

## تعیین غلظت کشنده مس بر میگوی پاسبید (*Litopenaeus vannamei*)

### در شرایط آزمایشگاهی

رضا قربانی<sup>(۱)\*</sup>؛ نادر سامانی<sup>(۲)</sup>؛ فاطمه شریعتی<sup>(۳)</sup> و غلامحسین فقیه<sup>(۴)</sup>

Ghorbani\_v2@yahoo.com

۱، ۲ و ۴- مرکز تحقیقات میگوی کشور، بوشهر صندوق پستی: ۱۳۷۴

۳- گروه محیط زیست، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان صندوق پستی: ۱۶۱۶

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۵

### چکیده

این تحقیق به منظور تعیین غلظت کشنده فلز سنگین مس، کمترین غلظت موثر و حداکثر غلظت مجاز بر روی میگوی پاسبید (*Litopenaeus vannamei*) انجام گرفت. آزمایشات به روش ساکن طی ۹۶ ساعت انجام و برخی عوامل آب مانند دما، pH، اکسیژن محلول، سختی و قلیائیت اندازه گیری گردید. آزمایشات با ۱۰ تیمار و سه تکرار در هر تیمار، در پژوهشکده میگوی کشور (ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه) در سال ۱۳۸۳ انجام گرفت.  $LC_{50}$  ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته مس بترتیب ۸۶/۷۱، ۲۷/۲۸، ۷/۹۸ و ۳/۹۰ میلیگرم در لیتر تعیین گردید. حداکثر غلظت مجاز مس در مدت زمانهای فوق بترتیب ۸/۶۷۱، ۲/۷۲۸، ۰/۷۹۸ و ۰/۳۹۰ میلیگرم در لیتر بدست آمد.

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که مقاومت میگوی پاسبید در برابر عنصر مس مطلوب بوده و در صورت استفاده از سولفات مس بصورت کوتاه مدت در مزارع پرورش این گونه میگو، جهت مقابله با جلبکهای تک سلولی و رشته‌ای مشکلی بروز نخواهد نمود.

**کلمات کلیدی:** میگوی پاسبید، *Litopenaeus vannamei* سولفات مس، بوشهر، ایران

## مقدمه

استفاده از مس در آبی پروری دارای دورنمای وسیعی است (Warobe, 1993). در محیطهای آبی، مقداری از مس توسط گیاهان جذب ولی بیشتر آن بصورت تنوریت (CuO) یا مالاشیت  $[Cu_2(OH)_2CO_3]$  رسوب یا توسط لجن بستر جذب می‌گردد (قربانی واقعی، ۱۳۸۳).

یکی از نمکهای مس، سولفات مس می‌باشد که قارچهای بیماریزا، زالوها، حلزونها، سخت‌پوستان، تک‌یاخته‌ایها و باکتریها در مقابل آن حساسیت‌های مختلفی را نشان می‌دهند. سولفات مس بصورت حمامهای کوتاه و بلند مدت تاثیر بسزایی در ضدعفونی نمودن ماهیان آب شیرین، آب شور و دریایی دارد (اسماعیلی ساری، ۱۳۷۹).

سولفات مس یک ماده شیمیایی جلبک‌کش بوده و معمولاً برای کنترل فیتوپلانکتونها و جلبکهای رشته‌ای در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر یا بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Osunde et al., 2004).

Santhanam و همکاران در سال ۱۹۹۰ غلظت ۱ قسمت در میلیون از مس را برای مقابله با جلبکهای سبز-آبی و جلبکهای رشته‌ای پیشنهاد نمودند.

مس بشکل سولفات مس، استات مس، اکسی کلرید مس، آرسنات مس و غیره بطور وسیعی بعنوان علف‌کش و بعنوان یک ترکیب در علف‌کشیها و بطور طبیعی از مزارع کشاورزی از طریق کانالها و رودخانه‌ها به مناطق ساحلی می‌رسد (Perumal & Subramanian, 1985). لذا بررسی اثرات نامطلوب ناشی از افزایش آلاینده‌ها و برآورد غلظت‌های خطر ساز حائز اهمیت است (Kruijff et al., 1988).

Gopal و همکاران در سال ۱۹۹۷ گزارش نمودند که فلزات سنگین در محیطزیست دارای نیمه عمر بیولوژیک بالایی بوده و بنابراین اثرات عمده‌ای بر موجودات آبی دارند و در غلظت‌های بالا موجب مرگ و میر آبیان می‌گردند.

