

اثر فلزات سنگین مس و سرب بر روی بقاء، رفتار و رشد ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*)

- اسماعیل قره‌داشی*: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق‌پستی: 487-49175
- محمدرضا ایمانپور: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق‌پستی: 487-49175
- وحید تقی‌زاده: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق‌پستی: 487-49175

تاریخ دریافت: شهریور 1392 تاریخ پذیرش: آذر 1392

کلمات کلیدی: مس، سرب، LC، رفتار، رشد، ماهی سفید

مرگ و میر ماهی می‌شود (Scherer، 1997). آلودگی فلزات سنگین معمولاً سبب کاهش بهره‌برداری ماهی از غذا می‌شود، که باعث اختلالات در ماهی شده و نتیجه آن کاهش نرخ متابولیسم و به دنبال آن کاهش رشد ماهی می‌باشد (Javed، 2005). رشد در تحقیقات سم‌شناسی مزم از جمله ویژگی‌های حساس می‌باشد که تحت تاثیر قرار می‌گیرد (De Boeck، 1997).

حساسیت گونه‌های مختلف ماهیان به مواد آلاینده متغیر است از این رو انجام آزمایش‌های سم‌شناسی برای ماهیان مختلف ضروری است (Mas و Barak، 1990). ماهی سفید از مهم‌ترین گونه‌های کپور ماهیان در دریای خزر می‌باشد که علیرغم تلاش‌های مستمری که جهت بازسازی و حفظ ذخایر آن در دریای خزر انجام می‌شود، میزان صید آن طی سال‌های اخیر کاهش یافته است که گویای کاهش ذخایر این ماهی در دریای خزر است. با توجه به بررسی‌های به عمل آمده عوامل مختلفی می‌توانند در این امر دخیل باشند اما مهم‌ترین عاملی که امروزه بیش‌ترین توجه محافل علمی را به خود جلب نموده آلودگی محیط زیست به‌ویژه افزایش روزافزون فاضلاب‌های صنعتی حاوی ترکیبات مختلف آلاینده‌های پایدار فلزات سمی و آفت‌کش‌های کشاورزی است که در راستای توسعه صنعتی و پیشرفت بشر قرار دارد. تحقیقات در خصوص مشخص نمودن میزان آلودگی منابع مختلف آبی، چگونگی تقلیل آلودگی، نحوه جذب فلزات توسط آبزیان، تجمع زیستی فلزات سنگین در بافت‌های مختلف آبزیان، امکان استفاده از برخی آبزیان به‌عنوان شاخص‌های زیستی، تغییرات و آسیب‌های ایجاد شده در بافت‌ها و... در حال انجام است (Finpederson،

انسان تولیدکننده آلاینده‌های متعدد و متنوعی است که بخش اعظم این مواد به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم به محیط‌های آب راه می‌یابد. بخشی از آلاینده‌ها مانند اغلب مواد آلی طی فرایندهای زیستی تجزیه می‌گردند ولی سایر مواد از قبیل فلزات سنگین و سموم دفع آفات (هیدروکربن‌های کلردار) در مقابل تجزیه مقاوم بوده و مدت زیادی در محیط آبی باقی می‌مانند (Brown و Colins، 1998). با توجه به تحقیقات به عمل آمده بیش‌ترین مقادیر فلزات در اکوسیستم‌های آبی به عناصری مانند مس، روی، کادمیوم، جیوه و سرب مربوط می‌باشد. ورود هرگونه غلظتی از این عناصر به اکوسیستم‌های آبی می‌تواند باعث نابودی یا کاهش گونه‌های خاص در آبزیان و به هم خوردن توازن اکولوژیکی شده و موجبات زوال زیستی اکوسیستم را فراهم سازد (Rand، 1995؛ امیدی، 1376).

منشاء ورود سرب به اکوسیستم‌های آبی عمدتاً نفت خام، شیمی و معدن کاوی صنعتی می‌باشد، که موجب اثرات سمی شده و می‌تواند باعث مرگ و میر موجودات آبی شود (Heath، 1995؛ Sorensen، 1991). درحالی‌که مس از جمله فلزات ضروری برای همه ارگانیزم‌ها از جمله ماهی می‌باشد. نقش مهمی در متابولیسم دارد و اثرات متنوعی روی پارامترهای خونی، رشد، رفتار، فعالیت آنزیمی و تولیدمثل می‌گذارد (Nussey، 1995؛ Roesijadi، 1994؛ Sorensen، 1991).

