**شیلات، مجله منابع طبیعی ایران**
دوره ۷۵، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱
صفحات ۱۶-۱

# اثر برخی دترژنت‌ها (سورفکتانت‌های آنیونی) بر روند رشد جنین، درصد چشم‌زدگی، ناهنجاری‌های جنینی و میزان کورتیزول در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

**مریم سلیمان پور[۱]، باقر مجازی امیری[۲*]، حمید فرحمند[۲]، علیرضا میرواقفی[۲]، یاسین دستار[۳]**

*۱. دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران*
*۲. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران*
*۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران*

**تاریخ ارسال: ۱۳۹۹/۱۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۳**

## چکیده

دترژنت‌های آنیونی به دلیل پر مصرف بودن، بخش زیادی از فاضلاب‌های خانگی را تشکیل می‌دهند. با ورود فاضلاب‌ها به منابع آبی، این مواد وارد محیط زیست آبزیان شده و با کاهش اکسیژن محلول آب و ایجاد استرس باعث آسیب‌های جدی به آبزیان از جمله ماهی‌ها می شوند. هدف از این مطالعه، دست یافتن به شاخصه‌هایی جهت تعیین میزان اثر گذاری این مواد بر روند رشد جنین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود. برای این منظور تخم و جنین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مراحل مختلف از زمان لقاح تا زمان چشم زدگی در معرض دوزهای ۱ میلی‌گرم بر لیتر پودر لباسشویی، ۰/۵میلی گرم بر لیتر مایع ظرفشویی، ۰/۲۵ میلی گرم بر لیتر آب ژاول قرار گرفت و در طول این دوره نمونه برداری انجام شد. تیمارها از نظر دامنه زمانی رشد جنینی، درصد چشم زدگی، درصد تلفات، شکل ظاهری جنین و میزان هورمون کورتیزول تخمها و جنین مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج به دست آمده نشان داد که دترژنت‌ها باعث تسریع زمانی در مراحل رشد جنینی، افزایش درصد تلفات، کاهش درصد چشم‌زدگی، القاء استرس و افزایش هورمون کورتیزول و ایجاد ناهنجاری‌های جنینی می‌گردند. به طور کلی می‌توان اینطور نتیجه گرفت که ورود فاضلاب‌های خانگی و صنعتی و متعاقب آن ورود دترژنت‌ها به منابع آبی می‌تواند باعث اثرات سمی و آسیب‌های جبران‌ناپذیری روی گونه‌های آبزیان شود.

**واژگان کلیدی:** قزل‌آلای رنگین کمان، شوینده، دوره جنینی، سورفکتانت، ناهنجاری، کورتیزول

* نویسنده مسئول: باقر مجازی امیری
Email: bmamiri@ut.ac.ir

**Journal of Fisheries**
Vol. 75, No. 1, spring 2022
pp. 1-16

# Effect of some detergents (Anionic surfactants) on embryogenesis, hatch percentage, larvae abnormalities, and cortisol levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

**Maryam Soleimanpour[1], Bagher Mojazi Amiri[2*], Hamid Farahmand[2], Alireza Mirvaghefi [2], Yasin Dastar[3]**

*1. Ph.D student, Department of fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj,Iran*
*2. Professor, Department of fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran*
*3. M.Sc. Department of fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran*

**Received: 02-Mar-2021** **Accepted: 14-Oct-2021**

## Abstract

Anionic detergents make up a large portion of domestic wastewater due to their high consumption. With the entry of wastewater into water sources, these substances enter the aquatic environment and cause serious damage to aquatic animals, including fish, by reducing dissolved oxygen in water and causing stress. The aim of this study was to obtain evidence to determine the effect of these substances on the embryonic growth of rainbow trout. For this purpose, rainbow trout eggs and embryos were exposed to doses of 1 mg / l of washing powder, 0.5 mg / l of dishwashing liquid, 0.25 mg of bleach in different stages from fertilization to hatching and sampling was done during this period. The treatments were tested for embryonic growth time, percentage of eyeing, percentage of mortality, appearance and cortisol levels of eggs and embryos. The results showed that detergents accelerate the stages of embryonic development, increase the mortality rate, reduce the percentage of eyeing, induce stress and increase cortisol and cause fetal abnormalities. In general, it can be concluded that the entry of domestic and industrial wastewater and subsequently entry of detergents into water sources can cause toxic effects and irreparable damage to aquatic species.

**Key words:** Rainbow trout, detergent, embryogenesis, surfactant, abnormality, cortisol.

Corresponding author: Bagher Mohazi Amiri Email: bmamiri@ut.ac.ir

## ۱. مقدمه

امروزه شوینده‌های صنعتی به دلیل مصرف بسیار زیاد، رها شدن در منابع آبی و خطر آلودگی برای موجودات آبزی بسیار مهم اند. از میان دترژنت‌ها، دترژنت‌های آنیونی دارای بیش‌ترین مصارف خانگی و عمومی هستند (Dabiri, 1385). دترژنت‌ها توسط فاضلاب های خانگی و صنعتی بطور مستقیم یا غیرمستقیم به داخل سیستم‌های آبی وارد شده و باعث آلودگی می گردند (Koner and , 1993 Mullick). اگرچه به‌طور طبیعی شوینده‌ها، توسط باکتری‌ها متحمل تجزیه زیستی می‌شوند، اما غلظت بالای دترژنت‌ها مانع عملکرد مثمر ثمر باکتری‌ها می‌گردند (Kikodemusz and Dakay, 1981). دترژنت ها، همچنین به دلیل تمایل زیاد جهت قرار گرفتن در سطح، باعث کاهش میزان تبادل اکسیژن هوا با آب‌های سطحی می شوند (Falahi and Piri, 1377). در سالهای اخیر، میزان غلظت سورفکتانت‌ها در رودخانه‌های ایران و مخصوصا در شمال کشور با توجه به ورود فاضلاب‌های انسانی به شدت افزایش یافته است به طوری که غلظت آنها در رودخانه ی سی‌سنگان، بابلسر و نوشهر، به ترتیب ۰/۰۳۸، ۰/۰۳۵ و ۰/۰۳۶ میلی گرم بر لیتر گزارش شده است (Abedini *et al*., 1385).

طبقه‌بندی سورفکتانت‌ها بستگی به الکترولیت‌های تشکیل دهنده آنها دارد که بر اساس گروه قطبی هیدروفیلیک، آن‌ها را (آنیونی، کاتیونی، غیریونی و آمفوتریک بودن) می نامند. در ایران بیش از ۹۰ درصد سورفکتانت‌های مصرفی در دترژنت‌های آنیونی از نوع الکیل بنزن سولفانات خطی هستند (Yamini, 1371). آلکیل بنزن سولفونات‌های خطی[1] از مهم‌ترین اجزای دترژنت‌های آنیونی هستند که در محیط، تولید یون‌های منفی می‌کنند. LAS در دترژنت‌های خانگی مانند پودر لباسشویی و مایع ظرفشویی و سایر دترژنت‌های خانگی به کار رفته است. LAS در کیسه زرده لارو، جریان خون را کاهش می‌دهد و به دلیل ماهیت لیپوفیلیک خود ترکیب و ظاهر آن را تغییر می‌دهد. کاهش مواد مغذی در دسترس می‌تواند باعث تخلیه زود هنگام کیسه زرده و شروع زودرس تغذیه خارجی در زمان نارسی دستگاه گوارش و نیزاختلال بینایی در لارو گردد (Hampel *et al*., 2004).

دترژنت‌ها می‌توانند در سطوح مختلف زیستی بر آبزیان اثرات سوء بگذارند. برای ماهی‌هایی که در آب رودخانه تخم‌ریزی می‌کنند در دوره رشد جنینی[2]، این تاثیرات می‌تواند در سطح بافت و یا اختلال هورمونی اتفاق افتد که مهم‌ترین آن‌ها تغییر هورمون کورتیزول و هورمون استرس است.

