

## اثرات سمیت علفکش آترازین بر لارو ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*)

- **زهرا خوشنود:** گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: 775-14515
- **شهلا جمیلی\*:** گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: 775-14515
- **صابر خداپنده:** گروه زیست شناسی دریا، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، صندوق پستی: 356-46414
- **علی ماشینیان مرادی:** گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: 775-14515
- **عباسعلی مطلبی:** موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، صندوق پستی: 14155-6116

تاریخ دریافت: دی 1392 تاریخ پذیرش: فروردین 1393

### چکیده

به منظور تعیین میزان سمیت علفکش آترازین بر لارو ماهی سفید دریای خزر، 96 LC50 ساعته آترازین برای لارو تازه تفریح یافته برابر با 18/53 ppm محاسبه گردید. سمیت آترازین بر این لاروها سپس با در نظر گرفتن سه غلظت تحت کشنده از آترازین برابر با 9/25 ppm، 4/62 ppm و 2/31 ppm به مدت 7 روز مورد سنجش قرار گرفت. مقایسه طول، وزن و ضریب چاقی لاروها در این سه غلظت و در مقایسه با گروه شاهد در طی این 7 روز تفاوت آماری معنی داری را نشان نداد. غلظت یونهای  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در بافت بدن لاروهای مواجه شده با آترازین و نیز گروه شاهد مورد اندازه گیری قرار گرفت. نتایج نشان داد که غلظت تمامی این یونها در لاروهای مواجه شده با آترازین بیش تر از لاروهای شاهد می باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آترازین می تواند ترکیب یونی بدن لارو ماهی سفید را حتی در غلظت های تحت کشنده و مواجهه حاد تحت تاثیر قرار داده اما در این شرایط بر پارامترهای بدن (طول، وزن و ضریب چاقی) بی تاثیر بوده است.

**کلمات کلیدی:** آترازین، ماهی سفید، سمیت حاد، یون های بدن، LC50

### مقدمه

ممکن است در پهنه های آبی زندگی کنند که دریافت کننده پساب های کشاورزی آلوده به علفکش ها می باشند. آترازین در آب نسبتاً محلول بوده و همین ویژگی این امکان را به آن می دهد که به راحتی در آب و رسوبات زیستگاه های آبی یافت شود (Giddings و همکاران، 2004). بسیاری از مطالعات آزمایشگاهی اخیر نشان داده اند که غلظت های محیطی آترازین می توانند اثرات سمیت مشخصی بر ماهیان داشته باشند. برای مثال، غلظت های اندکی از آترازین (1 میکروگرم در لیتر) عملکرد هورمونی وابسته به بویایی را در آزادماهیان اطلس نر (*Salmo salar*) تحت تاثیر قرار می دهد (Moore و Lower، 2001) و در غلظت 100 میکروگرم در لیتر، آترازین میزان فعالیت آنزیم  $Na^+$ ،  $K^+$  ATPase را در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در آب شیرین تغییر می دهد که این امر نشان دهنده اختلالات تنظیم اسمزی می باشد (Hanke و همکاران، 1983). علاوه بر

آترازین (2-کلرو-4-اتیل آمینو-6-ایزوپروپیل آمینو-S-تربازین) علفکشی است که پیش از کشت مورد مصرف قرار می گیرد و برای نخستین بار در سال 1958 در ایالات متحده مورد استفاده قرار گرفت و به طور ویژه برای محصولات هم چون ذرت، جو و نیشکر و نیز گستره های از محصولات کشاورزی دیگر همچون مرکبات و باغات میوه نیز مورد استفاده قرار می گیرد (Solomon و همکاران، 1996). آترازین موجب مهار انتقال الکترون در فتوسنتز II شده و در نتیجه منجر به ایجاد اختلال در فرآیند فتوسنتز می گردد و در نهایت موجب مرگ گیاه ناشی از بی غذایی در علف های هرز پهن برگ می شود (Giddings و همکاران، 2004). استفاده از علفکش ها به طور معمول در بهار و اوایل تابستان صورت می گیرد، این زمان مصادف با فصل زادآوری بسیاری از گونه های ماهیان می باشد که این گونه ها

برای لاروها براساس فرمول Williams (2000) محاسبه گردید ( $K=(100 \times W) L3$ ).

**محاسبه LC50 و غلظت‌های تحت‌کشنده:** براساس روش استاندارد (APHA، AWWA، WPCE، 2005) میزان سمیت حاد از راه محاسبه LC50 96 ساعته آترازین برای لارو ماهی سفید به‌دست آمد. محدوده غلظت‌های مورد آزمایش ابتدا با پیش‌تست مشخص گردید. برای آزمایش نهایی آترازین ابتدا در آب مقطر حل شده و سپس براساس روش Pluta (1989) به ظروف آزمایش اضافه شد. در این مرحله سری‌های 10 تایی از لاروها به‌صورت تصادفی به غلظت‌های مختلف آترازین معرفی شدند (غلظت‌های: 14، 15، 16، 17، 18، 19، 20، 21، 22 و 23 میلی‌گرم در لیتر) و از هر غلظت 3 سری تکرار موجود بود. نتایج LC50 آترازین برای لارو ماهی سفید با توجه به شمارش میزان مرگ و میر لاروها و به کمک نرم‌افزار Probit (Finney، 1971) برای 12، 24، 48، 72 و 96 ساعت محاسبه گردید.