اضافه کردن غلظت مزم فلزات مس، کادمیوم و سرب به آب برای ماهی نشان داده که سبب تغییرات فیزیولوژیکی و رفتاری متنوعی از جمله از دست دادن اشتها، کاهش رشد، از دست دادن تعادل یونی و افزایش



چشمی زیر نظر قرار گرفتند و در طی این مدت تغییرات رفتاری بررسی و ثبت گردید. بعد از تعیین غلظت کشنده فلزات مس و سرب، به منظور بررسی شاخص‌های رشد ماهیان سفید در 5 گروه، متشکل از چهار گروه آزمایشی، شامل دو غلظت (0/11 و 0/23 میلی‌گرم بر لیتر) برای فلز مس و دو غلظت (13/4 و 26/8 میلی‌گرم بر لیتر) برای فلز سرب و یک گروه شاهد (فاقد فلز) قرار گرفتند. به این صورت که در 15 مخزن با گنجایش 350 لیتر با تراکم 20 قطعه در هر مخزن توزیع شدند به طوری که برای هر یک از تیمارها 3 تکرار در نظر گرفته شد. ماهیان به مدت 60 روز در معرض این غلظت‌ها قرار گرفتند. که در طول این دوره به نسبت 3-5 درصد وزن بدن در هر روز با جیره‌های تجاری تغذیه و این میزان غذا 4 بار در روز به آن‌ها داده شد. به منظور جلوگیری از تجمع آمونیاک و سایر ترکیبات سمی، آب هر یک از مخازن هر 96 ساعت تعویض شد و غذاهای مصرف نشده در کف مخزن نیز سیفون گردید، و دوباره همان غلظت‌ها به آب اضافه گردید. برای دستیابی به سطوح اکسیژنی مناسب، هوادهی نیز در طول دوره آزمایش انجام شد. به منظور دستیابی به سطوح غذادهی و تنظیم میزان آن، وزن کلی ماهیان در هر مخزن در فواصل 14 روزه اندازه‌گیری شد. به منظور آنالیز شاخص‌های رشد ماهیان هر 14 روز زیست‌سنجی و وزن شده و در پایان دوره ضریب رشد ویژه (SGR)، افزایش وزن بدن (BWI)، درصد افزایش وزن بدن (PBWI)، شاخص وضعیت (CF) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) محاسبه شدند. محاسبه شاخص‌های مربوط به رشد مطابق رابطه‌های زیر انجام شد.

$$= Wt_2 - Wt_1$$

BWI

گرم وزن اولیه ماهی = Wt_1 ، گرم وزن نهایی ماهی = Wt_2

درصد افزایش وزن بدن (Bekcan و همکاران، 2006):

$$PBWI (\%) = [(Wt_2 - Wt_1) / Wt_1] \times 100$$

گرم وزن اولیه ماهی = Wt_1 ، گرم وزن نهایی ماهی = Wt_2

نرخ رشد ویژه (درصد در روز) (Hevroy و همکاران، 2005):

$$SGR (\% / \text{day}) = [(\ln Wt_2 - \ln Wt_1) / (t_2 - t_1)] \times 100$$

لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی = $\ln Wt_1$ ، لگاریتم طبیعی نهایی ماهی = $\ln Wt_2$ ، طول دوره آزمایش = $t_2 - t_1$
فاکتور وضعیت (Ai و همکاران، 2006):

$$CF = [W / L^3] \times 100$$

وزن ماهی (گرم) = W ، طول کل ماهی (سانتی‌متر) = L

ضریب تبدیل غذایی (Austreng، 1978):

$$FCR = \frac{\text{میزان وزن تولید شده/مقدار غذای مصرف شده}}{100 \times}$$

داده‌های به دست آمده پس از تبدیل، توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS18 بررسی

(1994). انگیزه اصلی این تحقیق تعیین غلظت کشنده فلزات سنگین مس و سرب در طی 96 ساعت، بررسی تغییرات رفتاری و رشد ماهی سفید است.

