ارزیابی سمیت حاد مس و نیکل بر بقای دافنی ماگنا (*Daphnia magna*)

نگین خروشی[۱]
پدرام ملک پوری[۲*]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اصفهان، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران، ایران

***مسئول مکاتبات:**
p.malekpouri@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۷۰۲۰۶۱۱
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۲۴
این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

چکیده

مس و نیکل از جمله عناصر کمیاب ضروری برای گیاهان و جانوارن هستند که به‌دلیل کاربردهای فراوان در صنایع و کشاورزی از طرق مختلف وارد اکوسیستم‌های آبی می‌گردند. مقادیر حاد این فلزات سبب مرگ‌ومیر آبزیان و حتی ازبین رفتن جامعه پلانکتونی اکوسیستم‌های آبی می‌گردد. این امر به‌نوبه خود تهدیدی جدی برای سایر موجودات‌زنده از طریق حذف سطوح اولیه تغذیه‌ای محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر به‌بررسی سمیت یون مس ($CuSO_4.5H_2O$) و یون نیکل ($NiSO_4.6H_2O$) بر نئونات‌های دافنی ماگنا (*Daphnia magna*) به‌عنوان یک مدل در سم‌شناسی اکولوژیکی در سال ۱۳۹۵ پرداخته شد. در این آزمایش، ۶۰ قطعه نئونات در معرض ۶ غلظت مختلف از مس (صفر یا شاهد، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۹، ۱/۳۵ و ۲/۲۵ میکروگرم بر لیتر) و ۶ غلظت مختلف از نیکل (صفر یا شاهد، ۱۸، ۳۲/۴۰، ۵۸/۳۲، ۱۰۴/۹۸، ۱۸۸/۹۶ میکروگرم بر لیتر) به‌صورت جداگانه طی ۴۸ ساعت قرار گرفتند. براساس پروتکل OECD۲۰۲، عدم‌تحرک (Immobilization) در بازه‌های زمانی ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت مورد-بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به‌دست آمده، میزان EC_{50} ۲۴ و ۴۸ ساعته مس برای نئونات‌های دافنی به‌ترتیب برابر با ۰/۹۳۱ و ۰/۶۶۷ میکروگرم بر لیتر و EC_{50} ۲۴ و ۴۸ ساعته نیکل به‌ترتیب برابر با ۱۶۳/۲۴ و ۵۰/۰۶ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد. درمجموع، نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده سمیت بیشتر مس در مقایسه با نیکل برای نئونات‌های دافنی است؛ بنابراین با توجه به کاربرد وسیع‌تر مس -حتی به-عنوان یک ماده آنتی‌سپتیک -در مزارع پرورش آبزیان می‌بایست توجه بیشتری نسبت به غلظت مصرفی آن اعمال داشت تاسبب از بین رفتن جامعه زئوپلانکتونی استخرهای پرورشی و اکوسیستم‌های آبی نگردد.

واژگان کلیدی: مس، نیکل، نئونات، دافنی ماگنا، EC_{50}.

مقدمه

با رشد جوامع بشری و افزایش فعالیت‌های انسانی، ورود آلاینده‌ها به منابع آبی به طرز چشمگیری افزایش یافته است (Singh and Agrawal, 2007). به همین جهت بررسی آلاینده‌های موجود در منابع آبی و تاثیر آن بر حیات آبزیان ساکن در آن اکوسیستم‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است (Rainbow, 2002). فلزات سنگین از جمله مهم‌ترین آلاینده‌های محیطی هستند که آلودگی اکوسیستم‌ها در اثر این فلزات سبب بروز خطرات جدی برای حیات آبزیان و حتی انسان گردیده است (Malekpouri *et al.*, 2016). فلزات سنگین عمدتاً شامل سرب، جیوه، کادمیم، کروم، مس، نیکل و غیره است که در بسیاری از موارد، سمی محسوب می‌شوند و اثرات نامطلوبی از خود برجای می‌گذارند (Govind and Madhuri, 2014). مطالعات نشان می‌دهد که بسیاری از رودخانه‌ها و رسوبات سطحی به فلزاتی چون نیکل، مس، روی، نقره و سایر موارد مشابه آلوده هستند (Ezeonyejiaku *et al.*, 2011).

نیکل از جمله فلزات سنگینی است که در صنایع مختلف کاربرد وسیعی دارد و این امر سبب شده است تا ترکیبات این فلز، به‌عنوان آلاینده-های پایدار محیطی محسوب شوند (Pane *et al.*, 2003). فعالیت‌های انسانی مانند معدن‌کاری، ذوب مواد گوناگون و سوزاندن زباله‌ها منجر

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]

به افزایش نیکل در اکوسیستم‌های آبی شده است (Du *et al.*, 2016). مس نیز به‌عنوان یک عنصر ضروری به‌صورت طبیعی در محیط وجود دارد. علاوه براین، فاضلاب‌های شهری، پسآب صنایع و معادن، رواناب‌های کشاورزی (Miner *et al.*, 2012) و حتی مصرف ترکیبات مختلف این عنصر به‌عنوان ماده آنتی سپتیک سبب افزایش بی‌رویه این عنصر در اکوسیستم‌های آبی و بالطبع جانداران ساکن در این اکوسیستم‌ها شده است (Guo *et al.*, 2012).

مس در محیط‌های آبی نسبت به سایر فلزات سمی‌تر است و در موارد بسیاری سبب بروز ناهنجاری‌های رفتاری (پاسخ حرکتی) در ماهیان و حتی بی‌مهرگان ساکن در آب‌های شیرین شده است (Ezeonyejiaku *et al.*, 2011). قرار گرفتن در معرض غلظت‌های تحت‌کشنده مس سبب تغییر در فعالیت‌های طبیعی موجود زنده و در پاره‌ای از موارد سبب تغییر رنگ بدن و تغییر در الگوی مصرف اکسیژن مورد نیاز آبزیان می‌شود (Kumar *et al.*, 2015). علاوه بر این، در مطالعه‌ای که روی جنس *Ceriodaphnia* sp. برای سنجش سمیت مس، روی و کادمیم صورت گرفت؛ مشخص شد که غلظت بالای این فلزات می‌تواند بر جمعیت گونه‌ی ذکرشده تاثیر نامطلوب بر جای گذارد (Mano *et al.*, 2011).

