علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره بیست و دوم، شماره هشت، آبان ماه ۹۹

# بررسی اثر مواجهه با غلظت های تحت کشنده نانو اکسید مس بر فاکتور های رشد و ترکیبات بیوشیمیایی لاشه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

**حسن صحرایی** [۱*]

Hasansahraei22@gmail.com

**سیدعباس حسینی** [۲]

**سیدعلی اکبر هدایتی** [۳]

**رسول قربانی** [۳]

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۱۱

**چکیده**

**زمینه و هدف**: با توجه به کاربرد روز افزون نانو ذرات در فعالیت های انسانی، همچنین جایگاه آن در کاهش اثرات نامطلوب فلزات سنگین در بدن موجودات زنده، در تحقیق حاضر به بررسی اثر غلظت های تحت کشنده نانواکسید مس بر فاکتورهای رشد و ترکیبات بیوشیمیایی لاشه در ماهی کپور معمولی پرداخته شد.

**روش بررسی**: ابتدا ۸۴ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۲±۴۲ گرم تهیه و پس از سازگاری با محیط آزمایشگاهی، به مدت ۴۲ روز و در سه تیمار و سه تکرار بترتیب با غلظت های ۱۰،۴۰،۸۰ میلی گرم بر لیتر و یک گروه شاهد با سه تکرار تحت تاثیر غلظت های تحت کشنده نانو اکسید مس قرار گرفتند.

**یافته‌ها**: نتایج آنالیز شاخص‌های رشد نشان داد که تمامی شاخص‌های رشد در تیمارهای فلزی نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P<۰/۰۵$). به طوری که گروه شاهد دارای بیش‌ترین میانگین افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ SGR، کارایی غذایی و واجد بهترین ضریب تبدیل غذایی با میانگین ۲/۹۳ بود. از طرفی کمترین نرخ رشد ویژه و بیشترین نرخ تبدیل غذایی مربوط به تیمار شماره سه (۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. کم‌ترین میزان درصد خاکستر، چربی، پروتئین و بیش‌ترین درصد رطوبت در گروه شاهد مشاهده شد. همچنین بیش‌ترین درصد خاکستر، پروتئین و چربی در بین تیمارها مربوط به تیمار شماره ۳ با غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو اکسید مس بود که از این نظر با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P<۰/۰۵$).

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج فوق نشان می‌دهد که حضور نانو ذرات اکسید مس در اکوسیستم های آبی حتی در غلظت‌های تحت کشنده اثرات منفی بر روی شاخص‌های رشد و ترکیبات بیوشیمیایی لاشه ماهیان داشته که با افزایش میزان غلظت این نانو ذرات در اکوسیستم های آبی تاثیر این اثرات بیش‌تر نمایان می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** نانو اکسید مس، ترکیب بیوشیمیایی لاشه، کپور معمولی، نرخ رشد ویژه.

۱- دکترای گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی،دانشگاه گنبد کاووس،گنبد کاووس، ایران . [*](مسوول مکاتبات)

۲- استاد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.

۳- دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.

*J. Env. Sci. Tech., Vol 22, No.8, October, 2020*

# Sub-Lethal Effects of Exposure to Copper Oxide Nanoparticles on Growth Indices and Body Biochemical Composition of Common Carp *(Cyprinus Carpio)*

**Hasan Sahraei** [1*]

*Hasansahraei22@gmail.com*

**Seyyed Abbas Hoseini** [2]

**Seyyed Aliakbar Hedayati** [3]

**Rasoul Ghorbani** [3]

Admission Date:May 1, 2018 Date Received: December 2, 2015

**Abstract**

**Background and Objective**: Due to the increasing use of nanoparticles in human activities, as well as its role in reducing the adverse effects of heavy metals on living organisms, at this study the effects of sub-lethal concentrations of copper nanoparticles were discussed on growth factors and biochemical composition carcass of common carp.

**Method:** 82 carp with an average weight of 42 ± 2 g was prepared and after adaptation for the laboratory condition, were exposed at 42 days at three treatments (10, 40, 80 ppm) and three replicates respectively, also a control group were prepared with three replications under the affect of sub-lethal concentrations of copper oxide nanoparticles.

**Findings:** Analysis of growth indices showed that all growth indices had significantly different (P<0/05) with metal treatments in compared to the control group. So the control group had the highest average body weight, percent of body weight, SGR rate, and feed conversion efficiency with averaging 2.93. The lowest specific growth rate and the highest rate of conversion were related to the treatment number three (80 ppm), respectively. The amount of ash, fat, protein and maximum moisture was observed at the control group. The highest percentage of protein and fat was at treatment (3) and concentration of 80 milligrams per litre of copper oxide nanoparticles that in this regard showed significant differences (P<0.05) with the control group.

**Discussion and Conclusion:** The results indicate that the presence of copper oxide nanoparticles in aquatic ecosystems have negative effects on growth and biochemical composition of fish carcasses even at sub-lethal concentrations, that by increasing the concentration of the nanoparticles in aquatic ecosystems, the influence of these effects will become clearer.

**Keywords**: Carcass Biochemical Composition, Common Carp, Copper Oxide Nanoparticles, Specific Growth Rate.

1- Ph.D., Student, Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.*(Corresponding Author)