**طراحی آزمایش:** براساس میزان غلظت LC50 96 ساعته، 3 غلظت تحت‌کشنده از آترازین به‌صورت 1/2LC50، 1/4LC50 و 1/8LC50 جهت بررسی اثرات آترازین طی 7 روز محاسبه گردید (Ramesh و همکاران، 2009). غلظت‌های حاصله

به‌ترتیب 9/25 ppm، 4/62 ppm و 2/31 ppm تهیه گردید، و یک گروه نیز به‌عنوان گروه شاهد قرار گرفت. از هر گروه 3 تکرار تهیه شد، لاروها در ظروف پلاستیکی 6 لیتری قرار گرفتند و در هر ظرف حدوداً 800 لارو قرار داده شد، کلیه ظروف از هوادهی یکسانی برخوردار بودند، تمامی ظروف حاوی لاروهای مورد آزمایش جهت یکسان بودن دما در یک و نیروی بزرگ فایبرگلاس حاوی مقداری آب قرار داده شده بودند و مطالعه به‌صورت سیستم استاتیک صورت گرفت. اندازه‌گیری فاکتورهای آب در طول مدت آزمایش، با استفاده از دستگاه پارامترسنج پرتابل (Eutech instruments، pcd650) صورت گرفت. نمونه‌برداری به‌صورت هر 24 ساعت یکبار انجام گردید و نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری یون‌های بدن در نیترژن مایع فیکس گردیدند.

**اندازه‌گیری غلظت یون‌های بدن:** به‌منظور اندازه‌گیری میزان یون‌های بدن، لاروها ابتدا توسط نیترژن مایع فریز شدند. جهت اندازه‌گیری میزان یون‌های  $K^+$ ،  $Na^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  در بدن در بافت لارو، بافت ابتدا مورد اندازه‌گیری وزن قرار گرفته و سپس در کروزه (بوته چینی) به آن 5 میلی‌لیتر اسیدنیتریک غلیظ (Merck) اضافه گردید و نمونه‌ها تا هضم کامل در معرض حرارت ملایمی قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها توسط دستگاه جذب اتمی (Flame atomic absorption spectrometry GBS Avanta PM) مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند (Khoshnood، 2010؛ Luczyńska و همکاران، 2009؛ MooPAM، 1989؛ Whiteside و Miner، 1984).

اندازه‌گیری میزان یون  $Cl^-$  در بافت‌های بدن لارو و بجه‌ماهی سفید دریای خزر توسط دستگاه فلیم

این، مطالعات *in vitro* نشان داده است که آترازین می‌تواند ترشح هورمون کورتیزول را که در فرآیند تنظیم اسمزی نقش مهمی برعهده دارد تحت تاثیر قرار دهد (Bisson و Hontela، 2002).

مراحل ابتدایی نمو به‌عنوان حساس‌ترین مراحل زندگی در چرخه زندگی ماهی نسبت به آلاینده‌های شیمیایی و سمی شناخته شده‌اند (Weis و Weis، 1987). اثرات مواجه کوتاه مدت در غلظت‌های تحت‌کشنده بر رشد، رفتار و یا تنظیم اسمزی می‌تواند حیات ماهی را در این مراحل حساس تحت تاثیر قرار داده و موجب اختلال در روند بازسازی و احیای ذخایر ماهیان گردد (Fuiman و Alvarez، 2005؛ Sclafani و همکاران، 1997؛ Houd، 1987). برای مثال، از دست دادن تنظیم اسمزی مناسب موجب برهم خوردن میزان آب بدن شده و بر دانسیته بدن و میزان شناوری لارو تاثیر می‌گذارد. موقعیت لارو در ستون آب می‌تواند نحوه تغذیه و یا دوری از شکارچیان را به‌نوبه خود تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین تغییرات هرچند موقتی در سیستم تنظیم اسمزی در لارو یک ماهی می‌تواند موجب افزایش آسیب‌پذیری لارو نسبت به شکارچیان و کاهش قدرت تغذیه آن شود (Sclafani و همکاران، 1997). برهم خوردن نظم طبیعی ترشح هورمون کورتیزول در مراحل ابتدایی زندگی می‌تواند همچنین از راه کاهش قدرت سازگاری با شرایط تنش و استرس و به‌وجود آوردن اثرات ثانویه بر تنظیم اسمزی، رشد، نمو و سیستم ایمنی بدن نیز زندگی لارو را به‌خطر اندازد (Farrell و Kennedy، 2005؛ Gravel و همکاران، 2005؛ Benguira و همکاران، 2002).

ماهی سفید دریای خزر یکی از گونه‌های مهم اقتصادی در این دریا به‌شمار می‌رود. کاهش شدید در میزان صید سالانه این ماهی در دهه 50 خورشیدی و ابتدای دهه 60 خورشیدی موجب گردید تا دولت برنامه بازسازی و احیای ذخایر این ماهی را در سال 1363 به‌اجرا درآورد (Ganjinejad و همکاران، 2007). مطالعه حاضر گامی نخست در جهت درک اثرات سمیت حاد آترازین بر ماهی سفید، یکی از گونه‌های کپورماهیان (که جزو مهم‌ترین گونه‌های اکولوژیک و اقتصادی ماهیان به‌شمار می‌روند) می‌باشد. هدف مطالعه حاضر محاسبه میزان سمیت فرمول تجاری علفکش آترازین بر این ماهی و بررسی برخی اثرات سمیت آن مانند اثر بر فاکتورهای بیوشیمیایی (میزان یون‌های بدن) می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر می‌تواند در راستای مدیریت منابع و پایش آلودگی آترازین در محیط به‌کار گرفته شود.

## مواد و روش‌ها

**ماهی‌ها و نمونه‌برداری:** لارو تازه تفریح یافته ماهی سفید از مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان شهید انصاری رشت در بهار 1390 تهیه گردید. طول کل و وزن کل هر لارو اندازه‌گیری شد و براساس این مقادیر ضریب چاقی



به سمت سطح آب پرتاب کرده و سپس مانند یک ماهی بی جان به کف ظرف برمی گشتند. همچنین در طی دوره آزمایش بیش تر لاروها در کف ظرف بر روی پهلو و به صورت نسبتاً بی حرکت باقی می ماندند و در صورت ضربه زدن به دیواره ظرف به صورت ناگهانی به سمت سطح آب شنا می کردند و مجدداً بر روی پهلو خود به کف ظرف می افتادند.

