شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹
صفحات ۴۱۶-۴۰۷

اثر برخی دترجنت‌ها (سورفکتانت‌های آنیونی) بر درصد تفریخ، میزان ناهنجاری لارو و هورمون کورتیزول جنین در ماهی زبرا (*Danio rerio*)

جمال رحیمی [۱]، باقر مجازی امیری [۲*]، امیررضا عابد علم‌دوست [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. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۰۵

چکیده

آلودگی منابع آبی با دترجنت‌ها یکی از جدی‌ترین مسائل درعرصه بهداشت و سلامت اکوسیستم‌های آبی محسوب می شود . ورود شوینده‌ها به فاضلاب به لحاظ بروز مسائل و عوارض متعدد چون پدیده مغذی شدن و تجزیه ناپذیری گروه سخت شوینده‌ها و ایجاد کف و... سبب آلودگی منابع آبی و محیط زیست می‌شوند. ازدیاد غلظت این مواد در منابع آبی بر ماهی‌ها و سایر موجودات آبزی اثرات سوء دارد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر برخی از شوینده های آنیونی پرکاربرد بر میزان هورمون کورتیزول جنین و سپس ناهنجاری لارو در ماهی زبرا (*Danio rerio*) در زمان تماس با آنها بود. بدین منظور تخم‌های لقاح یافته ماهی زبرا را در معرض دترژنت‌های مختلف (مایع ظرفشویی به عنوان شوینده، پودر لباسشویی به عنوان پاک کننده و آب ژاول به عنوان سفید کننده به ترتیب با غلظت ۱، ۱، ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر) همراه با یک تیمار شاهد قرار دادیم. برای سنجش میزان هورمون کورتیزول در سه مرحله تقسیم سلولی (cleavage)، گاسترولا و تفریخ، از جنین در حال رشد، نمونه برداری و میزان کورتیزول آن‌ها تعیین شد. بعد از تفریخ از لاروها در حال رشد در زمان‌های مختلف (۵، ۱۰ و ۱۵ روز بعد از تفریخ) نمونه برداری شد و درصد ناهنجاری آنها نیز معین گردید. نتایج به دست آمده حاکی از این موضوع بودکه غلظت هورمون کورتیزول در سه مرحله رشدی مورد آزمایش و در صد ناهنجاری لاروها (بزرگ شدن سر، انحنا در ناحیه پشتی و ساقه دمی) در تیمارهایی که در معرض دترجنت‌ها قرار گرفته بودند اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند ($P < 0.05$). به طوری که بیشترین ناهنجاری در تیمار پودر لباسشویی در قسمت ساقه دمی مشاهده شد (شاهد ۶/۶۷، پودر لباسشویی ۳۶/۶۷، مایع ظرفشویی ۲۰، آب ژاول ۱۳/۳۳ درصد). هم‌چنین اگرچه میزان کورتیزول در تیمار شاهد از زمان لقاح تا زمان تفریخ کاهش پیدا کرد (حداکثر ۴/۸ و حداقل ۳/۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر)، ولی در تیمارهای که در معرض دترجنت‌ها قرار گرفته بودند از بعد از لقاح تا مرحله گاسترولا با افزایش میزان کورتیزول همراه بود و بعد از آن تا زمان تفریخ کاهش یافت. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که افزایش استفاده از شوینده‌ها باعث کاهش موفقیت تولید مثلی و ایجاد ناهنجاری در گونه‌های آبزیان می‌شود.

واژگان کلیدی: شوینده‌ها، سورفکتانت آنیونی، ماهی زبرا (*Danio rerio*)، کورتیزول، ناهنجاری لارو.

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

Journal of Fisheries
Vol. 73, No. 3, Autumn 2020
pp. 407-416

Effect of some detergents (anionic surfactants) on hatching percentage, larval abnormalities and embryo cortisol levels in zebrafish (*Danio rerio*)

Jamal Rahimi [1], Bagher Mojazi Amiri [2]*, Amirreza Abed-Elmdoust [3]

1. Ph.D. Student, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
1. Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
1. Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: 15-Sep-2019 **Accepted: 26-Oct-2020**

Abstract

Water resources pollution with detergents is one of the most serious subjects in the health and well-being of aquatic ecosystem fields The consequence of entry of detergents into the waste-water in terms of the occurrence of phenomenon of trophic and indestructibility of the hard detergent groups and foam formation, etc. cause pollution of the environment and water resources. Increasing the concentration of these substances in water sources has adverse effects on fish and other aquatic organisms. The aim of this study was to investigate the effect of some commonly used anionic detergents on embryo cortisol levels and then larval abnormalities and hatching percentage in zebrafish (*Danio rerio*) while exposed to them. For this purpose, fertilized zebrafish eggs were exposed to various detergents (dishwashing liquid as a detergent, washing powder as a cleanser and sodium hypochlorite as a bleach) with concentrations of 1, 1, 0.25 ppm, respectively. To measure the level of cortisol in three stages of, cell division (cleavage), gastrula and hatching, samples were taken from the growing embryos and their cortisol levels were determined. After hatching, the larvae were sampled at different times (5, 10 and 15 days after hatching) and their abnormality was determined. The results show that in terms of the percentage of abnormalities (enlargement of the head, curvature in the dorsal region and tail) and cortisol concentration of treatments exposed to detergents were significantly different from control groups ($P < 0.05$). So that the most abnormalities (Control 6.67, washing powder 36.67, dishwashing liquid 20, bleach 13.33) were observed in the washing powder treatment. Also, cortisol levels increased from fertilization to gastrula stage and then decreased until hatching, although the amount of cortisol in the control groups decreased from fertilization to hatching (from 4.8 to 3.2 ng / ml). generally, it can be concluded that increasing the use of detergents reduces the success of reproduction and causes abnormalities in aquatic species.

Key words: Detergents, Anionic surfactant, Zebrafish (*Danio rerio*), Cortisol, Larval abnormality.