2- Professor, Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

3- Associate Prof., Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

**مقدمه**

در حال حاضر فناوری نانو یا نانوتکنولوژی یکی از شاخه های علوم است که در حال رشد سریع می باشد. از آنجایی‌که صنعت تولید نانوذرات و استفاده از آن روز به روز در حال گسترش است، نگرانی در رابطه با اثرات زیست محیطی آن‌ها نیز سبب گردیده تا محققین تحقیقات گسترده ای در زمینه خطرات بالقوه نانو مواد بر محیط زیست و موجودات زنده طراحی و اجرا نمایند (۱). نانو سمیت شناسی به عنوان یک زیر شاخه از نانوتکنولوژی به مطالعه برهم‌کنش نانومواد با موجودات زنده می‌پردازد. از آنجایی‌که نانومواد دست‌خوش تحولات متنوعی در محیط زیست و سیستم های زیستی می شوند، از این رو نانو سمیت شناسی تغییرات ایجاد شده در سمیت نانو مواد در ارتباط با این تحولات را نیز پوشش می‌دهد (۲). امروزه از نانو ذرات در گستره وسیعی از علوم و صنایع مختلف استفاده می-شود که از آن جمله: الکترونیک، پزشکی، داروسازی، لوازم آرایشی و بهداشتی، تولید انرژی، محیط زیست و کاتالیزورها را می‌توان نام برد. از جمله نانو محصولات تولید شده امروزی می-توان به دی-اکسید تیتانیوم، نقره، آهن، اکسید روی و مس، همچنینن نانولوله های کربنی وگرافن اشاره کرد. نانو ذرات مس به عنوان پوشش‌های ضد-میکروبی، سلول های سوختی، الکترولیز آب، تصفیه آب و هوا و عوامل کنتراست تصویر برداری پزشکی کاربرد دارد (۳)، مس به عنوان یک کوفاکتور عمل می-کند و برای ویژه‌گی‌های کاتالیز کننده و ساختار بسیاری از آنزیم‌های موثر در فرایند های زیستی بدن ضروریست (۴). اگر چه مس به عنوان یکی از عناصر کمیاب ضروری در متابولیسم سلولی و عملکرد بسیاری از آنزیم‌ها نقش کاربردی دارد (۵) اما در دوز های بالاتر از نیاز بدن می تواند ایجاد مسمومیت کند، که میزان مسمومیت و علایم کلینیکی آن تحت تاثیر عواملی مانند سن ماهی، گونه ماهی، دمای آب پرورش، سختی آب، شرایط پرورش ماهی و میزان اکسیژن محلول، pH، متفاوت است (۶). کپور معمولی *(Cyprinus carpio)* از مهم‌ترین گونه کپور ماهیان دریای خزر می باشد که با توجه به تلاش های مستمر سازمان شیلات جهت تأمین و حفظ ذخایر آن در دریای خزر هر ساله با تکثیر مصنوعی چند میلیون عدد بچه ماهی انگشت قد در رودخانه های منتهی به دریای خزر رهاسازی می‌گردد، لیکن میزان صید برخی از گونه ها در طی سال‌های اخیر رو به کاهش نهاده است که این امر گویای کاهش ذخایر آن‌ها در دریای خزر است. با توجه به بررسی های به عمل آمده عوامل مختلفی می توانند در این امر دخیل باشند، اما از مهم‌ترین عواملی که امروزه بیش‌ترین توجه محافل علمی را به خود جلب نموده، آلودگی محیط زیست به ویژه افزایش روزافزون فاضلاب های صنعتی حاوی ترکیبات مختلف آلاینده های پایدار فلزات سمی و آفت کش‌های کشاورزی است که در راستای توسعه صنعتی و پیشرفت بشر قرار دارد. در مطالعه‌ای که توسط ژو و همکاران (۲۰۰۹) بر روی اثر منابع مختلف سلنیوم غذایی (نانو ذرات سلنیوم و سلنومتیونین) بر عملکرد رشد، ترکیب عضلانی و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در ماهی کاراس *( Carassius auratus gibelio)* انجام شد. نتایج اختلاف معنی‌داری رادر نرخ RGR و وزن نهایی تیمارهای ۱ و ۲ نسبت به گروه شاهد نشان داد. ولی نرخ بقا و FCR در بین تیمارهای ۱ و ۲ نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$)(۷).

فرضیه های مطرح شده نسبت به آسیب های احتمالی حاصل از فناوری نانو به طرز تهدیدآمیزی باعث کندی روند رشد و توسعه فناوری نانو خواهد شد. مگر آن‌که اطلاعات صحیح، بی طرفانه و قانون مند در باره چیستی خطرها و چگونگی پرهیز از آن‌ها منتشر شود. از این‌رو این پژوهش با هدف ارزیابی اثر مواجهه با غلظت های تحت کشنده نانوذرات مس بر فاکتور های رشد و ترکیب بیوشیمیایی لاشه ماهی کپور معمولی *(Cyprinus carpio)* طراحی و اجرا شد.

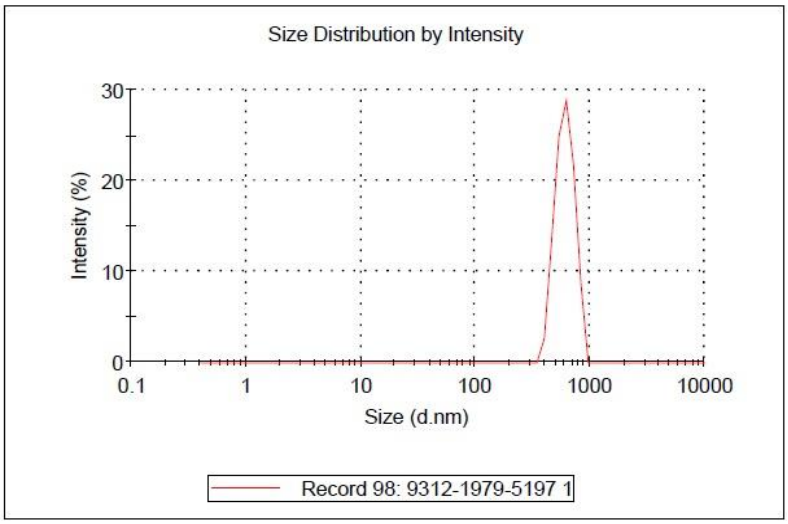
**مواد و روش ها**

این تحقیق در پاییز سال ۱۳۹۳ در آزمایشگاه آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد جهت انجام آزمایشات سم شناسی نانو ذرات مس از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه گردید. در