در زمینه تاثیر عنصر مس بر برخی گونه‌های میگو تحقیقاتی انجام شده است. برای مثال Perumal و Subramanian در سال ۱۹۸۵ تاثیر مس (بصورت  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) بر لارو میگوی *Alpheus malabaricus* Fabricus, 1775 (۴ روز پس از تفریح) را مورد بررسی قرار داده‌اند.

Osunde و همکاران در سال ۲۰۰۴ در بررسی سمیت مس

بر میگوی آب شیرین گونه *Macrobrachium rosenbergii* ۴۸ LC<sub>50</sub> ساعته این عنصر را در این گونه تعیین نمودند. تعداد دیگری از محققین اثرات مس بر سایر گونه‌های آبی را مورد بررسی قرار داده‌اند.

با توجه به موارد ذکر شده، هدف از انجام این تحقیق، تعیین میزان مقاوت میگوی پاسبید، نسبت به یک فلز سنگین ضروری در غلظت‌ها و زمانهای اثردهی متفاوت می‌باشد. تا با توجه به کاربردهای وسیع مس در آبی پروری، مقاومت این گونه در زمان استفاده از مقادیر متفاوت این عنصر مشخص گردد.

## مواد و روش کار

برای انجام بررسی از ۴۹۵ عدد بچه میگوی پاسبید (*Litopenaeus vannamei*) با وزن متوسط  $3 \pm 1$  گرم استفاده و اثردهی مس به روش ساکن (Static) انجام شد.

بچه میگوهای مورد استفاده در تحقیق حاضر از طریق تکثیر مصنوعی مولدین وارداتی میگوی پاسبید تامین گردیدند. بررسی اثرات کشندگی مس (LC<sub>50</sub> ۹۶ ساعته) بر میگوی پاسبید در ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه پژوهشکده میگوی کشور- بوشهر در سال ۱۳۸۳ انجام گرفت. پس از انجام آزمایشات مقدماتی و تعیین محدوده تقریبی غلظت‌های موثر، غلظت‌های ۱/۵، ۳، ۶، ۱۲/۸، ۲۰/۴۸، ۳۲/۷۶، ۵۲/۴۲، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر از مس (بصورت  $CuSO_4$ ) مورد استفاده قرار گرفت (Murty, 1987; Clesceri et al., 1989).

در تحقیق حاضر نگهداری میگوها و اثردهی سولفات مس در تانکهای ۳۰۰ لیتری فایبرگلاس حاوی ۱۰۰ لیتر آب خلیج فارس با شوری ۴۰ در هزار انجام شد. در هر تانک، ۱۵ عدد میگو با وزن متوسط  $3 \pm 1$  گرم ریخته شد. برای هر تیمار شاهد با ۳ تکرار بدون افزودن سولفات مس و با ۱۵ بچه میگو در هر تانک آماده گردید. در طول بررسی غذایی انجام نگردید. آزمایش به مدت ۹۶ ساعت انجام و تلفات میگو در ساعتهای ۶، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰، ۷۲، ۸۴ و ۹۶ ثبت و میگوهای مرده با ساچوک جدا و شمارش گردیدند. اندازه‌گیری درجه حرارت آب، میزان اکسیژن محلول در آب، شوری آب و pH بصورت روزانه و قلیائیت آب یک بار انجام گرفت. همچنین در طول مدت زمان

شد. برای اندازه‌گیری شوری آب از دستگاه شوری سنج چشمی ساخت ژاپن استفاده گردید.

پس از اتمام آزمایشات، داده‌های حاصل، با استفاده از رایانه به کمک برنامه نرم‌افزاری Statgraphics و روش آماری Probit analysis تجزیه و تحلیل گردید. بطور خلاصه روش کار بدین صورت بود که تعداد تلفات در غلظت‌ها و در زمانهای مختلف اثردهی شمارش شده و پس از محاسبه آن بصورت درصد، با استفاده از جدول پروبیت معادل عددی آن قرائت گردید. سپس یک نمودار رسم گردید که در آن محور X نشانگر لگاریتم غلظت‌ها و محور Y نشانگر اعداد قرائت شده از جدول پروبیت برای درصد مرگ و میر در مدت زمانهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بود. سپس با استفاده از نرم افزار Statgraph خط مربوطه براساس نقاط روی نمودار رسم و در نهایت میزان عددی LC محاسبه گردید. نمودارها توسط نرم افزار Excel رسم گردید.

بررسی، برای حفظ میزان اکسیژن محلول در آب در حد مطلوب، تانکها هوادهی گردیدند.