دافنی ماگنا (*Daphnia magna*) از جمله شاخص‌های زیستی به‌منظور ارزیابی میزان سمیت فلزات در محیط‌های آبی محسوب می‌شود چراکه برخی ویژگی‌های این گونه مانند رشد سریع و نرخ باروری بالا، استفاده از این گونه را به‌عنوان یک شاخص مناسب جهت سنجیدن تغییرات محیط‌های آبی در پی داشته است (Baird *et al.*, 1989). در مطالعات سم‌شناسی، *دافنی ماگنا* در پاسخ به سموم آلی، معدنی و آلاینده‌های ترکیبی مانند عوامل مخرب اندوکرینی و داروها، تغییرات نامطلوب در فرآیند رشد و تولید مثل، عدم تحرک و حتی مرگ و میر را به وضوح نشان می‌دهد (Siciliano *et al.*, 2015). این گونه در اکثر زیستگاه‌های آب شیرین وجود دارد و به‌عنوان یک منبع غذایی مهم برای سطوح بالاتر تغذیه‌ای نیز مطرح است (Das *et al.*, 2013). *دافنی ماگنا* به‌عنوان یک زئوپلانکتون از جلبک‌ها تغذیه می‌کند و با توجه به این‌که توسط سطوح بالاتر زنجیره غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد نقش مهمی در انتقال ماده، انرژی و حتی آلاینده‌ها از طریق شبکه‌ی غذایی دارد (Piscia *et al.*, 2015). به همین جهت هر گونه تغییر در جمعیت آن می‌تواند مبین تغییرات ایجاد شده در وضعیت آب و به دنبال آن تغییر در سطوح بالای زنجیره‌ی غذایی و سایر مصرف‌کنندگان باشد (Das *et al.*, 2013). مطالعات پیشین نشان دهنده تاثیر نامطلوب مس و نیکل بر بقا زئوپلانکتون‌ها از جمله *دافنی ماگنا* است. در این خصوص، Dave در سال ۱۹۸۴، تاثیر غلظت‌های مختلف مس بر بقا، رشد و تولید مثل *دافنی ماگنا* را مورد مطالعه قرار داد. Arambašić و همکاران (۱۹۹۵) تاثیر تعدادی از فلزات از جمله مس بر بقا *دافنی ماگنا* را سنجیدند. در مطالعه دیگری، میزان بقا و رشد *دافنی ماگنا* در پاسخ به مس و نیکل به‌صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت (Biesinger and Christensen, 1972). مطالعات مشابهی نیز در خصوص تاثیر مس و نیکل بر بقا و رشد سایر گونه‌های دافنی نیز صورت پذیرفته است (Martins *et al.*, 2017; Kim, *et al.*, 2017). از این‌رو مشاهده پاسخ‌های حرکتی و میزان بقا در جمعیت دافنی ماگنا از منظر اکولوژیکی حائز اهمیت است (Prosnier *et al.*, 2015) چراکه متعاقب تغییر در هر یک از فرآیندهای زیست محیطی، جمعیت دافنی‌ها دچار سازگاری‌های مختلفی از جمله تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و رفتاری می‌شوند (Miner *et al.*, 2012). بنابراین بررسی سمیت فلزات سنگین نقش مهمی در ارزیابی اثرات بالقوه آلاینده‌های زیست محیطی در محیط‌های مختلف و تاثیر آن بر آبزیان و زنجیره‌های غذایی موجود در آن اکوسیستم خواهد داشت (Vandenbrouck *et al.*, 2009). حضور فلزاتی نظیر مس و نیکل در اکثر اکوسیستم‌های آبی کاملاً مشخص شده است چراکه این فلزات از طریق صنایع مختلف و کشاورزی به‌وفور وارد اکوسیستم‌های آبی می‌شوند و بالطبع سبب ایجاد تغییرات مهمی بر آبزیان ساکن در این اکوسیستم‌ها می‌شوند، لذا بررسی تاثیر این فلزات بر اکوسیستم‌های آبی ضروری به‌نظر می‌رسد؛ بنابراین هدف از تحقیق حاضر بررسی سمیت یون مس و نیکل بر نئونات‌های *دافنی ماگنا* (*D. magna*) به‌عنوان یک مدل در سم‌شناسی اکولوژیکی است.

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از نمک مس به‌صورت $CuSO_4.5H_2O$ محصول کارخانه Panreac اسپانیا و از نمک نیکل به صورت $NiSO_4.6H_2O$ محصول شرکت Acros ایالات متحده استفاده گردید.

این تحقیق در سال ۱۳۹۵ با استفاده از نئونات‌های *دافنی ماگنا* (*D. Magna*) با سن کمتر از ۲۴ ساعت انجام پذیرفت. چراکه براساس پروتکل پیشنهادی OECD، می‌بایست از نئونات‌هایی با سن مشابه استفاده نمود تا از تاثیر سن بر پاسخ مشاهده شده، اجتناب شود. به این منظور، مولدین دافنی در ظروف جداگانه نگهداری و با جلبک *Scenedesmus* sp. به تعداد ۱۰۵× ۵-۴ سلول به ازای هر دافنی روزانه تغذیه شدند. از نئونات‌هایی که در اولین زادآوری حاصل شده‌اند جهت بررسی سمیت مس و نیکل استفاده نگردید. پس از بررسی نئونات‌ها در زیر لوپ و اطمینان از عدم وجود ظاهر رنگ پریده، ناقص و یا هرگونه رفتار غیر طبیعی در آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

به منظور بررسی سمیت حاد مس و نیکل بر *دافنی ماگنا* و تعیین غلظت میانه موثر (EC_{50}) مطابق با پروتکل OECD 202، از تست عدم تحرک (Immobilization) استفاده گردید. به این منظور، ۶۰ قطعه نئونات در معرض ۶ غلظت مختلف از یون مس، شامل غلظت صفر یا شاهد، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۹، ۱/۳۵ و ۲/۲۵ میکروگرم بر لیتر و همچنین یون نیکل شامل غلظت‌های صفر یا شاهد، ۱۸، ۳۲/۴۰، ۵۸/۳۲، ۱۰۴/۹۸، ۱۸۸/۹۶ میکروگرم بر لیتر به‌صورت جداگانه قرار گرفتند. این غلظت‌ها براساس پیش آزمایش‌هایی صورت پذیرفت که طی آن، گونه مذکور در این غلظت‌ها فاقد و یا دارای تلفات بود (روش up and down). غلظت‌های در نظر گرفته شده برای مس به مراتب کمتر از استاندارد تعیین شده توسط دولت استرالیا و ایالات متحده بود و برای نیکل از غلظت موثره تعیین شده توسط دولت استرالیا بیشتر و در مقایسه با غلظت مجاز ایالات متحده کمتر بود (جدول ۱). در هر ظرف ۵ نئونات با سن کمتر از ۲۴ ساعت قرار داده شد. حجم آب هریک از ظروف ۲۰۰ میلی لیتر در نظر گرفته شد و براساس روش semi-static، روزانه کل آب هر تیمار تعویض و به آب کلرزدایی شده مقادیر مورد نظر فلز مس یا نیکل اضافه گردید. عدم تحرک نئونانت‌ها در بازه‌های زمانی ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعته مورد بررسی قرار گرفتند. جهت افزایش دقت در تشخیص تحرک و یا عدم تحرک نئونات‌ها در هر کدام از تیمارها، هریک از نئونات‌ها به صورت انفرادی در مدت زمان ۱۵ ثانیه با نور کافی مورد بررسی قرار گرفتند و عدم تحرک در هر غلظت برای هر نئونات به‌صورت جداگانه ثبت شد. عدم تحرک تنها زمانی تایید شد که علیرغم ایجاد تلاطم آهسته در آب، نئونات‌ها همچنان بدون تحرک باقی ماندند (حرکت آنتن اهمیتی ندارد). نئونات‌های مرده نیز در زمان‌های مشابه بررسی و ثبت گردید. پس از مشاهده و بررسی، نئونات‌های بدون تحرک و یا مرده از ظرف آزمایش خارج شدند. در پایان آزمایش، داده‌های حاصل از تست سمیت حاد به منظور محاسبه غلظت میانه موثر (EC_{50}) مورد آنالیز قرار گرفتند. مراحل آزمایش در شکل ۱ به تصویر کشیده شده است.