این تحقیق در سال 1390 در آزمایشگاه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. ماهیان سفید با میانگین وزنی $0/5 \pm 4$ گرم از مرکز بازسازی ذخایر ماهی سفید سیجوال، گرگان تهیه و به مرکز تحقیقات آبی-پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. آزمایشات در شرایط استاندارد و به روش OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) صورت گرفته و عوامل فیزیکی و شیمیایی موثر از جمله سختی آب $275 \pm 2/58$ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم، دمای آب 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد، $pH = 7-7/5$ و $DO = 7/8 \pm 0/2$ میلی‌گرم بر لیتر اندازه‌گیری و ثبت گردید. به مدت دو هفته ماهی‌ها در این آب سازگار شدند. در این مدت ماهی‌ها با غذاهای تجاری غذا دهی شدند، هوادهی نیز از طریق پمپ‌های هواده انجام شد. پس از سازگاری ماهیان جهت ایجاد محیط آلاینده مس از سولفات مس ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$, MERCK) و محیط آلاینده سرب از نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$, MERC) استفاده گردید. 24 ساعت قبل از اضافه نمودن سولفات مس و نیترات سرب غذادهی قطع گردید.

برای تعیین غلظت کشنده فلزات ابتدا آکواریوم‌هایی با گنجایش 50 لیتر تهیه، شستشو و آماده گردید. تعداد 8 آکواریوم برای 8 تیمار (غلظت) در 3 تکرار به منظور افزایش دقت آزمایش و سه آکواریوم نیز به عنوان شاهد بدون حضور فلز برای هر فلز در نظر گرفته شد، که تعداد 10 قطعه ماهی سفید با میانگین وزن $4 \pm 0/5$ گرم و طول $0 \pm 8/5$ سانتی‌متر در هر آکواریوم قرار داده شد، به آکواریوم‌ها به ترتیب 8 غلظت (3، 2/5، 2، 1/5، 1، 0/75، 0/5 و 3/5 میلی‌گرم بر لیتر) برای فلز مس و 8 غلظت (100، 200، 220، 240، 260، 280، 300 و 320 میلی‌گرم بر لیتر) برای فلز سرب اضافه گردید.

ماهیان به مدت 96 ساعت در معرض این غلظت‌ها قرار گرفتند، و در طول این مدت غذادهی نمی‌شدند. این محدوده غلظت‌ها در اثر تکرار به دست آمد. به طوری که در غلظت‌های 0/5 میلی‌گرم بر لیتر از فلز مس و 100 میلی‌گرم بر لیتر از فلز سرب هیچ‌گونه تلفاتی مشاهده نشد و در غلظت‌های 3/5 میلی‌گرم بر لیتر از فلز مس و 320 میلی‌گرم بر لیتر از فلز سرب صددرد صد ماهیان تلف شدند. بنابراین غلظت‌های فوق انتخاب شد.

برای تعیین غلظت کشنده فلزات در هر 12 ساعت مرگومیر ماهی‌ها یادداشت و ماهی‌های مرده خارج گردید. سپس داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS18 مورد تحلیل آماری قرار گرفت و غلظت کشنده LC_{50} در زمان‌های 72، 48، 24 و 96 ساعت برای هر فلز محاسبه گردید.

به منظور بررسی تغییرات رفتاری نیز در طی 96 ساعت پس از اضافه نمودن فلزات، ماهیان به صورت



و 96 ساعت به ترتیب 2/562، 2/756، 2/944 و 2/31 میلی‌گرم بر لیتر برای فلز مس (جدول 1) و برای فلز سرب به ترتیب 268/065 و 315/841، 298/281، 456/419 میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد (جدول 2).

شدند. تفاوت‌های آماری در سطح اطمینان 95 درصد ($P < 0/05$) ارائه شدند.

تعیین LC50: سمیت حاد فلزات مس و سرب نشان داد که نرخ تلفات با غلظت فلزات رابطه مستقیم دارد. نتایج به دست آمده از آنالیز SPSS18 نشان داد که غلظت کشنده (LC_{50}) فلزات برای ماهی سفید در زمان‌های 72، 48، 24

جدول 1: غلظت کشنده فلز مس و سرب در طی 96 ساعت روی ماهی سفید 3-5 گرمی

غلظت سم (PPM)				نقطه	نام فلز سنگین
96h	72h	48h	24h		
1/549	1/722	1/808	1/886	LC ₁₀	سولفات مس CuSO ₄
2/310	2/562	2/756	2/944	LC ₅₀	
3/072	3/410	3/703	4/003	LC ₉₀	
233/330	243/187	252/092	264/189	LC ₁₀	نیترات سرب Pb(NO ₃) ₂
268/065	281/419	298/456	315/841	LC ₅₀	
302/800	319/551	344/821	367/494	LC ₉₀	

