

بررسی اثر سمیت مزمن علف کش آترازین (Atrazine) بر روند تجمع پذیری آن در فیله‌ی ماهی شیربت (*Barbus grypus*)

علی خبازیان زاده^{(۱)*}، علی دادالهی سهراب^(۲)، مجتبی علیشاهی^(۳)، سید حسین خزاعی^(۲)، حسین محمد
عسگری^(۲)

* Alikhabazian2011@gmail.com

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته محیط زیست دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
- ۲- عضو هیئت علمی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دانشکده منابع طبیعی دریا، گروه محیط زیست
- ۳- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۳

چکیده

علف کش آترازین یکی از مهمترین آلاینده‌های اکوسیستم‌های آبی است. یکی از بزرگترین مزارع نیشکر خاور میانه در استان خوزستان می‌باشد که این سم در مراحل کشت این گیاه به وفور مصرف می‌شود. لذا هدف این تحقیق در وهله اول محاسبه سمیت حاد آترازین در ماهی شیربت (*Barbus grypus*)، و سپس اثر سمیت مزمن این سم بر روند تجمع زیستی آن در فیله‌ی این ماهی می‌باشد. برای تعیین سمیت حاد این سم از روش سازمان همکاری و توسعه اقتصادی (OECD)، استفاده گردید غلظت نیمه کشنده (LC₅₀) ۹۶ ساعته آترازین در ماهی شیربت با استفاده از نرم افزار Probit تعیین شد. سپس ۱۸۰ قطعه ماهی شیربت با میانگین (±SD) وزن ۱۵±۱۰۲ گرمی به ۴ گروه در سه تکرار تقسیم گردیدند. گروه ۱، ۲ و ۳ به ترتیب با غلظت-های ۵٪ (۳/۲۵ mg l⁻¹)، ۱۰٪ (۶/۵ mg l⁻¹) و ۲۰٪ (۱۳ mg l⁻¹) ۹۶ LC₅₀ ساعته آترازین مجاور شدند. گروه ۴ نیز بدون مجاورت با سم به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. دوره‌ی مجاورت ۲۱ روز بوده و در روزهای صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ نمونه-برداری انجام گرفت. نتایج نشان داد آترازین در ماهی شیربت سبب سمیت شده و این سمیت با افزایش غلظت و نیز مدت مجاورت افزایش می‌یابد. LC₅₀ ۹۶ ساعته این سم در ماهی شیربت ۶۵ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید. میزان تجمع پذیری آترازین در گروه‌های ۲ و ۳ با افزایش طول دوره نمونه گیری معنی دار بود. در مجموع با توجه به افزایش معنی دار تجمع پذیری سم آترازین، می‌توان نتیجه گرفت که هنگامی که ماهی شیربت در معرض غلظت های زیاد سم آترازین قرار گیرد منجر به افزایش تجمع پذیری سم در این ماهی می‌شود.

لغات کلیدی: آترازین، سمیت مزمن، تجمع پذیری زیستی، ماهی شیربت.

*نویسنده مسئول

مقدمه

پیشرفت تکنولوژی در کشاورزی و افزایش تولید در واحد سطح باعث بالا رفتن میزان بیماری‌ها و آفات گیاهی در طول دوره‌ی کشت شده است و به‌کارگیری سموم آفت‌کش تا زمانی‌که استفاده از روش‌های بیولوژیک مبارزه، توسعه کافی نیافته‌اند، امری اجتناب‌ناپذیر است. از علف‌کش‌ها با اهداف مختلف در کشاورزی استفاده می‌گردد که عمده‌ترین این اهداف، مبارزه با علف‌های هرز می‌باشد. علف‌کش‌ها دسته‌ای از آفت‌کش‌ها هستند که در جهان استفاده می‌شوند (Cerdeira *et al.*, 2004). در بین علف‌کش‌های مورد استفاده در جهان آترازین از پرمصرف‌ترین علف‌کش‌ها در کشاورزی می‌باشد. استفاده از علف‌کش‌ها برای مدیریت استخرهای ماهی برای کنترل علف‌های موجود در آب، معمول است (Correll & Wu, 1982). آترازین در چهل سال گذشته کاربرد وسیعی در بسیاری از کشورها از جمله ایران داشته است. این سم بعد از تأثیر در محیط باقی‌مانده و با شستشو توسط باران یا آبیاری زمین‌های کشاورزی وارد منابع آبی می‌شود و موجودات آبی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. راه یافتن آترازین به آب‌های سطحی تأثیر نامطلوبی بر اکوسیستم آب خواهد داشت (Ghosh & Philip, 2004). هر چند این سم در کشاورزی به‌علت اثرات کم‌تر بر گیاهان زراعی ایده‌آل به‌نظر می‌رسد، ولی به‌علت ماندگاری بالا در خاک و احتمال راه یافتن آن به آب، اثرات زیست‌محیطی نامطلوب دارد (Forouzangohar *et al.*, 2005). آترازین توسط موجودات آبی جذب شده و اثرات متعددی روی قسمت‌های بدن از جمله سیستم خونی (Prasad *et al.*, 1990)، متابولیسم لیپیدها (Prasad *et al.*, 1991)، غدد درون‌ریز (Moore & Waring, 2001) و سیستم ایمنی (Rymuszka *et al.*, 2007) موجودات آبی به‌ویژه ماهی‌ها دارد. در استان خوزستان نیز فعالیت‌های کشاورزی در سطحی وسیع انجام شده، به‌طوری‌که بیش از صد هزار هکتار مزارع نیشکر در این استان وجود دارد که بیش از سیصد هزار کیلوگرم از علف‌کش آترازین در این مزارع مصرف می‌شود (حاجی شرفی و شکوه‌فر، ۱۳۸۸). از جمله منابع آبی که این علف‌کش می‌تواند در آن راه یابد، رودخانه-