جدول ۱: استاندارد تعیین شده توسط دولت استرالیا و ایالات متحده برای فلزات مس و نیکل در محیط آبی.

فلز	غلظت موثره ۹۵٪ (میکروگرم بر لیتر)[1]		حداکثر غلظت مجاز (میکروگرم بر لیتر)[2]
	سختی ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر	سختی ۲۷۸-۲۵۵ میلی‌گرم بر لیتر	سختی ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر
مس	۱/۴	۹/۵۴-۸/۶۳	۱۳/۰
نیکل	۱۱/۰	۷۲/۹۹-۶۷/۸۲	۴۷۰/۰

۱. ANZECC, 2000

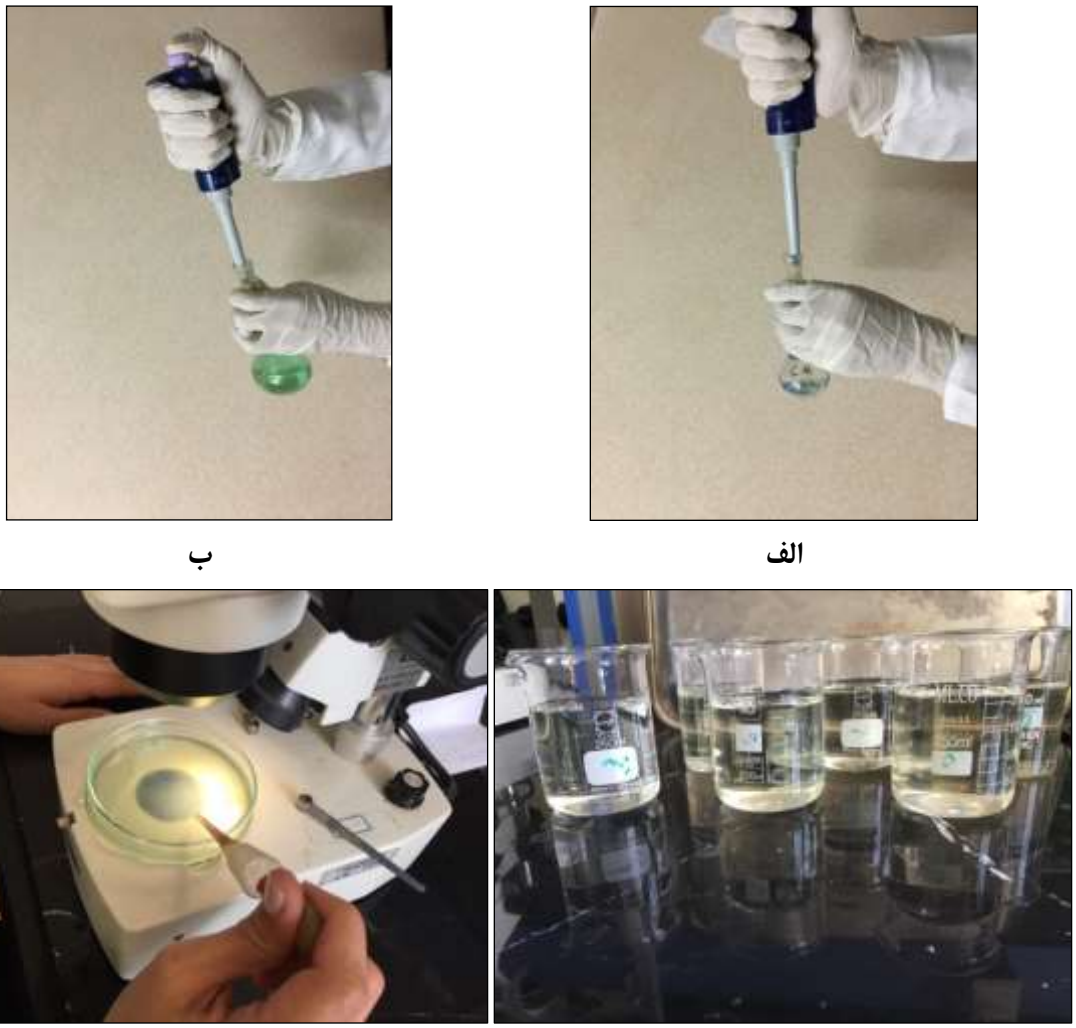
۲. USEPA, 2004

هریک از تیمارها به‌صورت محدود به منظور حفظ سطح اکسیژن، هوادهی گردید. پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب در طول دوره آزمایش به‌صورت مرتب اندازه‌گیری شد (APHA, 2005). دما (۲۰/۴-۲۰/۰ درجه سانتی گراد)، pH (۸/۱۱-۷/۹۶)، هدایت الکتریکی (۲۲۹-۲۲۱

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]

میکروزیمنس بر سانتی متر)، اکسیژن محلول (۶/۱-۵/۹ میلی‌گرم بر لیتر)، سختی (۲۸۷- ۲۵۵ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم) و جامدات کل (۴۰۱-۳۲۲ میلی‌گرم بر لیتر) به‌دست آمد.

عدم تحرک در فواصل زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت ثبت و در نهایت با استفاده از آنالیز رگرسیون پروبیت (SPSS ویرایش ۱۸) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و غلظت موثره یا Effective Concentration (EC_X) های مختلف در بازه های زمانی مذکور به دست آمد. علاوه براین، آنالیز رگرسیون خطی خطوط لگاریتم-پروبیت نیز با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۸ انجام پذیرفت. میانگین به‌همراه ۹۵ درصد محدوده اطمینان محاسبه و فراوانی تجمعی تلفات نئونات‌ها نیز متعاقب سمیت مس و نیکل ترسیم گردید.