(13/4 میلی‌گرم بر لیتر نیترات سرب) نسبت به گروه شاهد فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($P > 0/05$). در حالی که شاخص‌های رشد در تیمارهای 2، 3 و 4 نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بودند. شاخص‌های رشد بین تیمارهای 2 و 3 نیز فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($P > 0/05$). به طوری که ماهیان گروه شاهد دارای بیشترین وزن نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و کمترین مقدار نرخ تبدیل غذایی بودند. از طرفی کمترین نرخ رشد ویژه و بیشترین نرخ تبدیل غذایی مربوط به تیمار چهار (0/22 میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس) بود ($P < 0/05$). افزایش نرخ تبدیل غذایی فقط در تیمار چهار (0/22 میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس) معنی‌دار بود ($P < 0/05$). برخی از مقادیر مربوط به شاخص‌های رشد در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشتند، نظیر فاکتور وضعیت. این نتایج نشان می‌دهد که حضور فلزات سنگین مس و سرب در آب، حتی در غلظت‌های تحت‌کشنده اثرات منفی روی شاخص‌های رشد داشته و باعث کاهش رشد ماهی می‌شود. از طرفی نتایج نشان می‌دهد که فلز مس اثرات سوء بیش‌تری نسبت به فلز سرب بر روی شاخص‌های رشد می‌گذارد.

تغییرات رفتاری: وقتی گروه شاهد با تیمارهای فلزی از لحاظ رفتاری مقایسه شد، تغییرات قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد. این تغییرات و واکنش‌های رفتاری که شامل بی-قراری، شنای سریع و نامنظم، تغییر ناگهانی در موقعیت و جهت حرکت، جهش و انجام فعالیت‌های اضافی می‌باشد، در لحظات اولیه از اضافه کردن فلزات بیش‌تر قابل ملاحظه بود. این تغییرات در غلظت‌های تحت‌کشنده هم مشهود بود. واکنش‌های فیزیولوژیکی از جمله حرکت سریع سرپوش آبششی نیز در لحظات اولیه پس از اضافه کردن فلزات بیش‌تر بود که بعد از آن به صورت گاهگاهی اتفاق می‌افتاد. همه این مشاهدات می‌تواند نشان‌دهنده کیفیت اکوسیستم‌های آبی از نظر آلاینده‌ها باشد. علائم عصبی یا واکنش‌های عصبی، شبیه حرکات تشنجی و از دست دادن تعادل در تیمارهای فلزی برای ماهی سفید مشاهده نشد.

شاخص‌های رشد: نتایج مربوط به شاخص‌های رشد در جدول 3 ارائه شده است. افزودن غلظت‌های تحت‌کشنده فلزات مس و سرب به آب، تفاوت‌های آماری معنی‌داری در رابطه با شاخص‌های رشد را در بین تیمارهای آزمایشی نشان داد ($P < 0/05$). ماهیان گروه شاهد رشد بهتری نسبت به تیمارهای فلزی داشتند. شاخص‌های رشد در تیمار یک

جدول 2: تأثیر غلظت‌های مختلف فلزات مس و سرب روی برخی از شاخص‌های رشد ماهی سفید طی 60 روز پرورش

T4	T3	T2	T1	شاهد	تیمار	شاخص‌های رشد
0/22 میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس	0/11 میلی‌گرم بر لیتر سولفات مس	26/8 میلی‌گرم بر لیتر نیترات سرب	13/4 میلی‌گرم بر لیتر نیترات سرب	بدون فلز		
3/0±91/18	3/0±87/04	3/0±90/05	3/0±93/07	3/0±90/06		وزن اولیه بر حسب گرم
4/0±42/17 ^c	4/0±62/06 ^b	4/0±63/06 ^b	4/0±71/08 ^a	4/0±74/06 ^a		وزن نهایی بر حسب گرم
0/0±52/03 ^c	0/0±75/06 ^b	0/0±73/02 ^b	0/0±79/02 ^{ab}	0/0±84/01 ^a		افزایش وزن (BWI) بر حسب گرم
52% ^c	75% ^b	73% ^b	79% ^{ab}	84% ^a		درصد افزایش وزن بدن (PBWI) (%)