این تحقیق ۸۴ قطعه ماهی کپور دریایی به مدت دو هفته جهت سازگاری با شرایط محیطی آکواریوم، نگهداری شدند. ۱۲ عدد آکواریوم ۱۵ لیتری در سالن آزمایشگاه آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان برای انجام این پژوهش در نظر گرفته شد. بعد از ضدعفونی و آماده‌سازی آکواریوم‌ها، آبگیری آن‌ها صورت گرفت. در طول دوره‌ی آزمایش فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب اندازه‌گیری شد که شامل دمای آب ۱±۱۷ درجه سانتی‌گراد، پی اچ (pH) ۸/۳۰ – ۸/۲۲، غلظت اکسیژن محلول: ۶۹٪ - ۶۷٪ در لیتر و سختی آب: ۲۱۰ میلی گرم کربنات کلسیم در لیتر بود. همچنین هریک ازاکواریوم‌ها به‌صورت جداگانه به سیستم هوادهی مجهز شدند تا سطح اکسیژن آب در حد استاندارد قرار گیرد. در این پژوهش با توجه به نتایج مطالعات ژائو و همکاران ۲۰۱۱ از سه غلظت تحت کشنده نانو ذرات مس استفاده شد، که عبارتند از:۱۰،۴۰،۸۰ میلی‌گرم در لیتر، همچنین غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر (شاهد) نیز در نظر گرفته شد (۸). در این پژوهش ۳ تیمار مختلف وجود داشت که در هر یک از تکرارها (غلظت‌های مختلف نانو مس) ۷ قطعه ماهی در معرض نانو ذرات مس به مدت ۴۲ روز قرار گرفت و درمجموع ۸۴ قطعه ماهی مورد استفاده قرار گرفتند.

**مواجهه کپورماهیان با نانوذرات اکسید مس**

جهت تهیه محلول نانو ذره مس از محصولات نانوذره تجاری شرکت نانو پیشگامان ایرانیان استفاده شد. نانوذرات در ابتدا با استفاده از دستگاه اولتراسوند با تعداد دور ۴۰۰ دور در دقیقه در حجم مشخص آب مقطر به مدت ۲۰ دقیقه پخش شد تا به صورت همگن درآید. به دلیل این‌که نانو ذرات مس پس از ۲۴ ساعت در توده آبی ترسیب پیدا میکنند، جهت اختلاط مجدد محلول نانوذره در هر ۲۴ ساعت از دستگاه هموژنایزر با تعداد دور ۱۴۰۰ در دقیقه استفاده شد. هر ۲۴ ساعت یک‌بار تعویض آب جهت اطمینان یافتن از حصول غلظت همگن مورد نظر از نانو ذرات صورت گرفت. همچنین جهت تعیین پراکندگی نانو ذره در آب موجود در اکواریوم ها با استفاده از دستگاه Dynamic light scattering یا DLS اندازه گیری می شد. (شکل ۱).




**شکل ۱- اندازه ذرات و نحوه پراکنش آن‌ها در نمونه‌های آب برداشت شده با استفاده از دستگاه Dynamic light scattering یا DLS**

Figure1. Particle size and distribution of water samples taken in using Dynamic light scattering, or DLS

**زیست سنجی و برسی شاخص های رشد ماهیان**

عمل زیست سنجی ماهیان هر ۱۴ روز یک‌بار انجام گرفت. بدین منظور ۲۴ ساعت پیش از بیومتری تغذیه ماهیان قطع گردیده و ۱۰۰ درصد بیومس ماهیان با ترازوی ۰/۰۱ گرم توزین شدند. با توجه به اطلاعات بدست آمده از بیومتری،

شاخص های رشد در پایان دوره آزمایش بر اساس منابع موجود از معادلات ریاضی زیر محاسبه شدند (۹).

**نرخ رشد ویژه (درصد در روز)**

$$SGR(\% / day) = [(Ln\ Wt_2 - Ln\ Wt_1) / t_2 - t_1] \times 100$$

Ln Wt1= لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی

Ln Wt2= لگاریتم طبیعی نهایی ماهی

t2 – t1 = طول دوره آزمایش

**ضریب تبدیل غذایی**

FCR = dry feed eating(g) / live weight gain(g)

dry feed eating(g) = مقدار غذای مصرف‌شده

live weight gain(g) مقدار وزن تولیدشده

**کارایی غذایی**

FE = Wt2 – Wt1/ TF

Wt1=گرم وزن اولیه ماهی

Wt2=گرم وزن ثانویه ماهی

TF کل خوراک مصرفی ماهی

**افزایش وزن بدن**

$$BWI = Wt_2 - Wt$$

Wt1=گرم وزن اولیه ماهی

$Wt_2$=گرم وزن ثانویه ماهی

**درصد افزایش وزن بدن**

$$PBWI\ (\%) = [(Wt_2 - Wt1) / Wt_1] \times 100$$

$Wt_1$=گرم وزن اولیه ماهی

$Wt_2$=گرم وزن ثانویه ماهی

تجزیه تقریبی لاشه شامل رطوبت، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر از طریق روش استاندارد AOAC اندازه‌گیری و تعیین شدند (۱۰).

**سنجش درصد رطوبت**

۱۰۰×(وزن اولیه/ وزن نهایی- وزن اولیه) = درصدرطوبت

**سنجش درصد خاکستر**

۱۰۰×(نمونه/وزن بوته چینی-وزن بوته همراه با نمونه نهایی)= درصد خاکستر

**سنجش درصد پروتئین**

وزن نمونه/ مقدار اسید مصرفی۰/۰۱ نرمال= درصد ازت × ۱۰۰

۶/۲۵ × پروتئین خام = درصد ازت

**سنجش درصد چربی**

وزن خشک/ (وزن کاغذ صافی - وزن نمونه همراه با کاغذ صافی) - وزن نمونه = درصد چربی خام

**محاسبات آماری**

طرح کلی این پژوهش در قالب طرح به طور کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا گردید. داده‌های به دست آمده از آزمایش با استفاده آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار Spss20 مورد تجزیه وتحلیل آماری قرار گرفت و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها، پس‌آزمون دانکن برای مقایسه دو به دوی داده‌ها استفاده شد و اختلاف در سطح اطمینان بالای ۹۵٪ ($P<۰/۰۵$) پذیرفته می‌شد.

