Archive of SID

اقیانوس‌شناسی/ سال پنجم/ شماره ۱۷/ بهار ۱۳۹۳/۹/۹-۱

تعیین غلظت کشندگی متوسط (LC_{50}) دی کرومات پتاسیم و بررسی پاسخ‌های رفتاری در هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*)

پروین صادقی[۱*]، احمد سواری[۲]، عبدالعلی موحدی‌نیا[۳]، علیرضا صفاهیه[۴]، دانیال اژدری[۵]

۱- دانشجوی دکتری زیست‌شناسی جانوران دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: parvin.sadeghi@gmail.com

۲- استاد گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: savari53@yahoo.com

۳- استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: amovahedinia@yahoo.com

۴- استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: safahieh@hotmail.com

۵- استادیار موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، پست الکترونیکی: danielajdari@yahoo.com

* نویسنده مسوول

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۴

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۳، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

غلظت کشندگی متوسط (LC_{50}-96h) میزان حساسیت و پتانسیل ماندگاری موجودات را در برابر مواد آلاینده از جمله فلزات سنگین مشخص می‌کند. در این مطالعه میزان غلظت کشندگی متوسط (LC_{50}) دی‌کرومات پتاسیم ($K_2Cr_2O_7$) طی ۹۶ ساعت در هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*) تعیین شد. ۶ گروه از ماهی‌ها (در هر گروه ۷ ماهی) با میانگین وزن ۰/۵g±۲۱۸ و طول کل ۲۹/۶ Cm به مدت ۹۶ ساعت تحت تاثیر غلظت‌های مختلف دی‌کرومات پتاسیم (۰،۶۲، ۶۶، ۷۰، ۷۴ و ۷۸ میلی گرم بر لیتر) قرار گرفتند. آزمایش‌ها با سه تکرار انجام پذیرفت (۲۱ قطعه ماهی در هر تیمار). دما، شوری و pH در طول آزمایش به‌صورت مداوم اندازه‌گیری شدند که به‌ترتیب برابر با ۰/۵±۲۷ درجه سانتیگراد، ۳۷ ppt و ۸/۱ بودند. LC_{50}-96h در شرایط آزمایشگاهی با سیستم ساکن ۷۳/۰۹mg/L محاسبه شد. درصد مرگ و میر با افزایش مدت زمان مواجهه ماهی با کروم و افزایش غلظت آن افزایش یافت. تغییرات رفتاری مشاهده شده در هامورماهی لکه زیتونی منقوط طی دوره آزمایش شامل تنفس مشکل، حرکت آهسته، کاهش شناوری، واژگونی، شنا در سطح آب، تجمع در اطراف پمپ هوا، افزایش ترشح موکوس، خونریزی ناحیه آبشش‌ها، دهان و باله‌های ماهی و تغییر رنگ بدن بود. اثرات سمیت دی‌کرومات پتاسیم با افزایش غلظت آن افزایش یافت.

کلمات کلیدی: *کروم، غلظت کشنده متوسط (LC_{50})، فلزات سنگین، هامورماهی لکه زیتونی منقوط، رفتار.*

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

پساب صنایع که شامل مواد جامد معلق، ترکیبات آلی و غیرآلی، حشره‌کش‌ها، کودهای کشاورزی و فلزات سنگین است، منبع مهم و اصلی آلودگی آب است و به میزان قابل توجهی در حال رشد است (Woodling et al., 2001; Swarup et al., 2006). طی دهه‌های گذشته هزاران ترکیب آلاینده در اثر فعالیت‌های انسانی به محیط‌های دریایی وارد شده‌اند (Vander Oost et al., 2003). فلزات سنگین به‌دلیل سمیت بالا، قابلیت تجمع زیستی و ماندگاری زیاد، به مشکل زیست‌محیطی جدی در ارتباط با زیست‌بوم‌ها تبدیل شده‌اند (Tam and Wong, 2000; Clark et al., 1998). آلاینده‌های موجود در دریا اثرات مهمی روی انسان‌ها و جمعیت‌ها می‌گذارد. زیرا موجودات آلوده دریایی باعث ایجاد مسمومیت یا بیماری در مصرف کنندگان آنها می‌شوند (Ubalua et al., 2007). از خصوصیات بسیار مهم فلزات سنگین قابلیت تجمع زیستی در بافت‌های موجودات آبزی است (Palanippan and Karthikeyan, 2009). بیشتر از چندین دهه از توجه به سطوح مختلف فلزات سنگین در محیط‌های دریایی و تخمین میزان این آلاینده‌ها در بافت‌های بدن ماهی به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین منابع غذایی انسان‌ها می‌گذرد (Ashraf, 2005). از میان فلزات سنگین، فلز کروم به‌دلیل اثر بر روی سامانه‌ی زیست‌شناختی موجودات و ایجاد سرطان و جهش‌زایی به‌طور ویژه مورد توجه قرار گرفته است (Palanippan and Karthikeyan, 2009). همچنین کروم به‌عنوان یکی از ۱۴ فلز سنگین بسیار سمی در نظر گرفته می‌شود (Irwin et al., 1997). کروم ۶ ظرفیتی بسیار سمی‌تر از کروم ۳ ظرفیتی است، زیرا پتانسیل اکسیدکنندگی بالایی دارد (Eisler 1986; Meyers 1990; Jones, 1990) و به آسانی در غشاهای زیستی نفوذ می‌کند (Eisler, 1986) و به سرعت از طریق پوست، دیواره روده، آبشش و جبه جذب می‌شود (Moore et al., 1990). ترکیبات کروم ۶ ظرفیتی تمایل فراوانی به اکسیدکنندگی دارند که ریسک ابتلا به سرطان و آسیب‌های کلیوی را به‌دنبال دارند (Meyers, 1990) و همچنین سبب آسیب به DNA و ساختار بسیاری از بافت‌ها می‌شود (Jones, 1990). امروزه دی کرومات پتاسیم ($K_2Cr_2O_7$) به‌عنوان منبع کروم در تست‌های سم‌شناسی موجودات آبزی کاربرد دارد (Krejci and Palikova, 2006).