#### غلظت کشنده نیمی از جمعیت (LC50): غلظت های

LC50 آترازین برای لارو ماهی سفید با درجه اطمینان (95%) در جدول 1 نشان داده شده اند که با توجه به محاسبه مقادیر به روش Finney (1971) با نرم افزار Probit به دست آمدند. نرخ مرگ و میر افزایشی وابسته به غلظت و نرخ مرگ و میر کاهشی وابسته به زمان مشاهده گردید، بدین معنی که با افزایش زمان از 12 به 96 ساعت غلظت کشنده نیمی از جمعیت کاهش یافت. مشخص شد که با افزایش غلظت علف کش بر میزان مرگ و میر لاروها نیز افزوده شده است و این امر نشان دهنده یک رابطه مستقیم بین میزان مرگ و میر و غلظت علف کش آترازین را نشان می دهد. هیچ گونه مرگ و میری در طی مدت آزمایش در لاروهای گروه شاهد مشاهده نگردید.

فوتومتری (UV-Vis HACH DR 5000) اندازه گیری گردید (Metz و همکاران، 2003؛ O'Brien، 1962).

**مطالعات آماری:** تمامی داده های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (15.0) مورد مطالعه قرار گرفتند. ابتدا به منظور تعیین نرمال بودن داده ها از آزمون Shapiro-Wilk، جهت تعیین همگن بودن واریانس ها از آزمون Leven و پس از آن در مورد داده های نرمال از آزمون Independent sample t-test و غیرنرمال از آزمون Mann Whitney-U استفاده شد و تفاوت های آماری معنی دار در سطح  $p < 0/05$  سنجیده شد.

### نتایج

#### استرس سمیت و نشانه های مسمویت در لاروها:

لاروهای مواجه شده با آترازین رفتارهای حرکتی نامنظمی را از خود نشان دادند. از مواردی که در حین مطالعه میزان LC50، بر روی لاروهای ماهی سفید مشاهده گردید حرکت "دارت گونه" لاروها به سمت سطح آب و سپس رها کردن خود و بازگشت به کف ظرف بود. این لاروها به خصوص در غلظت های بالاتر با حرکت ناگهانی خود را

جدول 1: مقادیر کشنده (LC) آترازین بر اساس مدت زمان مواجهه (12-96 ساعت) در لارو ماهی سفید

	96 ساعت	72 ساعت	48 ساعت	24 ساعت	12 ساعت	
LC1	11/23 (12/8-98/03) d	10/62 (13/8-88/98) c	10/71 (13/9-91/11) c	11/84 (14/9-16/18) b	13/34 (15/10-48/01) a	
LC10	14/48 (13-11) d (15/56)	14/59 (13-53) d (15/87)	15/36 (14-18) c (16/28)	16/16 (15-41) b (17/24)	17/31 (18/16-13/08) a	
LC50	18/53 (17-09) e (18/64)	19/77 (18-98) d (19/11)	21/78 (20-23) c (23/14)	22/43 (22-02) b (24/52)	23/12 (24/22-83/12) a	
LC90	21/23 (20-12) d (23/18)	23/15 (24/22-40/21) c	24/06 (23-16) b (25/14)	25/18 (26/24-33/48) a	25/54 (26/24-48/71) a	

مقادیر غلظت های کشنده در ردیف ها که با حروف متفاوت نام گذاری شده اند در سطح  $p < 0/05$  تفاوت آماری معنی دار دارند.

استفاده در محدوده رشدی یکسانی بوده اند. جهت برآورد وضعیت رشد لاروها در تیمار شاهد و تیمار غلظت های مختلف آترازین، ضریب چاقی محاسبه گردید که میانگین این مقادیر در جدول 4 ارائه شده است. همچنین مقایسه آماری این مقادیر در گروه های مواجه شده با آترازین با تیمار شاهد نشان می دهد که اختلاف آماری معنی داری وجود ندارد.

#### طول، وزن و ضریب چاقی: میانگین طول (میلی متر)

لارو ماهی سفید در جدول 2، و میانگین وزن (میلی گرم) لارو ماهی سفید در جدول 3 ارائه شده است. مطالعات آماری نتایج فوق به کمک آزمون آماری t-test نشان می دهد که اختلاف معنی داری میان طول و وزن لاروهای مورد آزمایش در این چهار گروه آزمایشی وجود نداشته ( $P > 0/05$ ) و از نظر وزنی و طولی همه لاروهای مورد

جدول 2: میانگین طول (میلی متر) لارو ماهی سفید در تیمارهای مورد آزمایش

تیمار	روز 1	روز 2	روز 3	روز 4	روز 5	روز 6	روز 7
شاهد	6/0±27/09	6/0±59/05	6/0±85/04	7/0±11/03	7/0±21/04	7/0±3/03	7/0±35/04
غلظت 1 (9/25 ppm)	6/0±52/06	6/0±78/05	6/0±98/01	7/0±09/02	7/0±22/03	7/0±3/04	7/0±32/04
غلظت 2 (4/62 ppm)	6/0±12/02	6/0±72/04	6/0±88/02	6/0±95/00	6/0±09/01	7/0±23/02	7/0±39/04
غلظت 3 (2/31 ppm)	6/0±27/02	6/0±58/02	6/0±88/02	7/0±03/01	7/0±12/02	7/0±14/03	7/0±43/04

مواجه شده با غلظت 1 آترازین (9/26 میلی گرم بر لیتر) بیشترین غلظت یونی متعلق به یون  $Ca^{2+}$  بوده و پس از آن به ترتیب یون های  $Cl^-$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $K^+$ ،  $Na^+$  قرار می گیرند. در

#### غلظت یون های بدن: اندازه گیری غلظت یون های

$Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $Cl^-$  در بدن لارو ماهی سفید مواجه شده با آترازین نشان می دهد که در گروه



آترازین (2/31 میلی‌گرم بر لیتر) نیز مشابه با دو گروه دیگر بیش‌ترین غلظت یونی متعلق به یون  $Ca^{2+}$  بوده و پس از آن به‌ترتیب یون‌های  $Cl^-$ ،  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Mg^{2+}$  قرار می‌گیرند.