کورتیکواستروئیدها، به ویژه کورتیزول، در نتیجه واکنش-های استرس فیزیولوژیکی ماهی‌ها ترشح می‌شوند (Falahatkar *et al*., 2012). غلظت بالای کورتیزول در تخم ممکن است ناشی از استرس وارد شده به ماهی‌های ماده در طی ویتلوژنز باشد (Auperin and Geslin, 2008). استرس و یا تحریک کورتیزول تاثیر قابل توجهی بر سیستم ایمنی بدن دارد و به خوبی مشخص شده که سبب ایجاد تغییراتی در پاسخ‌های ایمنی ماهیان و همچنین سبب افزایش حساسیت پذیری به پاتوژن‌های طبیعی و کاهش مقاومت در برابر بیماری می‌شود (Pruett, 2003; Tort, 2011). ماهیانی که در معرض دترژنت‌های آنیونی قرار می‌گیرند، به دلیل جذب اکسیژن توسط این دترژنت‌ها و باکتری‌های تجزیه کننده، دچار کمبود اکسیژن و استرس می‌شوند (Arianfar *et al*., 1394). از جمله اثرات استرس می توان از عواملی همچون کاهش ایمنی، افزایش حساسیت به بیماریها، کاهش کیفیت تخم و اسپرماتوکریت و کاهش رشد را نام برد (; Campbell *et al*., 1992.; Pickering, 1981 ; Iwama *et al*., 1997). گلوکز، کورتیزول و کلرید پلاسما چند متغیر فیزیولوژیکی هستند که به عوامل استرس‌زا پاسخ داده و به عنوان شاخص استرس عمل می‌کنند (Pickering, 1981).

از جمله اثر نامطلوب دترژنت ها برای ماهی‌ها چه در سطح جنینی چه در سطح لاروی، ناهنجاری بدنی است.

[1] LAS= Linear Alkylbenzene sulfonates

[2] Embryogenesis

ناهنجاری‌های اسکلتی از مشکلات رایج در تفریخگاه‌های ماهیان است که می تواند رشد و نمو، بقاء و نهایتا ارزش بازاری محصول را تحت تأثیر قرار دهد (Divanach *et al*., 1996; Boglione *et al*., 2001). این ناهنجاری‌ها می‌توانند با استرس، شرایط محیطی، ژنتیک، فاکتورهای تغذیه‌ای، مواد سمی، و دمای بالا در طی انکوباسیون تخم مرتبط باشند (Cahu *et al*., 2003; Lall *et al*., 2007) با توجه به حساسیت بالای جنین ماهی نسبت به سورفکتانت‌های آنیونی، بزرگترین مشکلی که جنین در مواجهه با این مواد با آن رو به رو می شود، کاهش درصد چشم‌زدگی و تفریخ و نهایتا درصد تلفات بالا است (Vaughen and Egmond, 2010).

ماهیان رودکوچ (آنادروموس) از جمله آزاد ماهیان برای تخمریزی و رشد مرحله لاروی تا رسیدن به بچه ماهی به بسیاری از رودخانه‌های شمال ایران وارد می شوند، لذا دانستن اثر این مواد بخصوص تاثیر دترژنت‌ها در روند تخمریزی و تکامل جنینی و مرحله لاروی دارای اهمیت است. با توجه به مسائل مطرح شده، در این تحقیق مطالعه اثر مزمن و یا حاد دترژنت‌ها، شامل پودر لباسشویی، مایع ظرفشویی و آب ژاول بر ماهی قزل آلای رنگین کمان به عنوان مهمترین ماهی پرورشی در ایران و تشابه با ماهی آزاد دریای خزربه عنوان یکی از ماهیان کوچ رو یا آنادروموس مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲.۱. تهیه و آداپتاسیون تخم‌ها

هزار عدد تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از کارگاه تکثیر و پرورش شرکت آبزی نگین شایان فریدونشهر (استان اصفهان) تهیه و به آزمایشگاه فیزیولوژی گروه شیلات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انتقال داده شد، تخم‌ها پس از هم دمایی به انکوباتورهای ساخته شده در آزمایشگاه انتقال داده شدند.

### ۲.۲. آماده سازی و اجرای آزمایش

هر انکوباتور شامل یک مخزن ۴۰ لیتری و یک سبد به گنجایش ۱۱ لیتر بود. آب از مخزن توسط یک پمپ آب Resun 1100 (چین) به سبد می‌رسید و توسط یک شلنگ از آن خارج می‌شد و به صورت چرخشی به داخل مخزن بازمی‌گشت، انکوباتورها به صورت ۲۴ ساعته هوادهی می‌شدند (Khatooni *et al*., 2013).

تخم‌ها در دمای ۱۳ درجه سانتی‌گراد، pH ۷ تا ۷/۵و اکسیژن محلول ۷/۵ تا ۹ میلی گرم بر لیتر و سرعت آب ۸/۳ لیتر بر دقیقه در ۴ تیمار کنترل، پودر لباسشویی، مایع ظرفشویی و آب ژاول با ۳ تکرار در نظر گرفته شدند. در هر تکرار ۸۳ و در هر تیمار ۲۴۹ عدد تخم قرار داده شدند. پس از سه روز آداپتاسیون، محلول‌های دترژنت به تیمارها اضافه شدند. با توجه به نتایج تحقیقات پیشین و دوز کشنده ($LC_{50}$) دترژنت‌ها، محلول‌های دترژنت به صورت ۱ میلی‌گرم بر لیتر پودر لباسشویی (سافتلن)، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر مایع ظرفشویی (خاکستر) و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر آب ژاول (وایتکس) بوده است. تیمار صفر یا تیمار کنترل دترژنتی دریافت نکرد.

### ۲،۳. نمونه‌برداری

لقاح به صورت خشک با استفاده از ۲ مولد ماده و ۴ مولد نر انجام شد به طوری که اسپرم ۴ ماهی نر مجموعاً به تخم‌های هر یک از دو ماهی ماده به میزان مساوی اضافه گردید. روز اول پس از لقاح ۱۲ عدد تخم از هر یک از تیمارها به صورت تصادفی برداشته شد که ۸ عدد از آنها در ۲ پلاستیک زیپ‌دار داخل یک ورقه آلومینیوم جهت اندازه‌گیری کورتیزول در نیتروژن مایع قرار داده شدند و سپس به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. ۴ عدد دیگر تخم‌ها نیز در دو بطری کوچک حاوی فرمالین ۱۰٪ جهت بررسی ناهنجاری‌ها قرار داده شدند و پس از دو هفته به محلول اتانول ۷۰ درصد منتقل شدند. از روز سوم، نمونه‌برداری به صورت یک روز در میان انجام شد (Knight., 1963).

تلفات هر انکوباتور به صورت روزانه جمع‌آوری و تعداد آن ها یادداشت شد و تخم های دارای تغییرات و

ناهنجاری‌های ظاهری در صورت وجود فیکس شد و پس از عکس‌برداری دسته‌بندی و ثبت گردید. پس از چشم‌زدگی تخم‌های باقی‌مانده، تعداد آن‌ها ثبت گردید و نمونه‌های آن‌ها جهت بررسی ناهنجاری‌ها و اندازه‌گیری کورتیزول برداشته شد.

### ۲،۴. آماده سازی نمونه‌ها برای سنجش مراحل رشد جنین و ناهنجاری‌ها

پس از اتمام مراحل نمونه‌برداری تمام نمونه‌هایی که پس از فیکس کردن درفرمالین ۱۰٪ در الکل ۷۰٪ قرار داشتند به آزمایشگاه شیلات منتقل و جهت مشاهده مراحل رشد جنینی و تغییرات و ناهنجاری ها زیر میکروسکوپ LEICA DME (هلند) با بزرگنمایی 40 x بررسی شدند و مراحل رشد جنین‌ها به شکل توصیفی و اندازه‌گیری چشمی ثبت گردید. در نهایت زمان دقیق هر مرحله رشد و ناهنجاری‌های نمونه‌ها مشخص گردید (Ignatieva, 1991).