افزایش بیش از حد کروم در ماهی‌ها سبب کاهش وزن، افزایش مصرف اکسیژن، اختلال در تولیدمثل و افزایش هماتوکریت (Moore et al., 1990)، آسیب‌های بافتی و اختلال در تنظیم اسمزی می‌شود (Van der Putte et al., 1982).

غلظت زیاد فلزات سنگین در محیط‌های دریایی سبب تغییر در فیزیولوژی، ساختار و رفتار موجودات می‌شود. از آنجا که رفتار ارتباط بین فرآیندهای فیزیولوژیکی و زیست شناختی است، می‌تواند به‌عنوان یک عاملی مناسب در مطالعات بررسی اثرات سمیت آلاینده‌های محیطی بر روی ماهی‌ها به‌کار رود (Scott and Sloman, 2004).

هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*) از خانواده هامورماهیان (Serranidea) است. این ماهی‌ها در مناطق استوایی و زیر استوایی وجود دارند (Paolo, 2001). محدوده‌ی پراکنش این گونه از سواحل دریای سرخ تا شمال غربی اقیانوس هند (ایران، دریای عمان)، پاکستان، یمن، امارات متحده عربی، عمان) است (Heemstra and Randall, 1993). این گونه در بسترهای شنی و صخره‌ای (نزدیک آبسنگ‌های مرجانی) زیست می‌کند و در آب‌های کم عمق ساحلی تا عمق ۵۰ متر دیده می‌شود و طول عمر نسبتاً زیادی دارد (Mackie, 2000). هامورماهی لکه زیتونی منقوط جزو گوشتخواران شکارچی محسوب می‌شود (Bombeo-Tuburan et al., 2001). این گونه در تمام طول سال در دسترس است و شرایط آزمایشگاهی را به‌خوبی تحمل می‌کند. تست غلظت کشندگی متوسط (LC_{50}-96h) میزان حساسیت و پتانسیل ماندگاری موجودات را در برابر مواد آلاینده از جمله فلزات سنگین مشخص می‌کند (Eaton et al., 1995). در سال‌های اخیر، بررسی‌های زیست‌محیطی و زیست‌شناختی تغییرات میزان فلزات سنگین در سواحل جنوبی کشور اکثراً معطوف به نواحی ساحلی خلیج فارس بوده و تقریباً می‌توان گفت علی‌رغم اهمیت فوق‌العاده منطقه‌ی دریای عمان و خلیج چابهار از لحاظ زیست‌بوم‌های منحصر به‌فرد آن، تاکنون مطالعات جامعی در خصوص تعیین محدوده حد کشندگی فلزات سنگین بر روی ماهیان این منطقه انجام نگرفته است و بیشتر مطالعات معطوف به بررسی ژئوشیمیایی رسوبات این ناحیه بوده است. میزان غلظت فلز سمی کروم در اکثر نمونه‌های رسوب اسکله‌های دریای عمان بیش از عیار آن‌ها در محیط‌های طبیعی است که این تغییرات ناشی از بیشتر بودن میزان آلاینده‌های ورودی به اسکله‌ها به‌دلیل تردد بیشتر قایق‌های صیادی و لنج‌ها

www.SID.ir

Archive of SID

است (حمزه و همکاران، ۱۳۹۰). این مقاله حاصل بخشی از نتایج اولین تحقیق در خصوص تست غلظت کشندگی متوسط (LC_{50}) فلز کروم بر روی هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae* یا Epaulet grouper) در ایران است که هدف آن تعیین حد کشندگی دی‌کرومات پتاسیم ($K_2Cr_2O_7$) به‌عنوان یکی از سمی‌ترین ترکیبات برای موجودات زنده و بررسی تغییرات رفتاری این ماهی در غلظت‌های مختلف فلز کروم است.

