

تعیین سمیت و LC₅₀ فتل و ۱-نفتول

روی ماهیان انگشت قد سیم و سفید

فاطمه شریعتی^(۱)، عباس اسماعیلی ساری^(۲) و محمد پیری^(۳)

shariat_20@yahoo.com

۱ - انسستیتو تحقیقات بین‌المللی مامیان خاویاری، رشت صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

۲ - دانشکده منابع طبیعی و شیلات دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۴۶۴۱۴-۳۵۶

۳ - مرکز تحقیقات شیلات استان کلستان، گرگان صندوق پستی: ۴۹۱۶۶-۱۲۹

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۸۲

چکیده

در این تحقیق سمیت حاد ترکیبات فتل و ۱-نفتول روی ماهیان سیم (Rutilus frisii kutum) و سفید (Abramis brama orientalis) تحت شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات به روش ساکن طی ۹۶ ساعت انجام شد و کلیه پارامترهای مهم فیزیکی، شیمیایی و فیزیکوشیمیایی آب نظیر دما، pH، اکسیژن محلول، سختی و هدایت الکتریکی کنترل گردید. آزمایشات با پنج تیمار و سه تکرار در هر تیمار انجام شد. داده‌ها با استفاده از برنامه نرم‌افزاری Quattro Pro و Statgraphics و روش آماری Probit Analysis مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

مقدار LC₅₀ ساعته فتل و ۱-نفتول برای ماهی سفید بترتیب ۲۱/۰۵۹۲۸ و ۲/۱۵۴۴ میلی‌گرم در لیتر و برای ماهی سیم بترتیب ۲۵/۱۸۸۰ و ۲/۸۴۹۰ و ۲/۰۵۱۸۸ میلی‌گرم در لیتر و ۲/۰۵۹۳ میلی‌گرم در لیتر و ۲/۰۵۱۸۸ میلی‌گرم در لیتر بودست آمد.

نتایج آزمایشات نشان دادند که ماهی سفید در برابر فتل و ۱-نفتول حساس‌تر از ماهی سیم می‌باشد و ترکیب ۱-نفتول نیز برای هر دو ماهی سمی‌تر از فتل است.

لغات کلیدی: فتل، ۱-نفتول، ماهی سفید، ماهی سیم، LC₅₀

سالانه مقدار زیادی نفت در اثر تردد نفتکش‌ها و حمل و نقل دریایی، رواناب رودخانه‌ها، نشت طبیعی، ریزش جوی، رواناب شهری و تصادفات و حوادث، وارد دریا می‌گردد. بعنوان مثال در حال حاضر سالانه تردد نفتکش‌ها از مرز دهها هزار گذشته و پیش‌بینی می‌شود که با بهره‌برداری از منابع نفتی در سالهای آینده بنحو چشمگیری افزایش یابد.

یکی از ترکیبات موجود در نفت و پساب پالایشگاههای نفت، ترکیبات فنلی است که ممکن است تک عاملی (نظیر فنل، کرزول، نفتول و زایلنول) و یا چند عاملی (نظیر پیروکاتکول، رزورسین، هیدروکینون، پیروگالل و فلوروگلوسین) باشد.

غازه بر این فنل در ساخت و تولید تعداد زیادی از ترکیبات عطری و مواد مختلفی شامل مواد منفجره، کودهای شیمیایی، کک، گازهای درخشان (Illuminating gases)، رنگ‌ها، لاستیک، اجناس تهیه شده از پنبه نسوز (Asbestos)، مواد پاک‌کننده، رنگ‌زدا، رزینهای مصنوعی، مواد محافظت کننده چوب، منسوجات، داروها، لوازم کالوجویی (باکلیت) و سایر مواد پلاستیکی نظیر فنل - فرمالدید بکار می‌رود. فنل در صنایع چرم، کاغذ، صابون، اسباب‌بازی، دباغی، رنگری و کشاورزی نیز مصرف دارد (ثنایی، ۱۳۷۶).

در پساب کارخانجات آلومینیوم‌سازی، اتومبیل‌سازی، ساخت مواد شیمیایی آلی، ذوب آهن و پالایشگاههای نفت و زباله‌های بیمارستانی نیز ترکیبات فنلی وجود دارند (خورشیدی‌راد و آذری، ۱۳۶۴؛ رمضانی‌گورابی، ۱۳۶۹).