لاروهای مواجه شده با غلظت 2 آترازین (4/63 میلی‌گرم بر لیتر) نیز بیش‌ترین غلظت یونی متعلق به یون  $Ca^{2+}$  بوده و پس از آن به‌ترتیب یون‌های  $Cl^-$ ،  $Na^+$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $K^+$  قرار می‌گیرند. در لاروهای مواجه شده با غلظت 3

جدول 3: میانگین وزن (میلی‌گرم) لارو ماهی سفید در تیمارهای مورد آزمایش

تیمار	روز 1	روز 2	روز 3	روز 4	روز 5	روز 6	روز 7
شاهد	0±2/00	2/0±5/28	0±3/00	0±3/00	0±3/00	0±3/00	0±4/00
غلظت 1 (9/25 ppm)	2/0±5/28	0±3/00	0±3/00	0±3/00	0±3/00	0±3/00	0±4/00
غلظت 2 (4/62 ppm)	0±2/00	0±3/00	0±3/00	0±3/00	0±3/00	0±3/00	0±4/00
غلظت 3 (2/31 ppm)	0±2/00	2/0±7/25	0±3/00	0±3/00	0±3/00	0±3/00	0±4/00

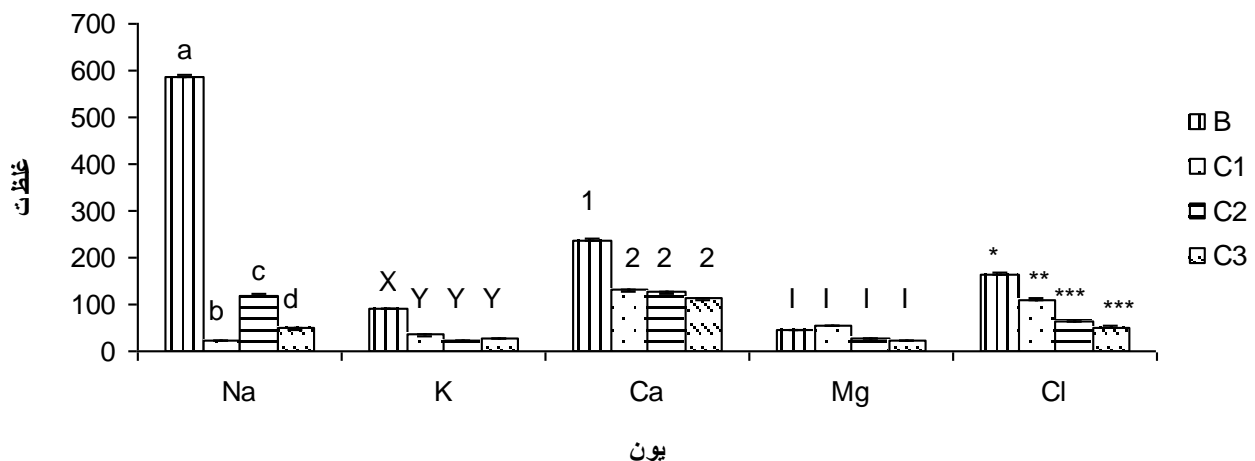
جدول 4: ضریب چاقی لارو ماهی سفید در گروه‌های مختلف آزمایشی در طی هفت روز

گروه آزمایشی	روز 1	روز 2	روز 3	روز 4	روز 5	روز 6	روز 7
شاهد	0/0±77/05	0/0±80/01	0/0±81/02	0/0±83/02	0/0±87/04	0/0±93/11	0±1/01
غلظت 1 (9/25 ppm)	0/0±79/06	0/0±84/03	0/0±88/04	0/0±9/08	0/0±96/1	1/0±01/1	1/0±02/1
غلظت 2 (4/62 ppm)	0/0±79/04	0/0±84/03	0/0±87/04	0/0±89/05	0/0±92/1	0/0±98/02	0/0±99/02
غلظت 3 (2/31 ppm)	0/0±81/02	0/0±82/02	0/0±83/02	0/0±86/04	0/0±92/01	0/0±94/06	0/0±97/01

گروه‌های مواجه شده با آترازین با یکدیگر تفاوت آماری معنی‌دار وجود ندارد اما بین این گروه‌ها با گروه شاهد تفاوت آماری معنی‌دار وجود دارد، در مورد یون منیزیم بین گروه‌های آزمایشی مختلف تفاوت آماری معنی‌داری وجود ندارد و در مورد یون کلر در مورد گروه‌های مواجه شده با آترازین میزان این یون در غلظت 1 به‌طور معنی‌داری از دو غلظت دیگر بیش‌تر است، میزان غلظت یون کلر در همه گروه‌های مواجه شده با آترازین نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر می‌باشد (شکل 1).

غلظت تمامی این یون‌ها در این سه گروه آزمایشی و نیز در گروه شاهد در طی دوره مطالعه روندی افزایشی دارد (شکل 1). مقایسه میزان غلظت این یون‌ها در لاروهای مواجه شده با این سه غلظت آزمایشی آترازین با یکدیگر و با گروه شاهد نشان می‌دهد که در مورد یون سدیم، بین همه گروه‌های آزمایشی تفاوت آماری معنی‌دار وجود دارد، در مورد یون پتاسیم بین گروه‌های مواجه شده با آترازین با یکدیگر تفاوت آماری معنی‌دار وجود ندارد اما بین این گروه‌ها با گروه شاهد تفاوت آماری معنی‌دار وجود دارد، در مورد یون کلسیم نیز مشابه با یون پتاسیم بین