۲. مواد و روش کار

از موارد بسیار مهم برای انتخاب دوزهای تست غلظت کشندگی متوسط (LC_{50}) دارا بودن اطلاعات از محدوده کشندگی (Range Finding Test) آلاینده مورد نظر است تا بر اساس آن غلظت‌های مناسب انتخاب شود که در مدت زمان انجام تست تحت کشنده تلفاتی بر گونه انتخاب شده ایجاد نکند (Di Giulio and Hinton, 2008). بر اساس جستجوهای انجام شده اطلاعاتی در زمینه توکسیکولوژیک فلز کروم بر روی هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*) موجود نیست و محدوده‌ی کشندگی کروم برای این ماهی مشخص نیست. لذا قبل از انجام تست غلظت کشندگی متوسط (LC_{50}) کروم، تست تعیین محدوده کشندگی کروم (Range Finding Test) برای ماهی مورد مطالعه انجام شد. جهت تعیین محدوده کشنده کروم، هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*) با میانگین وزن ۰/۵±۲۱۸ g و میانگین طول کل ۲۹/۶ cm از خلیج چابهار (۴۵′E ۶۰° و ۲۶′N ۲۵°) (دریای مکران) به روش صید انتظاری و به‌وسیله قلاب دستی و طعمه در دی ماه ۱۳۹۰ صید گردید. ماهی‌ها به کارگاه تکثیر و پرورش مرکز تحقیقات شیلات آبهای دور چابهار انتقال داده شد. ماهی‌ها جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاه به مدت دو هفته در مخازن فایبرگلاس محتوی آب دریای فیلترشده با شوری ۳۷ ppt، pH برابر با ۸/۱ و دمای ۰/۵± ۲۷ درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و با هوادهی مناسب نگهداری شدند. در این مدت ماهی‌ها دوبار در روز (صبح و عصر) با استفاده از غذای تازه (گوشت ماهی) به‌میزان ۲٪ وزن بدنشان تغذیه شدند. بعد ازطی زمان سازگاری، ماهی‌هایی که از نظر ظاهری سالم بودند و فعالیت مناسبی داشتند انتخاب شدند و به مخازن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری محتوی ۲۵۰ لیتر آب دریای فیلتر شده در ۱۱ تیمار از غلظت‌های مختلف کروم (۴۸۰، ۲۴۰، ۱۲۰، ۱۱۰، ۱۰۰، ۹۰، ۸۰، ۷۰، ۶۰، ۳۰، ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر) انتقال داده شدند. در هر تیمار ۳ قطعه ماهی قرار داده شد. جهت تهیه محلول ذخیره کروم، از نمک دی‌کرومات پتاسیم مرک آلمان ($K_2Cr_2O_7$) و آب دوبار تقطیر استفاده شد. مدت زمان آزمایش تعیین محدوده کشندگی کروم ۹۶ ساعت بود و میزان مرگ و میر ماهی‌ها هر ۸ ساعت یکبار بررسی و ماهی‌های تلف شده از مخازن خارج گردید. عوامل دما، شوری و pH مخازن در طول مدت زمان آزمایش به صورت مداوم کنترل شدند. ماهی‌ها در مدت زمان آزمایش تغذیه نشدند. پس از طی این مدت زمان و ثبت میزان مرگ و میر ماهی‌ها، آزمایش LC_{50} با توجه به نتایج تست تعیین محدوده کشندگی کروم انجام گرفت. برای انجام این آزمایش ۵ تیمار از دی کرومات پتاسیم و یک شاهد انتخاب شد و ۷ قطعه ماهی هامور لکه زیتونی منقوط به هر یک از مخازن فایبر گلاس ۳۰۰ لیتری (محتوی ۲۵۰ لیتر آب دریای فیلتر شده) با غلظت‌های ۷۸، ۷۴، ۷۰، ۶۶، ۶۲ میلی‌گرم در لیتر دی‌کرومات پتاسیم انتقال داده شد. آزمایش‌ها با سه تکرار انجام پذیرفت (مجموعا ۲۱ قطعه ماهی در هر تیمار). تمام شرایط این تست مشابه تست تعیین محدوده کشندگی کروم بود. ماهی‌ها به‌مدت ۹۶ ساعت در غلظت‌های مذکور نگهداری شدند و میزان مرگ و میر آنها در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت گردید. در پایان میزان LC_{50} با استفاده از روش آماری Finney's Probit Analysis محاسبه شد (Finney, 1971). در طی زمان ۹۶ ساعت تغییرات رفتاری و ناهنجاری‌های ریخت‌شناختی ماهی‌های در معرض غلظت‌های مختلف دی‌کرومات پتاسیم و همچنین ماهی‌های مخزن شاهد به‌طور منظم بررسی و ثبت گردید.

۳. نتایج

جدول ۱ ارتباط بین غلظت دی کرومات پتاسیم و درصد مرگ و میر هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*) را نشان می‌دهد. تمامی ماهیان موجود در غلظت‌های ۴۸۰ mg/L و ۲۴۰ بعد از ۲۴ ساعت، غلظت‌های ۱۲۰ mg/L و ۱۱۰ پس از ۴۸ ساعت، غلظت‌های ۱۰۰ mg/L و ۹۰ بعد از ۷۲ ساعت و غلظت ۸۰ mg/L بعد از ۹۶ ساعت تلف شدند و میزان مرگ و میر در این غلظت‌ها ۱۰۰٪ بود. میزان مرگ و میر در غلظت ۷۰ میلی گرم بر لیتر ۶۶/۷٪ درصد بود. در غلظت‌های ۱۵، ۳۰ و ۶۰

www.SID.ir

Archive of SID

میلی گرم بر لیتر طی ۹۶ ساعت مرگ و میر مشاهده نگردید. با توجه به عدم مرگ و میر در غلظت ۶۰ میلی گرم بر لیتر و وجود ۱۰۰٪ مرگ و میر در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر، محدوده کشنده کروم بین ۸۰-۶۰ میلی‌گرم بر لیتر تعیین گردید و تست LC_{50} در این محدوده انجام شد. با انتخاب غلظت‌های ۶۲، ۶۶، ۷۰، ۷۴ و ۷۸ میلی‌گرم بر لیتر کروم جهت انجام تست LC_{50}، میزان مرگ و میر ماهی‌ها طی ۹۶ ساعت ثبت گردید. مشاهدات نشان داد که بیشترین میزان تلفات در غلظت ۷۸ میلی‌گرم بر لیتر (۱۲ ماهی) و کمترین میزان مرگ و میر در غلظت ۶۲ میلی‌گرم بر لیتر (۵ ماهی) بوده است (جدول ۲).