ترکیبات مذکور از سمی‌ترین ترکیبات برای آبزیان می‌باشند و از آنجاییکه براساس منابع، مقدار این مواد در بعضی از نواحی دریای خزر با توجه به اکتشاف و بهره‌برداری از منابع نفتی و نیز در اثر ورود از طریق رودخانه‌های حوضه آبریز افزایش یافته، اثر سمیت دو ترکیب فنلی (فنل و ۱-نفتول) بر ماهیان سیم و سفید که از ماهیان با ارزش دریای خزر می‌باشند، مورد بررسی قرار گرفت (بذرافshan، ۱۳۷۲؛ تقی‌پور، ۱۳۷۷؛ حسنی‌ضیابری، ۱۳۷۹؛ شریعتی، ۱۳۷۸).

طی تحقیقی عنوان گردیده که LC_{50} ۹۶ ساعته فنل برای ماهیان دریایی بین ۵/۶ تا ۳۰/۶ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد (Bertoni, 1998). مروری بر مطالعات گذشته نشانگر آن است که در یک تحقیق مقدار

Archive of SID

۹۶ ساعته فتل برای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی آزمایش به LC₅₀ روش ساکن، ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و در بررسی دیگری روی ماهی مینوی فتهد؛ Anderson *et al.*, 1979 (Pimephales promelas) ۲۴/۹ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (De Graeve *et al.*, 1980). همچنین طی یک بررسی مشخص گردید مقدار LC₅₀ ۹۶ ساعته ۱-نفتول برای ماهی (*Channa punctata*) در حد ۲/۹۹ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد (Tilak, 1982).

ماهی سفید با نام علمی (*Rutilus frisii kutum*) مهم‌ترین ماهی فلسف‌دار استخوانی اقتصادی سواحل جنوبی دریای خزر است که ذخایر آن با تکثیر مصنوعی بازسازی شده و همه ساله بیش از صد میلیون بچه ماهی تولید و مقادیر بسیار زیادی از آنها در خروجی‌های تالاب انزلی رهاسازی می‌شوند. ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) نیز از ماهیان اقتصادی دریای خزر می‌باشد که در سال‌های اخیر میزان صید آن کاهش یافته و آودگی آبها در این زمینه عامل مؤثری بوده است (پیری و اردگ، ۱۳۷۷).

مواد و روش کار

برای انجام آزمایش‌ها ترکیبات فتل و ۱-نفتول با درجهٔ خلوص بالا (extra pure) استفاده شدند. ماهیان انگشت قد سیم و سفید به وزن ۵/۰ تا ۲/۵ گرمی از کارگاه تکثیر و پرورش شهید انصاری تهیه و به محل آزمایش منتقل شدند. ماهیان به مدت حداقل یک هفته به شرایط آزمایشگاه سازگاری یافتند. آزمایشات با پنج تیمار و سه تکرار در هر تیمار انجام شد. تعداد ۱۶ آکواریوم در آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت که تا حجم ۲۰ لیتر آبگیری شدند. آب موجود در آکواریوم‌های آزمایشی قبل از وارد نمودن بچه ماهی‌ها به آنها به مدت ۲۴ ساعت هوادهی شد تا کلرزاکی گردد. ضمناً این عمل موجب کاهش سختی آب نیز شد.

غلظت‌هایی از سم که به روش لگاریتمی تعیین شده بود، تهیه گردیده (با استفاده از آب مقطر) و سپس به هر آکواریم ۱۰ عدد ماهی منتقل شد. تراکم ماهیان در آکواریوم‌ها با استنی در حد ۱ گرم در لیتر باشد که ترتیب مذکور رعایت گردید (TRC, 1984). برای رسیدن به میزان واقعی، آزمایشات چند بار تکرار شد تا اندازه‌های تقریبی مورد نظر بدست آمد.