0/0±20/02 ^c	0/0±29/03 ^{ab}	0/0±28/01 ^b	0/0±30/01 ^{ab}	0/0±32/01 ^a	نرخ رشد ویژه (% BW day ⁻¹) (SGR)
0/0±95/08 ^b	0/0±66/06 ^a	0/0±68/02 ^a	0/0±63/02 ^a	0/0±60/01 ^a	نرخ تبدیل غذای (FCR)(%)
0/0±79/03 ^a	0/0±81/01 ^a	0/0±83/01 ^a	0/0±82/01 ^a	0/0±82/01 ^a	فاکتور وضعیت (CF)
3/0±91/18	3/0±87/04	3/0±90/05	3/0±93/07	3/0±90/06	وزن اولیه بر حسب گرم

اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<0/05).

در بررسی شاخص‌های رشد در معرض فلزات مس و سرب نیز نشان داد که حضور این فلزات در غلظت‌های تحت‌کشنده موجب کاهش رشد شده و اثرات سوئی بر روی شاخص‌های رشد می‌گذارند که در این میان فلز مس اثرات سوء بیش‌تری نسبت به فلز سرب داشت. نتایج این تحقیق مطابق است با نتایج به‌دست آمده توسط Kim و Kang (2004) که گزارش دادند کاهش نرخ رشد ماهی *Sebarthes schlegeli* تحت استرس فلز مس که رشد آن با در معرض قرارگیری مس رابطه معکوس دارد. Hayat و همکاران (2007) نیز ماهیان انگشت‌قد سه گونه کپور *Cirrhina mrigala* و *C. catla* را به‌مدت 30 روز در معرض غلظت‌های تحت‌کشنده فلز منگنز قرار دادند. در طول این دوره هر سه گونه ماهی رشد منفی از خود نشان دادند. همچنین نتایج این تحقیق با یافته‌های Mohanty و همکاران (2009) که اثر سولفات مس را روی بقاء و رشد کپور هندی (*C. mrigala*) طی 60 روز مورد بررسی قرار دادند، مطابق است. آن‌ها اختلاف معنی‌داری برای نرخ رشد ویژه بین گروه شاهد و تیمار فلزی مشاهده کردند (p<0/01). گروه شاهد نرخ رشد ویژه بهتری نسبت به تیمار فلزی داشت. نتایج این تحقیق همچنین با یافته‌های Javed و همکاران (1993) که کپور ماهیان هندی (*C. mrigala*) را تحت استرس غلظت تحت‌کشنده سرب قرار دادند، مطابق است که نتایج کاهش معنی‌داری در افزایش وزن بدن (42/20 ± 35/52 گرم) نسبت به ماهیان شاهد (55/55 ± 29/47 گرم) نشان داد. با توجه به نتایج این تحقیق و نتایجی که محققین دیگر به آن دست یافته‌اند، فلزات سنگین باعث اثرات سوء بر روی شاخص‌های رشد ماهیان می‌شوند که این اثرات سوء می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی از جمله برهم خوردن تعادل یونی و ایجاد اختلال در متابولیسم باشد.

همچنین نتایج به‌دست آمده نشان داد فلز مس نسبت به فلز سرب برای ماهی سفید سمیت بیش‌تری دارد، که سمیت کم‌تر سرب ناشی از تمایل زیاد آن به واکنش با املاح آب به‌خصوص کربنات‌ها و در نتیجه رسوب و خارج شدن آن از ستون آب می‌باشد (Anderson و Morel، 1987). در هر صورت نتایج این تحقیق و تحقیقات دیگر نشان می‌دهد که واکنش‌های رفتاری ماهی در اغلب مسمومیت‌ها در ماهیان مختلف تا حدودی یکسان بوده و تغییرات ایجاد شده در جهت مقابله با عامل مسمومیت‌زا می‌باشد. از طرفی نوع گونه، سن و اندازه ماهی، روش‌های آزمایشی و کیفیت آب از قبیل سختی می‌توانند روی سمیت مواد سمی موثر باشند.

در این پژوهش تعیین غلظت کشنده فلزات سنگین مس و سرب، تغییرات رفتاری و برخی از شاخص‌های ماهیان سفید 3 تا 5 گرمی مورد بررسی قرار گرفت. که براساس نتایج به‌دست آمده میزان غلظت کشنده برای فلز مس در طی 96 ساعت برای 50% از بچه‌ماهیان سفید 2/310 میلی‌گرم بر لیتر و برای فلز سرب 268/065 میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد.