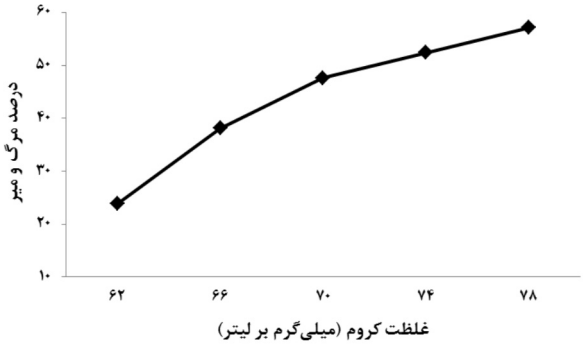
جدول ۱: درصد مرگ و میر هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*) طی ۹۶ ساعت مواجهه با دی‌کرومات پتاسیم

غلظت کروم (mg/L)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
۱۵	۰	۰	۰	۰
۳۰	۰	۰	۰	۰
۶۰	۰	۰	۰	۰
۷۰	۰	۰	۰	۶۶/۷
۸۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۹۰	۰	۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۰۰	۰	۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۱۰	۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۲۰	۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۲۴۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۴۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

جدول ۲: میزان مرگ و میر هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*) جهت تعیین غلظت کشندگی متوسط (LC_{50}-96h) در غلظت‌های مختلف دی‌کرومات پتاسیم

	غلظت کروم (mg/L)					
	۰	۶۲	۶۶	۷۰	۷۴	۷۸
تعداد کل ماهی در هر غلظت	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱
تعداد ماهی‌های تلف شده در هر غلظت	۰	۵	۸	۱۰	۱۱	۱۲

در مخزن شاهد تلفات رخ نداد. میزان درصد مرگ و میر هامورماهی لکه زیتونی منقوط در مواجهه با کروم طی ۹۶ ساعت در غلظت‌های انتخابی جهت تعیین سمیت حاد (LC_{50}) در شکل ۱ مشاهده می‌شود. با استفاده از روش آماری Probit Analysis مقادیر LC_{50} محاسبه شد که میزان آن برای کروم در ماهی هامور لکه زیتونی منقوط برابر با ۷۳/۰۹ mg/L اندازه‌گیری شد. تغییرات رفتاری متنوعی در ماهی‌های موجود در غلظت‌های مختلف دی کرومات پتاسیم مشاهده گردید. بررسی‌ها نشان داد که تغییرات رفتاری و ریخت‌شناختی هامورماهی لکه زیتونی منقوط با افزایش غلظت دی‌کرومات پتاسیم افزایش می‌یابد. تعدای از ماهی‌های موجود در تیمار ۶۲ mg/L نزدیک به سطح آب شنا می‌کردند. در غلظت ۶۶ mg/L دی‌کرومات پتاسیم تعداد بیشتری ماهی نسبت به غلظت ۶۲ mg/L به سطح آب آمدند. در این غلظت حرکات فعال ماهی‌ها افزایش یافت و مرگ و میر در آنها در زمان ۹۶ ساعت مشاهده گردید. در غلظت ۷۰ mg/L ماهی‌ها تلاش زیادی برای فرار از مخزن از خود نشان دادند.



شکل ۱: میزان درصد مرگ و میر هامور ماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*) در تست تعیین غلظت کشندگی حاد (LC_{50}-96h) در غلظت‌های مختلف دی‌کرومات پتاسیم

تنفس در آنها به سختی انجام می‌شد. کاهش حفظ شناوری و افزایش ترشح موکوس در این غلظت در ماهی‌ها ثبت گردید. تغییرات رفتاری در غلظت ۷۴ mg/L نسبت به غلظت‌های قبلی مشخص‌تر بود. در این غلظت برخی از ماهی‌ها در آب به‌صورت واژگون قرار داشتند و برخی دیگر در اطراف پمپ هوا تجمع یافته و به سختی تنفس می‌کردند. کاهش شناوری به وضوح در ماهیها دیده می‌شد و سطح بدن آنها پوشیده از موکوس بود. در باله‌های دمی، مخرجی و پشتی خونریزی مشاهده شد. در غلظت ۷۸ mg/L دی کرومات پتاسیم تغییرات رفتاری بسیار سریع‌تر مشاهده شد. حرکت ماهی‌ها در این غلظت بسیار کند بود و تحریک پذیری بسیار کمی داشتند. تنفس به سختی انجام می‌شد و ماهی‌ها در اطراف پمپ هوا تجمع یافتند. شدت ترشح موکوس در این غلظت بسیار زیاد بود. رنگ بدن ماهی‌ها کمرنگ شد و ناحیه سر ماهی‌ها به رنگ سفید تغییر یافت. اطراف دهان، مخرج، چشم‌ها و باله‌های ماهی خونریزی مشاهده شد. چشم ماهی‌ها در این غلظت بسیار برآمده و کدر رنگ گردید. اولین تلفات در این غلظت در ۷۲ ساعت اولیه ثبت شد. با تشریح ماهی موکوس شدیدی در اطراف اندام‌های درونی ماهی و همچنین آبشش‌ها مشاهده شد. کلیه به رنگ سیاه و کبد به رنگ قهوه‌ای تیره درآمده بود. آبشش‌ها خونی شده و به قهوه‌ای تغییر رنگ داده بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