الف ب

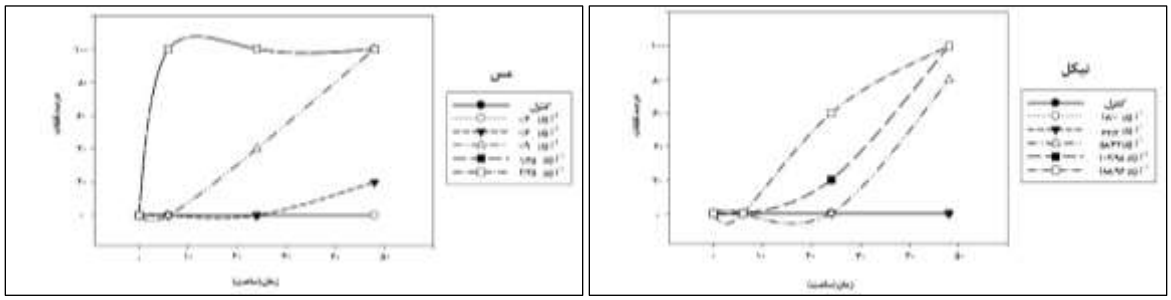
ج د

شکل ۱: مراحل آزمایش را شنان می دهد. (الف و ب): برداشتن مس و نیکل از محلول استوک، (ج): تیمارهای آزمایشی و (د): مشاهده عدم تحرک دافنی زیر لوپ.

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]

نتایج

نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که تلفات نئونات‌ها طی ۶ ساعت، تنها در تیمارهای ۱/۳۵ و ۲/۲۵ میکروگرم بر لیتر از مس قابل مشاهده بوده است و سایر تیمارهای مس فاقد تلفات بود. طی ۲۴ ساعت نیز ۴۰ درصد از نئونات‌های تیمار ۰/۹ میکروگرم بر لیتر مس تلف شدند، این در-حالیست که طی ۴۸ ساعت در معرض قرارگیری با مس، میزان تلفات در تیمار مذکور به ۱۰۰ درصد جمعیت رسید و تیمار ۰/۶ میکروگرم بر لیتر نیز شاهد ۲۰ درصد تلفات در زمان مشابه بود. گروه شاهد و تیمار ۰/۴ میکروگرم بر لیتر مس نیز هیچ‌گونه تلفاتی را تا پایان آزمایش نشان ندادند. در خصوص تیمارهای نیکل، طی ۶ ساعت در معرض قرارگیری هیچ‌گونه تلفاتی در جمعیت نئونات‌های دافنی مشاهده نگردید در حالیکه طی ۲۴ ساعت، تیمارهای ۱۰۴/۹۸ و ۱۸۸/۹۶ میکروگرم بر لیتر نیکل به‌ترتیب سبب مرگ و میر ۲۰ درصد و ۶۰ درصد جمعیت شدند. تیمارهای ۵۸/۳۲، ۱۰۴/۹۸ و ۱۸۸/۹۶ میکروگرم بر لیتر نیکل طی ۴۸ ساعت به‌ترتیب سبب مرگ و میر ۸۰ درصد، ۱۰۰ درصد و ۱۰۰ درصد جمعیت نئونات‌ها شدند و در سایر تیمارها هیچ گونه تلفاتی مشاهده نگردید (شکل ۲).



شکل ۲: فراوانی تجمعی تلفات در اثر تیمارهای نیکل و مس طی ۴۸ ساعت.

به‌منظور مقایسه کامل سمیت ترکیبات سمی بر گونه‌های مختلف، تخمین‌های نقطه‌ای به‌دست آمده از آنالیز رگرسیون پروبیت از جمله مقادیر EC_1، EC_5، EC_{10}، EC_{25}، EC_{50}، EC_{75}، EC_{90}، EC_{95} و EC_{99} برای یون مس و نیکل به همراه ۹۵ درصد محدوده اطمینان محاسبه و در جدول ۲ ارایه شده است. همانطور که مشخص شده است، EC_1 که در بسیاری از مطالعات آن را با NSDC (Not Statistically Different from the Control concentration) معادل می‌دانند، هیچ تاثیری بر نئونات‌های دافنی ماگنا نداشته است. از طرفی اعداد به‌دست آمده در محدوده EC_5 و EC_{10} کمترین تاثیر مس و نیکل را بر گونه دافنی ماگنا نشان می‌دهند و می‌توان از آنها به‌عنوان غلظت‌های مزمن دارای تاثیر (Chronic Value) یاد کرد. هم‌چنین EC_{50} فلز نیکل برای دافنی ماگنا طی ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌ترتیب برابر با ۱۶۴/۲۴۳ و ۵۰/۰۶۷ میکروگرم بر لیتر بوده است. محدوده اطمینان برای EC50 به‌دست آمده طی ۲۴ ساعت طبق جدول ۲ برابر با ۱۷۲/۴۵۵- ۱۵۶/۰۳۱ و برای ۴۸ ساعت برابر با ۵۲/۵۷- ۴۷/۵۶۴ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد. میزان EC50 مس طی ۲۴ ساعت به‌همراه حدود اطمینان ۹۵ درصدی نیز عبارت است از ۰/۹۳۱ (۰/۹۹۷-۰/۸۸۵) میکروگرم بر لیتر و این شاخص طی ۴۸ ساعت در معرض قرار گیری با مس برابر با ۰/۶۶۷ (۰/۷۰۰-۰/۶۳۴) میکرو گرم بر لیتر برای فلز مس به‌دست آمد (جدول ۲).

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]

جدول ۲: میزان EC_{50} مس و نیکل به همراه محدوده اطمینان ۹۵ درصد.

EC_x	نیکل (میکرو گرم بر لیتر)		مس (میکرو گرم بر لیتر)	
	۲۴ ساعته	۴۸ ساعته	۲۴ ساعته	۴۸ ساعته
۱	۵۶/۶۲۷ (۵۳/۷۶۹–۵۹/۴۵۸)	۳۳/۹۰۲ (۳۲/۲۰۷–۳۵/۵۹۷)	۰/۶۹۹ (۰/۶۶۵–۰/۷۳۳)	۰/۵۰۳ (۰/۴۷۸–۰/۵۲۸)
۵	۷۷/۳۵۷ (۷۳/۴۸۹–۸۱/۲۲۴)	۳۸/۰۰۴ (۳۶/۱۰۴–۳۹/۹۰۴)	۰/۷۶۰ (۰/۷۲۲–۰/۷۹۸)	۰/۵۴۶ (۰/۵۱۹–۰/۵۷۳)
۱۰	۹۱/۳۵۳ (۸۶/۷۸۶–۹۵/۹۲۰)	۴۰/۳۹۰ (۳۸/۳۷۱–۴۲/۴۰۹)	۰/۷۹۵ (۰/۷۵۶–۰/۸۳۴)	۰/۵۷۱ (۰/۵۴۳–۰/۵۹۸)
۲۵	۱۲۰/۶۱۶ (۱۱۴/۵۸۶–۱۲۶/۶۴۶)	۴۴/۷۱۵ (۴۲/۴۸–۴۶/۹۵)	۰/۸۵۷ (۰/۸۱۵–۰/۸۹۹)	۰/۶۱۴ (۰/۵۸۴–۰/۶۴۴)
۵۰	۱۶۴/۲۴۳ (۱۵۶/۰۳۱–۱۷۲/۴۵۵)	۵۰/۰۶۷ (۴۷/۵۶۴–۵۲/۵۷)	۰/۹۳۱ (۰/۸۸۵–۰/۹۷۷)	۰/۶۶۷ (۰/۶۳۴–۰/۷)
۷۵	۲۲۳/۶۵۲ (۲۱۲/۷۴–۲۴۳/۸۳۴)	۵۶/۰۵۹ (۵۳/۲۵۷–۵۸/۸۶۱)	۱/۰۱۲ (۰/۹۶۲–۱/۰۶۲)	۰/۷۲۳ (۰/۶۸۷–۰/۷۵۹)
۹۰	۲۹۵/۲۹۲ (۲۸۰/۵۲۸–۳۱۰/۰۵۶)	۶۲/۰۶۲ (۵۸/۹۵۹–۶۵/۱۶۵)	۱/۰۹۰ (۱/۰۳۶–۱/۱۴۴)	۰/۷۷۹ (۰/۷۴۱–۰/۸۱۷)
۹۵	۳۴۸/۷۱۸ (۳۳۱/۲۸۳–۳۶۶/۱۵۳)	۶۵/۹۵۹ (۶۲/۶۶۲–۶۹/۲۵۶)	۱/۱۴۰ (۱/۰۸۳–۱/۱۹۷)	۰/۸۱۴ (۰/۷۷۴–۰/۸۵۴)
۹۹	۴۷۶/۳۷۶ (۴۵۲/۵۵۸–۵۰۰/۱۹۴)	۷۳/۹۳۹ (۷۰/۲۴۳–۷۷/۶۳۵)	۱/۲۴۰ (۱/۱۷۸–۱/۳۰۲)	۰/۸۸۴ (۰/۸۴–۰/۹۲۸)