مواد و روش‌ها

های کارون، اروند و تالاب شادگان می‌باشد، که این منابع با ورود پساب واحدهای کشت و صنعت نیشکر و دیگر مورد تهدید قرار گرفته است. در سال‌های اخیر این تالاب تحت تأثیر عوامل غیر طبیعی و ورود آلاینده‌ها از جمله پساب‌های کشاورزی توأم با انواع سموم دفع آفات نباتی، آسیب شدید دیده است، که حیات‌وحش و موجودات زنده‌ی تالاب را تهدید می‌کند (خواجه پور و همکاران، ۱۳۸۹) و می‌دانیم که حدود ۳۰٪ آب‌های سطحی کشور در این استان جریان داشته و احتمال آلودگی آب‌های سطحی، رودخانه‌ها و تالاب‌ها (از جمله تالاب شادگان) به این سم بالاست (حاجی شرفی و شکوه‌فر، ۱۳۸۸)؛ از طرفی ماهی شیربت از لحاظ بومی بودن و هم به لحاظ جایگاه آن در ترکیب صید از اهمیت خاصی برخوردار است؛ لذا هدف این تحقیق در وهله‌ی اول محاسبه‌ی سمیت حاد آترازین در ماهی شیربت (*Barbus grypus*) و سپس بررسی اثرات مسمومیت مزمن با این سم بر میزان تجمع‌پذیری آترازین در فیله‌ی ماهی شیربت می‌باشد.

تعداد ۳۵۰ قطعه ماهی شیربت (۱۷۰ قطعه با میانگین $\pm$ SD) وزن حدود $1/12 \pm 10$ گرم و ۱۸۰ قطعه با میانگین $\pm$ SD) وزن حدود 15 ± 102 گرم) از یکی از مراکز پرورش ماهی واقع در کیلومتر ۱۰ جاده‌ی شوشتر - مسجدسلیمان خریداری و با استفاده از مخازن مخصوص، با اعمال کم‌ترین استرس به سالن آکواریوم بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده‌ی دامپزشکی اهواز منتقل و ذخیره‌سازی گردیدند. ماهی‌ها به مدت ۷ روز به‌منظور سازش‌پذیری با شرایط در مخازن نگهداری شدند. هدف از دوره‌ی سازش‌پذیری، کم‌شدن و برطرف شدن استرس حمل و نقل، سازش‌یافتن ماهی به شرایط نگهداری می‌باشد.

سم علف‌کش آترازین در بسته‌های یک کیلوگرمی شرکت مشک‌فام فارس تهیه شد، پودر این علف‌کش درجه خلوص ۸۰٪ دارد و در آب رقیق می‌شود.

شرایط فیزیکوشیمیایی آب مورد استفاده در تحقیق به قرار زیر بود دما با میانگین $(\pm SD) 25 \pm 1$ درجه ی سانتی گراد، اکسیژن محلول میانگین $(\pm SD) 9 \pm 1 - 10$ میلی گرم در لیتر، pH معادل $8/2$ ، $NO_2 < 0/1$ و $NH_3 < 0/1$ میلی گرم در لیتر. ده درصد آب هر یک از آکواریوم ها روزانه با آب ذخیره شده ی بدون کلر تعویض شد.

بعد از گذراندن دوره ی سازش پذیری با محیط، برای مطالعه ی سمیت حاد، از روش OECD و کد شماره ۲۰۳ (Static-renewal test condition) استفاده گردید. غلظت-های متوالی آتزازین در ۷ تیمار و هر تیمار در سه تکرار (مجموعاً ۲۱ آکواریوم) تهیه شد و به هر آکواریوم تعداد ۸ قطعه ماهی با میانگین $(\pm SD)$ وزن $1/12 \pm 10$ گرم اضافه گردید. همه ی آکواریوم ها مجهز به سیستم هوادهی و دارای شرایط فیزیکوشیمیایی یکسان بودند. بر اساس نتایج به دست آمده در جدول ۱ و آنالیز داده ها با نرم افزار Probit غلظت ایجاد کننده ی ۵۰٪ تلفات بعد از ۹۶ ساعت ۶۵ میلی گرم در لیتر محاسبه شد.