#### مقایسه میانگین غلظت یون‌های مختلف در لارو ماهی سفید در گروه‌های آزمایشی



**شکل 1:** نمودار مقایسه میانگین غلظت یون های  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Mg^{2+}$  و  $Cl^-$  در لارو ماهی سفید در گروه های مختلف آزمایشی مقایسه میانگین غلظت یون های مختلف در گروه شاهد (B)، گروه مواجهه شده با غلظت 1 آترازین برابر با 9/26 میلی گرم بر لیتر (C1)، گروه مواجهه شده با غلظت 2 آترازین برابر با 4/63 میلی گرم بر لیتر (C2)، گروه مواجهه شده با غلظت 3 آترازین برابر با 2/31 میلی گرم بر لیتر (C3) نشان می دهد که در مورد یون سدیم، بین همه گروه های آزمایشی تفاوت آماری معنی دار وجود دارد ( $p < 0/01$ )، در مورد یون پتاسیم بین گروه های مواجهه شده با آترازین با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار وجود ندارد اما بین این گروه ها با گروه شاهد تفاوت آماری معنی دار وجود دارد ( $p < 0/05$ )، در مورد یون منیزیم بین گروه های آزمایشی مختلف تفاوت آماری معنی دار وجود ندارد ( $p > 0/05$ ) و در مورد یون کلر در مورد گروه های مواجهه شده با آترازین میزان این یون در غلظت (C1) به طور معنی داری از دو غلظت دیگر بیشتر است ( $p < 0/05$ )، میزان غلظت یون کلر در همه گروه های مواجهه شده با آترازین نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کمتر می باشد ( $p < 0/05$ ). علامت ها و اعداد مشابه نشان دهنده نبود تفاوت معنی دار، و علامت ها و اعداد غیر مشابه نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار می باشد.

(2004) می باشد که نشان داده اند که آفت کش ها در عملکرد اندام های تنفسی اختلال ایجاد می کنند.

رفتار غیر طبیعی مشاهده شده در هنگام مواجهه ماهیان با آترازین در مطالعه حاضر مشابه با نتایج Chandra (2008) بر روی *Heteropneustes fossilis*؛ Pandey و همکاران (2005) بر روی *Channa punctata* و Hussein و همکاران (1996) بر روی *Oreochromis niloticus* و *Chrysichthys auratus* می باشد. از سوی دیگر در مطالعه ای که توسط Alvarez و Fuiman (2005) بر روی لارو ماهی درام سرخ صورت گرفته است نشان داده شده است که مواجهه با دوزی برابر با غلظت محیطی و زیر حد کشنده آترازین (40-80 میکروگرم بر لیتر)، که در روانب های پس از توفان دیده می شود می تواند سبب کاهش نرخ رشد، افزایش سرعت شنا، شنا در مسیر های مارپیچی و نیز افزایش تحرکات لاروها نسبت به گروه شاهد گردد. این تغییرات در رفتار همچنین موجب دو برابر شدن نرخ کلی متابولیسم در لارو های مواجهه شده با آترازین می گردد.

بررسی طول و وزن لاروها در گروه های مواجهه شده با آترازین و شاهد نشان داد که هیچ گونه تفاوت آماری معنی داری میان گروه های مورد آزمایش وجود ندارد. هم چنین جهت برآورد وضعیت رشد لاروها در تیمار شاهد و تیمار غلظت های مختلف آترازین، ضریب چاقی محاسبه گردید که مقایسه میانگین این مقادیر با گروه شاهد نشان می دهد که اختلاف آماری معنی داری وجود ندارد. رابطه طول- وزن در ماهی یکی از ابزار های مهم مطالعات شیلاتی به شمار می رود. این رابطه نشان دهنده میانگین وزنی یک گروه طولی است (Beyer، 1987) و نشان دهنده سلامت جمعیت ماهی می باشد (Bolger و Connoly، 1989)، در نتیجه مطالعه طولی-وزنی ماهیان به طور وسیعی مورد استفاده قرار گرفته است (حسین زاده صحافی و همکاران، 1387؛ یوسفیان و همکاران، 1387؛ فلاحی و همکاران، 1383؛ King، 1996؛ Saha و Ahmed، 1996؛ Alfred-Ockiya و Njoku، 1995؛ Shenouda و همکاران، 1994). ضریب چاقی نشان دهنده وضعیت سلامت ماهی بر اساس این فرضیه است که ماهیان سنگین تر در یک محدوده طولی، از وضعیت بهتری برخوردار هستند (Bagenal و Tesch، 1987) و ضریب چاقی با افزایش طول کاهش می یابد (Fagade، 1979). در مطالعه حاضر هیچ گونه اختلاف آماری معنی داری در گروه های مواجهه شده با آترازین در مقایسه با گروه شاهد در ضریب چاقی مشاهده نگردید، این نتایج نشان می دهد که تمامی ماهیان مورد مطالعه از نظر رشدی در یک وضعیت مشابه

## بحث

ماهیان، جاندارانی شاخص جهت مطالعات اکوتوکسیکولوژی به شمار می روند چرا که نقش مهمی در زنجیره های غذایی اکوسیستم داشته، قابلیت تجمع مواد سمی در بدن خود را دارند و به غلظت های اندک آلاینده ها در محیط واکنش نشان می دهند (Cavas و Ergene-Gözükara، 2005)، به همین دلیل، به کارگیری بیومارکرهای ماهیان به عنوان شاخصی جهت برآورد میزان آلودگی های محیطی از اهمیت فوق العاده ای برخوردار بوده و به کمک آن می توان مراحل ابتدایی آلودگی را در یک اکوسیستم تعیین نمود (Van Der Oost و همکاران، 2003؛ Lopez-Barea، 1996). نتایج حاصل از اندازه گیری LC50 (غلظت کشنده 50% جمعیت) آترازین نشان می دهد که سمیت آترازین در *R. frisii kutum* وابسته به مدت زمان مواجهه و نیز غلظت می باشد. این در حالی است که برخی محققین نشان داده اند که سمیت آترازین می تواند وابسته به مدت زمان مواجهه نباشد (Lakota و همکاران، 1989). غلظتی از آترازین که به عنوان غلظت کشنده نیمی از جمعیت (LC50) محاسبه گردید، بیش تر از غلظت هایی بود که پیش تر توسط Hussein و همکاران (1996) برای تیلپیا *Oreochromis niloticus* به میزان 9/37 میلی گرم بر لیتر؛ Neškovic و همکاران (1993) برای کپور معمولی *Cyprinus carpio* به میزان 18/8 میلی گرم بر لیتر و Bathe و همکاران (1973) برای خورشید ماهی آبشش آبی *Lepomis macrochirus* به میزان 16 میلی گرم بر لیتر گزارش گردیده است. سمیت مواد شیمیایی برای جانداران آبی تحت تاثیر سن، اندازه، و میزان سلامت گونه ها می باشد (Abdul-Farah و همکاران، 2004). پارامترهایی مانند کیفیت آب، دما، pH، اکسیژن محلول، کدورت آب، میزان حضور گیاهان آبی، غلظت و فرمول ترکیب شیمیایی مورد استفاده نیز به طور مشخصی بر نتایج اثرات سمیت تاثیر داشته باشند (Young، 2000؛ Gupta و همکاران، 1981). ماهیان مواجهه شده با غلظت های بالای آترازین استرس بالایی را پیش از مرگ تجربه کردند. نقص تنفسی ناشی از اثرات سمی آترازین بر بافت آبششی *R. frisii kutum* مشابه با نتایج Ayoola (2008)؛ Tilak و همکاران (2007)؛ De Mel و Pathiratne (2005)؛ Abdul-Farah و همکاران