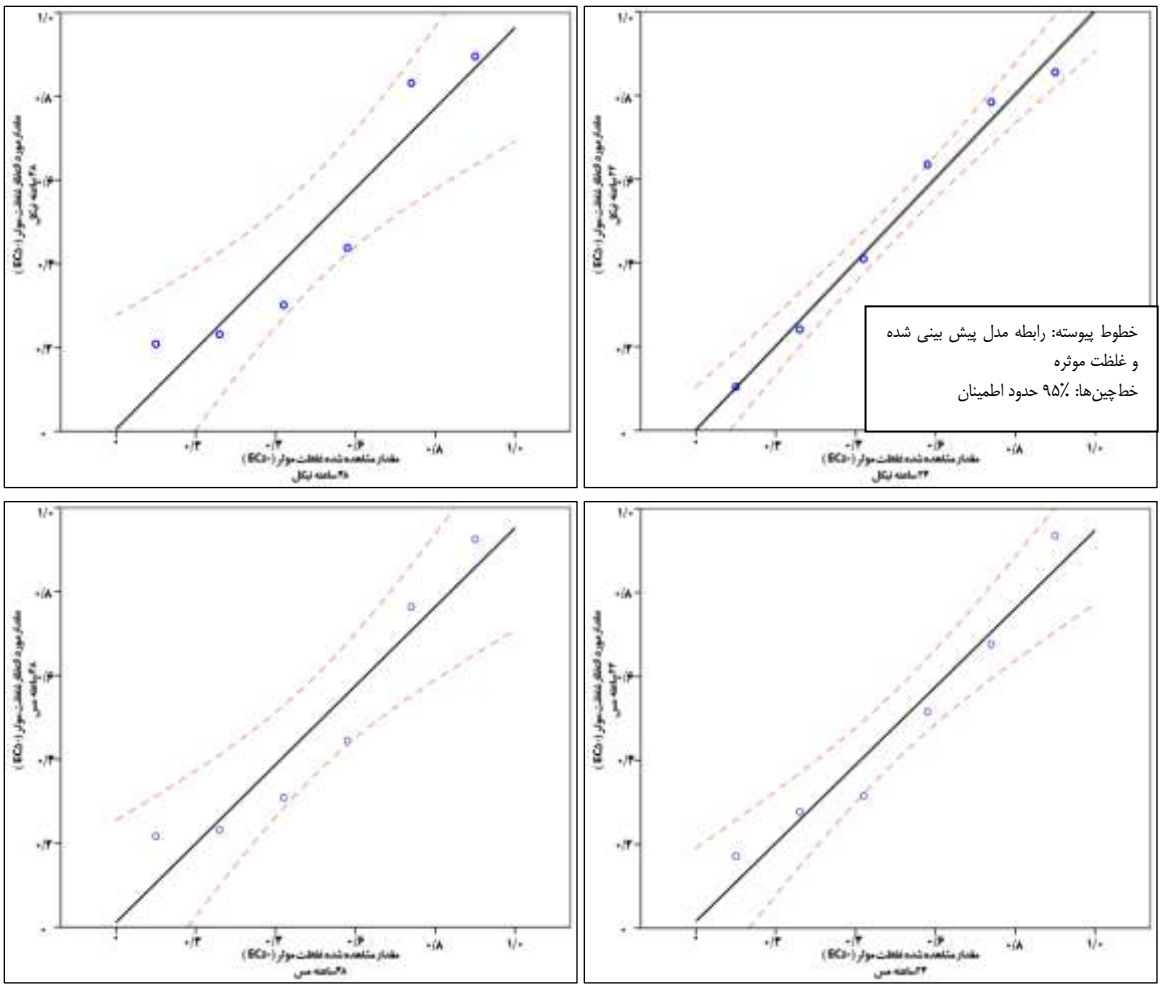
همانطور که از جدول ۳ و شکل ۳ قابل درک است، مدل لگاریتم–پروبیت بهترین مدل جهت ارزیابی غلظت موثره نیکل و مس بر نئونات-های دافنی ماگنا است چراکه کمترین فاکتور اختلاف در این مدل مشاهده شده است. این امر مبین این مساله است که بهترین پیش‌بینی در مدل لگاریتم–پروبیت قابل حصول بوده است. همبستگی بالای مدل ارایه شده در جدول ۳ نشان‌دهنده کارایی بالای مدل تخمین زده شده در خصوص غلظت موثره مس و نیکل در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت است.

جدول ۳: آنالیز رگرسیون خطوط لگاریتم–پروبیت برای سمیت نیکل و مس در *D. Magna*.

	نیکل		مس	
	۲۴ ساعت	**۴۸ ساعت**	**۲۴ ساعت**	**۴۸ ساعت**
a	۰/۰۳۱	۰/۰۱۶	۲/۷۷۳	۲/۶۵۸
b	۰/۲۴۰	–۰/۴۳۹	–۰/۵۴۲	۰/۲۳۱
R	۰/۸۴۵	۰/۹۵۲	۰/۹۰۲	۰/۸۲۰
r^2	۰/۷۱۴	۰/۹۰۷	۰/۸۱۳	۰/۶۷۲
تعداد	۵	۵	۵	۵

a و b براساس معادله خطی، $y=a+bx$

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]



شکل ۳: رابطه بین EC50 پیش‌بینی شده نیکل و مس در *D. magna* طی زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت. مدل رگرسیون خطی به همراه حدود اطمینان ۹۵٪ مشخص شده است.