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

۱.مقدمه

زیســـت بوم های آبی به طور مداوم در معرض خطرات نا شی از ورود بی رویه‌ی آلاینده‌هایی ه ستند که از منابع مختلفی مانند پسماندهای صنعتی، پساب‌های کشاورزی و فاضـــلاب‌های شـــهری به آن وارد می‌شـــوند. یکی از پیامدهای توسـعه صـنایع، ورود فاضـلاب حاوی مواد آلی سنتتیک به محیط آبی ا ست. محیط زیست مملو از مواد شـــیمیایی آلی خارجی (زنوبیوتیک‌ها) اســـت که می‌تواند منشأ شهری یا صنعتی داشته باشند. ارزیابی خطر زیست محیطی یا اکولوژیکی به عنوان رو شی تعریف شده ا ست که توســـط آن می‌توان اثرات منفی احتمالی آلاینده‌ها و سایر فعالیت‌های مربوط به برخورد بشر با اکوسیستم‌ها و ترکیبات حا صله از آن‌ها را تخمین زد (Depledge and Fossi, 1994). کاربرد روزافزون ســورفکتانت‌ها و به طور عمده محصـــولات پاک‌کننده در صـــنایع مختلف نظیر داروســـازی، چرم ســـازی، رنگرزی، چوب، پلاســـتیک، فلزکاری، معدن و م صارف خانگی و... که به طور م ستقیم و غیر مســتقیم به داخل ســامانه‌های آبی وارد می‌شـوند، موجب آلودگی و مشـــکلات زیادی می‌گردند. دترجنت‌ها پس از مصـرف به همراه پسـاب به دریاچه‌ها یا رودخانه‌ها ریخته می‌شـوند و روی منابع آبی تأثیر مخرب می‌گذارند. ازدیاد غلظت این مواد در منابع آبی بر ماهی‌ها و ســـایر موجودات آبزی اثرات ســـوء دارد. از طرف دیگر حضـــور شـــوینده‌ها در محیط‌های آبی می‌توانند موجب تشـــدید ســـمیت آلاینـده‌هـای دیگری نظیر فلزات ســـنگین گردند(Konar and Mullick, 1993). در اغلب موارد، گرچه غلظت مواد شیمیایی ورودی به اکو سی ستم آبی با توجه به دبی رودخانه و حجم منابع آبی کاهش پیدا می کند و کمتر از حدی می‌رســـد که موجب مرگ و میر آنی ماهی‌ها گردد. اما در این شرایط ماهی‌ها به طور مزمن در تماس با غلظت‌های کمتر از حد ک شندگی مواد شیمیایی قرار می‌گیر ند و لی در دراز مدت به دلیل عدم توانایی موجود در دفع و ســـم زدایی، به تدریج د چار تغییرات فیزیولوژیک مختلفی می شوند که سبب کاهش رشد و بقا و اختلال در تداوم نسـل آن‌ها می‌شـود. بروز آسـیب‌های بافتی و پاتولوژیک، تغییرات ســـطح هورمونی و خونی از دیگر آ سیب‌هایی ا ست که در تماس با مواد شیمیایی در موجودات ممکن اســـت رخ د هد (Erickson *et al.*, 2008).

در ماهیان اســـتخوانی، محور هیپوتالاموس – هیپوفیز - بیـــنـــابـــیـــنـــی (HPI= Hypothalamus Pituitary Interrenal) تحت شـــرایط تنش تحریک می‌شـــود. این محور با تولید و انت شار هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین (CRH) از هیپو تالاموس، با عث آزاد شـــدن هورمون آدرنوکورتیکوتروپین (ACTH) می‌شـــود. متعـاقبـاً، ACTH ســـلول های بین کلیوی را فعال کرده و باعث ترشح هورمون استرسی کورتیزول می‌شود (Wendelaar Bonga, 1997; Flik *et al.*, 2006; Bernier *et al.*, 2009). هورمون کورتیزول که یک هورمون اســـتروئیدی گلوکوکورتیکوئیدی و مهم‌ترین هورمون ترشـــح شـــده از بخش قدامی کلیه است، شاخص اولیه استرس در ماهیان بوده و عمدتا با قرارگیری موجود زنده در معرض عوامل اســـترس زای حاد یا مزمن، مقدار آن افزایش می یابد (Ramsay *et al.*, 2006). در مـاهیـان، کورتیزول از مهمترین فاکتورهای سنجش میزان ا سترس ا ست و در مواقع اســـترس‌های محیطی میزان ترشـــح این هورمون افزایش می یابد. از مهمترین اثرات آن، افزایش مقاو مت بدن در مواقع اســـترس، حفظ هموســـتازی و تداوم حیات اســـت (Vijayan *et al.*, 1994). وجود و رهاســـازی کورتیزول در طی رشـــد اولیه تخم‌های لقاح‌یافته، منشـــا مادری این هورمون و میزان غیرفعال بودن آن تاثیر قابل توجهی بر تکامل جنین، رشـــد، تفریخ و دگردیســـی دارد (de Jesus *et al.*, 1991). غلظت بالای کورتیزول در تخم ممکن ا ست به خاطر ا سترس اعمال شده به ماده‌ها در طول زرده ســازی باشـد (Stratholt *et al.*, 1997). مقادیر نسبتاً پایین کورتیزول طی دوره تخم گشایی نقش افزایش دهنـده رشـــد را بـازی می‌کنـد (Feist and Schreck, 2002, Schreck *et al.*, 2001).