برای اندازه‌گیری قلیائیت آب، بطور خلاصه بدین صورت عمل گردید که ۵۰ میلی‌لیتر از آب مورد آزمایش در ارلن ریخته شد و ۲ قطره معرف فنیل فتالین به آن اضافه گردید. سپس اسید کلریدریک ۰/۰۲ نرمال تا بی‌رنگ شدن محلول (pH=۸/۳) تیترو گردید و سپس ۲ قطره متیل اورانژ اضافه شد و تیتراسیون تا تغییر رنگ از رنگ زرد به نارنجی ادامه یافت. در این حالت pH به ۴/۶ رسیده که خاتمه عمل تیتراسیون می‌باشد. سپس برای محاسبه قلیائیت کل برحسب میلیگرم در لیتر کربنات کلسیم، حاصلضرب  $B \times N \times 50000$  بر میلی‌لیتر آب نمونه تقسیم گردید. در رابطه فوق B نشانگر مقدار اسید مصرفی در حضور فنل فتالین و متیل اورانژ و N نیز نشانگر نرمالیه اسید می‌باشد (حسین خضری، ۱۳۸۰). اندازه‌گیری درجه حرارت آب و اکسیژن محلول در آب با استفاده از دستگاه WTW 330 و pH با استفاده از دستگاه WTW 340i ساخت کشور آلمان انجام

## نتایج

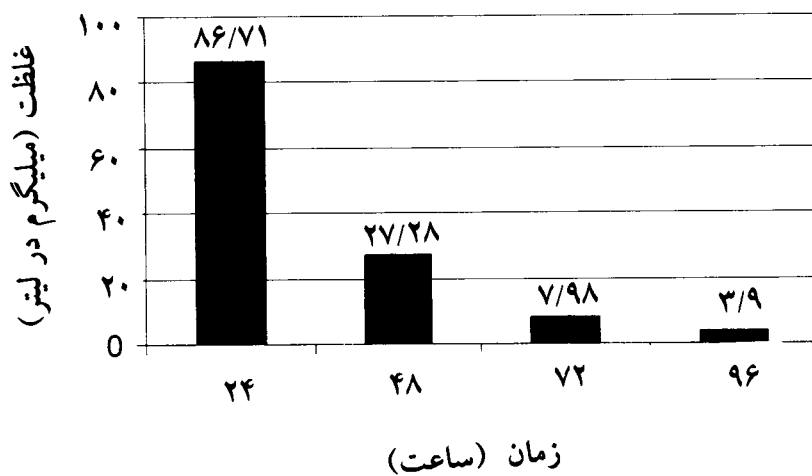
طی انجام بررسی، برخی عوامل فیزیکی و شیمیایی آب تانکها ثبت گردید که نتایج آن در جدول ۱ ارائه گردیده است.

جدول ۱: پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب تانکهای آزمایشی

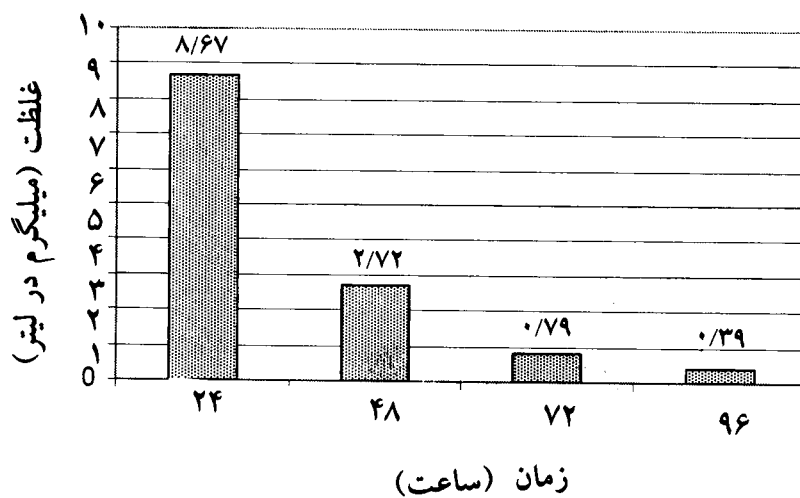
مقدار	متغیر
۲۶±۲	درجه حرارت آب (درجه سانتی گراد)
۷/۵±۲	اکسیژن محلول در آب (میلی گرم در لیتر)
۱۶۰	قلیائیت کل (میلی گرم در لیتر)
۸±۰/۲	pH
۴۰±۲	شوری (قسمت در هزار)