توانایی شنا، یافتن غذا و پنهان ماندن از شکارچیان و نیز قابلیت‌های تنظیم اسمزی این ماهیان را به‌خطر اندازد.

### منابع

1. حسین‌زاده‌صحافی، ه.؛ رجبی، ن.؛ طلوعی، م.ح. و سبحانی، م. 1387. شاخص‌های رشد بچه ماهی نوس کپور هندی روو (*Labeo rohita*) تا مرحله یک‌ساله در شرایط اقلیمی استان گیلان. مجله پژوهش و سازندگی. دوره 78، صفحات 167 تا 175.
  2. یوسفیان، م.؛ عبدالحی، ح.؛ مخدومی، چ. و سلیمانی رودی، ع. 1387. پرورش بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*, Borodin 1897) در استخرهای خاکی و بررسی عوامل موثر بر رشد آن. مجله پژوهش و سازندگی. دوره 78، صفحات 156 تا 166.
  3. Abdul-Farah, M.; Ateeq, B.; Ali, M.N.; Ahmad, W., 2004. Studies on lethal concentrations and toxicity stress of some xenobiotics on aquatic organisms. Chemosphere. Vol. 55, pp: 257–265.
  4. Ahmed, K.K. and Saha, S.B., 1996. Length-weight relationship of major carps in Kaptai Lake. Bangladesh. NAGA. The ICLARM Q. Vol. 19, No. 2, pp: 28- 35.
  5. Alfred-Ockiya, J.F. and Njoku, D.C., 1995. A comparative analysis of the length weight relationship and condition factors of four species of grey mullet (pisces/mugildae) from New Calabar River Rivers State, N igeria. J. Tech. Educ. pp: 5-10.
  6. Alfred-Ockiya, J.F., 2000. The length-weight relationship of snake head (*Chana chana*) from the fresh water swamps of Niger Delta. J. Aquat. Sci. Vol. 15, pp: 12-14.
  7. Alvarez, M.d.C. and Fuiman, L.A., 2005. Environmental levels of atrazine and its degradation products impair survival skills and growth of red drum larvae. Aquatic Toxicology. Vol. 74, pp: 229–241.
  8. APHA, A.W.W.A., W.P.C.F. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st ed. American Publication of Health Association, Washington, DC. 325 p.
  9. Ayoola, S.O., 2008. Toxicity of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. African J. Agric. Res. Vol. 3, pp: 825–834.
  10. Bagenal, T.B. and Tesch, A.T., 1978. Conditions and Growth Patterns in Fresh Water Habitats. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 187 p.
  11. Bakare, O., 1970. Bottom Deposits as Food of Inland Fresh Water Fish. In: Kainji, a Nigerian Manmade Lake. Visser, S.A., (Ed.), Kanyi Lake Studies, Vol.1.
- بوده و آترازین در غلظت زیر حد کشنده و مواجهه ی حاد نمی‌تواند بر رشد یا ضریب چاقی لارو ماهی سفید دریای خزر تاثیر داشته باشد، این درحالی است که در مطالعه Alvarez و Fuiman (2005) غلظت‌های تحت کشنده آترازین موجب کاهش میزان رشد در لارو ماهی دارم سرخ گردیده است، علاوه بر این مطالعات دیگری نیز نشان داده‌اند که آترازین برخی فرآیندهای بیولوژیک را از جمله رشد، متابولیسم، سیستم ایمنی و هورمونی را در گونه‌های مختلفی از قورباغه‌ها و ماهی‌ها تحت تاثیر قرار می‌دهد (Fatima و همکاران، 2007؛ Forson و Storfer، 2006). این امر نشان می‌دهد که گونه ماهی در پاسخ نسبت به یک آلاینده می‌تواند تاثیر قابل توجهی بر میزان اثرات داشته باشد.
- با توجه به نتایج حاصل از اندازه‌گیری یون‌های مختلف در بدن لارو ماهی سفید، به‌طور کلی به‌نظر می‌رسد که آترازین اثرات خفیف اما مشخصی بر میزان ترکیب یونی بدن لاروها داشته است، پیش‌تر گزارش شده است که آترازین موجب افزایش دفع کلیوی سدیم، کلر و پروتئین‌ها در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) Neskovic و همکاران، (1993) و قزل‌آلای رنگین‌کمان، (*Oncorhynchus mykiss*) Fisher-Scherl و همکاران، (1991) می‌گردد. از سوی دیگر در مواجهه اسمولت‌های ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) در غلظت 5 میکروگرم بر لیتر و بیش‌تر، افزایش کورتیزول پلازما و افزایش یون‌های تک‌ظرفیتی مشاهده گردید و نیز معرفی ماهیان مواجه شده با غلظت‌های 1، 2، 5، 10 و 22/7 میکروگرم بر لیتر آترازین، به آب دریا سبب مرگ و میر در این ماهیان شد و ماهیان زنده مانده نیز علائم شدیدی از استرس فیزیولوژیک مانند افزایش کورتیزول پلازما، افزایش تیروکسین، افزایش اسمولاریته و افزایش غلظت یون‌های تک‌ظرفیتی را نشان دادند (Waring و Moore، 2004). این محققین نشان دادند که مواجهه با آترازین پس از 7 روز موجب کاهش تحمل شوری در ماهی آزاد اطلس می‌گردد. اسمولت‌های آب شیرین ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) مواجه شده با 100 میکروگرم بر لیتر آترازین نیز دچار کاهش یون‌های  $Ca^{2+}$ ،  $Na^{+}$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $Cl^{-}$  پلازما و افزایش سطح کورتیزول شدند، این درحالی است که در مطالعه Matsumoto و همکاران (2010) بر روی اثرات آترازین بر اسمولت‌های ماهی آزاد آتلانتیک *Salmo salar*، گزارش شده است که مواجهه حاد و کوتاه مدت با مقادیر محیطی آترازین اثری بر میزان غلظت یون‌های سدیم، پتاسیم، منیزیم و کلر نداشته است، اما پیش‌تر Prasad و Reddy (1994) نشان دادند که آترازین موجب افزایش وزن بدن، افزایش سدیم و پتاسیم سرم و کاهش یون‌های کلسیم و منیزیم می‌گردد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر و در مقایسه با نتایج مطالعات پیشین در خصوص اثرات مواجهه با آترازین می‌توان بیان داشت که آترازین حتی در مواجهه حاد و کوتاه مدت و نیز در مقادیر اندک و تحت کشنده می‌تواند تغییرات قابل ملاحظه‌ای در رفتار و ترکیب یونی لارو ماهی سفید داشته باشد که این امر به‌نوبه خود می‌تواند