Archive of SID

در طول آزمایش پارامترهای مهم فیزیکی، شیمیایی و فیزیکوشیمیایی آب آکواریومها نظیر درجه حرارت، اکسیژن محلول آب، pH، سختی و هدایت الکتریکی بطور روزانه و در بعضی موارد چند بار در روز اندازه‌گیری شد. هوادهی آکواریومها توسط سیستم هواده مرکزی صورت گرفت و اکسیژن محلول همواره بیشتر از ۵ میلی‌گرم در لیتر بود (جدول ۱). در پایان هر روز، مرگ و میر ماهی‌ها ثبت و ماهیان مرده به دقت مورد بررسی قرار گرفتند. علائم ظاهری ایجاد شده بر اثر ترکیبات مذکور ثبت گردید. این آزمایشات براساس روش OECD (TRC, 1984) به مدت ۹۶ ساعت برای هر تکرار انجام گرفت و در پایان، داده‌های حاصله با استفاده از رایانه به کمک برنامه نرم‌افزاری Quattro Pro و Statgraphics Probit analysis تجزیه و تحلیل گردید و سپس مقادیر ترکیبات آزمایشی برای ۴۸، ۲۴، ۲۲ و ۹۶ ساعت ماهیان سیم و سفید محاسبه شد. غلظت‌های آزمایشی فنل برای ماهی سفید ۱/۰۰، ۰/۲۰، ۰/۲۴، ۰/۲۶ و ۰/۲۸ میلی‌گرم در لیتر و برای ماهی سیم ۰/۱۰، ۰/۲۱، ۰/۲۴، ۰/۲۷ و ۰/۲۹ میلی‌گرم در لیتر بود. غلظت‌های آزمایش ۱-نفتول برای ماهی سفید ۰/۰۵، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۷ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر و برای ماهی سیم ۰/۰۵، ۰/۰۶، ۰/۰۷ و ۰/۰۸ میلی‌گرم در لیتر بود. ضمناً فاکتور حساسیت دو گونه مختلف در برابر هر ماده نیز طبق معادله ۱ محاسبه شد. در طول آزمایش، ماهیان غذادهی نشدند و کلیه آزمایش‌ها در دمای 25 ± 2 درجه سانتیگراد انجام گردید.

$$\frac{LC_{50\text{ ماهی سیم}}}{LC_{50\text{ ماهی سفید}}} = \text{فاکتور حساسیت} \quad (\text{معادله ۱})$$

جدول ۱: پارامترهای شیمیایی آب آکواریوم‌های آزمایشی

پارامتر	مقدار
سختی	۱۹۸ میلی‌گرم/لیتر کربنات کلسیم
اکسیژن	همواره بیش از ۵ میلی‌گرم/لیتر
هدایت الکتریکی	(۰/۰۷ تا ۰/۰۵) میکروزیمنس/سانتمتر
pH	۸/۳ ± ۰/۲۵
TDS	(۰/۰ تا ۰/۰۵) گرم/لیتر
فسفات	۰/۱۱۰ میلی‌گرم/لیتر
نیترات	۰/۰ میلی‌گرم/لیتر
نیتریت	۰/۰۰۳۴ میلی‌گرم/لیتر

اثر ظاهري فنل بر ماهيان انگشت قد سيم و سفید يکسان بوده و در مورد هر دو گونه ملاحظه گردید که در غلظت‌های کمتر، ماهيان حالت غیرعادی و شتاب‌زده داشتند و از وضعیت فرار می‌کردند. افزایش فعالیت و تحریک‌پذیری همراه با پریدن به بیرون از آب و عدم تعادل در ماهيان بوضوح رویت شد. در غلظت‌های بالاتر ماهيان بطور معکوس و عمودی شنا می‌کردند و رنگ سطح بدن آنان پس از اینکه مدتی در معرض سم قرار گرفتند، به روشنی گرایيش یافت. در بعضی از ماهيان بیرون زدگی چشم (اگزوفتالمي)، وجود مخاط فراوان روی سطح بدن، لکه‌های خونی اطراف چشم و پرخونی آبشش‌ها مشاهده گردید.

ازفودن فنل به آب تغییری در pH و سختی آب آکواریوم‌ها ایجاد ننمود. اما پس از بیان دوره آزمایش (۹۶ ساعت) مقدار سختی آب به دلیل هوادهی مکرر کمی کاهش یافت.