حداقل غلظت موثر ۰/۷۴۷ میلیگرم در لیتر تعیین گردید. همانگونه که در نمودار ۳ مشاهده می‌گردد، LC<sub>۱۰</sub> در ۰/۲۴، ۰/۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از افزودن مس (بشکل سولفات) بترتیب ۱/۴/۶۲، ۳/۲۹، ۰/۷۷ و ۰/۷۴ میلیگرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز در ساعات فوق بترتیب ۱/۴۶۲، ۰/۳۲۹، ۰/۰۷۷ و ۰/۰۷۴ میلیگرم در لیتر تعیین گردید (نمودار ۴).

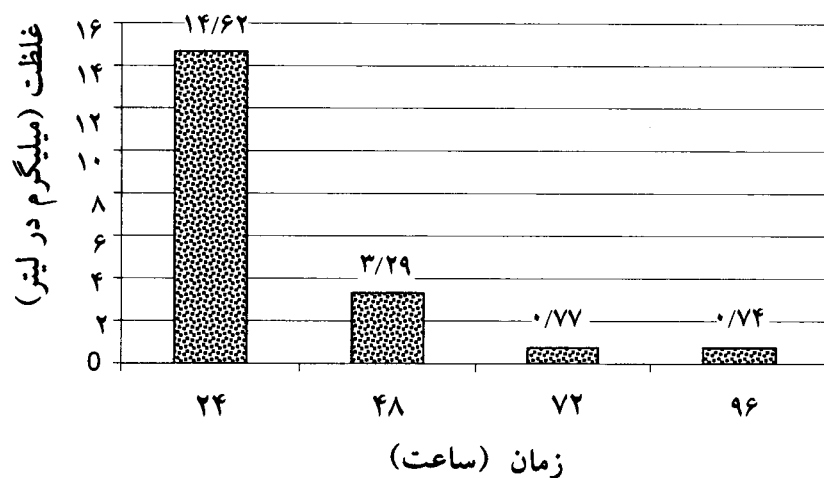
نتایج حاصل از بررسی تاثیر مس در مقادیر مختلف بر میگوی پا سفید، با هدف تعیین LC<sub>۵۰</sub> تا ۹۶ ساعت پس از افزودن مس (بشکل سولفات) در غلظت‌های ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۶، ۱/۲/۸، ۲/۰/۴۸، ۳/۲/۷۶، ۵/۲/۴۲، ۱۰/۰، ۲۰/۰ و ۳۲/۰ میلیگرم در لیتر در نمودارهای ۱ و ۲ آورده شده است.



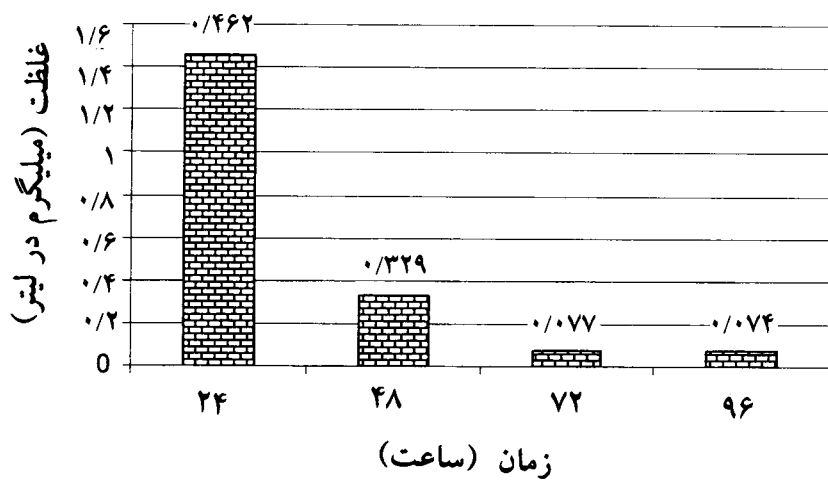
نمودار ۱: مقادیر  $LC_{50}$  مس در ساعات مختلف بر میگوی پاسبید



نمودار ۲: حداکثر غلظت مجاز مس در ساعات مختلف بر حسب  $LC_{50}$



نمودار ۳: میزان  $LC_{10}$  مس در ساعات مختلف بر میگوی پاسبید



نمودار ۴: حداکثر غلظت مجاز مس در ساعات مختلف بر حسب  $LC_{10}$

## بحث

در تحقیق حاضر  $LC_{50}$  ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته مس بر روی بچه میگوی پاسبید (*Litopenaeus vannamui*) بترتیب به میزان ۸۷/۷۱، ۲۷/۲۸، ۷/۹۸ و ۳/۹۰ میلی گرم در لیتر تعیین گردید. بطور کلی در زمینه بررسی تاثیر مس بر گونه‌های مختلف میگو اطلاعات ناچیزی در دسترس می‌باشد. اثرات فلزات سنگین و بویژه مس بر سایر موجودات آبی و بویژه ماهیان از پیشینه بیشتری برخوردار است.