بحث و نتیجه گیری

مطالعات سم شناسی از جمله شیوه‌های مفید جهت ارزیابی اثرات سموم مختلف در اکوسیستم‌های آبی است که طی آن به بررسی سرنوشت سموم پرداخته می‌شود. تست سمیت حاد نیز با بهره‌گیری از روش‌های استاندارد به بررسی تاثیر کشنده و حاد سموم بر میزان فعالیت و بقای آبزیان ساکن در اکوسیستم‌های آبی طی شرایط آزمایشگاهی مشابه می‌پردازد (Ezeonyejiaku *et al.*, 2011). تاکنون مطالعات بسیاری در رابطه با اثرات نامطلوب فلزات بر ماهیان صورت گرفته است؛ با این‌حال توجه کمتری به اثرات سو این دسته از آلاینده‌ها بر جوامع پلانکتونی معطوف شده است (Tyagi *et al.*, 2007). سمیت یک عنصر به غلظت و حالت شیمیایی آن در محیط، میزان دسترسی زیستی، جذب و دفع آن بستگی دارد (Khan, 2011). عوارض جانبی قرار گرفتن در معرض مواد سمی برای آبزیان باتوجه به موارد گفته شده متفاوت است؛ این عوارض برای آبزیانی مانند *دافنی ماگنا* به علت ساختار ساده‌ی بدن، از طرق مختلف بروز می‌نماید و عمدتاً به شکل تاثیر بر میزان بقا، تحرک، رشد و تولید مثل خود را نشان می‌دهد (Das *et al.*, 2013).

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]

نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که میزان بقا در مقادیر اندک مس (۰/۴ میکروگرم بر لیتر) و یا نیکل (۱۸/۰ و ۳۲/۴ میکروگرم بر لیتر) طی ۴۸ ساعت همانند گروه شاهد تا صد درصد حفظ شده است. نتایج مشابهی در مطالعات پیشین روی *D. carinata* نیز منتشر شده است (Cooper *et al.*, 2009). بر این اساس، در تیمار ترکیبی مس (۱/۳ میکروگرم بر لیتر)، روی (۱۳ میکروگرم بر لیتر) و سرب (۱/۱ میکروگرم بر لیتر) در غلظت‌های کمتر از استاندارد تعیین شده توسط دولت استرالیا و ایالات متحده، هیچ گونه تلفاتی دیده نشد. این درحالیست که در مطالعه حاضر، در غلظت ۱/۳۵ میکروگرم بر لیتر طی ۲۴ و ۴۸ ساعت، صد درصد جمعیت تلف شدند. این امر احتمالاً به دلیل اثر تداخلی فلز مس در مقابل روی و سرب است که علیرغم سختی بیشتر آب (۲۷۸–۲۵۵ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم) در مطالعه حاضر در مقایسه با مطالعه Cooper و همکاران (۲۰۰۹) (۱۰۰–۸۰ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم) قابل مشاهده است؛ بنابراین، با وجود سختی بیشتر در مطالعه فعلی که خود در عمل سبب کاهش دسترسی زیستی یون‌های فلزی و در نتیجه سمیت آنها می‌شود (Kozlova *et al.*, 2009؛ Naddy *et al.*, 2003)، وجود یون‌های فلزی دیگر مانع بروز اثرات سمی مس می‌شود. علاوه براین، سایر پارامترهای کیفی آب مانند pH، شوری، قلیاییت و غیره نیز می‌تواند بر سمیت فلزات تاثیر گذار باشد (Hyne *et al.*, 2005)؛ بنابراین، آزمایشی که در آن به حضور ترکیبی فلزات پرداخته شود، می بایست در مطالعات آتی مورد بررسی قرار گیرد.

مطالعات مشابهی درخصوص تاثیر مس بر گونه‌ی *دافنی ماگنا* صورت گرفته است که نشان دهنده‌ی سمیت مس در غلظت‌های بالا در محیط‌های آبی است (De Schamphelaere *et al.*, 2004). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که EC50 مس طی ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌ترتیب برابر با ۰/۹۳۱ و ۰/۶۶۷ میکروگرم بر لیتر است. این مقدار در مقایسه با EC50 به‌دست آمده در مطالعه (Khangarot and Ray, 1987) که به‌ترتیب به میزان ۰/۵۳۹ و ۰/۰۹۳ میکروگرم بر لیتر گزارش شده است، بیشتر است (به‌ترتیب ۷۲/۷ درصد و ۷/۱ برابر). نتایج تحقیقات روی *C. dubia* نشان داد که غلظتی در حدود ۱۸ میکروگرم بر لیتر می تواند به‌عنوان غلظت موثر ۴۸ ساعته محسوب شود. این غظت در مورد *D. carinata* به‌مراتب بیشتر (۳۷/۳ میکروگرم بر لیتر) است (Cooper *et al.*, 2009). عمده‌ی تفاوت مشاهده شده بین غلظت موثر مس در مطالعه حاضر با سایر مطالعات ذکر شده به‌دلیل تفاوت در پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب است. در مطالعه‌ای روی گونه های مختلف دافنی از جمله دافنی ماگنا، میزان LC_{50} ۷۲ ساعته برای مس در pH قلیایی (۹/۵–۸/۲) در حدود ۸۶/۰–۶۷/۷ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد (Winner and Farrell, 1976). بنابراین علیرغم تشابه در سایر شرایط کیفی آب، pH سبب افزایش غلظت موثره مس در جنس دافنی شده است.

هم‌چنین مطالعه‌ی صورت گرفته توسط (Evens *et al.*, 2009) نشان می‌دهد که نیکل موجود در آب سبب تغییر کیفیت آب و رژیم غذایی شده و بر جمعیت گونه‌ی *دافنی ماگنا* تاثیر نامطلوب بر جای می‌گذارد. میزان EC50 نیکل برای *دافنی ماگنا* در مطالعه حاضر ۱۶۴/۲۴۳ و ۵۰/۰۶۷ میکروگرم بر لیتر به ترتیب طی ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌دست آمد. در گونه‌ی دیگری از دافنی ها (*C. dubia*)، با شرایط فیزیکوشیمیایی تقریباً مشابه، EC_{50} ۴۸ ساعته بین ۴۰۰–۸۱ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد (Keithly *et al.*, 2004). در مطالعه دیگری با شرایط فیزیکوشیمیایی متفاوت (دما ۱۳ درجه سانتی‌گراد و pH ۷/۶) EC_{50} نیکل طی ۲۴ و ۴۸ ساعت برای *دافنی ماگنا* به‌ترتیب ۱۰/۹ و ۷/۵۹ میکروگرم بر لیتر به دست آمد (Khangarot and Ray, 1987) چراکه pH و دما نقش تعیین کننده‌ای در سمیت فلزات دارند؛ به‌عبارتی، با کاهش pH سمیت فلزات کمتر شده و بالطبع میزان EC_{50} افزایش می‌یابد (Kozlova *et al.*, 2009). مقدار سمیت نیکل به شدت تحت تاثیر سختی آب است، بطوریکه در آب‌های سبک (سختی ۴۵ میلی‌گرم بر لیتر) EC_{50} ۴۸ ساعته نیکل در حدود ۱۰۴۸ میکروگرم بر لیتر گزارش شده است (Pane *et al.*, 2003).