با توجه به شـــرح بالا، در این مطالعه از ماهی زبرافیش (ماهی گورخری با نام علمی *Danio rerio*) به عنوان ماهی مدل استفاده گردید تا با توجه به داشتن دوره تولید مثلی کوتاه، تولید تعداد زیادی گامت تو سط هر دو جنس و تعیین سریع در صد لقاح و در صد گ شایش تخم، اثرات دترژنت ها روی این ماهی مورد ارزیابی قرار گیرد. ماهی

زبرا در سال های اخیر همچنین به عنوان مدلی جهت ارزیابی سریع عملکرد ژن ها و فعالیت های بیولوژیکی مولکول‌های آلی مطرح شده است (Zon, 2005).
لذا، با هدف کسب اطلاعات علمی لازم در خصوص چگونگی رخداد اثرات دترژنت ها برفرایند های فیزیولوژیک ماهی و به منظور پر کردن خلاء دانش لازم در این زمینه این پژوهش انجام شد.

۲. مواد و روش

۱.۲. شرح آزمایش و تیمار ها

مطالعه‌ی حاضر، در زمستان سال ۱۳۹۸ در گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام پذیرفت. تعداد ۲۰۰ قطعه ماهی مولد زبرا دانیو از یک مرکز توزیع ماهیان تزئینی در کرج خریداری شده و به کارگاه فیزیولوژی گروه شیلات دانشکده منتقل گردیدند. بعد از انتقال برای جلوگیری از استرس، یکسان سازی دما و آب به آرامی در یک مخزن ۱۰۰ لیتری صورت گرفت و سپس نر و ماده جدا شدند (مبنای تشخیص جنسیت سایز بدنشان بود که نرها لاغرتر و کوچکتر از ماده ها هستند و در زیر باله مخرجی جنس ماده یک زائده شیری رنگ وجود دارد که در جنس نر وجود ندارد) و برای سازگاری بیشتر به مدت دو هفته در دو تا مخزن جدا گانه قرار داده شدند. ماهیان مولد باید در محیطی به دور از استرس نگهداری شوند و شرایط جهت تکثیر آنها فراهم گردد. این شرایط در آزمایشگاه و در مخازن ۱۰۰ لیتری با دمای ۲۶-۲۸ درجه سانتی‌گراد، pH ۷ تا ۷,۵، اکسیژن ۴ تا ۶ میلی‌گرم بر لیتر، و با دوره نوری ۱۰ ساعت تاریکی و ۱۴ ساعت روشنایی فراهم شد (Bertotto *et al.*, 2018) و ماهی‌ها طی دوره سازگاری به مدت دو هفته در این مکان نگهداری شدند. هوادهی با استفاده از سنگ‌های هواده در طول شبانه روز انجام پذیرفت. ماهیان در طول این مدت ۲ بار در روز به میزان ۳ درصد وزن بدن با غذای بیومار فرانسه حدوداً ۵۰ درصد پروتئین تغذیه شدند. آب به صورت روزانه ۳۰ تا ۴۰ درصد تعویض شد. نزدیک به تخم‌ریزی (زمانی که شکم ماهی‌های جنس ماده بزرگ یا متورم شد) مولدین با نسبت ۳ نر و ۲ ماده به آکواریوم‌های تخم‌ریزی (۶ لیتری) منتقل شدند. ماهی زبرا علاقه خاصی به خوردن تخم های خود دارد و معمولا قبل از اینکه تخم ها به کف آکواریوم برسند آنها را می‌خورند برای جلوگیری از خورده شدن تخم‌ها از توری استفاده شد به این صورت که توری نزدیک به سطح آب آکواریوم نصب گردید، زیرا ماهی زبرا به کم کردن ارتفاع حساس است. همچنین تخم‌ها فاصله زیادی تا عبور از توری طی نکنند که خورده شوند. پس از تخمریزی، مولدین جدا و به مخزن اصلی منتقل شدند. سپس تخم‌ها با تیمارهای متفاوت که از قبل پیش بینی شده بود، هرکدام با سه تکرار در معرض سه دترجنت مختلف مایع ظرف شویی به عنوان شوینده، پودر لباسشویی به عنوان پاک کننده و آب ژاول به عنوان سفید کننده به ترتیب با غلظت ۱، ۱، ۰/۲۵ میلی گرم همراه با یک تیمار شاهد در آکواریوم‌های جدا قرار گرفتند. برای جلوگیری از کاهش احتمالی اکسیژن در دسترس تخم‌ها، در طول دوره‌ی تفریخ از سنگ‌های هوا استفاده شد.

۲.۲. سنجش درصد تفریخ

پس از تخم‌ریزی، برای هر تیمار و تکرارهای آن صد عدد تخم برداشته و در آکواریوم جدا ریخته شد و بعد از تفریخ، تعداد لاروها شمارش و درصد تفریخ تعیین گردید.

۲. ۳. سنجش درصد ناهنجاری

پس از تفریخ تخم‌ها، در سه نوبت (۵، ۱۰ و ۱۵ روز بعد از تفریخ) از لاروها نمونه برداری شد. در هر بار نمونه برداری برای هر تیمار ده عدد لارو (۳۶۰ عدد در مجموع) برداشت شد و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردید. بعد از دو هفته لاروها را از فرمالین بیرون آورده شد و در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفت و بعد به آزمایشگاه منتقل شدند. برای تشخیص درصد ناهنجاری‌ها و نوع آن‌ها از نمونه‌های لارو در زیر لوپ (Lica, Germany) با بزرگنمایی 2x و با دوربین موبایل سامسونگ عکس برداری شد و تعداد لاروهای ناهنجار شمارش و درصد ناهنجاری‌ها تعیین گردید (Ellis *et al.*, 1997).