در تحقیقی که توسط گل‌مروی و همکاران (1386) بر روی بچه‌ماهیان سفید 1 گرمی صورت گرفت میزان LC₅₀ در طی 96 ساعت برای مس و سرب به‌ترتیب 1/92 و 259/12 میلی‌گرم بر لیتر تعیین شد. نسبت به مقادیر به‌دست آمده در این تحقیق کم‌تر می‌باشد که نشان می‌دهد سن و اندازه ماهی در سمیت فلزات تاثیر دارد، چرا که با افزایش سن و اندازه ماهی مقاومت در برابر فلزات سنگین نیز بیش‌تر می‌شود. مطابق تحقیق انجام شده توسط Alam و Maughan (1995) بر روی ماهیان کپور معمولی جوان با اندازه‌های طولی 4 و 6 سانتی‌متر که میزان LC₅₀ برای مس در طی 96 ساعت به‌ترتیب 0/3 و 1 میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد.

در تحقیقی که توسط Lam و Powaiکو (1998) بر روی تیلپیا و کپور معمولی صورت گرفت میزان LC₅₀ برای فلز مس در طی 96 ساعت، برای کپور معمولی 0/2 میلی‌گرم بر لیتر و برای تیلپیا 1/5 میلی‌گرم بر لیتر تعیین شد.

این نتایج نیز بیان‌گر این مطلب می‌باشند که حساسیت گونه‌های مختلف نسبت به فلزات متفاوت می‌باشد. البته عوامل دیگری نیز در این میان دخیل می‌باشند، از جمله خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب نظیر سختی آب، دما، اسیدیته و... مثلاً اغلب فلزات در آب‌های سبک نسبت به آب‌های سنگین سمیت بیش‌تر دارند.

واکنش‌های رفتاری که شامل بی‌قراری، شنای سریع و نامنظم، جهش و انجام فعالیت‌های اضافی می‌باشد، در لحظات اولیه از اضافه کردن فلزات بیش‌تر قابل‌ملاحظه بود. در رابطه با تغییرات فیزیولوژیکی و رفتاری، ناجی و همکاران (1385) طی تحقیقی دریافتند ماهیانی که تحت تاثیر فلز سنگین قرار گرفتند دچار اختلالات تنفسی شدند به‌طوری‌که سرپوش آبششی را تندتر باز و بسته کرده و در اطراف سنگ هوا و حباب‌های هوا شنا می‌کردند. رنگ ماهیان نیز در طول این دوره روشن بوده و ماهی دچار رنگ پریدگی بود. در هنگام آزمایش تعیین محدوده کشندگی، در غلظت‌های بالا، رفتار و حالت‌های غیرعادی ماهیان افزایش می‌یافت. در آبشش‌ها نیز علائمی نظیر کم‌خونی و رنگ‌پریدگی قابل مشاهده بود، که نتایج آن‌ها با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