۴. بحث و نتیجه‌گیری

ترکیبات فلز کروم به میزان فراوان، به‌عنوان آلاینده محیطی قلمداد می‌شوند که اثرات سمیت، جهش‌زایی و سرطان‌زایی آنها بر روی سامانه‌های زیستی شناخته شده است (Parlak et al., 1999). اثرات سمیت کروم وابسته به فرم شیمیایی، انحلال‌پذیری و ظرفیت اکسیدکنندگی آن است (Eisler, 1986; Meyers, 1990). کروم ۶ ظرفیتی به‌دلیل خاصیت اکسیدکنندگی بالا و قابلیت نفوذ به غشاهای زیستی سمی‌ترین فرم کروم محسوب می‌شود (Irwin et al., 1997). اثرات سمیت کروم در گونه‌های دریایی تحت تاثیر عوامل فیزیکی از جمله سختی آب، دما، میزان اکسیژن، pH، شوری و همچنین عوامل زیستی مثل گونه، اندازه و سن موجود است (Moore et al., 1990). افزایش سختی آب قابلیت سمی بودن دی‌کرومات پتاسیم را افزایش می‌دهد (Moore et al., 1990; Marchese et al., 2008). اثرات القای کروم ۶ ظرفیتی در موجودات آبزی در pH های مختلف، متفاوت است (Carriquiriborde and Ronco, 2002; Svecevicius, 2006; Velma et al., 2009).

اثرات سمیت فلزات با افزایش دما افزایش (Cairns et al., 1981) و با افزایش شوری کاهش می‌یابد (Witeska and Jezierska, 2003). کاهش اکسیژن سبب افزایش سمیت فلزات می‌شود (Lloyd, 1961). ماهی به واسطه تجمع فلزات سنگین در بافتهای خود به‌عنوان یک نشانگر آلودگی سودمند در محیط‌های آبی محسوب می‌شود و نسبت به تغییرات آلاینده‌ها در محیط بسیار حساس است (Aas et al., 2001). حساسیت ماهی به فلز سنگین خاص، عامل بسیار مهمی برای تعیین میزان سمیت حاد آن ماهی است. ممکن است یک ماهی به یک فلز حساس باشد، اما به فلز دیگر با غلظت مشابه حساسیت نشان ندهد (Lal Shah and Altindag, 2005). برای مثال حساسیت ماهی *Cnesterodon decemmaculatus* به کروم بسیار بیشتر از فلز روی و بسیار کمتر از فلز مس با همان غلظت است (Vera-Candioti et al., 2011). از آنجا که تست تعیین محدوده کشندگی (Range Finding Test) به‌طور دقیق محدوده انتخابی غلظت‌های تست کشندگی حاد را مشخص می‌کند، به‌منظور انتخاب غلظت‌های تست LC_{50} در فلزات و مواد شیمیایی مختلف ابتدا این محدوده تعیین می‌شود (Rand, 2008).

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*) به فلز کروم حساس است و میزان مرگ و میر آن به میزان غلظت کروم و مدت زمان مواجهه ماهی با این فلز بستگی دارد. به‌طوری‌که مرگ و میری در غلظت‌های ۶۰-۱۵ میلی‌گرم بر لیتر دی‌کرومات پتاسیم در طی ۹۶ ساعت مشاهده نشد. از سوی دیگر غلظت‌های ۴۸۰-۹۰ میلی گرم بر لیتر دی کرومات پتاسیم طی ۹۶ ساعت ۱۰۰٪ مرگ و میر نشان دادند (جدول ۱). محدوده‌ی کشندگی دی‌کرومات پتاسیم در این گونه بین ۶۰ تا ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر تعیین شد. میزان LC_{50}-96h نمک دی‌کرومات پتاسیم در هامورماهی لکه زیتونی منقوط با استفاده از روش آماری Probit Analysis ، ۷۳/۰۹ میلی گرم بر لیتر برآورد شد. همان‌طور که شکل ۱ نشان می‌دهد درصد مرگ و میر با افزایش مدت زمان مواجهه ماهی با کروم و افزایش غلظت آن افزایش می‌یابد.

میزان حساسیت ماهی به کروم در محدوده‌ی رنج وسیعی است، به‌طوری‌که در گونه‌های مشابه و یا نزدیک به هم نیز مقدار آن متفاوت است (Eisler, 1986). میزان LC_{50}-96h در ماهی‌ها از گونه‌ای به گونه‌ای دیگر و از فلزی تا فلز دیگر متفاوت است (Lal Shah and Altindag, 2005; Iiopoulou-Georgudaki and Kotsanis, 2001). Llanos-Rivera و همکاران (۲۰۰۹) میزان LC_{50}-96h دی‌کرومات پتاسیم ($K_2Cr_2O_7$) در گونه *Engraulis ringens* را ۱۵۶/۰۹ میلی‌گرم بر لیتر برآورد نمودند. میزان LC_{50}-96h دی‌کرومات پتاسیم در ماهی *Odontesthes regia* ، ۸۸/۱۸ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شده است (Silva et al., 2001; Chen, 2000; George et al., 1996). در بچه ماهی *Chanos chanos* (خامه ماهی) میزان LC_{50}-96h فلز کروم ۲۲/۴۵ میلی‌گرم بر لیتر بوده است (Darmayati and Hindarti, 1994).