مقادیر LC₉₀ و LC₁₀ (میلی‌گرم/لیتر) در ۹۶ ساعته فنل برای ماهيان سيم و سفید در جدول ۲ ارائه شده است. با مشاهده جدول استنباط می‌گردد که عمدت تلفات حاصله از فنل طی ۲۴ ساعت اول صورت گرفته است. مقادیر حداقل غلظت موثر (LOEC^(۱)) غلظت غیرموثر (NOEC^(۲)) و حداقل غلظت مجاز (MAC^(۳)) نیز از مقادیر LC محاسبه گردیده است (جدول ۳).

جدول ۲: سمیت فنل برای ماهی سفید و سیم

LC ₉₀				LC ₅₀				LC ₁₀				سمیت			
(میلی‌گرم/لیتر)				(میلی‌گرم/لیتر)				(میلی‌گرم/لیتر)							
۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	زمان (ساعت)			
ماهی				سفید				سبم							
۲۰/۵۹۳۷	۲۰/۶۹۰۷	۲۰/۶۹۰۷	۲۰/۶۹۰۷	۲۱/۰۹۲۸	۲۱/۰۹۲۸	۲۱/۰۹۲۸	۲۰/۲۳۳۹	۱۸/۱۵۶۶	۱۸/۱۵۶۶	۱۸/۱۵۶۶	۲۰/۱۸۱۷				
۲۰/۰۷۶۲	۲۰/۰۷۶۲	۲۰/۰۷۶۲	۲۰/۰۷۶۲	۲۰/۱۱۸۰	۲۰/۱۱۸۰	۲۰/۱۱۸۰	۲۰/۲۷۵۰	۲۱/۹۹۳۷	۲۱/۹۹۳۷	۲۱/۹۹۳۷	۲۱/۱۷۰۵				

1 - Lowest Observed Effect Concentration

2 - No-Observed Effect Concentration

3 - Maximum Allowable Concentration

Archive of SID جدول ۳: مقادیر LOEC, NOEC, MAC فتل برای ماهیان آزمایشی

MAC (میلی گرم/لیتر)	NOEC (میلی گرم/لیتر)	LOEC (میلی گرم/لیتر)	غلظت ماهی
۲/۱۵۹۳	۲/۱۵۹۳	۱۸/۱۶۶۶	سفید
۲/۵۱۸۸	۲/۵۱۸۸	۲۱/۹۹۳۷	سیم

در مورد تأثیر ۱-نفتول شناختی نامتعادل و در بعضی موارد کندی حرکات ملاحظه شد. پس از مدتی قرار گرفتن در معرض ۱-نفتول رنگ سطح بدن ماهیان به روشی گرایید و مخاط روی پوست افزایش یافت. برخونی آبشنش‌ها و بیرون زدگی چشم در بعضی از ماهیان آزمایشی ملاحظه گردید.

اضافه نمودن ۱-نفتول به آب آکواریوم‌ها تأثیر عمدہ‌ای بر عواملی نظیر pH, سختی و هدایت آب نداشت. مقادیر ۹۶LC50 ساعته ۱-نفتول روی ماهیان سیم و سفید در جدول ۴ ارائه گردیده است. مقادیر حداقل غلظت مؤثر (LOEC), غلظت غیرمؤثر (NOEC) و حداقل غلظت مجاز (MAC) ۱-نفتول نیز در جدول ۵ ارائه شده است.

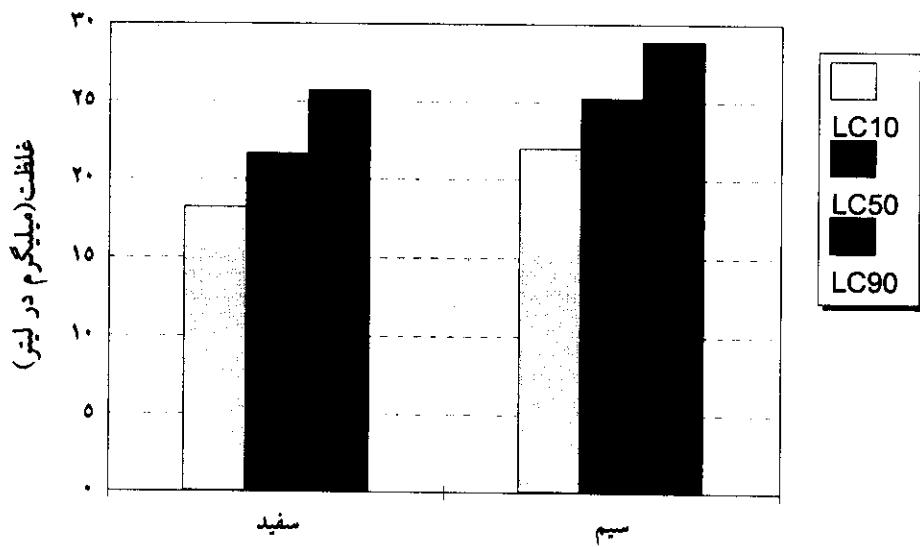
جدول ۴: سمیت ۱-نفتول برای ماهیان سیم و سفید