پیش از این نشان داده شده است که *دافنی ماگنا* نسبت به گونه‌های دیگر در برابر تغییرات محیطی و افزایش غلظت فلزات، ظرفیت تحمل بیشتری دارد (Bellavere and Gorbi, 1981; Piscia *et al.*, 2015). در مقایسه با *Ceriodaphnia* sp. نیز تحمل بالاتری در جنس *Daphnia* sp. گزارش شده است. این امر احتمالاً به دلیل سازگاری بهتر جنس *Daphnia* sp. در مقابل استرس‌های ناشی از آلاینده‌ها

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]

است (Shaw *et al*., 2006؛Koivisto, 1995). نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد که سمیت فلزات مورد مطالعه؛ یعنی، مس و نیکل در صورت تشابه شرایط کیفی آب در گونه *دافنی ماگنا* تا اندازه ای کمتر از گونه‌های مشابه است.

علی‌رغم حساسیت کمتر دافنی ماگنا در مقایسه با سایر زیست‌مندان ساکن در اکوسیستم‌های آبی، این گونه به‌عنوان یک زیست‌مند آب شیرین می‌تواند شاخص مناسبی برای بررسی سمیت فلزات در آب باشد (Baird *et al*., 1989). در صورت مقایسه‌ی نتایج به‌دست آمده از تیمارهای مس و نیکل می‌توان به تاثیر بیشتر سمیت مس نسبت به نیکل بر *دافنی ماگنا* پی برد. علاوه براین، با بررسی میزان ECهای مختلف بین ۲۴ و ۴۸ ساعت نیز این نکته قابل درک است که با افزایش زمان، غلظت موثر مس و نیکل کاهش می‌یابد. این بدان معنا است که با گذشت زمان بر میزان سمیت مس و نیکل افزوده شده است و با کمی تاخیر میزان مرگ و میر نئونات‌ها نیز افزایش می‌یابد. علی‌رغم عدم امکان مقایسه آماری، تغییرات نیکل در مقایسه با مس مشهود تر است. با مقایسه EC_1 الی EC_{99} نیز روند افزایشی قابل مشاهده است که البته بزرگنمایی مشاهده شده برای نیکل تا اندازه‌ای بیشتر از مس است (۲/۱۶ برابر برای نیکل و ۱/۷۵ برابر برای مس).

تیمارهایی که در معرض غلظت‌های بالا (۰/۹، ۱/۳۵ و ۲/۲۵ میکروگرم بر لیتر) از مس قرار گرفته بودند در بازه‌ی زمانی ۴۸ ساعته مرگ و میر بیشتری نسبت به تیمارهای قرار گرفته در معرض فلز نیکل در غلظت‌های بالا در همان بازه‌ی زمانی داشتند که این مسئله نشان دهنده‌ی حساسیت بالاتر مس در مقایسه با نیکل و تاثیر بیشتر آن بر *دافنی ماگنا* است و می‌توان دریافت که میزان کمتری از مس در مقایسه با نیکل تاثیر بیشتری بر نئونات‌ها دارد. به‌طور مشابه، Arambašićو همکاران (۱۹۹۵) و Khangarot و Ray (۱۹۸۷) نیز سمیت بیشتر مس را در مقایسه با سایر فلزات گزارش نموده‌اند.

به‌طور کلی، با توجه به کاربرد وسیع‌تر مس – حتی به‌عنوان یک ماده آنتی سپتیک – در مزارع پرورشی باید توجه بیشتری نسبت به غلظت مصرفی آن اعمال داشت تا سبب از بین رفتن جامعه زئوپلانکتونی استخرهای پرورشی و اکوسیستم‌های آبی نگردد. هم‌چنین در سال‌های اخیر استفاده از آفت‌کش‌های حاوی فلزات سنگین مانند مخلوط بوردو (سولفات مس) و مس اکسی‌کلراید در مقادیر مختلف به دلیل عملکرد مناسب آن‌ها در مهار آفات افزایش یافته (Liu *et al*., 2012) و بالطبع سبب ورود آن‌ها به اکوسیستم‌های خشکی و آبی و تجمع آن‌ها در محیط‌های گوناگون شده است. در نتیجه، با ورود این مواد به زنجیره‌ی غذایی نگرانی‌های محیط زیستی نیز افزایش یافته است. نتایج مطالعه حاضر به وضوح نشان می‌دهد که سمیت مس برای این گونه بیشتر از نیکل است و درنتیجه مقادیر کمتر آن سبب بروز اثرات نامطلوب بیشتری بر *دافنی ماگنا* می‌شود؛ بنابراین، با توجه به کاربردهای مطرح شده برای مس، در هنگام استفاده از آن جهت مقاصد آبزی‌پروری، باید دقت بیشتری در این خصوص اعمال نمود.

منابع

ANZECC, ARMCANZ, 2000. Australian and New Zealand guidelines for Fresh and Marine Water Quality. In: The Guidelines, vol. 1. Australian and New Zealand Environmental Conservation Council, Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand, Canberra.

APHA, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st ed American Public Health Association, Washington DC, 1220p.

Arambašić, M. B., Bjelić, S. and Subakov, G., 1995. Acute toxicity of heavy metals (copper, lead, zinc), phenol and sodium on *Allium cepa* L., *Lepidium sativum* L. and *Daphnia magna* St.: comparative investigations and the practical applications. Water Research, 29(2): 497-503.

Baird, D. J., Barber, I., Bradley, M., Calow, P. and Soares, A. M., 1989. The Daphnia bioassay: a critique. Hydrobiologia, 188 (1): 403-406.

Bellavere, C. and Gorbi, J., 1981. A comparative analysis of acute toxicity of chromium, copper and cadmium to *Daphnia magna*, *Biomphalaria glabrata*, and *Brachydanio rerio*. Environmental Technology, 2 (3): 119-128.

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]

Biesinger, K. E. and Christensen, G. M., 1972. Effects of various metals on survival, growth, reproduction, and metabolism of *Daphnia magna*. Journal of the Fisheries Board of Canada, 29(12): 1691-1700.

Cooper, N. L., Bidwell, J. R. and Kumar, A., 2009. Toxicity of copper, lead, and zinc mixtures to *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia carinata*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72 (5): 1523-1528.

Das, P., Xenopoulos, M. A. and Metcalfe, C. D., 2013. Toxicity of silver and titanium dioxide nanoparticle suspensions to the aquatic invertebrate, *Daphnia magna*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 91 (1): 76-82.

Dave, G., 1984. Effects of copper on growth, reproduction, survival and haemoglobin in *Daphnia magna*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology, 78(2): 439-443.