منابع

12. **Finpederson, R., 1994.** Ecotoxicological Evaluation of industrial waste water. Ministry of the Environment. Denmark. pp: 360-380.
13. **Hayat, S.; Javed, M. and Razzaq, S., 2007.** Growth performance of metal stressed major carps viz. *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhina mrigala* reared under semi-intensive culture system. Pakistan Vet. J. Vol. 27, pp: 8-12.
14. **Heath, A.G., 1995.** Water pollution and fish physiology. Boca Raton: CRC press. pp: 141-170.
15. **Hevroy, E.M.; Espe, M.; Waagbo, R.; Sandness, K.; Rund, M. and Hemer, G.I., 2005.** Nutrition utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition. Vol. 11, pp: 113-125.
16. **Javed, M., 2005.** Heavy metal contamination of freshwater fish and bed sediments in the river Ravi stretch and related tributaries. Pakistan J. Biol. Sci. Vol. 8, pp: 1337-1341.
17. **Javed, M.; Hassan, M. and Javed, K., 1993.** Length weight relationship and condition factor of *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhina mrigala* reared under polyculture condition of pond fertilization and feed supplementation. Pak. J. Agri. Sci. Vol. 30, No. 2, pp: 167-172.
18. **Kim, S.G. and Kang, J.C., 2004.** Effect of dietary copper exposure on accumulation, growth and hematological parameters of the juvenile rockfish, (*Sebastes schlegeli*). Mar. Environ. Res. Vol. 58, pp: 65-82.
19. **Lam, K. and Powaike, L., 1998.** Metal Toxicity and Metallothionein Gene expression studies in common carp and Tilapia. Marine Environmental Research. Vol. 46, No. 1-5, PP: 563-566.
20. **Mohanty, M.; Adhikari, S.; Mohanty, P. and Sarangi, N., 2009.** Role of waterborne copper on survival, growth and feed Intake of Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* Hamilton. Bull. Environ. Contam. Toxicol. Vol. 82, pp: 559-563.
21. **Nussey, G.; Van Vuren, J.H.J. and Preez, H.H., 1995.** Effect of copper on the haematology and osmoregulation of the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 111C, pp: 369-380.
22. **Rand, G.M., 1995.** Fundamentals of aquatic toxicology. Second edition, Ecological Services Inc. Vol. 23, 338 p.
1. **امیدی، س.، 1376.** بررسی میزان فلزات سنگین در آب- های ساحلی استان بوشهر. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. مرکز تحقیقات شیلاتی خلیج فارس بوشهر. صفحات 2 تا 4 و 26 تا 29.
2. **گل‌مروری، د؛ نظامی، ش.؛ نگارستان، ح. و خارا، ح.، 1386.** بررسی و اندازه‌گیری غلظت کشنده فلزات سنگین مس و سرب بر ماهی سفید دریایی خزر. مجله علمی شیلات ایران. شماره 4، صفحات 169 تا 174.
3. **ناجی، ط؛ صفانیان، ش.؛ رستمی، م. و صبرجو، م.، 1385.** بررسی اثرات سولفات روی بر بافت آبشش بچه‌ماهی کپور معمولی. مجله علوم و تکنولوژی محیط‌زیست. شماره 2، صفحات 30 تا 36.
4. **Ai, Q.; Mai, K.; Tan, B.; Xu, W.; Duan, Q.; Ma, H. and Zhang, L., 2006.** (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture. Vol. 260, pp: 255-263.
5. **Alam, M.K. and Maughan, G., 1995.** Acute toxicity of heavy metals to common carp, J. ENVIRON-SCI.-Health. Vol. 30, No. 8, PP: 1807-1816.
6. **Anderson, D.M. and Morel, F., 1987.** Copper sensitivity of gonyaulax tamarens. Oceanography journal. Vol. 5, No. 2, pp: 310-340.
7. **Austreng, E., 1978.** Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. Aquaculture. Vol. 13, pp: 265-272.
8. **Barak, N.A.E. and Mas On, C.E., 1990.** Mercury, Cadmium and lead concentration in five species of freshwater fish from eastern England. Science of the Total Environmen. Vol. 92, pp: 257-64.
9. **Bekcan, S.; Dogankaya, L. and Cakirogullari, G.C., 2006.** Growth and body composition of European Catfish (*Silurus glanis* L.) fed diet containing different percentages of protein. The Israeli Journal of Aquaculture- Bamidged. Vol. 58, No. 2, pp: 137-142.
10. **Colins, S.P. and Brown, J.A., 1998.** Lamellara adhesion and impactions forgaseous exchange in Broun trout exposed to low levels of aluminium. Department of Biological Science. Hatherly Laboratories. University of Exeter. Devon, EX4 4PS. UK. pp: 51-55.
11. **De Boeck, G.; Vlaeminck, A. and Blust, R., 1997.** Effects of sublethal copper exposure on copper accumulation, food consumption, growth, energy stores, and nucleic acid content in common carp. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. Vol. 33, pp: 415-422.



23. **Roesijadi, C. and Robinson, W., 1994.** Metal regulation in aquatic animals: Mechanisms of uptake, Accumulation and release. In: DC Malins and GK Ostrander (Eds). Aquatic toxicology, molecular, biochemical and cellular perspectives. Boca Raton. CRC Press. pp: 387-420.
24. **Scherer, E.; McNicol, R.E. and Erans, R.E., 1997.** Impairment of lake trout foraging by chronic exposure to cadmium. A black-box experiment Aquat. Toxicol. Vol. 37, pp: 1-7.
25. **Sorensen, E. M., 1991.** Metal poisoning in fish. CRC press: Boca Raton. pp: 175-234.
26. **Tacon, A.G.J., 1990.** Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Argent Laboratories Press. pp: 4-24.