### ۲.۵. سنجش میزان کورتیزول

نمونه های مربوط به مراحل مورولا، گاسترولا و چشم‌زدگی از میان نمونه‌های موجود در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد جهت آماده سازی برای اندازه‌گیری میزان کورتیزول به آزمایشگاه فرآوری گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل شدند. ابتدا تخم‌ها در گروه‌های سه‌تایی که هر کدام مربوط به یک تکرار از یک تیمار در یک مرحله بودند با دستگاه هموژنایزر IKA T25 digital ultra turrax (3800 rpm) (آلمان) هموژنایز شدند به این صورت که هر سه تخم در ۱ بشر ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شدند و به آن‌ها ۱ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر شده (DDW) اضافه شد و پس از هموژنایز شدن توسط دستگاه به لوله آزمایش انتقال داده شدند و با دستگاه ورتکس KMC-1300V (1800 rpm) Vision Scientific (کره جنوبی) به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شدند پس از آن به آن‌ها ۲ میلی‌لیتر دی اتیل اتر اضافه شد و مجدداً به مدت ۳۰ ثانیه با دستگاه ورتکس مخلوط شدند سپس به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال داده شدند و بلافاصله با دستگاه سانتریفیوژ Part Azma (ایران) به مدت پنج دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۲۱۰۰ g سانتریفیوژ گردیدند. محلول حاوی اتر که با سانتریفیوژ جدا شده بود به میکروتیوب دیگری با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر انتقال داده شد و به مدت ۲۰ ثانیه در نیتروژن مایع قرار داده شد. سپس مایع حاوی اتر که یخ نزده بود از آن جدا شد و در لوله آزمایش ریخته شد و تا روز بعد زیر هود قرار گرفت. روز بعد به هر لوله آزمایش ۲۰ میکرولیتر محلول PBS اضافه شد و محلول به دست آمده در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد (Li *et al.*, 2010). در کل ۳۶ نمونه از این مراحل به دست آمد که پس از انجماد در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد به آزمایشگاه جهت اندازه‌گیری میزان هورمون کورتیزول منتقل شد (Li *et al.*, 2010). اندازه‌گیری میزان هورمون کورتیزول با روش ELISA و کیت Monobind (ایالات متحده آمریکا) انجام شد.

### ۲.۶. تجزیه و تحلیل آماری داده ها

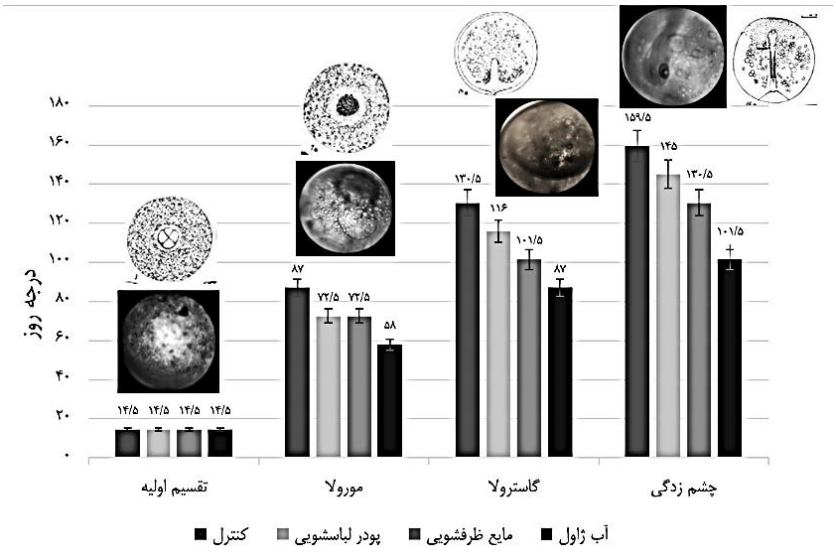
نتایج حاصل از این مطالعه جهت ثبت اولیه داده‌ها در نرم افزار excel 2013 ثبت گردید و طراحی نمودارها نیز با همین نرم افزار انجام شد. داده‌ها با آزمون کولموگروف اسمیرنوف نرمال سازی شد. برای تحلیل داده‌ها، از تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار spss انجام شد. مقایسه میانگین تیمارهای مختلف (با سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$) با آزمون دانکن انجام شد.

## ۳. نتایج

### ۳،۱. بررسی دامنه زمانی رشد جنین ماهی قزل‌آلا

در جدول ۱ و نمودار ۱ زمان مراحل مختلف رشد جنین در تیمارهای مختلف نشان داده شده است. رشد تیمارهای پودر لباسشویی ، مایع ظرفشویی و آب ژاول از

تیمار کنترل سریع‌تر بوده و با آن در سطح (p<۰/۰۵) اختلاف معنی‌دار دارد. بین زمان مرحله مورولا در تیمارهای پودر لباسشویی (۷۲/۵درجه روز) و مایع ظرفشویی (۷۲/۵ درجه روز) اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد اما زمان آن‌ها با تیمار آب ژاول (۵۸ درجه روز) در سطح (p<۰/۰۵ ) اختلاف معنی‌دار دارد. در مرحله گا سترولا بین تمام تیمارها در سطح (p<۰/۰۵) اختلاف معنی‌دار وجود دارد، به این صورت که تیمار آب ژاول در ۸۷ درجه روز زودتر از سایرین به این مرحله رسید و پس از آن به ترتیب تیمارهای مایع ظرفشویی در ۱۰۱/۵، پودر لباسشویی در ۱۱۶ و کنترل در ۱۳۰/۵درجه روز به مرحله گاسترولا رسیدند. در مرحله چشم‌زدگی نیز همین این روند ادامه داشت و تیمار آب ژاول در ۱۰۱/۵درجه روز، تیمار مایع ظرفشویی در۱۳۰/۵، تیمار پودر لباسشویی در ۱۴۵ و تیمار کنترل در ۱۵۹/۵ درجه به مرحله‌ی چشم‌زدگی رسیدند. اختلاف بین زمان چشم‌زدگی تیمارها در سطح (p<۰/۰۵) معنی‌دار است.




**شکل ۱- نمودار مقایسه دامنه زمانی رشد تیمارها (میانگین± خطای استاندارد)**
**تصاویر: عکس جنین در زیر لوپ (زیرین) و شکل شماتیک جنین (بالای آن)**

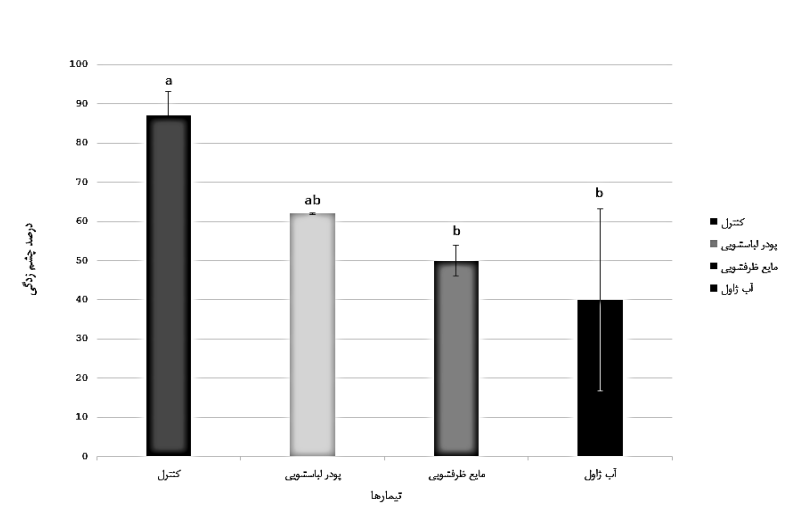
**جدول ۱- دامنه زمانی رشد جنین (درجه-روز) در تیمارهای مختلف (میانگین±خطای استاندارد)**

| مراحل رشد / تیمارها | آب ژاول | مایع ظرفشویی | پودر لباسشویی | کنترل |
|---|---|---|---|---|
| تقسیم اولیه | ۱۴/۵±۰ | ۱۴/۵±۰ | ۱۴/۵±۰ | ۱۴/۵±۰ |
| مورولا | $^{c}$۵۸±۴ | $^{b}$۷۲/۵ ±۹/۱ | $^{b}$±۱/۱ ۷۲/۵ | $^{a}$۸۷ ± ۰/۶ |
| گاسترولا | $^{d}$۸۷ ± ۰/۳ | $^{c}$۱۰۱/۵ ± ۰/۷ | $^{b}$۱۱۶±۳ | $^{a}$۱۳۰/۵ ± ۰/۸ |
| چشم‌زدگی | $^{d}$۱۰۱/۵ ± ۰/۲ | $^{c}$۱۳۰/۵ ± ۱/۸ | $^{b}$۱۴۵±۲ | $^{a}$۱۵۹/۵ ± ۰/۸ |