بعد از محاسبه LC_{50} ۹۶ ساعته، که همان سمیت حاد سم آتزازین بود، اقدام به ایجاد سمیت مزمن در ماهی گردید. به این منظور میزان ۵، ۱۰، ۲۰ درصد میزان LC_{50} ۹۶ ساعته آتزازین (۶۵ میلی گرم در لیتر) در نه آکواریوم (سه تیمار در سه تکرار) تهیه شده که این میزان به ترتیب برابر $3/25$ ، $6/5$ و 13 میلی گرم در لیتر برای سه گروه در نظر گرفته شد و یک تیمار (۳ آکواریوم) با شرایط مشابه به عنوان گروه کنترل، بدون اضافه نمودن سم، در نظر گرفته شد. به هر آکواریوم ۱۵ قطعه ماهی با میانگین $(\pm SD)$ وزن 15 ± 102 گرم و ۱۵۰ لیتر آب اضافه گردید. هر ۳ روز یکبار آب آکواریوم ها با همان غلظت سم تعویض گردید.

در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱، ۳ قطعه ماهی از هر آکواریوم (۹ ماهی از هر تیمار) صید شده با ۳۰۰ میلی گرم در لیتر ماده بیهوشی دو فنوکسی اتانول ساخت شرکت سیگمای آلمان بیهوش می شدند. سپس، نمونه ی فیله از عضله ی پشتی بزرگ، به میزان حدود ۷ گرم تهیه شده و بلافاصله نمونه ها به فریزر ۸۰- منتقل و در شرایط مناسب نگهداری شده و آنالیز

نمونه ها توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) مدل Knavar ساخت کشور آلمان، صورت گرفت. برای اندازه گیری میزان تجمع پذیری آتزازین در فیله ماهی شیریت مراحل زیر به ترتیب انجام گرفت:

الف) نمونه برداری و استخراج

ابتدا حدود ۲ گرم عضله با ترازوی دیجیتال با دقت $0/001$ گرم توزین نموده و به یک فالکون ۱۵ میلی لیتری منتقل شد، سپس به آن ۴ میلی لیتر استونیتریل جهت استخراج سم از نمونه اضافه گردید و به مدت سه دقیقه به شدت توسط دستگاه ورتکس به شدت هم زده شد و سپس به آن ۱ گرم سدیم سولفات بدون آب اضافه شد و دوباره به مدت ۱ دقیقه توسط دستگاه ورتکس به شدت تکان داده و بعد به مدت ۵ دقیقه با دور ۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و سپس به مدت ۴ ساعت در دمای ۲۰- درجه ی سانتی گراد قرار داده شد. پس از این مدت آب و چربی منجمد شده و فاز استونیتریل به شکل مایع باقی می ماند سپس ۳ میلی لیتر از این مایع به یک فالکون ۱۰ میلی لیتری منتقل گردید.

ب) تصفیه و خالص سازی

جهت تصفیه و خالص سازی به سوسپانسیون، ۰/۵ گرم PSA (Primary Secondary Amine)، و ۰/۱ گرم GCB (Graphitized carbon black)، که هر دو ماده ساخت شرکت سیگمای آلمان می باشد، اضافه شد و به مدت ۲ دقیقه با دستگاه ورتکس هم زده شد و سپس به مدت ۳ دقیقه با دور ۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد، سپس ۲ میلی لیتر آن به ویال شیشه ای ۲ میلی لیتری منتقل شده و توسط جریان نیتروژن تا خشک شدن تبخیر گردید، سپس مقدار باقی مانده در ۰/۲ میلی لیتر استونیتریل حل شد، در این مرحله، نمونه برای تزریق به دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC)، آماده شد.

ج) تعیین میزان باقی مانده

۲۰ میکرولیتر از نمونه، به دستگاه تزریق و از طریق برون یابی منحنی کالیبراسیون و ضرایب رقت غلظت آنالیت در نمونه محاسبه گردید (Sherma, 2011, Sobhanzadeh et al., 1995).

