Archive of SID

تعیین محدوده کشندگی و غلظت میانه کشنده (LC_{50} 96h) دیازینون بر بچه‌ماهی سیم دریای خزر (*Abramis brama*)

علیرضا صفاهیه[۱]، یعقوب جادی[۱]، عبدالعلی موحدی‌نیا[۲*]، علی حلاجیان[۳]، سهراب دژندیان[۴]

۱. گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
۲. گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه مازندران، بابلسر
۳. موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت.
۴. پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی کشور

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۹

شناسه دیجیتال (DOI) : 10.22113/jmst.2018.1506.1

چکیده

آفت‌کش‌ها از آلاینده‌های زیست‌محیطی می‌باشند که پس از مصرف در کشاورزی، وارد اکوسیستم‌های آبی می شوند. این آلاینده‌ها می توانند وارد زنجیره غذایی شده و سبب بروز مشکلات برای موجودات آبزی و حتی انسان شوند. در طی این تحقیق سمیت حاد دیازینون بر بچه ماهی سیم دریای خزر مطالعه گردید. آزمایش سمیت حاد به صورت ساکن و بر اساس روش استاندارد O.E.C.D به مدت ۴ شبانه روز انجام شد. آزمایشات ابتدایی به منظور یافتن محدوده کشندگی با رهاسازی ۳ عدد بچه ماهی به داخل آکواریوم‌هایی که به حجم ۱۰لیتر آبگیری شده بودند انجام شد و بعد از به‌دست آوردن محدوده کشندگی، تیمارهای نهایی با ۵تیمار و ۳تکرار برای هر تیمار جهت تعیین غلظت کشنده (LC_{50} 96h) انجام پذیرفت. داده‌های حاصل با استفاده از روش آماری Probit در سطح اطمینان ۹۵درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. غلظت‌های کشندگی حاد ۲۴ساعت (LC_{50} 24h)، ۴۸ساعت (LC_{50} 48h)، ۷۲ساعت (LC_{50} 72h) و ۹۶ساعت (LC_{50} 96h) دیازینون بر بچه ماهی سیم به ترتیب ۱۰/۹۷۴، ۱۰/۳۹۱، ۹/۱۳۴ و ۷/۳۱۶ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد. حداکثر غلظت مجاز سمیت (MATC) دیازینون بر بچه ماهی سیم، ۰/۷۳ میلی‌گرم بر لیتر و حداقل غلظت موثر (LOEC) این سم که LC_{10} 96h بیان می گردد، ۲/۶۳ میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد. مقاومت ماهی سیم در برابر دیازینون نسبت به سایر گونه‌ها زیاد می‌باشد و محدوده کشندگی دیازینون بر ماهی سیم در یک طیف محدود می‌باشد.

واژگان کلیدی: سمیت حاد، آفت‌کش، غلظت کشنده، اکوتوکسیکولوژی، *Abramis brama*

*نویسنده مسوول، پست الکترونیک: amovahedinia@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

استان‌های گیلان، مازندران و گلستان به عنوان قطب‌های بزرگ کشاورزی کشور به شمار می آیند که سطحی بالغ بر ۱/۵ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی محصولات زراعی و دیم کشور را به خود اختصاص می دهند، که بیشتر مزارع این مناطق به کشت برنج اختصاص دارد. در استان گیلان وسعت مزارع برنج حدود ۲۳۷ هزار هکتار است که از این سطح سالیانه چیزی در حدود ۷۲۰ هزار تن برنج برداشت می گردد. یکی از آفت‌های مهم برنج در شمال کشور کرم ساقه‌خوار برنج می‌باشد که جزو یکی از مخرب‌ترین آفات کشاورزی محسوب می گردد. این آفت بوته‌های برنج را در مراحل مختلف رشد مورد حمله قرار داده و باعث مرگ جوانه‌ی مرکزی و سفید شدن خوشه‌ها می‌گردد (Rubia-Sanchez *et al.*, 1997). دیازینون سمی که به کرات توسط کشاورزان برای مبارزه با آفت مزبور مورد استفاده قرار می گیرد. گرچه به دلیل اثرات زیانبار دیازینون در محیط زیست مصرف آن خطرناک است (EPA, 2010) ولی متأسفانه این سم همچنان جزو یکی از پر مصرف‌ترین سموم کشاورزی در شمال کشور محسوب می گردد.