LC90 (میلی گرم/لیتر)	LC50 (میلی گرم/لیتر)	LC10 (میلی گرم/لیتر)	سمیت
۹۶	۷۲	۴۸	زمان (ساعت) ماهی
۲/۵۲۶۲	۲/۲۸۷۷	۱/۰۰۸	۲/۱۵۲۴
۲/۳۰۷۷	۲/۳۹۷۵	۲/۰۷۹	۲/۲۷۶
۲/۴۵۶۲	۲/۴۵۶۲	۲/۴۵۶۲	۲/۴۵۶۲
۲/۷۷۹۷	۲/۷۷۹۷	۲/۷۷۹۷	۲/۷۷۹۷

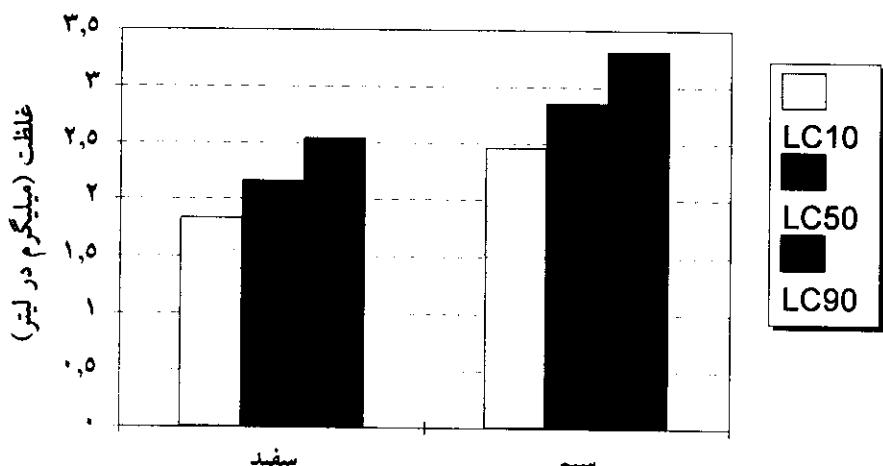
جدول ۵: مقادیر MAC, LOEC و NOEC نفتول برای ماهیان آزمایشی

MAC (میلی گرم/لیتر)	NOEC (میلی گرم/لیتر)	LOEC (میلی گرم/لیتر)	غلظت ماهی
۰/۲۱۵۴	۰/۲۱۰۲	۱/۸۳۰۱	سفید
۰/۲۸۴۹	۰/۲۸۴۹	۲/۴۵۶۲	سیم

مقایسه اثر سمیت فنل و ۱-نفتول به تفکیک در مورد ماهیان سیم و سفید در نمودارهای ۱، ۲ ارائه شده است.



نمودار ۱: مقایسه سمیت فنل برای ماهیان مختلف



نمودار ۲: مقایسه سمیت ۱-نفتول برای ماهیان مختلف

Archive of SID



نمودار ۳: مقایسه سمیت فنل و ۱-نفتول برای ماهیان مختلف

بحث

مقایسه نتایج حاصل از جداول نشانگر آن است که سمیت ۱-نفتول برای ماهیان سیم و سفید بیشتر از فنل می‌باشد که این نتایج با نتایج حاصله توسط سایر محققین در مورد ماهیان دیگر مطابقت دارد ; Crookes & Howe, 1996 ;Noga, 2000 ;Stene & Lonning, 1985 ; Chen & Rong, 1991)

(Svobodova *et al.*, 1993 ;Mason, 1996 ;Dang & Masurekar, 1985 ; Tilak, 1982

ماهی سفید در برابر فنل حساس‌تر از ماهی سیم بود که میزان تغییرات این فاکتور در ارتباط با فنل ۱/۱۷ بدست آمد. ماهی سفید در برابر ۱-نفتول نیز ۱/۳۲ برابر حساس‌تر از ماهی سیم بود.