شرایط دستگاه کروماتوگرافی مایع

ستون: ODS (Octa Decyl Silane) ابعاد ۲۵۰ در ۴/۶ میلی‌متر با اندازه ذرات ۵ میکرومتر
 آشکار ساز: Uv (Ultraviolet) با طول موج ۲۵۴ نانومتر
 فاز متحرک: مخلوط استونیتریل - آب + ۱٪ اسید فسفریک
 با نسبت (۲۵:۷۵) به صورت گرادیان به نسبت (۹۰:۱۰) در مدت ۲۵ دقیقه برسد و ۲ دقیقه در این شرایط بماند.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تعیین میزان سمیت آترازین از نرم افزار Probit ویرایش ۱/۵ استفاده گردید. برای آنالیز اطلاعات مربوط به میزان جذب آترازین از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها از آزمون Leven statistic test برای بررسی یکنواخت بودن خطای استاندارد اطلاعات استفاده گردید و پس از اطمینان از یک‌نواختی خطای استاندارد اطلاعات، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه برای بررسی تفاوت میانگین اطلاعات تیمارهای تحقیق استفاده گردید. برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها از تست تکمیلی Duncan در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد استفاده گردید (Atamanalp & Yanik, 2003). همچنین ترسیم نمودار در فضای نرم‌افزار Excel (نسخه ۲۰۱۰) انجام گرفت.

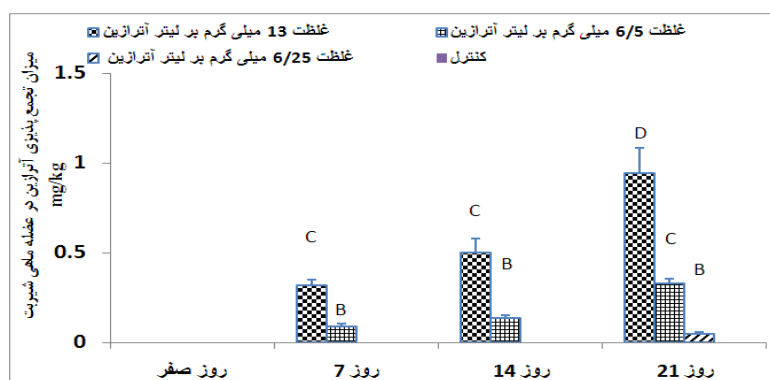
نتایج

تعیین تعیین غلظت‌های کشنده سم آترازین جدول ۱
 نتایج حاصل از نرم‌افزار پروبیت که شامل ۱۰، ۵۰، ۸۰ و ۹۰ درصد تلفات ایجاد شده در ماهی شیربت مجاور شده با غلظت‌های مختلف سم آترازین بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت را نشان می‌دهد. همانطور که در جدول فوق مشاهده می‌شود سمیت و تعداد تلفات با افزایش غلظت سم و طول مدت مجاورت ماهی با این سم، افزایش می‌یابد.

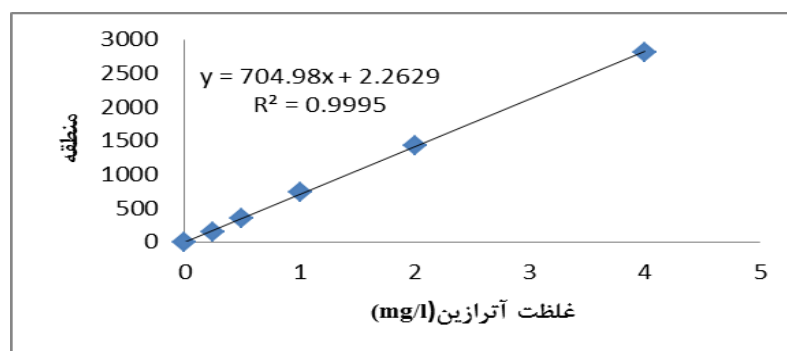
نمودار ۱ مقایسه میزان تجمع‌پذیری آترازین در فیله‌ی ماهی در روزها و غلظت‌های مختلف نمونه‌گیری را نشان می‌دهد با توجه به این که میزان تجمع‌پذیری در فیله‌ی ماهی در غلظت‌های ۶/۵ و ۱۳ میلی‌گرم در لیتر آترازین با افزایش طول دوره نمونه‌گیری افزایش پیدا کرد اما در غلظت ۳/۲۵ میلی‌گرم در لیتر آترازین تنها در روز ۲۱ نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌ها افزایش داشته که این افزایش نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود ($p < 0.05$ ، $df=3$ و $F=6594/65$). هم-چنین در غلظت‌های ۶/۵ و ۱۳ میلی‌گرم در لیتر آترازین در همه‌ی روزهای نمونه‌گیری نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < 0.05$ ، $df=9$ و $F=2839/79$).