Perumal و Subramanian در سال ۱۹۸۵ در بررسی تاثیر مس (بصورت  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) بر لارو میگوی *Alpheus malabaricus* Fabricus, 1775 (۴ روز پس از تفریح)  $LC_{50}$  ۷۲ ساعته این عنصر را بر این گونه ۰/۲۲۵ میلیگرم در لیتر تعیین نمودند.

مقایسه نتایج حاصل از تحقیق حاضر و تحقیق فوق، نشانگر بیشتر بودن  $LC_{50}$  ۷۲ ساعته مس در میگوی گونه *Litopenaeus vannamei* (۷/۹۸ میلیگرم در لیتر) در مقایسه با گونه مورد بررسی در تحقیق فوق است. تفاوت موجود عمدتاً می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع گونه، سن موجود و همچنین تفاوت در عوامل فیزیکی و شیمیایی آب باشد. همانگونه که قبلاً نیز اشاره گردید وزن میگوهای مورد بررسی در تحقیق حاضر  $3 \pm 1$  گرم و در تحقیق فوق، بررسی در ۴ روز پس از تفریح اندازه‌گیری گردیده است. شاید بتوان اذعان داشت علاوه بر نقش موثر نوع گونه موجود زنده در مقاومت آن موجود در مقابل یک عامل بیرونی، سن هم در میزان مقاومت موجود تاثیرگذار باشد. سمیت مس به عواملی مانند قلیائیت، سختی، pH و تعداد دیگری از پارامترهای آب بستگی داشته و در زمان کاهش میزان عوامل فوق، سمیت مس افزایش می‌یابد (قربانی واقعی، ۱۳۸۳).

Osunde و همکاران در سال ۲۰۰۴ در بررسی سمیت مس بر میگوی آب شیرین گونه *Macrobrachium rosenbergii*  $LC_{50}$  ۴۸ ساعته را ۰/۴۶ میلیگرم در لیتر گزارش نموده‌اند و لذا استفاده از سولفات مس را جهت مبارزه با فیتوپلانکتونها و جلبکهای رشته‌ای که معمولاً در غلظت ۱ میلیگرم در لیتر یا بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد را در استخرهای پرورش این گونه توصیه نموده‌اند و این در حالی است که  $LC_{50}$  ۴۸ ساعته در خصوص میگوی پاسبید در تحقیق حاضر به مراتب بیشتر و ۲۷/۲۸ میلیگرم در لیتر محاسبه گردیده و این بیانگر مقاومت

بیشتر میگوی پاسبید نسبت به عنصر مس می‌باشد.  $LC_{50}$  ۹۶ ساعته مس بر روی ماهی آبشش آبی در سختی‌های کل ۵، ۲۰۹ و ۳۶۵ قسمت در میلیون بترتیب ۱، ۱/۷ و ۲/۵ میلیگرم در لیتر گزارش گردیده است (اسماعیلی ساری، ۱۳۷۹). در بررسی تاثیر مس بر موجودات آبی نقش مراحل زندگی آنها می‌تواند حائز اهمیت باشد. در همین ارتباط Mance در سال ۱۹۹۰ گزارش نمود که مرحله زندگی گونه‌ها بر سمیت مس تاثیر می‌گذارد.

در تحقیق حاضر حداکثر غلظت مجاز مس در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بترتیب ۸/۶۷، ۲/۷۲، ۰/۷۹ و ۰/۳۹ میلیگرم در لیتر تعیین گردیده است. با توجه به استفاده از مس در جلوگیری از افزایش مفرط فیتوپلانکتونها و جلبکهای رشته‌ای و سایر موارد کاربردی این عنصر، می‌توان در خصوص استفاده از مس در مزارع، جهت کاهش شکوفایی پلانکتونی تصمیم‌گیری نمود.