با مقایسه میزان LC_{50}-96h کروم در ماهی *Engraulis ringens* و *Odontesthes regia* با هامورماهی لکه زیتونی منقوط مشخص می‌شود که به شرط یکسان بودن کلیه شرایط آزمایش، میزان حساسیت هامورماهی لکه زیتونی منقوط به کروم از دو ماهی دریایی مذکور بیشتر است و در دوز پایین‌تری به کروم واکنش نشان می‌دهد. میزان LC_{50}-96h هامورماهی لکه زیتونی منقوط بیشتر از بچه ماهی خامه ماهی است که نشان می‌دهد خامه ماهی نسبت به کروم حساس‌تر است. این موضوع که ماهی‌های کوچک‌تر و نابالغ در مقایسه با ماهیان بزرگتر و بالغ نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

آلاینده‌ها حساس‌تر هستند شناخته شده است (Shyong and Chen, 2000).

میزان LC_{50}-96h دی کرومات پتاسیم در ماهی *Cirrhinus mrigala* ۱۸/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شده است (Palanippan and Karthikeyan, 2009). همچنین در ماهی قزل آلای رنگین کمان (rainbow trout) و قزل آلای خال قرمز (brook trout) LC_{50} در مدت زمان ۹۶ ساعت به ترتیب ۶۹ و ۵۹ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمده است (Benout, 1976). میزان LC_{50}-96h دی‌کرومات پتاسیم در ماهی کپور معمولی، *Labeo rohita*، *Ciprinus wastoni* و *Salmo giardinerri* به ترتیب ۹۳/۶، ۱۴۲، ۱۷۸ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شده است (Al-Akel and Shamsi, 1996; Jaffri et al., 2003; Ikhtiar-ud-Din and Hafeez, 1996; Schiffman and Formm, 1959).

Moore و همکاران (۱۹۹۰) LC_{50}-96h دی‌کرومات پتاسیم در بچه ماهی Fathead minnows را ۳۳/۲ و در ماهی بالغ ۳۶/۹ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه نمودند.

بسیاری از محققین پیشنهاد می‌کنند که از نشانگرهای رفتاری ماهی‌ها برای پایش آلاینده‌های محیطی استفاده شود (Atchison et al., 1987). Mishra و Mohanty (۲۰۰۸) با مطالعه اثرات کروم ۶ ظرفیتی روی ماهی *Channa punctatus* افزایش فعالیت اپرکولوم ماهی، کاهش شناوری و کاهش فعالیت ماهی را گزارش نمودند. کاهش فعالیت در غلظت‌های مختلف فلزات کروم، کادمیوم و روی در ماهی *Lepomis macrochirus* نیز مشاهده شده است (Ellgaard et al., 1987). بررسی اثرات فلزات کروم، روی، آرسنیک، مس، وانادیوم و سرب بر روی دو گونه *Chelon labrosus* و *Limanda limanda* کاهش شناوری، ترشح موکوس و کاهش فعالیت را در این ماهی‌ها نشان داده است (Taylor et al., 1985). در مطالعه حاضر تغییرات رفتاری متفاوتی در غلظت‌های مختلف دی‌کرومات پتاسیم روی هامورماهی لکه زیتونی منقوط مشاهده شد. این تغییرات شامل تنفس مشکل، حرکت آهسته، کاهش شناوری، واژگونی، شنا در سطح آب، تجمع در اطراف پمپ هوا، افزایش ترشح موکوس، خونریزی ناحیه آبشش‌ها، دهان، باله‌های ماهی و تغییر رنگ بود. اثرات سمیت دی‌کرومات پتاسیم با افزایش غلظت آن افزایش یافت. استفاده از ماهیان دریایی در مباحث توکسیکولوژی در بسیاری از کشورها هنوز یک علم جوان محسوب می‌شود (Llanos-Rivera et al., 2009). تست‌های سمیت حاد می‌تواند اثرات آلاینده‌ها را در یک بازه زمانی کوتاه نشان دهد و این امر باعث سهولت در مقایسه درجه سمیت فلزات مختلف و میزان حساسیت ماهی‌ها می‌شود (Buikema et al., 1982). اطلاعات موجود در زمینه اثرات القاء کروم ۶ ظرفیتی بر روی ماهیان دریایی محدود است. به‌طور کلی، نتایج حاصل از این تحقیق ممکن است راهنمای مناسبی برای انتخاب سمیت حاد و پایش اثرات کروم روی هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*) باشد و همچنین پایش منظم و مداوم رفتار این ماهی می‌تواند به‌عنوان نشانگر هشدار دهنده اولیه مسمومیت این گونه با دی‌کرومات پتاسیم در نظر گرفته شود.

منابع

حمزه، م.ع.؛ بسکله، غ.ر.، حبیبی، پ.، ۱۳۹۰. بررسی ژئوشیمیایی رسوبات سواحل دریای عمان با استفاده از سیستم اطلاعات جغرافیائی (GIS). طرح پژوهشی پژوهشگاه ملی اقیانوس‌شناسی و علوم جوی، مرکز ملی اقیانوس‌شناسی دریای عمان و اقیانوس هند. ۱۷۱ صفحه.

Al-Akel, A.S.; Shamsi, M.J.K., 1996. Hexavalent chromium: Toxicity and impact on carbohydrate metabolism and haematological parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) from Saudi Arabia. Aquatic Science, 58(1): 24-30.