**نتایج**

شاخص های رشد

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد در جدول شماره۱ ارایه شده است. افزودن غلظت‌های تحت کشنده نانو اکسید مس به آب تفاوت‌های آماری معنی‌داری را در رابطه با شاخص‌های رشد، در بین تیمارهای آزمایشی نشان داد ($P<۰/۰۵$). تمامی شاخص‌های رشد در تیمارهایی فلزی نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P<۰/۰۵$). درحالی‌که در بین تیمارهای ۱و۲ به ترتیب با غلظت‌های ۱۰و۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو اکسید مس تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P>۰/۰۵$). ولی این دو تیمار نسبت به گروه شاهد و تیمار شماره ۳ دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P<۰/۰۵$). ماهیان گروه شاهد رشد بهتری نسبت به تیمارهایی که نانو اکسید مس به آب محیط پرورش آن‌ها اضافه‌شده بود را نشان دادند. به طوری که گروه

شاهد دارای بیش‌ترین میانگین وزن نهایی ، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، کارایی غذایی و واجد بهترین ضریب تبدیل غذایی با میانگین ۲/۹۳ بود. از طرفی کم‌ترین نرخ رشد ویژه و بیش‌ترین نرخ تبدیل غذایی مربوط به تیمار شماره سه (۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو اکسید مس) بود.

نتایج فوق نشان می‌دهد که حضور نانو ذرات اکسید مس در آب حتی در غلظت‌های تحت کشنده اثرات منفی بر روی شاخص‌های رشد داشته و باعث کاهش شاخص‌های رشد ماهی می‌گردد.

**جدول۱- عملکرد رشد و بقاء در بچه ماهیان کپور معمولی مواجهه شده با غلظت‌های تحت کشنده نانواکسید مس**

Table1. Common carp growth performance and survival in children exposed to sublethal concentrations of nano copper oxide

| | تیمار | | | |
|---|---|---|---|---|
| شاخص‌های رشد | تیمار شاهد | T1 ۱۰mg/l | T2 ۴۰mg/l | T3 ۸۰mg/l |
| میانگین وزن اولیه(گرم) | ۴۰/۷۸±۰/۲۷$^{a}$ | ۴۱/۰۲±۰/۱۸$^{a}$ | ۴۰/۸۶±۰/۳۰$^{a}$ | ۴۱/۰۲±۰/۰۱$^{a}$ |
| میانگین وزن نهایی(گرم) | ۵۸/۲۹±۰/۰۷$^{a}$ | ۵۷/۳۴±۰/۱۸$^{b}$ | ۵۷/۰۸±۰/۰۳$^{c}$ | ۵۶/۵۶±۰/۱۴$^{d}$ |
| افزایش وزن(گرم) | ۱۷/۵۰±۰/۲۰$^{a}$ | ۱۶/۳۱±۰/۰۸$^{b}$ | ۱۶/۲۱±۰/۲۷$^{b}$ | ۱۵/۵۳±۰/۰۷$^{c}$ |
| درصد افزایش وزن بدن(٪) | ۴۲/۹۲±۰/۷۹$^{a}$ | ۳۹/۷۶±۰/۳۱$^{b}$ | ۳۹/۶۷±۰/۹۶$^{b}$ | ۳۷/۸۷±۰/۲۸$^{c}$ |
| نرخ رشد ویژه(درصد در روز) | ۶/۸۱±۰/۲۰$^{a}$ | ۶/۶۴±۰/۱۰$^{b}$ | ۶/۶۳±۰/۴۰$^{b}$ | ۶/۵۳±۰/۱۰$^{c}$ |
| ضریب تبدیل غذایی | ۲/۹۳±۰/۰۵$^{c}$ | ۳/۱۶±۰/۰۲$^{b}$ | ۳/۱۷±۰/۰۷$^{b}$ | ۳/۳۲±۰/۰۲$^{a}$ |
| کارایی غذایی | ۳۴/۰۷±۰/۶۲$^{a}$ | ۳۱/۶۵±۰/۲۵$^{b}$ | ۳۱/۴۹±۰/۷۶$^{b}$ | ۳۰/۰۶±۰/۲۲$^{c}$ |
| بقا | ۱۰۰$^{a}$ | ۱۰۰$^{a}$ | ۱۰۰$^{a}$ | ۱۰۰$^{a}$ |

اعداد(SD±میانگین با سه تکرار)در هر ردیف با حرف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند($P<۰/۰۵$).

در حین انجام آزمایشات اصلی در طی دوره ۴۲ روزه هیچ‌گونه تلفاتی در تمامی تیمارها خصوصاً تیمار شماره ۳ که دارای بالاترین غلظت نانو اکسید موردنظر یعنی ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر بود، مشاهده نشد. بنابراین نرخ بقا در تمامی تیمارها یکسان باقی ماند و هیچ‌گونه اختلافی بین تیمارها از نظر بقا مشاهده نشد.

**ترکیب بیوشیمیایی لاشه**

طبق جدول ۲ نتایج تأثیر غلظت‌های تحت کشنده نانواکسید مس (۸۰، ۴۰، ۱۰میلی‌گرم بر لیتر) بر آنالیز شیمیایی و لاشه‌ی بچه کپور ماهیان نشان می‌دهد که با افزایش میزان غلظت نانوذره مورد نظر رابطه معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود دارد( $P<۰/۰۵$). به‌طوری که کم‌ترین میزان درصد خاکستر، چربی، پروتئین و بیش‌ترین درصد رطوبت در گروه شاهد مشاهده شد و بیش‌ترین درصد خاکستر، پروتئین و چربی در بین تیمارها مربوط به تیمار شماره ۳ با غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو اکسید مس بود، که از این نظر با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P<۰/۰۵$). بین تیمارهایی که واجد غلظت‌های ۱۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره مورد نظر بودند از نظر میزان پروتئین رابطه‌ی معنی‌داری وجود نداشت ( $P>۰/۰۵$). ولی این دو تیمار با گروه شاهد و تیمار شماره ۳ دارای رابطه معنی‌داری بودند ($P<۰/۰۵$). همچنین بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب با غلظت‌های ۱۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر از نظر میزان رطوبت رابطه معنی‌داری مشاهده نشد($P>۰/۰۵$). درحالی‌که تیمارهای مذکور با گروه شاهد دارای اختلاف