جدول ۱: نتایج حاصل از آنالیز تلفات ایجاد شده در ماهی شیربت مجاور شده با غلظت‌های مختلف سم آترازین بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت (خروجی نرم‌افزار Probit)

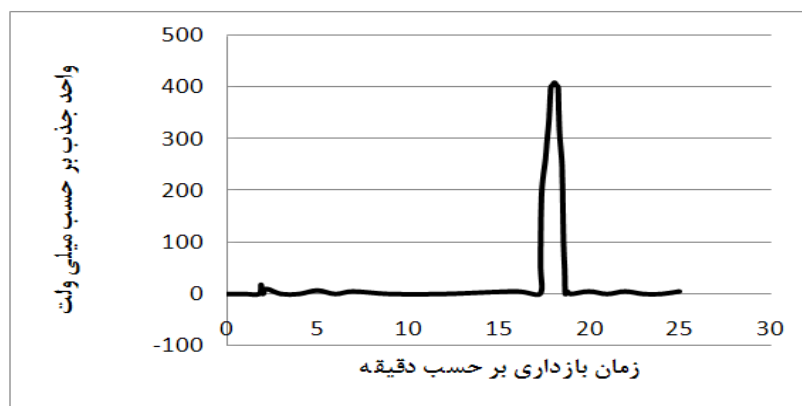
غلظت کشنده	۲۴ساعته میلی‌گرم در لیتر	۴۸ساعته میلی‌گرم در لیتر	۷۲ساعته میلی‌گرم در لیتر	۹۶ساعته میلی‌گرم در لیتر
LC ₁₀	۸۸/۰۷۳	۵۱/۱۷۲	۴۲/۸۴۶	۳۵/۲۶۱
LC ₅₀	۱۹۲/۶۰۵	۱۵۳/۰۷۸	۹۲/۴۹۵	۶۵/۰۴
LC ₈₀	۳۸۳/۶۵۸	۳۷۱/۳۱۸	۱۷۲/۳۴	۱۰۸/۵۲۰
LC ₉₀	۴۴۶/۰۴۲	۴۵۷/۹۲۴	۱۹۹/۶۷۷	۱۲۲/۲۲۴



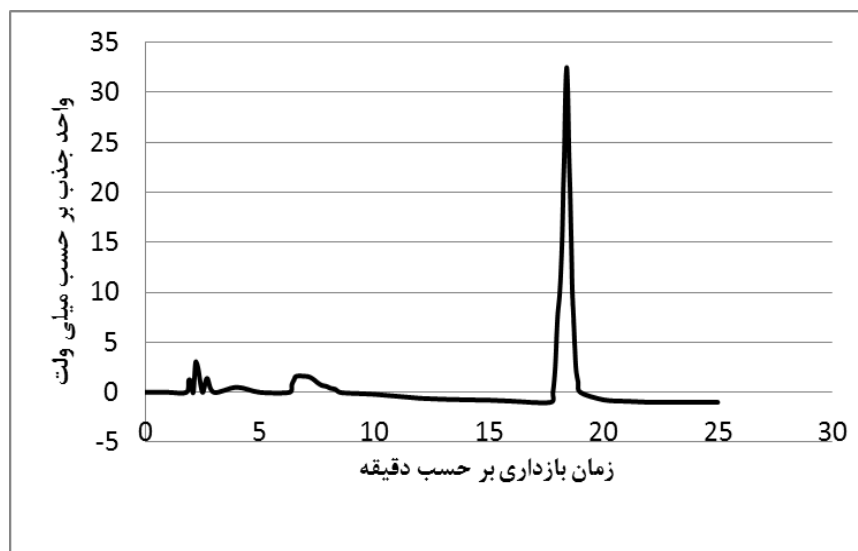
نمودار ۱: مقایسه میانگین تجمع پذیری آترازین در فیله‌ی ماهی شیربت در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ نمونه‌گیری در مجاورت با غلظت‌های ۳/۲۵، ۶/۵ و ۱۳ میلی گرم سم آترازین در ماهی شیربت



نمودار ۲ - منحنی استاندارد آترازین



نمودار ۳: کروماتوگرام غلظت ۴ میلی گرم بر لیتر استاندارد آترازین



نمودار ۴: کروماتوگرام مربوط به نمونه

بحث

نتایج این بررسی نشان داد که اولاً آترازین در ماهی شیربت سمیت بالایی دارد و سمیت آن هم با افزایش زمان مجاورت و هم با افزایش دوز سم افزایش می‌یابد، بطوریکه غلظت ایجاد کننده ۵۰٪ تلفات پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب برابر: ۱۹۲/۶۰۵، ۱۵۳/۰۷۸، ۹۲/۴۹۵ و ۶۵/۰۴ میلی گرم در لیتر بودند.