Anderson, R. A., 1981. Nutritional role of chromium. Science of the Total Environment, 17: 13-29.

Aas, E.; Baussant, T.; Balk, L.; Liewenborg, B.; Andersen, O.K., 2001. Evidence of uptake, biotransformation and DNA binding of polyaromatic hydrocarbons in Atlantic cod and corkwing wrasse caught in the vicinity of an aluminium works. Marine Environmental Research, 52: 213-229.

Ashraf, W., 2005. Accumulation of heavy metals in kidney and heart tissue of *Epinephelus microdon* fish from the Persian Gulf. Environmental Monitoring Assessment, 101: 311-316.

Atchison, G.J.; Henry, M.G.; Sandheinrich, M.B., 1987. Effects of metals on fish behavior: a review.

www.SID.ir

Archive of SID

Ellgaard, E.G.; Tusa, J.E.; Malizia, A.A., 1978. Locomotor activity of the bluegill *Lepomis macrochirus*: hyperactivity induced by sub lethal concentrations of cadmium, chromium and zinc. Journal of Fish Biology, 12(1): 19-23.

Finney, D.J., 1971. Probit Analysis third ed. Cambridge University Press, London, 337P.

George, S.G.; Hodgson, P.A.; Tytler, P.; Todd, K., 1996. Inducibility of metallothionein mRNA expression and cadmium tolerance in larvae of a marine teleost, the trout (*Scophthalmus maximus*). Fundamental and Applied Toxicology, 33: 91-99.

Heemstra, P.C.; Randall, J.E., 1993. FAO Species Catalogue. Vol. 16. Groupers of the world (family: Serranidae, subfamily: Epinephelinae). An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper and lyretail species known to date. Rome: FAO. FAO Fisheries Synopsis, 125(16): 382P.

Lal Shah, S.; Altindag, A., 2005. Effects of heavy metal accumulation on the 96-h LC50 values in Tench Tinca tinca L., 1758. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29: 139-144.

Llanos-Rivera, A.; Castro, LR.; Silva, J.; Bay-Schmith, E., 2009. A new developmental toxicity test for pelagic fish using anchoveta (*Engraulis ringens* J.). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 83:23–28.

Lloyd, R., 1961. Effect of dissolved oxygen concentrations on the toxicity of several poisons to rainbow trout (*Salmo giardinerri*). Journal of Expeimental Biology, 38: 447-455.

Iiopoulou-Georgudaki, J.; Kotsanis, N., 2001. Toxic effects of cadmium and mercury in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): A short term bioassay. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 66: 77-85.

Ikhtiar-UD-Din, K.; Hafeez, M.A., 1996. Effect of Environmental Biology of Fishes, 18:11–25.

Benout, D.I., 1976. Toxic effect of hexavalent chromium on brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Water Research, 10: 497-500.

Bombeo-Tuburan, I.; Coniza, E.B.; Rodriguez, E.M.; Agbayani, R.F., 2001. Culture and economics of wild grouper (*Epinephelus coioides*) Using three feed types in ponds. Aquaculture, 201: 229-240.

Buikema, A.L.J.; Niedertehner, R.R.; Cairns, J., 1982. Biological monitoring. Part IV-Toxicity testing. Water Research, 16:239-262.

Cairns, J.; Buikema, J.A.L.; Heath, A.G.; Parker, B.C., 1981. Effects of temperature on aquatic organism sensitive to selected chemicals. Bulletin, 106: 1-88.

Carriquiriborde, P.; Ronco, A., 2002. Sensitivity of the neotropical Teleost Odonthestes bonariensis (Pisces, Atherinidae) to chromium(VI), copper(II), and cadmium(II). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 69: 294-301.

Clark, M.W.; McConchie, D.; Lewis, D.W.; Saenger, P., 1998. Redox stratification and heavy metal partitioning in Avicennia-dominated mangrove sediments: a geochemical model. Chemical Geology, 149: 147–171.

Darmayati, Y.; Hindarti, D., 1994. Acute toxicity of cadmium and hexavalent chromium to tropical fish milkfish (*Chanos chanos*). In the proceedings IOC-WESTRAC Third International Scientific Symposium, 245-250 pp.

Di Giulio, R.T.; Hinton, D.E., 2008. The Toxicology of Fishes. Taylor and Francis Group. NW. 1101P.

Eaton, A.D.; Clesceri, L.S.; Greenberg, A.E.; Franson, M.A.H., 1995. Standars methods for the examination of water and waste water. 19th ed. American Public Health Association. Washington (DC 20005).

Eisler, R., 1986. Chromium hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife. Service Biological Report, 85(1.6): 60.

www.SID.ir

Archive of SID

136-141.

Moore, S.B.; Winckel, J.; Detwiler, S.J.; Klasing, S.A.; Gaul, P.A.; Kanim, N.R.; Kesser, B.E.; Debeveck, A.B.; Beardsley, K.; Puckett, L.K., 1990. Fish and Wildlife Resources and Agricultural Drainage in the San Joaquin Valley, California. San Joaquin Drainage Program, Sacramento, California. Six sections and 2 appendixes. Portions reproduced with the permission of senior author Stephen Moore, Fish and Wild life Service, Regional Office, Portland, OR.

Palanippan, PL.RM.; Karthikeyan, S., 2009. Bioaccumulation and depuration of chromium in the selected organs and whole body tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala* individually and in binary solutions with nickel. Journal of Environmental Science, 21: 229-236.