معنی‌داری بودند ۰۵/ ۰>P). از یافته‌های فوق می‌توان نتیجه گرفت که وجود نانو ذرات مس در اکوسیستم‌های آبی حتی در غلظت‌های تحت‌کشنده می‌تواند نقش بالقوه‌ای در تغییر ترکیبات بیوشیمایی بدن آبزیان ازجمله ماهیان داشته باشد (جدول ۲).

**جدول ۲- آنالیز تقریبی لاشه (بر اساس درصد وزن‌تر) در بچه ماهیان کپور معمولی.**

Table2.Proximate analysis (based on the percentage of fresh weight) in children, common carp

| تیمار | پروتئین خام | چربی خام | رطوبت | خاکستر |
|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۱۷/۹۲±۰/۰۷$^{c}$ | ۹/۷۰±۰/۰۶$^{d}$ | ۶۸/۴۵±۰/۳۹$^{a}$ | ۱/۷۹±۰/۰۳$^{d}$ |
| تیمار ۱ | ۱۸/۵۲±۰/۳۱$^{b}$ | ۱۰/۲۷±۰/۰۳$^{c}$ | ۶۶/۶۸±۰/۳۸$^{b}$ | ۲/۴۳±۰/۰۷$^{c}$ |
| تیمار ۲ | ۱۸/۸۴±۰/۰۸$^{b}$ | ۱۰/۴۱±۰/۰۳$^{b}$ | ۶۶/۵۹±۰/۲۵$^{b}$ | ۲/۸۸±۰/۰۶$^{b}$ |
| تیمار ۳ | ۱۹/۳۸±۰/۱۷$^{a}$ | ۱۰/۶۹±۰/۰۵$^{a}$ | ۶۶/۶۵±۰/۲۴$^{b}$ | ۳/۵۶±۰/۲۷$^{a}$ |

حروف انگلیسی مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه‌های آزمایشی می‌باشد(۰/۰۵> P).

**بحث و نتیجه گیری**

امروزه آلودگی محیط زیست آبزیان به یک مساله مهم تبدیل شده است. ماهیان از مه‌مترین گروه آبزیان هستند که آسیب-پذیر بوده و آسیب به آن‌ها نماینده و بیومارکر مهمی در آلودگی‌های محیط زیست محسوب می‌شود. غذاهای دریایی منبع اصلی روی و مس هستند (۱۱) می‌توانند نقش مثبت یا منفی مهمی را در زندگی انسان ایفا نمایند. فلزات روی و مس بر اساس مقدارشان در فرآیندهای زیستی ایفای نقش می‌کنند (محرک یا بازدارنده) همچنین زمانی که مقادیر فلزات ضروری افزایش یابد می‌توانند اثرات سمی داشته باشند. این فلزات از جمله عناصر ضروری واکنش‌های بیولوژیک می‌باشند، و به صورت هوموستاتیک تنظیم می‌شوند. غلظت‌های این عناصر در بافت‌های یکسان از گونه‌های متفاوت می‌تواند تغییرات زیادی داشته باشد. پاسخ ماهیان در مواجهه با مواد آلوده کننده در مرحله اول مقابله‌ای بوده ولی اگر آلودگی ادامه یابد منجر به تغییر در فیزیولوژی ماهی می‌شود و این تغییرات منجر به کاهش در مهارت زندگی و رشد ماهی می‌شود (۱۲). بررسی و مقایسه شاخص‌های رشد کپور ماهیان گروه شاهد و تیمارهایی که در معرض غلظت‌های تحت کشنده‌ی نانو ذرات اکسید مس قرارگرفته بودند، نشان داد که حضور این نانو ذرات حتی در غلظت‌های تحت‌کشنده موجب کاهش رشد شده و اثرات سویی را روی میزان شاخص‌های رشد می‌گذارند. به طوری که آنالیز داده‌های شاخص رشد کپور ماهیانی که به مدت ۴۲ روز در معرض غلظت‌های تحت کشنده‌ی نانو ذرات اکسید قرارگرفته بودند رابطه‌ی معنی‌داری رابین تیمارها نشان داد. ماهیان گروه شاهد در تمامی شاخص‌های رشد نسبت به تیمارهایی که به ترتیب در معرض غلظت‌های ۱۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره‌ی موردنظر قرارگرفته بودند، دارای تفاوت معنی‌داری بودند. به طوری که گروه شاهد دارای بیشترین میانگین وزن نهایی، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، کارایی غذایی و واجد بهترین ضریب تبدیل غذایی با میانگین ۲/۹۳ بود. از طرفی کم‌ترین نرخ رشد ویژه و بیش‌ترین نرخ تبدیل غذایی مربوط به تیمار شماره سه (۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو اکسید مس) بود. قبادی و همکاران (۱۳۹۲) با بررسی اثرات سطوح مختلف نانوذره آهن (Fe) بر فاکتورهای رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به این نتیجه دست یافتند که استفاده از نانوذره آهن خنثی در سطح ۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم غذای خشک، سبب افزایش عملکرد رشد و تغذیه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی می‌گردد (۱۳). در طی یک بررسی ۶۰ روزه، که اثر نانو آهن پراکنده بر شاخص‌های زیستی ماهی