## ۳،۲. درصد چشم‌زدگی در تیمارهای مختلف

در نمودار شکل ۲ میانگین درصد چشم‌زدگی تیمارهای مختلف با یکدیگر مقایسه شده است. تیمار

کنترل با ۸۷/۴۰درصد بیشترین و تیمار آب ژاول با ۳۹/۸۴در صد کمترین در صد چشم‌زدگی را دارند. در این میان بین درصد چشم‌زدگی تیمار کنترل با تیمار پودر لباسشویی (۶۲/۰۶٪) اختلاف معنی دار مشاهده نشد اما با تیمارهای آب ژاول و مایع ظرفشویی (۵۰/۱۲٪) در سطح (p<۰/۰۵) اختلاف معنی‌دار دارد. تیمار پودر لباسشویی همچنین با تیمارهای آب ژاول و مایع ظرفشویی اختلاف معنی‌دار ندارد و بین تیمارهای آب ژاول و مایع ظرفشویی هم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.



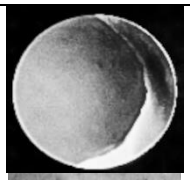
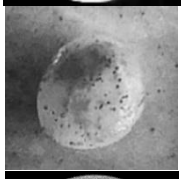
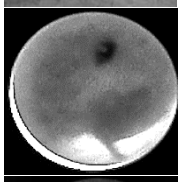
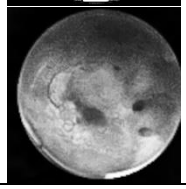

**شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین درصد چشم زدگی (میانگین± خطای استاندارد)درصد چشم زدگی**

| | مجموع مربعات | درجه آزادی | میانگین مربعات | F | sig |
|---|---|---|---|---|---|
| بین گروهی | ۳۷۷۶/۶ | ۳ | ۱۲۵۸/۸ | ۶/۶ | ۰/۰۱۵ |
| درون گروهی | ۱۵۲۴/۴ | ۸ | ۱۹۰/۵ | - | - |
| کل | ۵۳۰۱/۱ | ۱۱ | - | - | - |

### ۳،۳. ناهنجاری‌های جنینی در تیمارها

جدول ۴ نشان دهنده داده های انواع ناهنجاری‌ها و درصد آنها در تیمارهاست. در ناهنجاری نوع اول سطح تخم‌ها به شکل کنگره‌ای و ناهموار در می‌آید، از این نوع ناهنجاری در تیمار کنترل و مایع ظرفشویی مشاهده نشد و درصد آن در تیمار آب ژاول ۳/۳۸درصد بود این ناهنجاری بیشتر در تیمار پودر لباسشویی مشاهده شد و درصد آن ۱۱/۳۲درصد بود. در ناهنجاری نوع دوم نقاط سیاه رنگ روی تخم‌ها دیده می‌شد. این ناهنجاری در تمام تیمارها به جز تیمار مایع ظرفشویی مشاهده شد. بیشترین در صد آن متعلق به تیمار پودر لباسشویی برابر ۱۴/۵۱ درصدبود و کمترین درصد آن متعلق به تیمار آب ژاول بود که ۲/۶۳ ٪ از این ناهنجاری داشت. درصد این ناهنجاری که تنها ناهنجاری موجود در تیمار کنترل بود، در این تیمار برابر ۴/۲۱درصد بود. در ناهنجاری نوع سوم جنین چشم‌زده در داخل تخم ساختار خود را از دست می‌دهد و تخم بدون این که شفافیت خود را از دست بدهد سفید می‌شود. این ناهنجاری به میزان ۴/۵۶ درصد در تیمار مایع ظرفشویی و ۸/۹۳ درصد در تیمار آب ژاول مشاهده شد. ناهنجاری نوع چهارم فقط در تیمار آب ژاول با درصد نسبتاً بالا مشاهده شد در این ناهنجاری جنین با اینکه به وجود می‌آید و از بین نمی‌رود، اندازه بسیار کوچکی دارد. درصد این ناهنجاری در تیمار آب ژاول برابر ۲۴/۵۲ درصد بود.

**جدول ۴- درصد و شکل انواع ناهنجاری در تیمارها (درصد، میانگین خطای± استاندارد)**

| ردیف | شکل ناهنجاری | درصد ناهنجاری در تیمار شاهد | درصد ناهنجاری در تیمار پودر لباسشویی | درصد ناهنجاری در تیمار مایع ظرفشویی | درصد ناهنجاری در تیمار آب ژاول |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱ |  | ۰ | ۱۱/۳۲ ± ۳/۳۷ | ۰ | ۳/۳۸ ± ۰/۰۲ |
| ۲ |  | ۴/۲۱ ± ۰/۰۲ | ۱۴/۵۱ ± ۳/۳۷ | ۰ | ۲/۶۳ ± ۰/۰۲ |
| ۳ |  | ۰ | ۰ | ۱۴/۵۶ ± ۰/۰۶ | ۸/۹۳ ± ۰/۰۲ |
| ۴ |  | ۰ | ۰ | ۰ | ۲۴/۵۲ ± ۰/۰۲ |

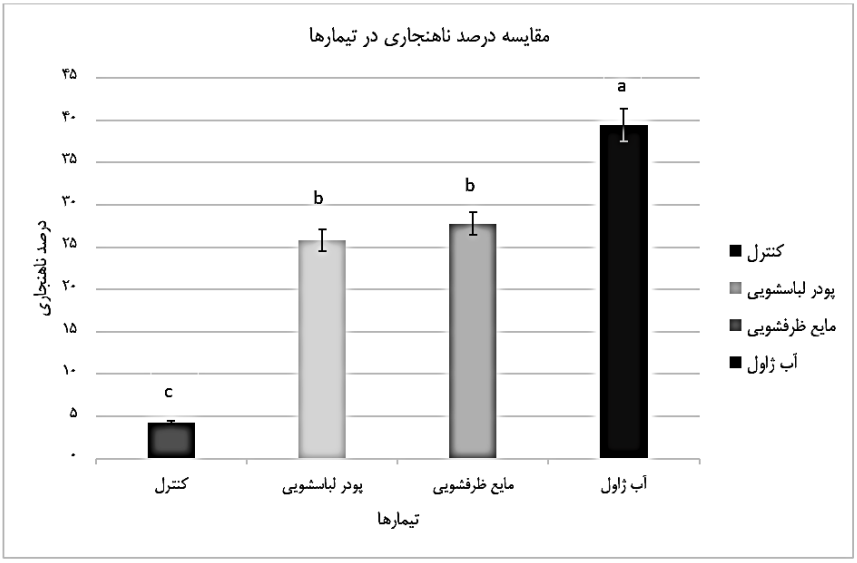
نمودار شکل ۳ نشان‌دهنده درصد ناهنجاری‌های جنینی در تیمارهای مختلف است. بیشترین درصد ناهنجاری با ۳۹/۴۶در صد مربوط به تیمار آب ژاول ا ست که با در صد ناهنجاری سایر تیمارها در سطح ($p<۰/۰۵$) اختلاف معنی‌دار دارد. پس از آن بیشترین درصد ناهنجاری متعلق به تیمار مایع ظرفشویی با ۲۷/۸۰در صد است که تفاوت چندانی با درصد ناهنجاری تیمار پودر لبا س شویی (۲۵/۸۳٪) ندارد و اختلاف بین آن‌ها معنی‌دار نیست اما هر دو تیمار با تیمارهای آب ژاول و کنترل (۴٪/۲۱) در سطح ($p<۰/۰۵$) اختلاف معنی‌دار دار ند. تیمار کنترل کمترین درصد ناهنجاری را دارد و با سایر تیمارها در سطح ($p<۰/۰۵$) اختلاف معنی‌دار دارد.