۲. ۴.سنجش هورمون کورتیزول

برای سنجش میزان کورتیزول در سه مرحله ۱- Cleavage ۲- Gastrula ۳- Hatching از تخم‌های شاهد و تحت تیمارها (برای هر تیمار و تکرار ۳۰ عدد تخم) نمونه برداری شد و نمونه‌ها در نیتروژن مایع انجماد یافت و سپس به فریزر منهای ۸۰ منتقل شدند و تا زمان

سنجش میزان کورتیزول در آنجا نگه داری شدند. جهت استخراج کورتیزول ابتدا ۱۵ عدد تخم با ۱ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر شد و به کمک هموژنایر دستی به خوبی له و هموژنیزه شد و سپس به مدت ۳۰ ثانیه شدیداً ورتکس گردیدند. سپس ۲ میلی لیتر دی اتیل اتر به محلول اضافه شد و دوباره ورتکس گردیدند. بعد از این مرحله نمونه ها به مدت ۵ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ (2100 g دور) شدند. برای جدا سازی لایه آبی و اتر، هر تیوپ به مدت ۲۰ ثانیه در نیتروژن مایع قرار گرفت تا فاز آبی فریز شود و بعد مایع رویی حاوی اتر به تیوپ دیگر منتقل شد و در طول شب در زیر هود خشک شد. پس از آن ۲۰ میکرولیتر PBS به تیوپ اضافه شد و در فریزر منهای ۸۰ ذخیره گردید (Li *et al.*, 2010). اندازه‌گیری میزان کورتیزول به روش سنجش ایمنی آنزیمی و با استفاده از کیت تشخیص آزمایشگاهی کورتیزول از شرکت Monobind ساخت کشور آمریکا انجام گردید (Poursaeid *et al.*, 2012).

۲. ۵. تجزیه و تحلیل آماری داده ها

جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS 16 استفاده شد. از تجزیه واریانس یک طرفه (One way ANOVA) برای مقایسه میانگین های داده ها میان تیمار ها استفاده شد و تست دانکن برای ارزیابی سطح تفاوت‌های آماری مورد استفاده قرارگرفت. رسم نمودارها از طریق نرم افزار Exell 2016 انجام پذیرفت.

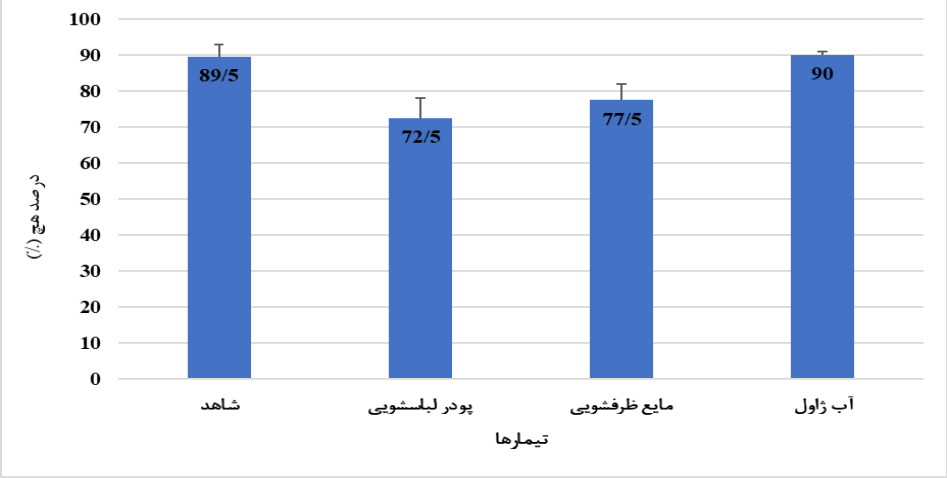
۳. نتایج

۳. ۱. بررسی درصد تفریخ

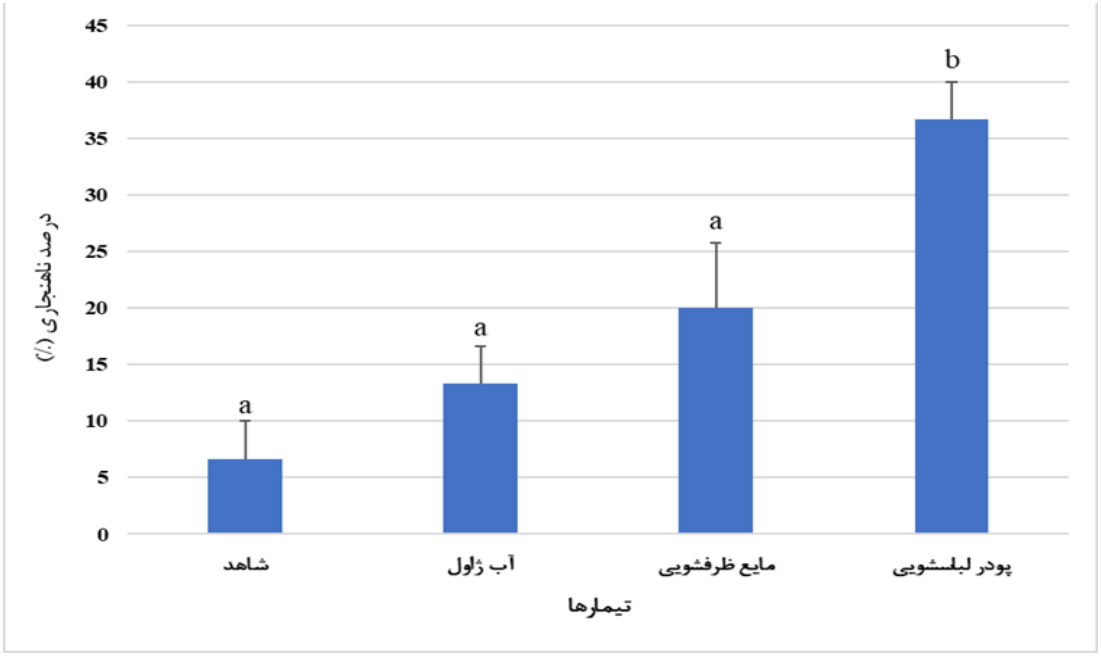
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارها از لحاظ درصد گشایش تخم اختلاف معنی‌دار ($P > 0.05$) وجود ندارد. به طور کلی میزان گشایش تخم درتیمارهای شاهد، پودر لباسشویی، مایع ظرفشویی و آب ژاول به ترتیب ۸۹/۵، ۷۲/۵، ۷۷/۵و ۹۰ درصد بود (نمودار شکل ۱).