Solomon و همکاران (۱۹۹۶)، LC_{50} ۹۶ ساعته آترازین را در قزل‌آلای کانادایی ۶۳۰۰ میکروگرم در لیتر گزارش نمودند. Bekeh و همکاران (۲۰۱۲)، LC_{50} ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته آترازین در تیلایپای نیل با میانگین وزن ۹/۸ گرم و اندازه ۶/۸۳ سانتی متر را به ترتیب ۷/۹، ۷/۶، ۷/۳ و ۷/۲ میلی گرم در لیتر اعلام کردند. Ramesh و همکاران (۲۰۰۹)، LC_{50} ۲۴ ساعته آترازین در کپور معمولی با میانگین وزن ۶ گرم و اندازه ۷/۵ سانتی متر را ۱۸/۵ میلی گرم در لیتر گزارش کردند. Abdali و همکاران (۲۰۱۱)، LC_{50} ۹۶ ساعته آترازین در ماهی کپور علف‌خوار با میانگین وزن ۳۳/۶۳ گرم و میانگین ($\pm SD$) اندازه ۱۴/۱۱ $\pm$ ۱/۱ سانتی متر را ۸۰ میلی گرم در لیتر گزارش کردند. در طول مدت این تحقیق، تلفات جزئی ماهی نیز مشاهده شد، ضمن اینکه رفتار ماهی با خون‌ریزی، کاهش شنا و تغذیه و عکس‌العمل محیطی همراه بود.

Hussein و همکاران (۱۹۹۶)، پیشنهاد کردند که این تغییرات رفتاری، نتیجه‌ی کاهش فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز می‌باشد. توجه به نتایج تحقیق جاری که در تطابق با تحقیقات ذکر شده در بالا دارد، هم افزایش غلظت و هم افزایش مدت مجاورت با سم، باعث افزایش تلفات در تیمارها شده است که گویای سمیت حاد آترازین در ماهی شیربت می‌باشد. البته با توجه به غلظت نسبتاً بالای LC_{50} این سم در ماهی شیربت (۶۵ میلی گرم در لیتر) می‌توان ادعا نمود که ماهی شیربت مقاومت نسبتاً مناسبی در برابر سمیت حاد با این سم دارد.

با توجه به استفاده‌ی گسترده آترازین در کشاورزی و قابلیت انحلال آن در آب، انتظار می‌رود که آترازین در موجودات زنده قابلیت تجمع‌پذیری داشته باشد (Jacomini et al., 2006).

با توجه به نمودار ۱ مقایسه میزان تجمع‌پذیری آترازین در فیله‌ی ماهی در روزها و غلظت‌های مختلف نمونه‌گیری را نشان می‌دهد که میزان آن در غلظت‌های ۶/۵ و ۱۳ میلی گرم در لیتر با افزایش طول دوره نمونه‌گیری افزایش پیدا کرد اما در غلظت ۳/۲۵ میلی گرم تنها در روز ۲۱ نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌ها افزایش داشته که این افزایش نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود ($p < 0.05$). هم‌چنین در غلظت‌های ۶/۵ و

۱۳ میلی گرم در لیتر در تمامی روزهای نمونه گیری نسبت به گروه شاهد افزایش معنی دار ($p < 0.05$) نشان داد.

Jacomini و همکاران (۲۰۰۶)، برای ارزیابی میزان تجمع پذیری آترازین، یک مطالعه ای آزمایشگاهی را بر روی دو نوع صدف که در مدت ۴۸ ساعت انجام دادند و نتایج آن ها نشان دادند که هر دو گونه صدف، توانایی تجمع پذیری آترازین را دارند. این آزمایش در ۴ گروه مختلف (A, B, C, D) که به ترتیب غلظت آترازین در آب: ۰/۰۸، ۰/۳، ۰/۰۶ و ۰/۰۳۴ میلی گرم بر لیتر بود و نتایج آن ها نشان داد که میزان تجمع- پذیری آترازین در گروه A، ۰/۵۹ و در گروه B، ۲/۵۷ و در گروه C، ۰/۵۷ و در گروه D، ۲/۵۹ میکروگرم بر گرم است که بین گروه های A و D، B و C اختلاف معنی داری مشاهده نشد، اما بین گروه های A و B، C و D اختلاف معنی داری مشاهده شد. همچنین بیشترین مقدار تجمع پذیری آترازین در توده ای داخلی بدن و سیفون صدف مشاهده گردید.

Du Preez و Van Vuren (۱۹۹۲)، برای ارزیابی میزان تجمع پذیری آترازین، یک مطالعه ای آزمایشگاهی را بر روی ماهی تیلاپیا که در غلظت های ۰/۳۲ تا ۶/۶۷ گرم بر میلی لیتر اندام های ماهی تیلاپیا حتی در غلظت بالای آترازین، پایین است.