### ۳،۴. درصد تلفات در تیمارها

در نمودار شکل ۴ میانگین درصد تلفات تیمارها در زمان‌های مختلف ۵۸ درجه روز[1] ۷۲/۵ درجه روز، ۱۰۱/۵ درجه روز، ۱۳۰/۵درجه روز و ۱۵۹/۵ درجه روز با یکدیگر مقایسه شدند. تیمار آب ژاول در ۱۳۰/۵ و ۱۵۹/۵ درجه روز در مرحله لاروی بود. بیشترین درصد تلفات مربوط به تیمار آب ژاول با ۴۱/۰۲٪ بود و پس از آن تیمار مایع ظرفشویی با ۲۰/۵۷٪ و پودر لباسشویی با ۲۱/۷۰٪ به ترتیب دارای بیشترین تلفات بودند و تیمار کنترل با ۹/۰۰ در صدکمترین در صد تلفات را دا شت. در صد تلفات تیمار آب ژاول با تیمارهای مایع ظرفشویی و پودر لباسشویی اختلاف معنی‌دار نداشت اما با تیمار کنترل در سطح ($p<۰/۰۵$) دارای اختلاف معنی‌دار بود. تیمار مایع ظرفشویی نیز با تیمارهای آب ژاول و پودر لباسشویی اختلاف معنی‌دار نداشت اما با تیمار کنترل در سطح ($p<۰/۰۵$) دارای اختلاف معنی‌دار بود. تیمار کنترل با تیمار پودر لباسشویی اختلاف معنی‌دار نداشت اما با تیمارهای آب ژاول و مایع ظرفشویی در سطح ($p<۰/۰۵$) دارای اختلاف معنی‌دار بود. تیمار پودر لبا س شویی از نظر

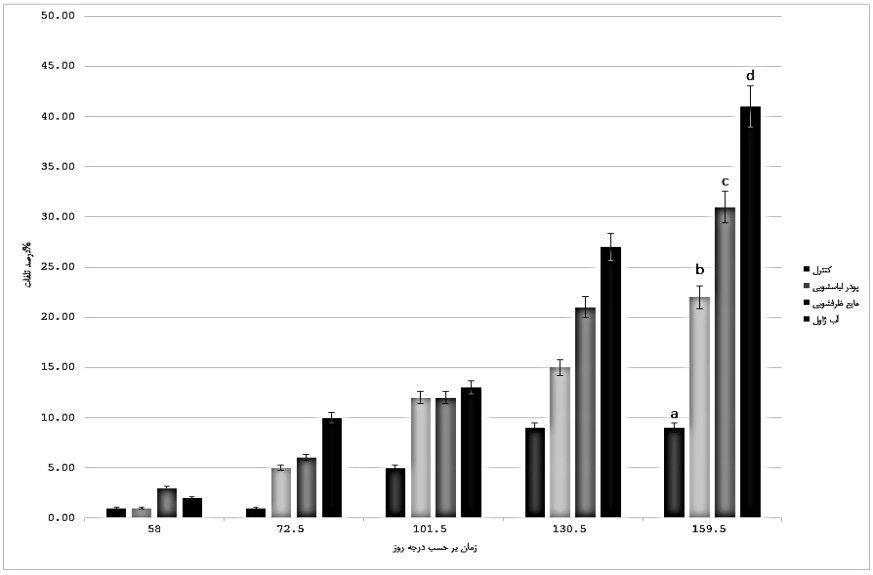
[1] Degree-day

درصد تلفات با هیچ تیماری اختلاف معنی‌دار نداشت.




**شکل ۳- نمودار مقایسه درصد ناهنجاری در تیمارها (میانگین± خطای استاندارد)**

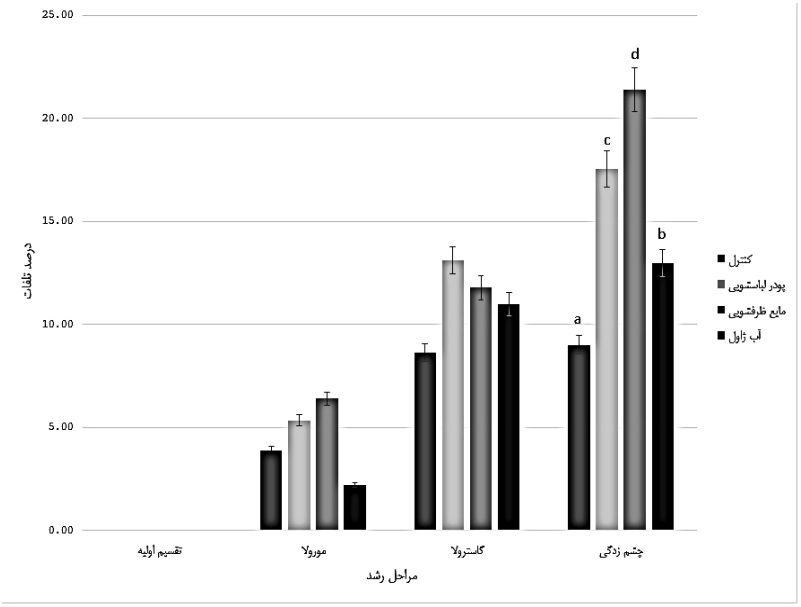
| ناهنجاری | مجموع مربعات | درجه آزادی | میانگین مربعات | F | sig |
|---|---|---|---|---|---|
| بین گروهی | ۱۹۴۴/۱ | ۳ | ۶۴۸/۰۳ | ۲۱۹/۵ | ۰/۰۰۰ |
| درون گروهی | ۲۳/۶ | ۸ | ۲/۹۵ | – | – |
| کل | ۱۹۶۷/۷ | ۱۱ | – | – | – |




**شکل ۴- نمودار مقایسه میانگین درصد تجمعی تلفات تیمارها بر حسب درجه روز (میانگین± خطای استاندارد)**

| درصد تلفات | مجموع مربعات | درجه آزادی | میانگین مربعات | F | sig |
|---|---|---|---|---|---|
| بین گروهی | ۱۶۶۰/۵ | ۳ | ۵۵۳/۵ | ۴/۶۶ | ۰/۰۳۶ |
| درون گروهی | ۹۴۸/۷ | ۸ | ۱۱۸/۶ | – | – |
| کل | ۲۶۰۹/۳ | ۱۱ | – | – | – |

در نمودار ۵ درصد تلفات تیمارها در مراحل مختلف رشد با یکدیگر مقایسه شده است. در مرحله تقسیم اولیه تلفات تمام تیمارها صفر بود. در مرحله موروﻻ بیشترین تلفات در تیمار مایع ظرفشویی (۶/۴۰٪) و کمترین تلفات در تیمار آب ژاول (۲/۲۲٪) مشاهده شد. در مرحله گاسترولا تیمار پودر لباسشویی با ۱۳/۱۳٪ بیشترین در صد تلفات را دا شت و کمترین در صد تلفات مربوط به تیمار کنترل با ۸/۶۳٪ بود. در مرحله چشم‌زدگی نیز تیمار مایع ظرفشویی بیشترین درصد تلفات (۲۱/۳۹٪) و تیمار کنترل (۹/۰۰٪) کمترین درصد تلفات را داشتند.