۳. ۲. بررسی درصد ناهنجاری

نتایج به دست آمده نشان داد بین تیمارها از لحاظ درصد ناهنجاری اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) وجود دارد به طور کلی میزان ناهنجاری در تیمارهای شاهد، پودر لباسشویی، مایع ظرفشویی و آب ژاول به ترتیب ۶/۶۷، ۳۶/۶۷، ۲۰ و ۱۳/۳۳ در صد بود. با توجه به نتایج حاصله بیشترین و کمترین میزان ناهنجاری به ترتیب مربوط به تیمار پودر لباسشویی و تیمار شاهد بود (نمودار شکل ۲).

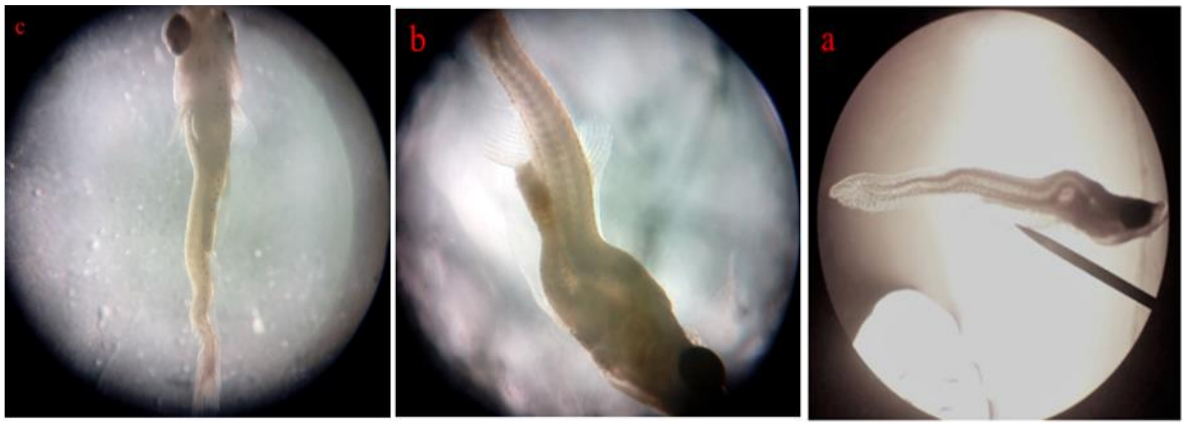


شکل ۱- نمودار درصد تفریخ در تیمارهای مختلف (میانگین ± خطای استاندارد).



شکل ۳ – نمودار درصد ناهنجاری در تیمارهای مختلف (میانگین ± خطای استاندارد).

قرار گرفتن در معرض دترجنت‌ها باعث بدشـــکلی (ناحیه پشتی، ساقه دمی، ستون فقرات و کانال خط جانبی) در لاروها شـد که بیشـتر در ناحیه سـاقه دمی دیده شـد. در تصاویرشکل۳ نمونه‌هایی از آن‌ها آورده شده است.

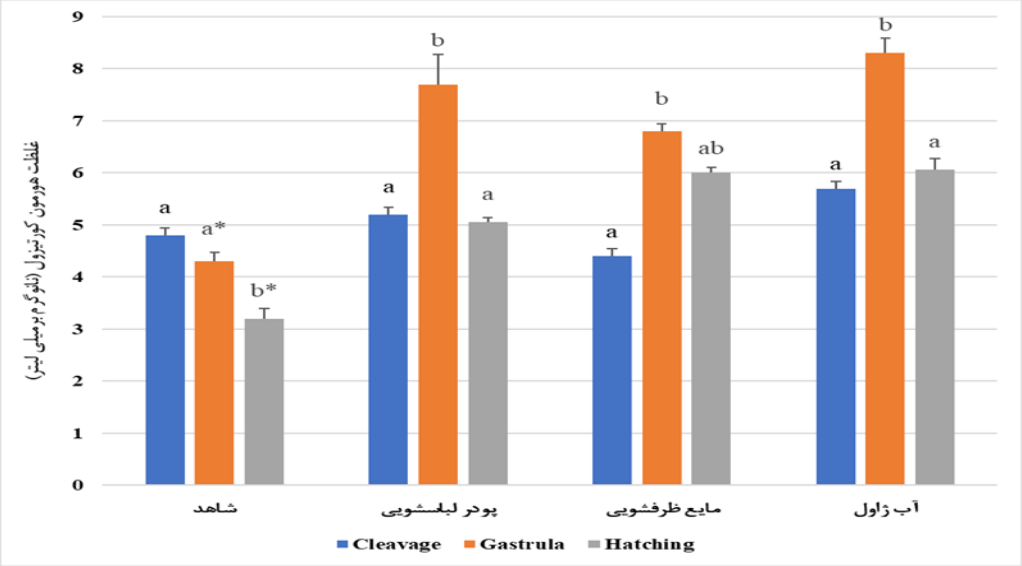


شکل ۳- تصاویر نمونه‌هایی از ناهنجاری در زیر لوپ با بزرگنمایی 2x .a: بدشکلی در ستون فقرات و کانال خط جانبی b: انحنا در ناحیه پشتی c: انحنا در ناحیه ساقه دمی.

۳. ۳. بررسی میزان هورمون کورتیزول

نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین تیمارها از لحاظ میزان کورتیزول اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) وجود دارد (نمودار شکل ۴). با توجه نتایج بدست آمده تیمارهای که در معرض دترجنت‌ها قرار گرفته‌اند اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد دارند. به طور کلی میزان کورتیزول تیمارهای که در معرض دترجنت‌ها قرار گرفته‌اند در ابتدا (کلیویج) با تیمار شاهد تقریبا در یک سطح هستند ولی هر چه به طرف مرحله گا سترولا نزدیکتر می شوند میزان کورتیزول آنها افزایش می‌یابد. بعد از مرحله گاســترولا تا مرحله هچ

شاهد کاهش میزان کورتیزول هستیم. ولی در تیمار شاهد از لقاح تا هچ میزان کورتیزول کاهشی است.