محدوده نتایج حاصل از آزمایشات انجام شده نشانگر آن است که LC_{50} ۹۶ ساعته فنل برای ماهیان سفید و سیم بترتیب $21/593$ و $25/188$ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد که به نتایج تحقیقات سایر محققین نزدیک است و در محدوده ذکر شده Berton و همکاران (۱۹۹۸) قرار می‌گیرد De Graeve *et al.*, (1998) قرار می‌گیرد .(Berton, 1998 : Anderson *et al.*, 1979 : 1980)

همچنین سمیت ۱-نفتول برای دو گونه ماهی سفید و سیم بترتیب ۲/۱۵۴ و ۲/۸۴۹ میلی گرم در لیتر

بدست آمد که به مقدار گزارش شده توسط Tilak (Tilak, 1982) نزدیک است.

از آنجایی که در چندین تحقیق صورت گرفته، ترکیبات فنلی در حوضه جنوبی دریای خزر اندازه‌گیری شده‌اند، نتایج حاصله از آزمایشات فوق با اعداد مذکور مقایسه گردیدند و مشاهده شد در همه موارد مقادیر فنل موجود کمتر از حد سمی تعیین شده در آزمایشات بود (تقی‌پور، ۱۳۷۷؛ بذرافshan، ۱۳۷۳؛ تمسکنی اصفهانکلایه، ۱۳۷۷؛ حسنی ضیابری، ۱۳۷۹).

اما با توجه به عملیات استخراج نفت در دریای خزر و افزایش فضولات و فاضلاب‌های شهری و صنعتی که ممکن است حاوی ترکیبات فنلی باشند، احتمال افزایش این مقادیر وجود دارد که باستی تمهداتی در این زمینه‌ها فراهم آید. بعنوان مثال فاضلاب‌های شهری و صنعتی باستی تصفیه شده و سپس به محیط‌های آبی طبیعی منتقل گردند تا از اثرات سمی آن‌ها کاسته شود.

ضمناً پیشنهاد می‌گردد آزمایشات سمشناسی به روش حاری (flow-through) روی آبزیان انجام شود زیرا در آن صورت امکان شبیه‌سازی به محیط طبیعی بیشتر وجود دارد. توصیه می‌گردد آزمایشات سمیت با مخلوط مواد سمی که در محیط آبی وجود دارند نظیر آفتکش‌های ارگانوکلره و ارگانوفسفره، کودهای شیمیایی نیتروژن‌دار و فسفردار و فلزات سنگین و سایر مواد انجام شود تا اثرات تشدیدکننده‌گی (Synergism) و تضعیف‌کننده‌گی (antagonism) و برهم‌کنش‌های این مواد با هم که طبیعتاً در

اکوسیستم‌های واقعی نیز وجود دارد، مورد مطالعه قرار گیرد.

مقایسه سمیت دو ترکیب فنل و ۱-نفتول برای ماهیان مختلف نشان‌دهنده آن است که ۱-نفتول برای هر دو ماهی سمی‌تر از فنل می‌باشد و این اختلاف در حدود ۱۰ برابر است (نمودار ۳). احتمالاً دلیل اختلاف سمیت و بیشتر بودن سمیت ۱-نفتول، دوحلقه‌ای بودن آن در مقایسه با فنل یک حلقه‌ای است زیرا در ترکیبات آروماتیک هر چه تعداد حلقه بیشتر شود، سمیت نیز بیشتر می‌گردد.