کپور و ماهی خاویاری، مورد مطالعه قرار گرفت و افزایش نرخ رشد در این ماهیان، مشاهده شد (۱۴ ). همچنین طی تحقیقی دیگر، از نانو آهن به عنوان ماده افزودنی به غذای ماهی کپور هندی *(Labeo rohita)* استفاده شد. در این تحقیق، در ۳ نوع تیمار مختلف، اثرات نانوذره اکسید آهن (تیمار۱) و سولفات فرروس (تیمار ۲) در این ماهی بررسی گردید و تفاوت معنی‌داری در وزن نهایی این دو گروه در مقایسه با تیمار شاهد (تیمار۳) مشاهده شد (۱۵). در آزمایشی دیگر لین و شیاو (۲۰۰۵)، بیان کردند مس موجود در جیره فاقد سلنیوم می‌تواند باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در ماهی *Epinephelus malabaricus* شود که باعث کاهش رشد و افزایش مالون دی آلدهید در بدن این ماهیان می‌شود (۱۶)

در تحقیق حاضر نیز با افزایش میزان نانو ذرات شاهد کاهش فاکتورهای رشد نسبت به گروه شاهد به گروه شاهد بودیم که خود نشان دهنده تاثیر این نانو ذرات بر فاکتورهای رشد به‌خصوص در دوزهای بالا می‌باشد. عبدل تواب و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تغییرات رشد و ترکیبات بیوشیمیایی بدن در معرض غلظت‌های تحت کشنده روی طی دوره‌های مختلف در ماهی کپور معمولی پرداختند، نتایج نشان داد فاکتورهای رشد با افزایش غلظت روی کاهش می‌یابد که با نتایج پایانی تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. یک فرضیه برای این مشاهدات این است که قرار گرفتن در معرض غلظت‌های بالای فلز روی به نوبه خود منجر به کاهش اشتها ماهی، درنتیجه کاهش مصرف خوراک و رشد ماهی می‌شود. فرضیه دیگر این است که با توجه به اینکه مصرف خوراک کاهش می‌یابد، انرژی مورد نیاز از طریق تجزیه مواد مغذی ذخیره‌سازی شده در بدن تأمین می‌شود (۱۷). شیرمحمد و همکاران (۱۳۸۳) طی تحقیقی به بررسی اثر مکمل فیتاز و مس مازاد جیره بر رشد و ترکیب لاشه کپور معمولی پرداختند. بدون مکمل مس ، آنزیم فیتاز سبب بهبود برخی معیارهای رشد از قبیل افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی در کپور معمولی گردید ($P<۰/۰۵$). ولی افزودن مکمل مس همراه با آنزیم فیتاز باعث تفاوت معنی‌دار افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و وزن نسبی لاشه نشد ($P>۰/۰۵$). در تحقیق حاضر نیز با افزایش میزان نانو ذرات مس ما شاهد افزایش میزان تغییرات در فاکتور های رشد بودیم که این خود نشان‌گر ارتباط بین دوز نانو ذرات و میزان تغییرات فاکتور های رشد می‌باشد، که هرچه میزان این نانو ذرات افزایش یابد، میزان تغییرات در فاکتورهای رشد نیز می‌تواند سیر صعودی داشته باشد. بین سوخت و ساز مس و روی ارتباط وجود دارد، به نحوی که روی، جذب و ابقای مس را مهار کرده و کلسترول پلاسما را افزایش می‌دهد این آنتاگونیسم بین روی و مس در ابتدا در مرحله فرایند جذب است. ظاهراً روی سبب افزایش غلظت متالوتیونین در مخاط روده‌ای می‌شود و این پروتئین مس را قوی‌تر از روی باند می‌کند. مس باند شده به متالوتیونین جذب نمی‌شود و همراه با سلول‌های مخاطی جدا و دفع می‌گردد. در این آزمایش ۱۰۰۰ واحد فیتاز در جیره بدون مکمل مس سبب بهبود رشد و ضریب تبدیل خوراک گردید که احتمالاً به واسطه رهایی فسفر، روی و سایر کاتیون‌ها می‌باشد. با افزودن مکمل مس به جیره ۱۰۰۰ واحد فیتاز احتمالاً به دلیل اثر آنتاگونیستی مس و روی، آثار سویی را بر معیارهای فوق الذکر داشته است. علاوه بر آن احتمال دارد مسمومیت مزمن با مس نیز به وجود آمده باشد، زیرا جیره پایه، محتوی ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم مس بوده است، البته احتمالاً مقداری از این مس به‌صورت فیتاتی است که قابل دسترسی نمی‌باشد ولی افزودن فیتات و رهایی مس از کمپلکس فیتات، املاح به همراه ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل مس احتمالاً مسمومیت مزمن را افزایش داده است. در مقایسه با خوک (۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس در جیره) میزان تحمل مس توسط کپور بیش از ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره نمی‌باشد، به علاوه گزارش شده که ۱۶ تا ۳۲ میلی‌گرم مس در جیره کپور سبب کاهش رشد و کم‌خونی مزمن شده است (۱۸). طی تحقیقی دیگر که چن و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی اثر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر رشد و برخی از پارامترهای بافتی گورخر ماهی پرداختند. نتایج نشان داد که وزن بدن تقریباً در تمامی غلظت‌هایی (۴، ۵ و ۷ میلی‌گرم بر لیتر) که ماهی در معرض نانوذره موردنظر قرارگرفته بود کاهش می‌یابد، که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. در طول ۲ ماه اولیه آزمایش، وزن بدن گورخر ماهی در معرض نانو ذرات $TiO_2$ تغییر

معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشت (P>۰/۰۵). با این وجود، پس از تماس دراز مدت بدن گورخر ماهی با نانو ذرات $TiO_2$نتایج نشان داد نانو ذره مورد نظر باعث کاهش مقادیر وزن بدن در طی دراز مدت می‌شود (۱۹). نتایج این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط کیم و کانگ (۲۰۰۴) مطابق است که گزارش دادند نرخ رشد ماهی *Sebartes schlegelli* با در معرض قرارگیری فلز مس کاهش می‌یابد (۲۰). هیات و همکاران (۲۰۰۷) نیز ماهیان انگشت قد سه گونه کپور روهیتا، کاتلا و مریگال را به مدت ۳۰ روز در معرض غلظت‌های تحت کشنده‌ی فلز منگنز قرا دادند. در طول این دوره هر سه گونه ماهی رشد منفی نشان دادند (۲۱). همچنین نتایج این تحقیق با یافته‌های موهانتی و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد که اثر سولفات مس را روی بقاء رشد کپور هندی مریگال طی ۶۰ روز مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها اختلاف معنی‌داری برای نرخ رشد ویژه بین گروه شاهد و تیمار فلزی مشاهده کردند (P<۰/۰۰۱). گروه شاهد نرخ رشد ویژه بهتری نسبت به تیمار فلزی داشت(۲۲). با توجه به نتایج این تحقیق و نتایجی که محققین دیگر به آن دست یافته‌اند، فلزات سنگین باعث اثرات سوء بر شاخص‌های رشد ماهیان می‌شوند که این اثرات سوء می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی ازجمله بر هم خوردن تعادل یونی و ایجاد اختلال در متابولیسم باشد.

بررسی نتایج آماری ترکیبات لاشه‌ی بچه کپور ماهیان در مواجهه با سطوح مختلف غلظت‌های تحت کشنده نانو ذرات مس در مدت ۶ هفته نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذره مورد نظر تفاوت معناداری در بین گروه شاهد و تیمارهای مواجهه شده با نانو ذرات مس وجود دارد. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان پروتئین، درصد خاکستر در تیمار شماره ۳ با بیش‌ترین غلظت نانو ذره مورد نظر مشاهده شد، این در حالی بود که تمامی مقادیر ترکیبات لاشه بجز رطوبت در گروه شاهد نسبت به تیمارهایی که با نانو ذرات مس مواجهه شده بودند در کمترین مقدار بود، در نتایج هم‌سو با نتایج تحقیق حاضر عبدل تواب و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تغییرات رشد و ترکیبات بیوشیمیایی بدن در معرض غلظت‌های تحت کشنده روی طی دوره‌های مختلف در ماهی کپور معمولی پرداختند، که در طی آن بچه ماهیان ۱۸/۱ و۱۹/۱ گرمی به مدت ۷، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ روز در ۳ تیمار به ترتیب تحت تأثیر غلظت‌های ۰، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز روی قرار گرفتند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت روی محتوای رطوبت کل بدن و خاکستر کل به‌طور قابل توجهی افزایش یافته، درحالی که پروتئین خام و محتویات چربی کل به طور قابل توجهی کاهش یافت (۱۷). در تحقیق حاضر با افزایش غلظت نانو اکسید مس میزان درصد خاکستر، پروتئین و چربی افزایش یافت ولی درصد رطوبت لاشه کاهش یافت، به طوری که بیش‌ترین میزان رطوبت مربوط به تیمار شاهد بود و بیش‌ترین درصد خاکستر در تیمار شماره ۳ با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره مس مشاهده شد.

شیرمحمد و همکاران (۱۳۸۳) طی تحقیقی به بررسی اثر مکمل فیتاز و مس مازاد جیره بر رشد و ترکیب لاشه کپور معمولی پرداختند. آن‌ها طی این آزمایش به مدت ۱۰ هفته ۱۴۴ قطعه کپور معمولی را با جیره شامل ۳ سطح فیتاز، صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ واحد در کیلوگرم جیره و۲ سطح مس، صفر و ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل ۳×۲ در ۳ تکرار به کار بردند. نتایج پایانی نشان داد که احتمالا"در کپور اثر آنتاگونیستی بین آنزیم فیتاز و مکمل مس وجود دارد که مانع از بهبود عملکرد و ترکیب لاشه کپور معمولی در اثر استفاده از آنزیم فیتاز می‌شود، بنابراین استفاده از مکمل مس خصوصاً در حضور آنزیم فیتاز در جیره کپور معمولی توصیه نمی‌شود. (۱۷) که نتایج آنها همسو با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد به طوری که نتایج تحقیق حاضر نیز بیان‌گر موثر بودن میزان نانو ذره مورد نظر بر بهبود عملکرد ترکیبات لاشه در تیمارهای مختلف نسبت به گروه شاهد می‌باشد. فلایی و آماتسرو (۲۰۱۴) اثر فلز سنگین سرب را بر رشد، بازماندگی و ترکیبات لاشه گربه‌ماهی آفریقایی بررسی کردند که نتایج پایانی آنالیز لاشه نشان داد که هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری بین ترکیبات لاشه، قبل و بعد آزمایش وجود ندارد (P>۰/۰۵). تنها میزان چربی خام و خاکستر نهایی لاشه نسبت به ترکیب اولیه اندکی کاهش داشت که از این نظر با نتایج

تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. همچنین افزایش اندک پروتئین خام لاشه در همه تیمارها در مقایسه با مقدار اولیه گزارش شد(۲۳)، که این نتیجه با تحقیق حاضر همسو نمی‌باشد به طوری که در تحقیق حاضر شاهد افزایش میزان پروتئین خام لاشه در همه تیمارهایی که در معرض نانو ذره مورد نظر قرار گرفته‌اند( نسبت به گروه شاهد) بودیم. تحقیق حاضر یک مطالعه مقدماتی بود که نیازمند تحقیقات بیش‌تر اثرات نانو ذرات مس را بر حیات آبزیان ازجمله ماهیان در زمینه‌های اکولوژیکی و بیولوژیکی می‌طلبد. ازآنجا که مواد در حالت نانو دارای نسبت سطح به حجم بالاتری می‌باشند، که درنتیجه میزان واکنش‌پذیری بالاتری دارند. هرچه ماده واکنش‌پذیری بیش‌تری داشته باشد تأثیر زودتر و بیشتری می‌گذارد، و با توجه به عوارض مشاهده شده در تغییرات ترکیبات لاشه و شاخص‌های رشد ماهی در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده نانو اکسید مس چنین برداشت می‌شود نانو ذرات اکسید مس حتی در غلظت‌های تحت‌کشنده می‌توانند اثرات سوئی را بر اندام‌ها و بافت‌های حیاتی آبزیان ازجمله ماهیان داشته باشند، که با افزایش غلظت آن‌ها در اکوسیستم‌های آبی تأثیر این اثرات بیشتر نمایان می‌گردد.