- biology of two species of *Tilapia* from the Lagos lagoon Nigeria. Bull. Inst. Fond Afr. Nore (Ser. A). Vol. 41, pp: 627-658.
23. **Fatima, M.; Clarck, S.D. and Sheppard, J., 2007.** Combined effects of herbicides on biomarkers reflecting immune endocrine interactions in goldfish. *Aquat. Toxicol.* Vol. 81, pp: 159–167.
  24. **Finney, D.T., 1971.** Probit Analysis; Cambridge University Press: Cambridge, UK. 149 p.
  25. **Forson, D.D. and Storfer, A., 2006.** Atrazine increases rana virus susceptibility in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Ecol. Appl.* Vol. 16, pp: 2325–2332.
  26. **Ghaninejad, D. and Abdulmaleki, S., 2007.** Annual stocks assessment of bony fish in the Caspian Sea. Iranian Fisheries research Institute (IFRO), Tehran, Iran. 65 p.
  27. **Giddings, J.M.; Anderson, T.A.; Hall, J. L.W.; Kendall, R.J.; Richards, R.P.; Solomon, K.R. and Williams, W.M., 2004.** A Probabilistic Aquatic Ecological Risk Assessment of Atrazine in North American Surface Waters. SETAC Press, Pensacola, FL, USA. 323 p.
  28. **Gravel, A.; Campbell, P.G.C. and Hontela, A., 2005.** Disruption of the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in 1+ yellow perch (*Perca flavescens*) chronically exposed to metals in the environment. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* Vol. 62, pp: 982–990.
  29. **Gupta, P.K.; Khangant, B.S. and Durve, V.S., 1981,** The temperature dependence of the acute toxicity of copper to freshwater pond snail, *Viviparus bengalensis* L. *Hydrobiologia.* Vol. 83, pp: 461–464.
  30. **Hanke, W.; Gluth, G.; Bubel, H. and Muller, R., 1983.** Physiological changes in carps induced by pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* Vol. 7, pp: 229–241.
  31. **Hussein, S.Y.; El-Nasser, M.A. and Ahmed, S.M., 1996.** Comparative studies on the effects of herbicide Atrazine on freshwater fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthys auratus* at Assiut Egypt. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 57, pp: 503–510.
  32. **Kennedy, C.J. and Farrell, A.P., 2005.** Ion homeostasis and interrenal stress responses in juvenile Pacific herring, *Clupea pallasii*, exposed to the water-soluble fraction of crude oil. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* Vol. 323, pp: 43–56.
- Ecology Published for the Nigerian Institute. 221 p.
12. **Bathe, R.; Ullmann, L. and Sachsse, K., 1973.** Determination of pesticide toxicity to fish. Berlin Dahlem. Vol. 37, pp: 241-246.
  13. **Benguira, S.; Leblond, V.S.; Webert, J.P. and Hontela, A., 2002.** Loss of capacity to elevate plasma cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) treated with a single injection of o,p' dichlorodiphenyldichloroethane. *Environmental Toxicology and Chemistry.* Vol. 21, pp: 1753–1756.
  14. **Beyer, J.E., 1987.** On length-weight relationship computing the mean weight of the fish of a given length class. *Fishbyte.* Vol. 5, No. 1, pp: 11-13.
  15. **Bisson, M. and Hontela, A., 2002.** Cytotoxic and endocrine-disrupting potential of atrazine, diazinon, endosulfan, and mancozeb in adrenocortical steroidogenic cells of rainbow trout exposed in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol.* Vol. 180, pp: 110–117.
  16. **Bolger, T. and Connolly, P.L., 1989.** The selection indices for the measurement and analysis of fish condition. *J. Fish Biol.* Vol. 17, No. 3, pp: 1-182.
  17. **Cavas, T. and Ergene-Gözükara, S., 2005.** Micronucleus test in fish cells, a bioassay for in situ monitoring of genotoxic pollution in the marine environment. *Environ. Mol. Mutagen.* Vol. 46, pp: 64–70.
  18. **Chandra, S., 2008.** Toxic effect of Malathion on acetylcholinesterase activity of liver, brain and gills of freshwater catfish *Heteropneutes fossilis*. *Environ. Conserv.* Vol. 9, pp: 45–52.
  19. **De Mel, G.W.J.L.M.V.T.M. and Pathiratne, A., 2005.** Toxicity assessment of insecticides commonly used in rice pest management to the fry of common carp, *Cyprinus carpio*, a food fish culturable in rice fields. *J. Appl. Ichthyol.* Vol. 21, pp: 146–150.
  20. **Fagade, S., 1983.** The biology of *chromido Tilapia guntheri* from a small lake. *Arch. Hydobil.* Vol. 97, pp: 60-72.
  21. **Fagade, S.O., 1978.** Age determination of *Tilapia melanotheron* (Ruppel) in the Lagos lagoon, Nigeria. *International Symposium on Ageing of Fish (In Bagenal), Teseh.* pp: 71-77.
  22. **Fagade, S.O., 1979.** Observation of the