با توجه به این که میزان تجمع پذیری آترازین در فیله ای ماهی در روز ۲۱ در غلظت ۱۳ میلی گرم بر لیتر، حدود ۱ میلی گرم بر کیلوگرم بدست آمد؛ در مقایسه با تحقیقات مشابه بر روی سایر گونه های ماهی، می توان نتیجه گرفت که احتمالاً آترازین قابلیت تجمع پذیری کمی در فیله ای ماهی شیربت داشته و میزان تجمع پذیری این سم وابسته به غلظت سم و مدت مجاورت با سم نیز می باشد. همچنین احتمالاً علت تجمع پذیری پایین در فیله ای ماهی به دلیل میزان چربی پایین این بخش نسبت به سایر بخش ها از جمله کبد و تخمدان ماهی است.

با توجه به مطالعه ای حاضر، آترازین سمیت نسبتاً بالایی در ماهی شیربت داشته و مجاورت طولانی مدت این ماهی با غلظت بالای آترازین منجر به ایجاد تغییرات فیزیولوژیک و تجمع زیستی آن در ماهی شیربت می گردد، در نتیجه استفاده

آترازین در مدت ۷۲ ساعت انجام دادند و نتایج آن ها نشان داد که در کبد، قلب، عضله، مغز و غدد تناسلی تجمع پذیری آترازین رخ داده است. که بیشترین مقدار آن در تخمدان (۵۰ میکروگرم بر گرم) و در کبد (۴۰ میکروگرم بر گرم) است. و میزان تجمع پذیری آترازین در فیله ای ماهی ۷/۷ میکروگرم بر گرم را محاسبه نمودند. همچنین گزارش دادند که آترازین تمایل بیش تری برای تجمع پذیری در بافت چربی دارد؛ که علت تجمع پذیری پایین تر در فیله ای ماهی به دلیل میزان چربی کمتر در مقایسه با کبد و تخمدان است.

Klassen و Kadoum (۱۹۷۹)، در ماهی (*Lepomis macrochirus*)، میزان تجمع پذیری آترازین را در بافت عضله کمتر از ۰/۳ میکروگرم بر گرم به دست آوردند. همچنین Gluth و همکاران (۱۹۸۵)، در یک نوع ماهی کپور، کمتر از ۰/۴ میکروگرم بر گرم محاسبه کردند.

Du Preez و Van vuren (۱۹۹۲)، علیرغم گزارش غلظت بیش از ۷ میکروگرم در گرم در غلظه ای ماهی تیلاپیا، نتیجه گرفتند که تجمع پذیری آترازین در بافت و سایر

از علف کش آترازین باید در حداقل میزان مؤثر و ترجیحاً در مناطقی که زهاب مزارع به آبهای آزاد راهی ندارد، مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

تحقیق جاری با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران انجام گرفت. از مسئولین محترم آزمایشگاه اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان تهران و دانشکده ای دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و آقایان: دکتر مهرزاد مصباح، دکتر عبدالمحمد عطاران، دکتر تکاور محمدیان، دکتر فرید براتی، مهندس شهاب ولی پور و مهندس محسن قربانعلی زاده تشکر می نمایم.

منابع

- Correll D.L. and Wu T.L., 1982. Atrazine toxicity to submersed vascular plants in simulated estuarine microcosms. *Aquatic Botany*, 14: 151-158.
- Du Preez H.H. and Van Vuren J., 1992. Bioconcentration of atrazine in the banded tilapia *Tilapia sparrmanii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 101: 651-655.
- Forouzangohar M., Haghnia G.H. and Koocheki A., 2005. Organic amendments to enhance atrazine and metamitron degradation in two contaminated soils with contrasting textures. *Soil & Sediment Contamination*, 14: 345-355.
- Ghosh P.K. and Philip L., 2004. Atrazine degradation in anaerobic environment by a mixed microbial consortium. *Water Research*, 38: 2277-2284.
- Gluth G. and Hanke W., 1985. A comparison of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, induced by several pollutants at sublethal concentrations: I. The dependency on exposure time. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 9: 179-188.
- Hussein S., El-Nasser M. and Ahmed S., 1996. Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on freshwater fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthyes auratus* at Assiut, Egypt. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 57: 503-510.
- Jacomini A.E., Avelar W.E.P., Martinéz A.S. and Bonato P.S., 2006. حاجی شرفی غ.، و شکوه فر ع.، ۱۳۸۸. جایگزینی علف-کش‌های نیشکری به‌منظور مصرف سموم شیمیایی و استفاده بهینه از نهاده‌های کشاورزی در مزارع نیشکر استان خوزستان. فصلنامه‌ی علمی تخصصی فیزیولوژی گیاهان زراعی، ۷۹-۸۸: ۱(۱).
- خواجه پور م.، گلابکش ش. و غیائی خیاط، م.، ۱۳۸۹. بررسی اهمیت تالاب بین المللی شادگان (ارزش‌ها، تهدیدها و روش‌های بهبود آن). همایش ملی تالاب‌ها و نقش آن در مدیریت جامع منابع آب، ۴۱-۵۲: ۲(۳).
- Abdali S., Yousefi Jourdehi A., Kazemi R. and Yazdani M.A., 2011. Effects of Atrazine (Herbicide) on blood biochemical indices of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of the Persian Gulf*, 2: 51-56.
- Atamanalp M. and Yanik T., 2003. Alternations in hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to mancozeb. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 27(5).
- Bekeh Ada F., Ayotunde E.O. and Bayim B.P.R., 2012. Some biological and hematological responses of *Oreochromis niloticus* juveniles exposed to Atrazine herbicide. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation-International Journal of the Bioflux Society (AACL Bioflux)*, 5.
- Cerdeira A., Santos N., Ueta J., Shuhama I., Pessoa M., Smith S. and Lanchote V., 2004. Atrazine in water and biodegradation in a recharge area of Guarany Aquifer in Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 73: 117-124.