De Schamphelaere, K. A., Vasconcelos, F. M., Tack, F. M., Allen, H. E. and Janssen, C. R., 2004. Effect of dissolved organic matter source on acute copper toxicity to *Daphnia magna*. Environmental Toxicology and Chemistry, 23 (5): 1248-1255.

Du, J., Mei, C. F., Ying, G. G. and Xu, M. Y., 2016. Toxicity thresholds for diclofenac, acetaminophen and ibuprofen in the water flea *Daphnia magna*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 97 (1): 84-90.

Evens, R., De Schamphelaere, K. A. and Janssen, C. R., 2009. The effects of dietary nickel exposure on growth and reproduction of *Daphnia magna*. Aquatic Toxicology, 94 (2): 138-144.

Ezeonyejiaku, C., Obiakor, M. and Ezenwelu, C., 2011. Toxicity of copper sulphate and behavioral locomotor response of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and catfish (*Clarias gariepinus*) species. Online Journal of Animal and Feed Research, 1 (4): 130-134.

Govind, P. and Madhuri, S., 2014. Heavy metals causing toxicity in animals and fishes. Research Journal of Animal, Veterinary and Fishery Sciences, 2 (2): 17-23.

Guo, R., Ren, X. and Ren, H., 2012. Assessment the toxic effects of dimethoate to rotifer using swimming behavior. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 89 (3): 568-571.

Hyne, R. V., Pablo, F., Julli, M. and Markich, S. J., 2005. Influence of water chemistry on the acute toxicity of copper and zinc to the cladoceran *Ceriodaphnia cf dubia*. Environmental Toxicology and Chemistry, 24 (7): 1667-1675.

Keithly, J., Brooker, J. A., Deforest, D. K., Wu, B. K. and Bríx, K. V., 2004. Acute and chronic toxicity of nickel to a cladoceran (*Ceriodaphnia dubia*) and an amphipod (*Hyalella azteca*). Environmental Toxicology and Chemistry, 23 (3): 691-696.

Khan, T.A., 2011. Trace elements in the drinking water and their possible health effects in Aligarh City, India. Journal of Water Resource and Protection, 3 (07): 522.

Khangarot, B. and Ray, P., 1987. Correlation between heavy metal acute toxicity values in *Daphnia magna* and fish. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 38 (4): 722-726.

Kim, D., Chae, Y. and An, Y. J., 2017. Mixture toxicity of nickel and microplastics with different functional groups on *Daphnia magna*. Environmental Science and Technology, 51(21): 12852-12858.

Koivisto, S., 1995. Is *Daphnia magna* an ecologically representative zooplankton species in toxicity tests? Environmental Pollution, 90 (2): 263-267.

Kozlova, T., Wood, C. M. and McGeer, J. C., 2009. The effect of water chemistry on the acute toxicity of nickel to the cladoceran *Daphnia pulex* and the development of a biotic ligand model. Aquatic Toxicology, 91 (3): 221-228.

Kumar, M., Kumar, P. and Devi, S., 2015. Toxicity of copper sulphate on behavioural parameter and respiratory surveillance in freshwater catfish, *Clarias batrachus* (Lin.). Research Journal of Chemistry and Environment, 3 (1): 22-28.

Liu, Y., Qi, S., Zhang, W., Li, X., Qiu, L. and Wang, C., 2012. Acute and chronic toxicity of buprofezin on *Daphnia magna* and the recovery evaluation. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 89 (5): 966-969.

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]

Malekpouri, P., Peyghan, R., Mahboobi-Soofiani, N. and Mohammadian, B., 2016. Metabolic capacities of common carp (*Cyprinus carpio*) following combined exposures to copper and environmental hypoxia. Ecotoxicology and Environmental Safety, 127: 1-11.

Mano, H., Ogamino, Y., Sakamoto, M. and Tanaka, Y., 2011. Acute toxic impacts of three heavy metals (copper, zinc, and cadmium) on *Diaphanosoma brachyurum* (Cladocera: Sididae). Limnology, 12 (2): 193-196.

Martins, C., Jesus, F. T. and Nogueira, A. J., 2017. The effects of Copper and Zinc on survival, growth and reproduction of the cladoceran *Daphnia longispina*: introducing new data in an "old" issue. Ecotoxicology, 26(9): 1157-1169.

Miner, B. E., De Meester, L., Pfrender, M. E., Lampert, W. and Hairston, N. G., 2012. Linking genes to communities and ecosystems: Daphnia as an ecogenomic model. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 279(1735): 1873-1882.

Naddy, R. B., Stern, G. R. and Gensemer, R. W., 2003. Effect of culture water hardness on the sensitivity of *Ceriodaphnia dubia* to copper toxicity. Environmental Toxicology and Chemistry, 22 (6): 1269-1271.

Pane, E. F., Smith, C., McGeer, J.C. and Wood, C. M., 2003. Mechanisms of acute and chronic waterborne nickel toxicity in the freshwater cladoceran, *Daphnia Magna*. Environmental Science and Technology, 37 (19): 4382-4389.

Piscia, R., Colombini, M., Ponti, B., Bettinetti, R., Monticelli, D., Rossi, V. and Manca, M., 2015. Lifetime response of contemporary versus resurrected *Daphnia galeata Sars* (Crustacea, Cladocera) to Cu (II) chronic exposure. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 94 (1): 46-51.

Prosnier, L., Loreau, M. and Hulot, F. D., 2015. Modeling the direct and indirect effects of copper on phytoplankton–zooplankton interactions. Aquatic Toxicology, 162: 73-81.

Rainbow, P. S., 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? Environmental Pollution, 120 (3): 497-507.

Shaw, J. R., Dempsey, T. D., Chen, C. Y., Hamilton, J. W. and Folt, C. L., 2006. Comparative toxicity of cadmium, zinc, and mixtures of cadmium and zinc to daphnids. Environmental Toxicology and Chemistry, 25 (1): 182-189.

Siciliano, A., Gesuele, R., Pagano, G. and Guida, M., 2015. How *Daphnia* (Cladocera) Assays may be used as Bioindicators of Health Effects? Journal of Biodiversity and Endangered Species, S1(5):1-6.

Singh, A. and Agrawal, M., 2007. Acid rain and its ecological consequences. Journal of Environmental Biology, 29 (1): 15.

Tyagi, V., Chopra, A., Durgapal, N. and Kumar, A., 2007. Evaluation of *Daphnia magna* as an indicator of toxicity and treatment efficacy of municipal sewage treatment plant. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 11 (1):61-67.

USEPA, 2004. National Recommended Water Quality Criteria: 2004. EPA-822-R-02-047, Washington, DC.

Vandenbrouck, T., Soetaert, A., van der Ven, K., Blust, R. and De Coen, W., 2009. Nickel and binary metal mixture responses in *Daphnia magna*: molecular fingerprints and (sub) organismal effects. Aquatic Toxicology, 92 (1): 18-29.

Winner, R. W. and Farrell, M. P., 1976. Acute and chronic toxicity of copper to four species of Daphnia. Journal of the Fisheries Board of Canada, 33 (8): 1685-1691.

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2025-09-17]