**تشکر و قدردانی**

نگارندگان این تحقیق از آقایان عابد زیدعلی، خدایار رضایی، مجتبی شاکریاری، عسگرمیرزایی و امیرقادرمرزی (دانشجویان کارشناسی ارشد بوم شناسی آبزیان شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان) مهندس نعیمی و دکتر جافر به سبب همکاری ارزنده ایشان سپاس‌گذاری می نمایند.

**Reference**

1. Perreault, F., Bogdan, N., Morin, M., Claverie, J., & Popovic, R. 2012. Interaction of gold nanoglycodendrimers with algal cells *(Chlamydomonas reinhardtii)* and their effect on physiological processes. Nanotoxicology, 6(2), 109-120.
2. Leigh, K., Bouldin, J., Buchanan, R. Effects of exposure to semiconductor nanoparticles on aquatic organisms, J. Toxicol. doi:10.1155/2012/397657.
3. Perreault, F., Oukarroum, A., Melegari, S. P., Matias, W. G., Popovic, R. 2012. Polymer coating of copper oxide nanoparticles increase nanoparticles uptake and toxicity in the green alga Chlamydomonas reinhardtii, Chemosphere. (86) 1388-1394.
4. Griffitt, R. J., Luo, J., Gao, J., Bonzongo, J. C., Barber, D. S. 2008. Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms, Environ. Toxicol. Chem. (27) 1972-1978.
5. Arora, S., Jain, J., Rajwade, J. M., Paknikar, K. M. 2008 Cellular responses induced by silver nanoparticles: in vitro studies, Toxicol. Let. 179(2): 93–100.
6. Al-Bairuty, G. A., Shaw, B. J., Handy, R. D., Henry, T. B. 2013 Histopathological effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on the organs of rainbow trout *(Oncorhynchusmykiss)*. Aquatic toxicology. 126, 104-115.
7. Li, B., Hwang, J.Y., Drelich, J., Popko, D., Bagley, S. 2010. Physical,chemical and antimicrobialcharacterization of copper-bearingmaterial.Jom Journal of the Minerals,Metals and Materials Society. 62: 80-85.
8. Zhou, X., Wang, Y., Gu, Q., Li, W. 2009. Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on

growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp *(Carassius auratus gibelio)*. Aquaculture, 291(1): 78-81.

9. Zhao, J., Wang, Z., Liu, X., Xie, X., Zhang, K., Xing, B. 2011. Distribution of CuO nanoparticles in juvenile carp *(Cyprinus carpio)* and their potential toxicity. Journal of hazardous materials, 197, 304-310.
10. AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, fifteenthed. Association of Official Analytic Chemists, Arlington VA, USA.
11. Saravanan, M., Kumar, K.P., Ramesh, M. 2011. Haematological and Biochemical responses of freshwater teleost fish Cyprinus carpio *(Actinoptertgii: Cypriniformes)* during acute and chronic sublethal exposure to lindane. Pesticide Biochemistry and physiology, 100:206-211.
12. Fatima, M., Mandiki, S.N.M., Douxifile, J., Silvestre, F., Coppe, P., Kestemont, P. 2007. Combined effect of herbicides on biomarkers reflecting immune-endocrine interactions in gold fish immune and antioxidant effects. Aquatic Toxicology, 81:159-167.
13. Ghobadi, SH., Rsjabi eslami, H., Hosseini, M., Palangi, L. 2014. Effect of Different Levels of Iron Nanoparticles (Fe) on Growth and Feed Growth Factors of Rainbow Trout *(Oncorhynchus mykiss)*. Quarterly journal of Applied Aquaculture. 3 (9): 82-67 (In Persian).
14. Prochorov, A. M., Pavlov, G.V., Okpattah, G.A., Kaetanovich. C. 2002. The effect of nano-disprse iton on the biological parameters of fish. 10th foresight conference on molecular Nanotechnology.
15. Behara, T., Swain, P., Rangachrulu, P.V., Samanta, M . 2013. Nano-Fe as feed additive improves the hematological and immunological parameters if fish, Labeo rohita H. J. Appl Nanosci. 13: 251 – 258.
16. Lin, Y.H., Shiau, S. Y. 2005. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, Epinephelus malabaricus. Aquaculture. 250: 356–363.
17. Abdel-Tawwab, M., Mousaad, M. N., Sharafeldin, K. M., Ismaiel, N. E. 2013. Changes in growth and biochemical status of common carp, Cyprinus carpio L. exposed to water-born zinc toxicity for different periods. Int Aquat Res, 5, 11.
18. Shirmohammad, F., Mahboubi Sofiyani, N., Poor Reza, J. 2005. Effect of dietary supplement of phytase and copper on growth and carcass composition of common carp *(Cyprinus carpio)*. Journal of Agricultural Science and Technology. 8 (4): 142-133 (In Persian).
19. Chen, J., Dong, X., Xin, Y., Zhao, M. 2011. Effects of titanium dioxide nano-particles on growth and some histological parameters of zebrafish *(Danio rerio*) after a long-term exposure. Aquatic Toxicology, 101(3), 493-499.
20. Kim, S. G., Kang, J. C. 2004. Effect of dietary copper exposure on eccumulation, grows and hematological parameters of the juvenile rockfish, Sebastes schlegeli. Marine environmental research. 58: 65-82.
21. Hayat, S., Javed, M., 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 Veterrinary Journal. 27: 8-12.

22. 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. Environment Contaminate Toxicology. 82: 559-563.
23. Falayi, B. A., Amatosero, R. B. 2014. The Effects of Lead (Pb) on Clarias gariepinus (B.) Juveniles in Captivity. Research Journal of Agriculture and Environmental Management. Vol, 3(8), 353-360.