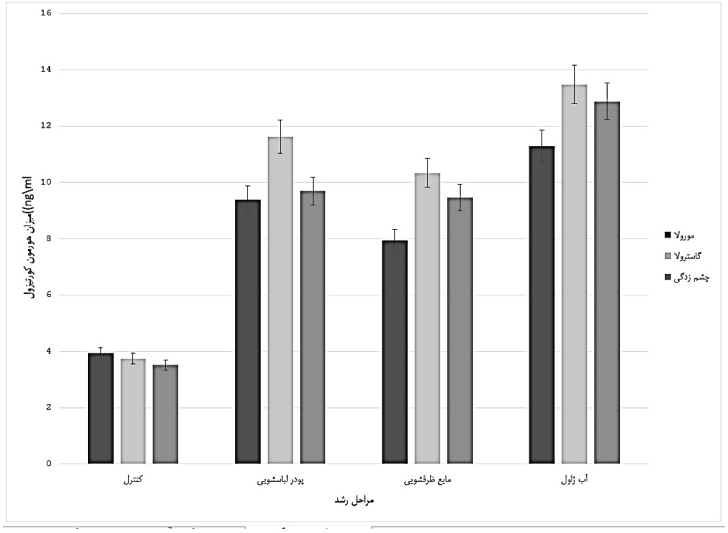

**شکل ۵- نمودار مقایسه میانگین درصد تجمعی تلفات تیمارها بر حسب مراحل رشد (میانگین± خطای استاندارد)**

## ۳.۵. میزان هورمون کورتیزول تخم در تیمارهای مختلف

در جدول ۵ و نمودار شکل ۶ میزان هورمون کورتیزول تیمارهای مختلف در مراحل ر شد جنین نشان داده شده است. به طور کلی میزان هورمون کورتیزول در تیمار آب ژاول از سایر تیمارها بیشتر بود و میزان آن در تیمار کنترل از سایر تیمارها کمتر بود. بعد از آب ژاول تیمار پودر لباسشویی و بعد از آن تیمار مایع ظرفشویی بیشترین میزان هورمون کورتیزول را نشان دادند. همه تیمارها درسطح ($p<۰/۰۵$) با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند اما بین مراحل مختلف رشد هر تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

**جدول ۵- میزان هورمون کورتیزول (نانوگرم بر لیتر) در تیمارهای مختلف (میانگین± خطای استاندارد)**

| مراحل رشد / تیمارها | کنترل | پودر لباسشویی | مایع ظرفشویی | آب ژاول |
|---|---|---|---|---|
| موروﻻ | ۳/۸۹ ± ۰/۰۶$^{d}$ | ۹/۴ ± ۰/۴$^{b}$ | ۷/۹۴ ± ۰/۱۱$^{c}$ | ۱۱/۳ ± ۰/۴$^{a}$ |
| گاسترولا | ۳/۷۴ ± ۰/۰۳$^{d}$ | ۱۱/۵۷ ± ۰/۰۶$^{b}$ | ۱۰/۳۴ ± ۰/۰۸$^{c}$ | ۱۳/۴۸ ± ۰/۱۱$^{a}$ |
| چشم‌زدگی | ۳/۵۲ ± ۰/۰۵$^{d}$ | ۹/۷ ± ۰/۰۶$^{b}$ | ۹/۴۷ ± ۰/۰۸$^{c}$ | ۱۲/۸۹ ± ۰/۰۸$^{a}$ |




**شکل ۶-نمودار مقایسه میزان کورتیزول (نانوگرم بر لیتر) در تیمارهای مختلف (میانگین± خطای استاندارد)**

| کورتیزول | مجموع مربعات | درجه آزادی | میانگین مربعات | F | sig |
|---|---|---|---|---|---|
| بین گروهی | ۸۷/۵ | ۳ | ۲۸/۲ | ۳۴۷/۵۶ | ۰/۰۰۰ |
| درون گروهی | ۰/۶۷ | ۸ | ۰/۰۸ | - | - |
| کل | ۸۸/۱۸ | ۱۱ | - | - | - |

## ۴. بحث و نتیجه گیری نهایی

در این پژوهش اثرات دترژنت‌های آنیونی شامل پودر لباسشویی، مایع ظرفشویی و آب ژول روی مراحل رشد جنینی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت همچنین هورمون کورتیزول به عنوان شاخص استرس ناشی از در معرض قرارگیری اندازه‌گیری شد.

اولین مبحثی که مورد بررسی قرار گرفت دامنه زمانی رشد جنینی بوده است که در این بررسی تسریع در مراحل رشد جنین تحت تاثیر دترژنت‌ها مشاهده شد. وجود سرعت بخشیدن به خارج شدن جنین از پوسته تخم را بیشتر می‌توان به استرس ناشی از کمبود اکسیژن در داخل تخم به علت جذب اکسیژن توسط دترژنت‌ها نسبت داد. خروج زود هنگام لارو از تخم ماهی در مطالعه کهنسال نودهی و همکاران (۱۳۹۴) در اثر نانوذرات نقره بر روند رشد جنین تاس ماهی ایرانی مشاهده شد که علت آن اثر استرس داخلی تشخیص داده شد. می‌توان این گونه بیان کرد که دترژنت‌ها باعث استرس داخلی در جنین ایجاد می شوند و جنین علی‌رغم نرسیدن به تکامل کامل برای رهایی از شرایط استرس‌زای درون تخم زودهنگام تفریخ می‌گردد. در مطالعه حاضر، تیماری که در معرض آب ژاول بود کمترین دامنه زمانی رشد را نسبت به تیمار کنترل ثبت کرد و پس از آن به ترتیب تیمارهای مایع ظرفشویی و پودر لباسشویی کاهش معنی داری را در دامنه زمانی رشد گزارش کردند. ماهیانی که در معرض دترژنت‌های آنیونی قرار می‌گیرند بعلت جذب اکسیژن توسط این دترژنت‌ها و به دنبال آن کاهش اکسیژن محلول آب باعث ایجاد استرس و کمبود اکسیژن می‌شود (Arianfar, *et al.*, 2015). جذب سورفکتانت احتمالا انتشار اکسیژن را کاهش می‌دهد و با تغییراتی که ایجاد می‌کند مانع از جذب اکسیژن می‌شود (Swedmark, *et al.*, 1971).

درصد تلفات مربوط به تیمارهای در معرض دترژنت‌های آنیونی در مطالعه حاضر به ترتیب برای آب ژاول و پس از آن مایع ظرفشویی و پودر لباسشویی افزایش معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد داشتند که این

نتایج هم سو با پژوهشی که Bassey و همکاران در سال ۲۰۱۷ در زمینه سمیت دترژنت‌های آنیونی انجام دادند بود. آن‌ها دریافتند که درصد تلفات در دامنه ۴ تا ۶۴ ٪ متغیر بود. همچنین درصد تلفات هر تیمار در مراحل مختلف رشد نیز اندازه گیری شد و اینطور نتیجه گرفته شد که با توجه به اینکه برخی دترژنت‌ها دامنه زمانی رشد را کوتاه می‌کنند، باعث می‌شوند درصد تلفات در هر مرحله کمتر باشد اما در روز یکسان با سایر تیمارها درصد تلفات بالاتری از خود نشان می‌دهند.

Odey و همکاران در سال ۲۰۱۸ مطالعه‌ای در زمینه پاسخ رشدی ماهی تیلاپیای نیل به حضور دترژنت‌ها انجام دادند که نشان داد هر چه غلظت ماده دترژنت بالاتر باشد نرخ رشد کمتر می‌شود و همچنین نرخ بازماندگی هم کاهش می‌یابد که در مطالعه حاضر این موضوع تایید شد.

از مطالعه حاضر و سایر مطالعات انجام شده می‌توان پیش بینی کرد که به علت تغییر فیزیولوژیک داخل تخم در معرض دترژنتها از جمله استرس، خروج زود هنگام لاروها در حالیکه هنوز اندامها به اندازه کافی رشد نکرده اند و بنابر این نمی توانند وظائفی زیستی خود را بدرستی انجام دهند، میزان ناهنجاری و سپس تلفات لاروها افزایش می‌یابد.

مورد بعدی که در مطالعه حاضر مطرح شد این بود که تخم‌هایی که تحت تاثیر دترژنت‌ها هستند در صورت زنده ماندن بدون مشکل به مرحله چشم‌زدگی می‌رسند. بدیهی است که هر چه غلظت دترژنت‌ها بالاتر باشد درصد مرگ و میر بالاتر می‌رود و در نتیجه در صد چشم‌زدگی تخم‌ها پایین می‌آید، Egmond و Vaughan (۲۰۱۰) در مطالعه خود به نتایجی دست یافتند که تایید کننده نتایج مطالعه حاضر است.