شکل۴ – نمودار مقایسه میزان کورتیزول (ng/ml) در تیمارهای مختلف (میانگین ± خطای استاندارد).

۴. بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر اثر برخی دترجنت‌ها (سورفکتانت‌های آنیونی) بر میزان درصد تفریخ، ناهنجاری لارو و میزان هورمون کورتیزول جنین در ماهی زبرا (*Danio rerio*) مورد بررسی قرار گرفت. مواد شوینده بکار رفته در این پژوهش ترکیب پیچیده از مواد مختلف بود و سورفکتانت به عنوان ماده مؤثره آن بیشتر مد نظر بود.

تأثیر استرس در ایجاد تغییر شکل لارو، کاهش درصد تفریخ و کاهش رشد در ماهی‌های مختلف و در مراحل متفاوت توسط بسیاری از محققین گزارش گردیده است. در آبزی پروری، اصلاح تکنیک‌ها برای موفقیت تکثیر و رشد دارای اهمیت زیادی است (Verhaegen *et al.*, 2007). در مطالعه‌ای که Pickering و Thatcher انجام دادند قرار گرفتن در معرض آلکیل بنزن سولفونات‌های خطی به مدت ۵ هفته اثری بر تفریخ نداشت (Pickering and Thatcher, 1970). در مطالعه حاضر قرار گرفتن در معرض دترجنت‌ها اثری بر میزان تفریخ نداشت.

بررسی شکل نقش مهمی در بسیاری از مطالعات زیست شناسی دارد (Abdolhay *et al.*, 2010). و قادر است تفاوت‌های شکل بین افراد و بخش‌های مختلف آنها را که ناشی از بدشکلی‌ها، بیماری و جراحت‌ها، فردزایی و سازگاری به فاکتورهای جغرافیایی و تکامل را نشان دهد (Sfakianakis *et al.*, 2006). حساسیت ویژه ماهی به دترجنت آنیونی تا حدود زیادی به قابلیت‌های جذب، مهار استیل کولین استراز و میزان سمیت زدایی ماهی بستگی دارد. این اثر سمی در گونه‌ها و اندازه‌های مختلف و زمان-های در معرض قرارگیری موجودات تغییر می‌کند (Oh *et al.*,1997). هرچه زمان قرارگیری در معرض مواد شوینده بیشتر و یا غلظت ماده تأثیر گذار بیشتر باشد اثر مرگبارتر خواهند بود (Abel, 1974). نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن بود که میزان نا هنجاری در تیمار پودرلباسشویی در مقایسه با سایرتیمارها با توجه به دیرتر خارج شدن لاروها از تخم، بیشتر بود ولی در تیمار مایع سفیدکننده که زودتر گشایش تخم صورت گرفت میزان ناهنجاری کمتر از سایر تیمارها بود. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که هرچه زمان قرارگیری در معرض این مواد بیشتر باشد اثرات مخرب‌تری بیشتر نمایان می شود. در اکثر ماهیان منشاء ناهنجاری‌ها بیشتر به شرایط مدیریتی و محیطی مزرعه پرورشی بر می‌گردد. دلایل ظاهر شدن ناهنجاری‌ها و بدشکلی‌ها در زمان جنینی و لاروی به شرایط نامناسب زیستی در زمان تکثیر و انکوباسیون، فاکتورهای محیطی

دوره پرورش، تنش محیطی، وجود مواد سمی و تغذیه نامناسب نسبت داده شده است (Gavaia *et al.*, 2002). بررسی‌های اخیر بیان کرده‌اند که کیفیت تخم و نیازهای تغذیه‌ای بیشترین احتمال را در شیوع بدشکلی دارند (Fraser *et al.*, 2013). هم‌چنین، بررسی‌ها و آزمایشهای دیگر نشان دادند که دستکاری‌های فیزیکی و شیمیایی علت اصلی شیوع زیاد ناهنجاری و بقای پایین لاروها هستند (Piferrer *et al.*, 2009). استرس و فاکتورهای محیطی در ماهی توربوت (*Scophthalmus maximus*) باعث بدشکلی در کانال‌های خط جانبی شد (Ellis *et al.*, 1997). در مطالعه حاضر نمونه‌هایی از بدشکلی همچون انحنا ناحیه پشتی و ساقه دمی و همچنین بدشکلی ستون فقرات و کانال خط جانبی (بیشتر در ناحیه ساقه دمی) دیده شد. این لاروهای بدشکل حتی در صوت ادامه حیات، در مراحل تکوینی بعدی نیز می‌توانند بطور معنی داری میزان تولیدات لاروی را کاهش داده و باعث زیان اقتصادی در فرایند تولید لارو بعلت کاهش بازماندگی شوند.