- Verma, M.S., 2005.** Acute toxicity bioassays of mercuric chloride and malathion on air breathing fish *Channa punctatus* (Bloch). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* Vol. 61, pp: 114–120.
- 45. Pluta, H.J., 1989.** Toxicity of several xenobiotics and waste water effluents measured with a new fish early life stage test. *Ger. J. Applied Zool.* Vol. 76, pp: 195–220.
- 46. Prasad, T.A.V. and Reddy, D. C., 1994.** Atrazine toxicity on hydromineral balance of fish *Tilapia mossambicus*. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* Vol. 28, pp: 313-316.
- 47. Ramesh, M.; Srinivasan, R. and Saravanan, M., 2009.** Effect of atrazine (Herbicide) on blood parameters of common carp *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes). *African Journal of Environmental Science and Technology.* Vol. 3, No. 12, pp: 453-458.
- 48. Sclafani, M.; Stirling, G. and Leggett, W.C., 1997.** Osmoregulation, nutritional effects and buoyancy of marine larval fish: a bioassay for assessing density changes during the earliest life-history stages. *Marine Biology.* Vol. 129, pp: 1–9.
- 49. Shenouda, T.S.; Faten, F.A.; Mahmoud, M.R. and Ray, M.M., 1994.** A detail study on age and growth for *Chrysichthys auratus* and *Chrysichthys rueppelli* from the southern most part of the River Nile (Egypt). *J. Egypt Ger. Soc.* Vol. 200, No. 1412, pp: 73-101.
- 50. Solomon, K.R.; Baker, D.B.; Richards, R.P.; Dixon, D.R.; Klaine, S.J.; LaPoint, T.W.; Kendall, R.J.; Weisskopf, R.J.; Giddings, J.M.; Giesy, J.P.; Hall, L.W. and Williams, W.M., 1996.** Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. *Environ. Toxicol. Chem.* Vol. 15, pp: 31–74.
- 51. Tilak, K.S.; Veeraiyah, K.; Bhaskara, P. and Butchiram, M.S., 2007.** Toxicity studies of Butachlor to the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). *J. Environ. Biol.* Vol. 28, pp: 285–487.
- 52. Van Der Oost, R.; Beyer, J. and Vermeulen, N.P.E., 2003,** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharm.* Vol. 13, pp: 57–149.
- 53. Waring, C.P. and Moore, A., 2004.** The effects of atrazine on Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts in fresh water and after sea water transfer. *Aquat. Toxicol.* Vol. 66, pp: 93–104.
- 54. Weis, J.S. and Weis, P., 1987.** Pollutants as developmental toxicants in aquatic organisms.
- 33. King, R.P., 1996.** Population dynamics of the mud skipper *Periophthalmus barbarus* (Gobiidae) in the estuarine swamps of Cross River Nigeria. *J. Aquat. Sci.* Vol. 11, pp: 31-34.
- 34. Khoshnood, Z.; Mokhlesi, A. and Khoshnood, R., 2010.** Bioaccumulation of some heavy metals and histopathological alterations in liver of *Euryglossa orientalis* and *Psettodes erumei* along North Coast of the Persian Gulf. *African Journal of Biotechnology.* Vol. 9, No. 41, pp: 6966-6972.
- 35. Lakota, S.; Razska, A.; Utracki, T. and Chmiel, Z., 1989.** Side effect of deltamethrin and cypermethrin in the environment of water biocenoses. *Organika.* Vol. 71, pp: 71–77.
- 36. Lopez-Barea, J., 1996.** Biomarkers to detect environmental pollution. *Toxicol. Lett.* Vol. 88, 79 p.
- 37. Luczyńska, J.; Tońska, E. and Luczyński, M.J., 2009.** Essential mineral components in the muscles of six freshwater fish from the Mazurian Great Lakes (northeastern Poland). *Arch. Pol. Fish.* Vol. 17, pp: 171-178.
- 38. Matsumoto, J.; Hosmer, A.J. and Van Der Kraak, G., 2010.** Survival and ionoregulatory performance in Atlantic salmon smolts is not affected by atrazine exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C.* Vol. 152, pp: 379-384.
- 39. Metz, J.R. and Van Den Burg, E.H., 2003.** Wendelaar Bonga, S. E., Flik, G. Regulation of branchial Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase in common carp *Cyprinus carpio* L. acclimated to different temperature. *The Journal of Experimental Biology.* Vol. 206, pp: 2273-2280.
- 40. MooPAM. 1989.** Manual of oceanographic and pollutant analysis methods. Kuwait. 407 p.
- 41. Moore, A. and Lower, N., 2001.** The impact of two pesticides on olfactory-mediated endocrine function in mature male Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Comparative Biochemistry and Physiology B.* Vol. 129, pp: 269–276.
- 42. Neškovic, N.K.; Elezonic, I.; Karan, V.; Poleksic, V. and Budimir, M., 1993.** Acute and sub acute toxicity of atrazine to Carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* Vol. 25, pp: 173–182.
- 43. O'Brien, J.E., 1962.** Automatic analyses of chloride in sewage. *Wastes Eng.* Vol. 33, pp: 670-672.
- 44. Pandey, S.; Kumar, R.; Sharma, S.; Nagpure, N.S.; Sirivastava, S.K. and**





- Environmental Health Perspectives. Vol. 71, pp: 77-85.
55. **Whiteside, P.J. and Miner, B., 1984.** Pye Unicam Atomic Absorption Data Book – Pye Unicam Ltd. Cambridge. 283 p.
56. **Williams, J.E., 2000.** Manual of fisheries survey methods II: With periodic updates. Chapter 13: The Coefficient of Condition of Fish. Michigan Department of Natural Resources, Fisheries Special Report 25, Ann Arbor.
57. **Young, R.A., 2000.** Biomedical discovery with DNA arrays. Cell. Vol. 102, pp: 9-15.