نتایج مطالعه انجام شده نشان داد که تیمارهای در معرض دترژنت های آب ژاول، مایع ظرفشویی و پودر لباسشویی به ترتیب دارای بیشترین درصد تلفات نسبت به تیمار کنترل بودند. در مطالعه حاضر تیمارهای که در معرض دترجنت‌ها قرار گرفتند در مقایسه با تیمار شاهد زودتر مراحل رشد جنینی (مورولا، گاسترولا و چشم زدگی) راطی کردند که این می‌تواند بخاطر کمبود اکسیژن باشد. به طور کلی در تیمار مایع سفیدکننده (آب ژاول) مراحل زودتر صورت گرفت که علت اصلی آن را می‌توان به فورمولا سیون این ماده یا طول زنجیره آن ربط داد، چرا که مایع سفید کننده به علت داشتن مواد اکسیده قوی موجب ایجاد شرایط استرسی شدید می‌گردد.

یکی از بزرگترین مشکلاتی که Endocrine Disrupting Chemicals (EDCها) برای ماهی‌ها چه در سطح جنینی چه در سطح لاروی ایجاد می‌کند ناهنجاری است. دترژنت‌ها هم به عنوان یک نوع EDC از این قاعده مستثنی نیستند. در مطالعه حاضر چهار شکل ناهنجاری در جنین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تاثیر دترژنت مشاهده شد. مورد اول تخم‌هایی با سطح ناهموار و کنگره‌ای شکل بود، مورد دوم ایجاد لکه‌های سیاه روی تخم بود، مورد سوم از بین رفتن بافت جنین در داخل تخم و مورد چهارم کوچک شدن بیش از حد جنین بود که درصد آن‌ها با توجه به نوع دترژنت متفاوت بود. دترژنت ها تنها در ماهی ها ایجاد ناهنجاری نمی‌کنند بلکه بر پستانداران و سایر جانداران هم چنین تاثیری دارند. Abra و همکاران در سال ۲۰۱۶ اثر دترژنت ها را بر روی موش بررسی کردند و ایجاد ناهنجاری را در آن تایید کردند. آن‌ها پیشنهاد دادند که این ناهنجاری به خاطر اثر مخرب دترژنت‌ها بر هسته‌ی سلول‌ها و DNA است. Dettlaff و همکاران در سال ۱۹۹۳ ناهنجاری‌های جنینی ناشی از وجود نانو ذرات نقره را به این شکل توصیف کرد که تیمارها دارای تقسیمات نامتعادل از لحاظ شکل و تعداد هستند و همچنین مواردی از خمیدگی دم و بدن، کوتاهی طول بدن و عدم تشکیل کامل چشم گزارش شد.

هورمون کورتیزول یک فاکتور بسیار مهم برای سنجش میزان استرس در موجودات است. دترژنت‌ها با کاهش اکسیژن آب و نامساعد کردن شرایط تخم باعث ایجاد استرس زیادی در تخم ماهی می‌شوند و این استرس باعث بالا رفتن میزان هورمون کورتیزول می‌شود.

نتایج این مطالعه نشـــان داد که تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مراحل مختلف جنینی که تحت تاثیر استرس ناشی از حضور دترژنت‌ها در محیط قرار گرفتند پاســخ کورتیزولی داشــتند بدین گونه که در تیماری که تخم‌ها تحت تاثیر آب ژاول بودند بیشــترین میزان افزایش معنی دار غلظت کورتیزول نسبت به تیمار کنترل رخ داد. این روند در محیط های حاوی مایع ظرفشــوئی و پودر لباســشــوئی البته با حدت کمتری ادامه یافت. افزایش کورتیزول همانگونه که مطرح شــد به نظر می رســد با کاهش اکسیژن محیط و استرس ناشی آز آن توسط خود جنین انجام شده باشد. و آن هم به ماهیت سه ماده مورد اســتفاده با درجه ســمیت بالاتر در آب ژاول و به ترتیب، مایع ظرفشوئی و پودر لباسشوئی باشد. پاسخ فیزیولوژیکی ماهی به عوامل اســترس زای محیطی از جمله مواد شیمیایی و سموم به صورت پاسخ اولیه شامل تحریک محور هیپو تالاموس-هیپوفیز- غده بین‌نابینی (HPI)[1] که منجر به آزادســازی هورمون‌های کورتیکوســتروئیدی می‌شود، درنظر گرفته می‌شود (Donaldson, 1981).

همچنین از جنبه مراحل رشــد، هر چند تفاوت معنی داری بین ســه مرحله مختلف رشــد جنینی (مورولا، گاسترولا و چشم زدگی) در تولید کورتیزول به چشم نمی خورد اما در مرحله گاسترولا میزان پاسخ کورتیزول ارقام بالاتری را نشــان می دهند. به نظر می‌رســد که پس از مرحله گاسترولا به دلیل آداپتاسیون تخم نسبت به عامل استرس‌زا، در چشم‌زدگی میزان کورتیزول کاهش می‌یابد. البته تائید این موضوع نیاز به آزمایشات کمکی دارد.

در مطــالعــه (Birceanu *et al.*, 2015) تخم مــاهی قزل‌آلا در معرض BPA قرار گرفت که باعث ایجاد استرس و به دنبال آن بالا رفتن ســطح کورتیزول در تخم و لارو این ماهی شد.

کورتیزول در تخمک لقاح نیافته بســیاری از ماهیان از جمله ماهیان خاویاری گزارش شده است (de Jesus and Hirano, 1992). این یافته‌ها بیان می‌کنند که کورتیزول در تخمک و تخم، منشأ مادری داشته و فعالیت آن موجب تنظیم رشــد و نمو جنین می‌شــود. بعد از لقاح میزان آن کاهش پیدا می‌کند اما در اواخر دوران جنینی افزایش می یابد. این روند در تاس ماهی ســفید *Acipenser transmontanus* نیز مشاهده شده و بنظر می‌رسد که این افزایش ناشی از تولید کورتیزول توسط خود جنین باشد (Simontacchi *et al.*, 2009). همچنین بــا در معرض استرس (قرار گرفتن در آب متلاطم) قرار گرفتن جنین و لارو تاس ماهی ســفید، تفاوت معنی داری در ســطح کورتیزول در این دو مرحلــه گزارش نشــده اســت (Simontacchi *et al.*, 2009). کورتیزول تخم های بارور در محدوده طبیعی به طور چشــمگیری بر ریتم‌های بدنی جنین از جمله دامنه رشد سلول‌های غیرجنسی، انقباضات میوزی و ضربان قلب تاثیر می‌گذارد. به طور شگفت‌انگیز، اگر چه کورتیزول دوره‌ای بودن رشد سلول را تحت تاثیر قرار می‌دهد اما بر نرخ رشــد تاثیر نمی گذارد. مطالعه MCcormick و همکاران (۲۰۰۲) نشــان می‌دهد که کورتیزول در تخم نقشــی کلیدی در تعیین دامنه رشــد جنین ایفا می‌کند. از آنجا که عوامل مرگ و میر لاروی اغلب برای اندازه کوچک و رشد آهسته انتخابی هستند، تاثیری که کورتیزول بر روی رشــد جنین دارد، ممکن است پیامدهای مهمی برای بقای لاروی داشته باشد.

در مطالعه Nazeri و همکاران (۲۰۱۹) مشــاهده شــد که جنین تاس ماهی ایرانی در مقابل تنش قرارگیری در معرض ســم دیازینون پاسخ اســترســی نشــان می‌دهد و غلظت کورتیزول آن افزایش می‌یابد، البته این افزایش در مراحل بعد از هچ تخم بیشتراست.

در مطالعه ای سطح پاسخ استرسی کورتیزول تخم در رشد جنینی تاس ماهی ایرانی که توسط Falahatkar و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد، سطح کورتیزول تخم در پاسخ به استرس محیطی تغییری نکرد و این نتایج در تضاد با نتایج مطالعه حاضر است.