تحقیقات نشان می‌دهد ارتباط مستقیمی بین تنش و کورتیزول وجود دارد و عوامل استرس‌زا به طور موثر سطح کورتیزول را افزایش می‌دهند (Davis *et al.*, 1985). Montero و همکاران در سال ۱۹۹۹ نشان دادند هنگامی که بر سیم دریایی (*Sparus aurata*) جوان تنش اعمال می‌شود، اختلاف معنی‌داری در سطح کورتیزول وجود دارد. (Montero *et al.*, 1999). به طور کلی تفاوت در نتایج تحقیقات به عوامل مختلفی بستگی دارد، هورمون کورتیزول و تغییرات وابسته به آن تحت تاثیر تعداد زیادی از عوامل درونی و بیرونی مانند گونه، نژاد، دما، چرخه تولیدمثلی، نرخ متابولیک، سن، نوع استرس، دوره های نوری، وضعیت تغذیه، قرار می‌گیرد (Hwang *et al.*, 1992). حضور کورتیزول در طول رشد اولیه تخم‌های لقاح‌یافته ماهی تیلاپیا نشان‌دهنده منشا مادری این هورمون است (Hwang *et al.*, 1992). de Jesus و همکاران در سال ۱۹۹۱ نیز حضور کورتیزول را در تخم های فلاندر ژاپنی یافتند (de Jesus *et al.*, 1991). در مطالعه ای که Brown و Bern در سال ۱۹۸۹ انجام دادند مشاهده کردند که تخم‌های ماهیان استخوانی حاوی انواع مختلفی از هورمون‌ها هستند که در پلاسمای مادر یافت می‌شوند (Brown and Bern, 1989). مهره‌داران تخم‌گذار هورمون‌های مادری از جمله کورتیزول را در طول ویتلوژنز به تخم منتقل می‌کنند (Mommsen and Walsh, 1988; Tagawa *et al.*, 2000). این مشاهدات نشان می دهد که هورمون‌ها از گردش خون مادر منتقل شده و در طی رشد تخمدان به داخل تخمک توسعه پیدا می‌کنند. در مطالعه حاضر میزان کورتیزول بعد از لقاح تا مرحله گاسترولا در تیمارهایی که در معرض درجنت‌ها قرار گرفته بودند افزایش محسوسی داشت که این ممکن است به دلیل فعالیت‌های درونی تخم بر اثر استرس ناشی از مواد شوینده با شد ولی در تیمار شاهد از زمان لقاح تا تفریخ تخم میزان این هورمون کاهش پیدا کرد که این کاهش ممکن است به دلیل تقاضای نسبی جنین برای هورمون‌ها در مراحل مختلف جنین‌زایی باشد.

Jentof و همکارانش در سال ۲۰۰۵ در مطالعه‌ای اثر استرس روی کورتیزول در ماهی سوف و قزل‌آلای رنگین کمان را مورد بررسی قرار دادند. مطالعه آن‌ها نشان داد که بعد از قرارگیری در معرض تنش محیطی و آلاینده ها، سطح هورمون کورتیزول در پاسخ به شرایط استرسی در ابتدا به شکل معنی داری افزایش می‌یابد و پس از آن روند تغییرات هورمونی به تدریج کاهش می‌یابد که به نظر می‌رسد این کاهش به علت عادت کردن ماهی به شرایط استرسی است (Jentof *et al.*, 2005). در مطالعه حاضر زمانی که تخم‌ها در معرض درجنت‌ها قرار می‌گیرند در پاسخ به شرایط تنشی محیط میزان هورمون کورتیزول به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و در مرحله گاسترولا به حداکثر میزان خود می‌رسد سپس بعد از مرحله گاسترولا به تدریج کاهش می یابد. افزایش معنی‌دار کورتیزول در تیمارهای مختلف درجنت‌ها نسبت به تیمار شاهد، می‌تواند نشان از حصول این هورمون به عنوان شاخص تنش یا استرس اکسیداتیو باشد. نتایج پژوهش های زیادی بیان می‌کنند که وجود درجنت‌ها در محیط به عنوان یک عامل تنش‌زا قلمداد شده و باعث افزایش سطح هورمون کورتیزول می شود(Massarsky *et al.*, 2013; Bonga, 1997; Davis *et al.*, 1985). حضور درجنت باعث افزایش استرس اکسیداتیو شده و شاخص‌های تنش محیطی از جمله کورتیزول و گلوتاتیون را افزایش

می‌دهد. افزایش این هورمون مخصوصاً در مرحله گاسترولا جهت مقابله با شرایط تنش نا شی از حضور مواد شوینده بیشـــتر خود را نمایان کرد. در این پژوهش، با توجه به نتایج بدســـت آمده از میزان کورتیزول در تیمارهای تحت تنش محیطی ، دترجنت ها، نسبت به تیمار شاهد، بخوبی مشخص شد که جنین ماهی در مقابل تنش های محیطی واکنش فیزیولوژ یک دارد. این عملکرد در مرا حل اول یه تکامل جنینی شدید تر است و با گذشت زمان و رسیدن به مراحل بالاتر رشد جنیی، به دلیل سازگاری بیشترجنین به شـرایط تنش محیطی، واکنش هاس فیزیولوژیک مانند مقدار کورتیزول کاهش پیدا می‌کند.

۴. ۱. نتیجه‌گیری کلی

نتایج بدست آمده حاکی از این است که تیمارهایی که در معرض دترجنت‌ها قرار گرفته‌اند در مقایسه با تیمار شاهد میزان درصـــد ناهنجاری و هورمون کورتیزول در آن‌ها متغیر است.

۵. منابع

References

Abdolhay, H. A., Khalijah, D. S., Pourkazemi, M., Shapor, S. S., Rezvani, S., Satar, M. K. A., Hosseinzadeh Sahafi, H. ,2010. Morphometrics studies of Mahisefid (Rutilus frisii kutum, Kamensky, 1901) from selected rivers in the southern Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 9(1), 1-18.

Abel, P. D.,1974. Toxicity of synthetic detergents to fish and aquatic invertebrates. *Journal of fish Biology* 6(3), 279-298.

Bernier, N. J., Flik, G., Klaren, P. H.,2009. Regulation and contribution of the corticotropic, melanotropic and thyrotropic axes to the stress response in fishes. *Fish physiology* 28(-), 235-311.

Bertotto, L. B., Dasgupta, S., Vliet, S., Dudly, S., Gan, J., Volz, Dz., Schlenk, D., 2018. Effects of bifenthrin exposure on the estrogenic and dopaminergic pathways in zebrafish embryos and juveniles. *Environmental toxicology and chemistry* 37(1), 236-246.

Bonga W.S.E., 1997. The stress response in fish. *Physiological reviews* 77(3), 591-625.