- بذرافشان؛ ع.ا.، ۱۳۷۳. بررسی پارامترهای فیزیکوشیمیایی و آلودگی‌های نفتی در بخش جنوب شرقی دریای خزر. پایان‌نامه کارشناسی ارشد آلودگی دریا. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.
- پیری، م. و اردگ، و.، ۱۳۷۷. بررسی اثرات سوموم دیازینون، مالاتيون، ماقچی و ساترون بر روی مرگ و میر بچه ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*). مجله علمی شیلات ایران، سال هفتم، شماره ۴، صفحات ۹ تا ۱۸.
- تقی‌پور، و.، ۱۳۷۷. تعیین بار آلودگی سواحل جنوبی دریای خزر نسبت به ترکیبات فنلی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد آلودگی دریا. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ۹۴ صفحه.
- تمسکنی اصفهان‌کلاته، م.ر.، ۱۳۷۷. استفاده از روش اسپکتروفوتومتری برای شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات فنلی موجود در آب خلیج گرگان. صفحات ۴۲ تا ۵۰.
- ثنایی، غ.ح.، ۱۳۷۶. سمشناسی صنعتی جلد دوم. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۶۱ تا ۹۵.
- حسنی ضیابری، س.ا.، ۱۳۷۹. بررسی کیفی هیدروکربن‌های نفتی (PAHs) در آب اسکله صیادی-تجاری بندر انزلی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد آلودگی دریا. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.
- خورشیدی‌راد، ف. و آذربی، ف.، ۱۳۶۴. بررسی صنایع آلوده‌کننده آب و خاک. اداره کل حفاظت محیط زیست استان گیلان. صفحات ۵۸ تا ۶۱، ۱۰۵ تا ۱۰۶ و ۹۵.
- رمضانی گورابی، ب.، ۱۳۶۹. بررسی منابع آلوده‌کننده آب و خاک. سازمان برنامه و بودجه. واحد مطالعات و برنامه‌ریزی، صفحه ۴۲.
- شریعتی، ا.، ۱۳۷۸. اکولوژی دریای خزر. موسسه تحقیقات شیلات ایران. صفحات ۱۷۱ تا ۲۰۸.
- Anderson, P. ; Spear, P. ; D Apollonia, S. ; Perry, S. and Dick, J. , 1979. Alberta oil sands environmental research program, Report 79.**

- Chen, Y. and Rong, P. , 1991.** Effect of no.2 fuel oil, phenol and sodium sulphide on growth, reproduction and chlorophil a content of *Nitzschia closterium*, oceanol. limnol. Sin. Haiyang. Yu. Huzhao, Vol.22, No.1, pp.21-28.
- Crookes, M.J. and Howe, P. , 1996.** Environmental hazard assessment: phenol, Toxic substances the division department of environment, London, TSD/25, 98 P.
- Dang, A.D. and Masurekar, V.B. , 1985.** Toxicity of petroleum hydrocarbons to the estuarine fish *Therapon jarba* and the estuarine clam *Katelysia opima*, proceeding of the symposium on coastal aquaculture held at Cochlo from January 12 to 18, 1980. part 3 - Finfish culture. India 1985, No.6, pp.828-832.
- De Graeve, G.M. ; Geiger, D.L. ; Meyers, J.S. and Bergman, H.L. , 1980.** Acute and embryo-larval of phenolic compounds. Arch. Environ. Contam. Toxicol. Vol. 9, pp.557-568.
- Breton, R. , 1998.** Supporting document for the environmental assessment of the priority substances phenol. Canadian Environmental Protection Act., Environment Canada, Goverment Canada.
- Mason, C.F. , 1996.** Biology of freshwater pollution. London. pp.23,27,34-35,71.
- Noga, E.J. , 2000.** Fish disease diagnosis and treatment, Iowa State University Press. 234 P.
- Stene, A. and Lonning, S. , 1985.** Effects of short time exposure to naphthalenic, methyl and hydroxynaphthalenes on two different embryonic stages of cod (*Gadus morhua*), Sarsia, Vol. 70, No.4., pp.279-285.
- Svobodova, Z.R. and Machova, L.J. , 1993.** Water quality and fish health. FAO.

Tilak, K.S., 1982. Relative toxicity of carbaryl, 1-naphthol and three hydrocarbons to the estuarine fish *Channa punctata*. Malaysia. No, 8, pp.15-17.

TRC, 1984. OECD guideline for testing of chemicals. Section 2. Effects on biotic systems. pp.1-39.