[1] Hypothalamic- pituitary- interrenal

## ۵. نتیجه گیری نهایی

نتایج به دست آمده حاکی از این موضوع است که دترژنت‌ها باعث تسریع مراحل رشد جنینی، افزایش درصد تلفات، کاهش در صد چ شم‌زدگی، القاء ا سترس و افزایش هورمون کورتیزول و ایجاد ناهنجاری‌های جنینی از جمله تغییر شکل کلی تخم، ایجاد لکه روی تخم، از بین رفتن بافت جنین و کوچک شدن جنین در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شوند، که این اثرات با توجه به نوع دترژنت و غلظت آن متغیر است. به طور کلی می‌توان اینطور نتیجه گرفت که ورود فاضلاب‌های خانگی و صنعتی و متعاقب آن ورود دترژنت‌ها به منابع آبی میتواند باعث اثرات سمی و آسیب‌های جبران‌ناپذیری روی گونه‌های آبزیان شود، به خصوص در ماهی آزاد دریای خزر که یکی از گونه‌های ارزشمند و بومی کشور ماست و در این مطالعه از ماهی قزل‌آلای رنگین‌ک مان به عنوان جایگزین آن استفاده شد.

## ۵. منابع

## References


Abara, P.N., Ibiam, U.A., Ubi, B., Udebuani, A.C., 2016. Cytotoxic and Genotoxic Effects of Two Detergents on *Rattus norvegicus*. *European Journal of Applied Sciences* 8 (5), 277-281.

Abedini, A., Vahdi, F., Khodaparast, H., Babaee, H., 1385. Investigation and determination of detergent concentrations (LAS) in the southern basin of the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries* 15 (1), 101-108. (in Persian)

Arianfar, F., Abdali, S., Halajian, A., 1394. Study of the effects of anionic detergent (shampoo) on blood parameters of farmed sturgeon (*Acipenser nudiventris*). *Iranian Journal of Biological Sciences* 10 (2), 29. (in Persian)

Auperin, B., Geslin, M., 2008. Plasma cortisol response to stress in juvenile rainbow trout is influenced by their life history during early development and by egg cortisol content. *General and Comparative Endocrinology* 158(-), 234–239.

Birceanu, O., Mai, T., Vijayan, M., 2015. Maternal transfer of bisphenol A impacts the ontogeny of cortisol stress response in rainbow trout. *Aquatic Toxicology* 168(-), 11-18.

Boglione, C., Gagliardi F., Scardi, M., Cautaudella, S., 2001. Skeletal descriptors and quality assessment in larvae and post-larvae of wild-caught and hatchery reared gilthead sea bream (*Sparus aurata* L. 1758). *Aquaculture* 192(-), 1 – 22.

Cahu, C., Zambonino-Infante, J.L., 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture* 227(-), 245–258.

Campbell, P.M., Pottinger, T.G., Sumpter, J.P., 1992. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biology of Reproduction* 47(-), 1140 – 1150.

Dabiri, M., 1385. Environmental pollution: air - water - soil - sound. Etehaad pubisher, Tehran, 399 pp. (in Persian)

de Jesus, EG., Hirano, T., 1992. Changes in whole body concentrations of cortisol, thyroid hormones, and sex steroids during early development of the chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *General and Comparative Endocrinology* 85(-), 55–61.

Dettlaff, T., Ginsburg, A., schmalhausenn, O., 1993. Sturgeon fish Developmental biology and aquaculture. Springer, Berlin Heidelberg. 300p.

Divanach, P., Boglione, C., Menu, M., Kounoundouros, G., Kentouri, M., Cataudella, S., 1996. Abnormalities in finfish mariculture: an overview of the problem, causes and solutions. Sea Bass and Sea Bream Culture: Problems and Prospects. Verona, Italy, October 16–18. *European Aquaculture Society*, Oostende, Belgium, pp. 45– 66.

Donaldson, E.M., 1981. Pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. *Stress and fish*, 11-47.

Ettah, I., Bassey, A., Ibor, O., Akaninyene, J., Christophere., N., 2017. Toxicological and Histopathological Responses of African Clariid Mud Catfish, *Clarias gariepinus* (Buchell, 1822) Fingerlings Expose to Detergents (Zip and Omo). *Annual Research & Review in Biology* 13(1), 1-9.

Falahatkar, B., Akhavan, S.R., Efatpanah, I., Meknatkhah, B., 2012. Primary and secondary responses of a teleostean, pike perch, *Sander lucioperca*, and a chondrostean, Persian sturgeon *Acipenser persicus* juveniles, to handling during transport. *North American Journal of Aquaculture* 74(-), 241–250.

Falahi, M., Piri, M., 1377. Experimental study of the effect of detergents on the change of some plankton in Anzali Wetland, Caspian Sea, Port of Anzali Sea Teleost Fish Research Center. 94 pages.

Hampel, M., Ortiz-Delgado, J.B., Moreno-Garrido, I., Sarasquete, C., Blasco, J., 2004. Sublethal effects of linear alkylbenzene sulphonate on larvae of the seabream (*Sparus aurata*): histological approach. *Histopathology* 19(-), 1061-1073.

Ignatieva, G.M., 1991. The Rainbow Trout *Salmo gairdneri*. In: Dettlaff T.A., Vassetzky S.G. (eds) Animal Species for Developmental Studies. Springer, Boston, MA. 36 pp.

Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B., 1997. Fish Stress and Health in Aquaculture. University Press, Cambridge, 278 pp.

Khatooni, M., Hoseinifar, S. H., Mojazi Amiri, B., 2013. Preliminary study on semi-closed incubator efficiency for hatching Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) eggs. *International Journal of Aquatic Biology* 1(3),116-118

Kikodemusz, I., Dakay, M.F., 1981. Effect of synthetic detergents on the formazan of various environmental bacteria Zentralblattfur. *Bakteriologie, Mikrobiologie and Hygiene* 174(2),121-124.

Kohansal nodehi. S., 1394. Changes of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). MSc Thesis. Fisheries. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran. Karaj, Iran, 72p. (in Persian)

Koner, S.K., Mollick, S., 1993. Pollutional hazards of coastal waters by petroleum products, Detergents and heavy metals. *Environmental Ecology* 43(3), 688-690.

Knight. E.A., 1963. The Embryonic and Larval Development of the Rainbow Trout. *Transactions of the American Fisheries Society* 92(4), 344-355.

Lall, S.P., Lewis-Mccrea, L.M., 2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish. *Aquaculture* 267(-), 3-19.

Li, M., Bureau, P., Dominique, K.W.A., Leatherland, F.J., 2010. The Actions of *In Ovo* Cortisol on Egg Fertility, Embryo Development and the Expression of Growth-Related Genes in Rainbow Trout Embryos, and the Growth Performance of Juveniles. *Molecular Reproduction & Development* 77(-), 922–931.

McCormick, I.M., Nechaev, V.A., 2002. Influence of Cortisol on Developmental Rhythms During Embryogenesis in a Tropical Damselfish. *Journal of Experimental Zoology* 293(-),456–466.

Nazeri, S., Mojazi Amiri, B., Farahmand, H., Raine, C.J., 2019. Triiodothyronine reduces toxic effects of diazinon in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology* Part C 224(108557), 1-7

Odey, A.R., Paul, J.A., Abam, A.L., 2018. Growth Responses of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Exposed to Different Concentrations of Detergents Powder. *Journal of Applied LifeSciences International* 17(3), 1-9.

Pickering, A.D., 1996. Design guide of farming yards of warm water fishes. In: Stress and Fish Academic Press, London, 367 pp.

Pruett, S.B., 2003. Stress and the immune system. *Pathophysiology* 9(3), 133 -153.

Simontacchi, C., Negrato, E., Pazzaglia, M., Bertotto, D., Poltronieri, C., Radaelli, G., 2009. Whole-body concentrations of cortisol and sex steroids in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*, Richardson 1836) during early development and stress response. *Aquaculture International* 17(1), 7–14.

Swedmark, M., Braaten, B., Emanuelsson, E., Granmo, A., 1971. Biological effects of surface active agents on marine animals. *Marine Biology* 9(3), 183-201.

Tort, L., 2011. Stress and immune modulation in fish. *Developmental & Comparative Immunology* (35), 1366 -1375.

Vaughan, M., Egmond, R.V., 2010. The Use of the Zebrafish (*Danio rerio*) Embryo for the Acute Toxicity Testing of Surfactants, as a Possible Alternative to the Acute Fish Test. *Alternatives to Laboratory Animals* 38(3), 231–238.

Yamini, Y., 1371. Determining the concentration of detergents in Anzali wetland. MSc Thesis. Tarbiat Modares University. Nour, Iran, 52 p. (in Persian).