Paolo, P., 2001. First record of the orange-sport the grouper *Epinephelus coioides* (Perciformes: Serranidae) in the nor-thern Adriatic sea, Cybium, 25(3): 281-284.

Parlak, H.; Katalay, S.; Buyukisik, B., 1999. Accumulation and loss of chromium by mussels (*M. galloprovincialis*). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 62: 286-292.

Schiffman, R.A.; Formm, P.O., 1959. Chromium induced changes in the blood of rainbow trout (*Salmo giardinerri*). Sewage and Industrial Wastewater, 31: 205-211.

Scott, G.R.; Sloman, K.A., 2004. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. A review. Aquatic Toxicology, 68(4): 369-392.

Shyong, W.J.; Chen, H.C., 2000. Acute toxicities of copper, cadmium, and mercury to the freshwater fish Varicorhinus bar- batus and Zacco. Acta Zoologica Taiwanica, 11(1):33-45.

chromium (VI) on blood parameters of the fish wastoni ciprinus. Journal of Zoology, 28: 45-49.

Irwin, R.J.; Van Mouwerik, M.; Stevens, L.; Seese, M.D.; Basham, W., 1997. Environmental Contaminants Encyclopedia. National Park Service, Water Resources Division, Fort Collins, Colorado. Distributed within the Federal Government as an Electronic Document (Projected public availability on the internet or NTIS: 1998).

Jaffari, S.I.H.; Narejo, N.T.; Shaikh, S.A., 2003. Toxic effect of hexavalent chromium on fingerlings of commercial carp (*Labeo rohita*). Journal of Zoology, 33: 339-345.

Jones, R.E., 1990. Hexavalent chromium: threshold concept for carcinogenicity. Biomedical and Environmental Science, 3: 20-34.

Krejci, R.; Palikova, M., 2006. Potassium Dichromateas a Reference Substance for Embryonic Tests of Toxicity in the Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta Veterinaria Bron, 75: 259-263.

Mackie, M., 2000. Reproductive biology of the half moon grouper, *Epinephelus rivulatusat* Ningaloo Reef, Western Australia. Environmental Biology of Fishes, 57: 363-376.

Marchese, M.; Gagneten, A.M.; Parma M.J.; Pave, P.J., 2008. Accumulation and elimination of chromium by freshwater species exposed to spiked sediments. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 55: 603-609.

Meyers, E., 1990. Chemistry of Hazardous Materials. Prentice Hall Career and Technology, Prentice-Hall Inc., Engle wood Cliffs, NJ, 509P.

Mishra, A.K.; Mohanty, B., 2008. Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). Environmental of Toxicology and Pharmacology, 26:

www.SID.ir

Archive of SID

concentration in fish and shellfish in Abra river, Abia state, Nigeria. Science and Technology Journal, 7(1): 16-23.

Vander Oost, R.; Beyer, J.; Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environmental Toxicology and Pharmacology, 13(2): 57-149.

Van der Putte, Laurier, M.B.H.M.; Van Eijk, G.J.M., 1982. Respiration and osmoregulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to hexavalent chromium at different pH values. Aquatic Toxicology, 2: 99-112.

Velma, V.; Vutukuru, S.S.; Tchounwou, P.B., 2009. Ecotoxicology of hexavalent chromium in freshwater fish: a critical review. Reviews on Environmental Health, 24: 129–145.

Vera-Candioti, J.; Soloneski, S.; Larramendy, M.L., 2011. Acute toxicity of chromium on *Cnesterodon decemmaculatus* (Pises: Poeciliidae). Theoria, 20(1): 81-88.

Witeska, M.; Jezierska, B., 2003. The effects of environmental factorsonmetal toxicity to fish. Environmental Bulletin, 12: 824–829.

Woodling, J.D.; Brinkman, S.F.; Horn, B.J., 2001. Nonuni form accumulation of cadmium and copper in kidney's of wild brown trout *Salmo trutta* populations. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 40: 318−385.

Silva, J.; Troncoso, L.; Bay-Schmith, E.; Larrain, A., 2001. Utilization of *Odontesthes regia* (Atherinidae) from the South Pacific as a test organism for bioassays: study of its sensitivity to six chemicals. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 66: 570–575.

Svecevicius, G., 2006. Acute toxicity of hexavalent chromium to European freshwater fish. Bulletin of Environmental Contaminationand Toxicology, 77: 741-747.

Swarup, D.; Patra, T.R.C.; Naresh, R.; Kumar, P.; Shekhar, P.; Balagangatharathilagar, M., 2006. Lowered blood copper and cobalt contents in goats reared around lead-zinc smelter. Small Ruminant Research, 63:309-313.

Tam, N.F.Y.; Wong, W.S., 2000. Spatial variation of heavy metals in surface sediments of Hong Kong mangrove swamps. Environmental Pollution, 110: 195–205.

Taylor, D.; Maddock, B.G.; Mance, G., 1985. The acute toxicity of nine 'grey list' metals (arsenic, boron, chromium, copper, lead, nickel, tin, vanadium, and zinc) to two marine fish species: dab (*Limanda limanda*) and grey mullet (*Chelon labrosus*). Aquatic Toxicology, 7: 135–144.

Ubalua, A.O.; Chijioke, U.C.; Ezeronye, O.U., 2007. Determination and assessment of heavy metal

www.SID.ir