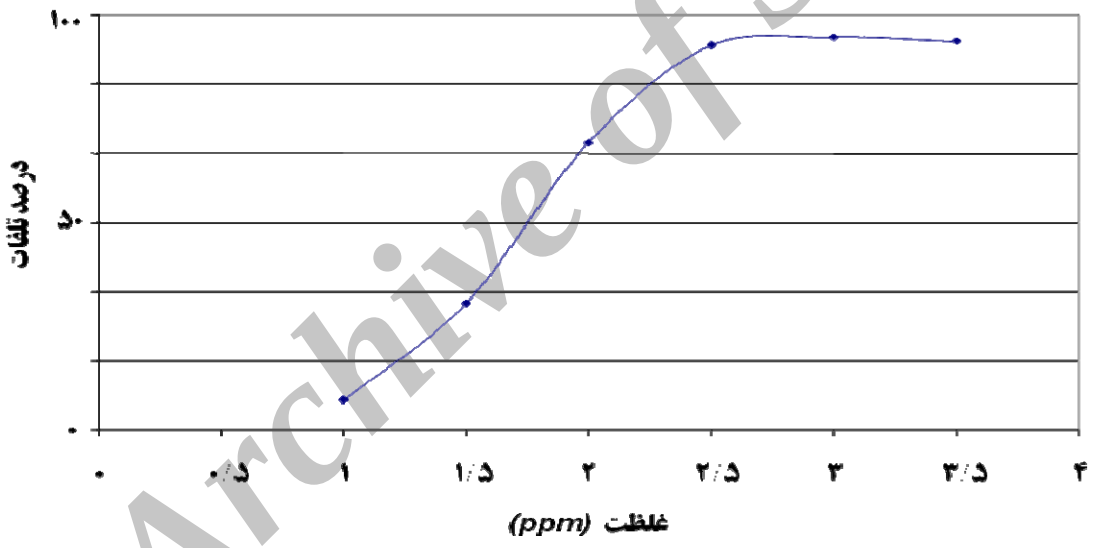
نمودار ۲ - تعیین میزان LC_{50} به روش تجزیه پروبیت در ۴۸ ساعت

Archive of SID

www.SID.ir



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



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

Archive of SID

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

تفسیر نتایج

میزان سمیت آهن در محیط های آبی با فاکتورهای زیستی و غیرزیستی متعددی هم چون سن، اندازه، توان سازگاری و تفاوت‌های بین گونه‌ای و درون گونه‌ای، شوری و درجه حرارت در ارتباط مستقیم است. در اکثر موارد، گونه‌های 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 فلزات‌سنگین متفاوت است. در این پژوهش میزان LC_{50} آهن فروس برای گونه کپور معمولی، برابر با ۱/۸۵ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید. در حالی که Brandt در سال ۱۹۴۸ میزان LC_{50} آهن فروس را در pH

www.SID.ir

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 LC_{50} آهن فروس را برای گونه کپور معمولی در دو اندازه طولی ۲و۳ سانتی متری به‌ترتیب 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 فلزات‌سنگین به‌ویژه آهن، مانند اختلافات‌فردی، جنسی، وزنی ، طولی و عوامل‌محیطی، میزان LC_{50} هیچ‌گاه مقدار مطلق و ثابتی نبوده اندازه‌گیری آن به تنهایی نمی‌تواند برای ارزیابی سمیت حاد مواد سمی از جمله فلزات‌سنگین 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 موجودات‌زنده به افزایش غلظت یک ماده سمی در غیاب سایر عوامل استرس‌زا محاسبه می‌شود و غالباً مواد سمی به‌ویژه فلزات‌سنگین 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، منجربه تلفات موجودات‌زنده 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 ،Fe^{2+} حلالیت و قابلیت‌دسترسی بالاتری دارد و به‌عنوان سمی‌ترین شکل آهن در آب‌ها به شمار می‌رود (۱۸) .

رابطه بین آهن‌کل(Fe) و غلظت و قابلیت‌دسترسی آهن‌فروس (Fe^{2+}) از مکانی به مکان دیگر به‌علت وجود متغیرهای زیستی و غیرزیستی زیادی متفاوت است. در این پژوهش میزان LC_{50} بر پایه آهن فروس و آهن کل به ترتیب برابر با ۱/۸۵ و ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد در حالی که Cherry در سال۱۹۸۳a میزانLC_{50} را بر پایه آهن‌فروس و آهن‌کل را برای گونه ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به ترتیب برابر با ۴/۴ و ۱۷/۶ میلی‌گرم در لیتر محاسبه نمود. او در آزمایش دیگری در سال ۱۹۸۳b، میزان LC_{50} 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 Fe^{2+} تبدیل نمی‌شود و جهت تعیین میزان دقیق LC_{50} بر پایه آهن فروس حتماً باید از روش‌های تجزیه دستگاهی و دستگاه اسپکتروفتومتری استفاده نمود .

از آن جایی‌که آهن فروس در آب محلول است و قابلیت جذب بالایی دارد، معیار استاندار آهن در آب‌ها باید بر اساس میزان سمیت Fe^{2+} قابل دسترس برای موجودات آبزی تعیین گردد که متأسفانه تاکنون مطالعات کمی، سمیت Fe^{2+} را بر موجودات آبزی به‌ویژه ماهی‌ها تعیین کرده‌اند . از طرفی مقادیر زیر حد کشنده آهن فروس در آب‌ها که در مدت زمان کوتاه نمی‌تواند اثر سویی بر موجودات آبزی داشته باشد ممکن است در دراز مدت و به صورت مزمن برای آبزیان 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 حالی‌که 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 LC_{50} فلز روی را در مدت زمان ۹۶ ساعت برابر با ۱۲ میلی گرم در

Archive of SID

www.SID.ir

لیتر(۲۱) و شاپوری در سال ۱۳۸۲، میزان LC_{50} 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 فروس 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 به‌کار 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).

سپاس گزاری

از سرکار خانم مریم خسروی به دلیل زحمات ارزنده شان، 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 آبزی‌پروری. 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.
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, proccedings 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, section2, Effect on biotic system, pp: 1-39 .
11. ASTM ., 1998. Standard Guide for conducting early lifes-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.

Archive of SID

www.SID.ir

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, J. of Environ. Toxical. 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 کپورمعمولی، 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 بافت‌های‌عضله، گنادها و کبد کپور معمولی، پایان‌نامه‌کارشناسی‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال،۱۰۰ صفحه.

Archive of SID

www.SID.ir