- Bioaccumulation of atrazine in freshwater bivalves *Anodonta trapesialis* (Lamarck, 1819) and *Corbicula fluminea* (Müller, 1774). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 51: 387-391.
- Klaassen H.E. and Kadoum A.M., 1979.** Distribution and retention of atrazine and carbofuran in farm pond ecosystems. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 8: 345-353.
- Moore A. and Waring C.P., 2001.** The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic salmon. Aquatic Toxicology, 52: 1-12.
- Prasad T., Srinivas T., Rafi G.M. and Reddy D., 1991.** Effect in vivo of atrazine on haematology and O₂ consumption in fish, *Tilapia mossambica*. Biochemistry International, 23: 157-161.
- Prasad T., Srinivas T., Rafi M. and Reddy D., 1990.** Chronic effect of atrazine on hydromineral balance in the crab. Biochemistry International, 22: 435-440.
- 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, 3(12).
- Rymuszka A., Siwicki A.K. and Sieroslawska A., 2007.** Determination of modulatory potential of atrazine on selected functions of immune cells isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Centre European Journal Immunology, 32: 97-100.
- Sherma J., 1995.** Pesticides. Analytical Chemistry, 67:, 1R-20R.
- Sobhanzadeh E., Abu Bakar N.K., Abas M.R.B. and Nemati K., 2011.** Low temperature followed by matrix solid-phase dispersion-sonication procedure for the determination of multiclass pesticides in palm oil using LC-TOF-MS. Journal of Hazardous Materials, 186: 1308-1313.
- Solomon K.R., Baker D.B., Richards R.P., Dixon K.R., Klaine S.J., La Point T.W., Kendall R.J., Weisskopf C.P., Giddings J.M. and Giesy J.P., 1996.** Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. Environmental Toxicology and Chemistry, 15: 31-76.

Effect of herbicide Atrazine chronic toxicity on bioaccumulation process in fillet of *Barbus grypus*

Khabazian Zadeh A.¹; Dadolahi Sohrab A.²; Alishahi M.³; Khazaei S.H.²; Mohammad Asgari H.²

* Alikhabazian2011@gmail.com

1-Graduated Student MS of Marine Environment Khorramshahr University of Marine Science and Technology.

2-Department of Environmental Sciences, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology.

3-Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Key words: Atrazine, Chronic toxicity, Bioaccumulation, *Barbus grypus*.

Abstract

Atrazine is one of the most important and effective pollutant in aquatic ecosystems. The largest sugar cane farms of Middle East is located in Khouzestan Province, Iran in which large amounts of Atrazine are being used in farming. The aim of this study was to investigate acute toxicity (LC₅₀ 96 h) of atrazine on *barbus grypus* and the effects of chronic toxicity with sub-lethal concentration of atrazine on bioaccumulation of atrazine in fish fillet. LC₅₀ 96 h of atrazine on *barbus grypus* was measured according to the OECD standard method, 180 *barbus grypus* were divided into 4 equal groups (in triplicates). Groups 1, 2 and 3 were exposed to 3.25 mg l⁻¹ (5%), 6.5 mg l⁻¹ (10%) and 13 mg l⁻¹ (20%) of LC₅₀ 96 h concentrations, respectively. Group 4 exposed to toxin free water as a control group. Experimental exposures did last for 21 days, muscles samples of the large dorsal muscle were taken on days 0, 7, 14 and 21 of experiment. Bioaccumulation of Atrazine was measured in the muscle at days 0, 7, 14 and 21 in all groups. Results indicated that atrazine was toxic for *barbus grypus* and its toxicity increased not only with increase in atrazine but also with increase in the exposure time. The bioaccumulation of atrazine in fish muscles was increased significantly in groups 2 and 3 in all sampling periods and in groups 1 only in day 21. The results of present study showed that placing *barbus grypus* in the presence of chronic and sub lethal concentrations of the herbicide Atrazine for three weeks may lead to accumulation of toxins in the fish fillets.

*Corresponding author