Brown, C. L., Bern, H. A.,1989. Hormones in early development with special reference to teleost fishes. (In) Hormones in Development, *Maturation and Senescence of Neuroendocrine Systems* 13(-), 485-493.

Davis, K. B., Torrance, P., Parker, N. C., Suttle, M. A., 1985. Growth, body composition and hepatic tyrosine aminotransferase activity in cortisol-fed channel catfish, *Ichtalurus punctatus* Rafinesque. *Journal of Fish Biology* 27(2), 177-184.

de Jesus, E. G., Hirano, T., Inui, Y.,1991. Changes in cortisol and thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *General and comparative endocrinology* 82(3), 369-376.

Depledge, M. H., Fossi, M. C., 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (2). *Invertebrates. Ecotoxicology* 3(3), 161-172.

Ellis, T., Howell, B. R., Hayes, J., 1997. Morphological differences between wild and hatchery-reared turbot. *Journal of Fish Biology* 50(5), 1124-1128.

Erickson, R. J., Nichols, J. W., Cook, P. M., Ankley, G. T., 2008. Bioavailability of chemical contaminants in aquatic systems. *The toxicology of fishe* -(2)9- 54.

Feist G, Schreck CB., 2002. Ontogeny of the stress response in Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Fish Physiol Biochem* 25(-), 31–40.

Flik, G., Klaren, P. H., Van den Burg, E. H., Metz, J. R., & Huising, M. O. (2006). CRF and stress in fish. *General and Comparative Endocrinology* 146(1), 36-44.

Fraser, T. W., Hansen, T., Skjæraasen, J. E., Mayer, I., Sambraus, F., Fjelldal, P. G., 2013. The effect of triploidy on the culture performance, deformity prevalence, and heart morphology in Atlantic salmon. *Aquaculture* 416(-), 255-264.

Gavaia, P. J., Dinis, M. T., Cancela, M. L., 2002. Osteological development and abnormalities of the vertebral column and caudal skeleton in larval and juvenile stages of hatchery-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 211(1-4), 305-323.

Hwang, P. P., Wu, S. M., Lin, J. H., Wu, L. S., 1992. Cortisol content of eggs and larvae of teleosts. *General and Comparative Endocrinology* 86(2), 189-196.

Jentoft, S., Aastveit, A. H., Torjesen, P. A., Andersen, 0., 2005. Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 141(3), 353-358.

Konar, S. K., Mullick, S., 1993. Pollutional hazards of coastal waters by petroleum products, detergents and heavy metals. *Environment and Ecology*. *Kalyani* 11(3), 688-690.

Li, M., Bureau, D. P., King, W. A., Leatherland, J. F., 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 and development* 77(10), 922-931.

Massarsky, A., Dupuis, L., Taylor, J., Eisa-Beygi, S., Strek, L., Trudeau, V. L., Moon, T. W., 2013. Assessment of nanosilver toxicity during zebrafish (*Danio rerio*) development. *Chemosphere* 92(1), 59-66.

Mommsen, T. P., Walsh, P. J. (1988). 5 Vitellogenesis and oocyte assembly. In *Fish physiology* 11(-), 347-406). Academic Press.

Montero, D., Marrero, M., Izquierdo, M. S., Robaina, L., Vergara, J. M., Tort, L. ,1999. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture* 171(3-4), 269-278.

Oh, H. S., Lee, S. K., Kim, Y. H., Roh, J. K., 1991. Mechanism of selective toxicity of diazinon to killifish (*Oryzias latipes*) and loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *In Aquatic Toxicology and Risk Assessment*: Fourteenth Volume. ASTM International.

Pickering, Q. H., Thatcher, T. O.,1970. The chronic toxicity of linear alkylate sulfonate (LAS) to *Pimphales promelas*, Rafinesque. *Journal of Water Pollution Control Federation* –(-) 243-254.

Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J. C., Flajšhans, M., Haffray, P., Colombo, L., 2009. Polyploid fish and shellfish: production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture* 293(3-4), 125-156.

Poursaeid, S., Falahatkar, B., Amiri, B. M., Van Der Kraak, G., 2012. Effects of long-term cortisol treatments on gonadal development, sex steroids levels and ovarian cortisol content in cultured great sturgeon *Huso huso*. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: *Molecular & Integrative Physiology* 163(1), 111-119.

Ramsay, J. M., Feist, G. W., Varga, Z. M., Westerfield, M., Kent, M. L., Schreck, C. B., 2006. Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, Danio rerio. *Aquaculture* 258(1-4), 565-574.

Sfakianakis, D. G., Georgakopoulou, E., Papadakis, I. E., Divanach, P., Kentouri, M., Koumoundouros, G., 2006. Environmental Determinants of Haemal Lordosis in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture* 254(1-4), 54-64.

Stratholt, M. L., Donaldson, E. M., Liley, N. R., 1997. Stress induced elevation of plasma cortisol in adult female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), is reflected in egg cortisol content, but does not appear to affect early development. *Aquaculture* 158(1-2), 141-153.

Tagawa, M., Suzuki, K., Specker, J. L., 2000. Incorporation and metabolism of cortisol in oocytes of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of Experimental Zoology* 287(7), 485-492.

Verhaegen, Y., Adriaens, D., De Wolf, T., Dhert, P., Sorgeloos, P., 2007. Deformities in larval gilthead sea bream (*Sparus aurata*): A qualitative and quantitative analysis using geometric morphometrics. *Aquaculture* 268(1-4), 156-168.

Vijayan, M. M., Reddy, P. K., Leatherland, J. F., Moon, T. W., 1994. The effects of cortisol on hepatocyte metabolism in rainbow trout: a study using the steroid analogue RU486. *General and comparative endocrinology* 96(1), 75-84.

Wendelaar Bonga, S. E. (1997). The stress response in fish. *Physiological reviews* 77(3), 591-625.

Zon, L. I., Peterson, R. T., 2005. In vivo drug discovery in the zebrafish. *Nature reviews Drug discovery* 4(1), 35-44.