ارقام بدست آمده در خصوص حداکثر غلظت مجاز مس، بیانگر قابلیت تحمل این گونه میگو در صورت استفاده از مس در استخرهای پرورش میگو، بصورت کوتاه مدت برای مقابله با جلبکها می‌باشد.

## منابع

اسماعیلی ساری، ع.، ۱۳۷۹. مبانی مدیریت کیفی آب در آبی پروری. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. صفحات ۱۱۱ تا ۱۱۷.

حسین خضری، پ.، ۱۳۸۰. روشهای شیمیایی جهت اندازه‌گیری پارامترهای فیزیکی شیمیایی و نوترینتها در آب و رسوب. مرکز تحقیقات شیلاتی خلیج فارس-بوشهر. صفحات ۸ تا ۹.

قربانی واقعی، ر.، ۱۳۸۳. بررسی تاثیر میکروالمنتها بر فعالیت تعدادی از آنزیمهای سیستم گوارشی تاسماهیان (فیل ماهی و تاس ماهی ایرانی و روسی). رساله دکتری تخصصی رشته شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. صفحه ۱۰.

Clesceri, L.S. ; Greenberg, A.E. and Trussell, R.R. , 1989. Standard methods for the examination of water and waste water. Prepared and published

- jointly by American Public Health Association. 28P.
- Gopal, V. ; Parvathy, S. and Balasubramanian, P.R. , 1997.** Effect of heavy metals on the blood protein biochemistry of the fish *Cyprinus carpio* and its use as a bio-indicator of pollution stress. An International Journal devoted to progress in the use of monitoring data in assessing environmental risks to Man and the environment. Vol. 48, No. 2, pp.117-124.
- Kruijf, H.A.M. de; Zwart, D. de ; Ray, P.K. and Viswanathan, P.N. , 1988.** Manual on aquatic ecotoxicology. Publishers private Ltd., New Dehli, India. 332P.
- Mance, G. , 1990.** Pollution threat of heavy metals in aquatic metals in aquatic environments. Elsevier Applied Science. London and New York. 372P.
- Murty, A.S. , 1987.** Toxicity of pesticides to fish. CRC Press, INC. Bocatn, Florida, USA. 178P.
- Osunde, I.M. ; Coyle, S.P. and Tidwell, J. , 2004.** Acute toxicity of copper to freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Journal of Applied Aquaculture. Vol. 14, Issue: 3/4
- Perumal, P. and Subramanian, P. , 1985.** Effects of salinity and copper on larval development in pistol prawn, *Alpheus malabaricus Fabricus*. Indian Journal of Marine Science. Vol. 14, No. 1, pp.35-37.
- Santhanam, R. ; Sukumaran, N. and Natarajan. , 1990.** A manual of freshwater aquaculture. Oxford & IBH Publishing Co. PVT. LTD. New Delhi. 193P.
- Warobev, B.I. , 1993.** Biogeokhimia i ribovodstva. Saratov. Russia. Izdatelstva. MP. Litera. 223P.

## Determination of $LC_{50}$ of copper in *Litopenaeus vannamei*

Ghorbani R.<sup>(1)\*</sup> ; Samani N.<sup>(2)</sup> ; Shariati F.<sup>(3)</sup> and Faghih G.H.<sup>(4)</sup>

Ghorbani\_v2@yahoo.com

1,2,4 - Aquaculture Dept., Iran Shrimp Research Center, P.O.Box: 1374 Bushehr, Iran

3- Environment Dept., Islamic Azad University, P.O.Box: 1616 Lahijan, Iran

Received: May 2006

Accepted: December 2005

**Keywords:**  $LC_{50}$ , *Litopenaeus vannamei*, Copper Sulphate, Bushehr, Iran

### Abstract

We determined the  $LC_{50}$  of copper (as CUS04) and its Maximum Allowable Concentration (MAC) for *Litopenaeus vannamei*. The study was performed in 2003 for which bioassays were used for acute toxicity tests in a period of 96 hours during which water parameters such as water temperature, pH, dissolved oxygen, hardness, alkalinity were also measured. Ten treatments and three replicates for each treatment were used. A  $LC_{50}$  of 86.71, 27.28, 7.98 and 3.90mg/l and also Maximum Allowable Concentration of 8.671, 2.728, 0.798 and 0.390mg/l were determined at 24, 48, 72 and 96 hours post exposure.

Results showed that *L. vannamei* is relatively resistant to copper. Hence, short period application of copper to white shrimp farms for controlling algal bloom is judged harmless to the fish.

---

\* Corresponding author