دیازینون استفاده شده در مزارع کشاورزی می تواند به هنگام بارش باران همراه رواناب‌ها وارد آب‌های جاری، رودخانه‌ها و نهایتاً دریا گردد. تحقیقات مختلف نشان داده است که دیازینون می تواند منجر به اثرات زیان بار بر پارامترهای خونی (Padash *et al.*, 2010)، پارامترهای بیوشیمایی خون (Banaee *et al.*, 2011) و سیستم ایمنی ماهی (Perez *et al.*, 2009) شود. اداره کل شیلات استان گیلان به منظور حفظ و بازسازی ذخایر آبزیان این استان هر ساله اقدام به تکثیر مصنوعی و رها سازی انواعی انواعی از ماهیان شیلاتی به رودخانه‌ها و مصب تالاب انزلی به دریای خزر می نماید. ماهی سیم *Abramis brama* یکی از گونه‌های با ارزش اقتصادی است که هر ساله توسط این سازمان در مصب تالاب انزلی ورودی به دریای خزر رها سازی می گردد. اثرات سم دیازینون بر ماهیان بومی کشور از جمله تاسماهی ایرانی (Padash *et al.*, 2010)، فیل ماهی (Khoshbavar-Rostami *et al.*, 2006)، کپور معمولی (Banaee *et al.*, 2009) و ماهی کلمه (Mohammad Nejad Shamoushaki. and Shahkar, 2010) تاکنون توسط محققین مختلف مطالعه گردیده است. همه این مطالعات حاکی از اثرات سوء بر پارامترهایی نظیر گلبول‌های خون، هموگلوبین، هماتوکریت، پروتئین کل، پارامترهای بیوشیمایی، سیستم ایمنی و بافت‌های آبزیان بوده است. با توجه به اثرات سوء سم دیازینون بر آبزیان احتمال می رود به دلیل همزمانی رهاسازی ماهیان و استفاده سم دیازینون در مزارع برنج در فصل تابستان ورود بیش از حد این سم به داخل اکوسیستم‌های آبی استان منجر به تلفات شدید بچه‌ماهیان رهاسازی شده گردد. این مسئله علاوه بر زیان اقتصادی و هدر رفتن هزینه و نیروی به کار رفته برای تکثیر و آماده سازی بچه ماهیان اثرات سو زیادی نیز بر ذخایر این گونه در بر خواهد داشت. از آنجا که در مورد سمیت حاد دیازینون بر این گونه اطلاعی در دسترس نیست هدف از انجام این مطالعه، مشخص نمودن محدوده کشندگی، تعیین غلظت کشنده (LC_{50}96h)، تعیین حداکثر غلظت مجاز[۱] (MATC) و تعیین حداقل غلظت موثر[۲] (LOEC) سم دیازینون بر ماهی سیم می‌باشد.

۲. مواد و روش

[۱] Maximum acceptable toxicant concentration
[۲] Lowest Observed Effect Concentration

www.SID.ir

Archive of SID

برای انجام این مطالعه ماهیان انگشت قد سیم (۰/۷۴±۲/۱۴ گرم) از مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت در فصل تابستان ۱۳۹۰ تهیه و به سالن ونیرو آن مرکز منتقل گردید. بچه ماهیان جهت سازگارشدن با شرایط محیط به مدت یک هفته در وان‌های سالن ونیرو این مرکز نگهداری شدند. در این مدت ضمن هوادهی مناسب، غذادهی توسط پلت (روزانه به میزان ۰/۰۲ وزن بدن) صورت گرفت (Movahedinia *et al.*, 2009a). سم دیازینون امولسیونه ۶۰درصد، ساخت شرکت پرتونار ایران از مرکز فروش سموم دفع آفات نباتی شهرستان رشت تهیه شد و در آزمایش تست سمیت مورد استفاده قرار گرفت. از آنجایی که غلظت کشنده (LC_{50} 96h) دیازینون بر روی این ماهی معلوم نبود، برای یافتن محدوده کشندگی دیازینون بر روی ماهی سیم، ابتدا یک تست اولیه (Range finding test) انجام شد (Inyang *et al.*, 2010) که محدوده کشندگی این سم بر روی ماهی سیم بین ۱۳-۳mg/l بدست آمد. تست سمیت حاد به روش ساکن (Static) و بر اساس دستورالعمل استاندارد O.E.C.D[1] (TRC, 1984) به مدت ۹۶ساعت بر روی ماهی سیم انجام شد. تغذیه بچه ماهیان ۲۴ساعت قبل از انجام آزمایش سمیت حاد متوقف شد (Banaee *et al.*, 2009; Movahedinia *et al.*, 2009b). بعد از تعیین محدوده کشندگی آزمایش نهایی سمیت حاد دیازینون بر ماهی سیم در ۵ تیمار (۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی‌گرم بر لیتر) به همراه شاهد و در ۳تکرار انجام گردید. در هر تیمار ۶عدد ماهی درون آکواریم‌های ۱۵لیتری محتوی ۱۰لیتر آب که از قبل هوادهی شده بود قرار داده شد. عمل هوادهی به کمک پمپ و سنگ هوا در تمام مدت آزمایش ادامه داشت. ماهیان تلف شده از محیط آکواریوم به محض مشاهده جمع آوری و تعداد تلفات ماهی‌ها در زمان‌های ۲۴ساعت، ۴۸ساعت، ۷۲ساعت و ۹۶ساعت محاسبه و ثبت گردید. پس از اتمام آزمایش داده‌های حاصل از انجام آزمایش تست سمیت حاد با روش آماری Probit Analysis با سطح اطمینان ۹۵درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Alijani *et al.*, 2017; Sadeghi *et al.*, 2014).

۳. نتایج

در طی تست تعیین محدوده کشندگی دیازینون بر روی بچه ماهی سیم در غلظت‌های صفر و ۲میلی‌گرم بر لیتر، مرگ و میری مشاهده نشد ولی در غلظت‌های ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم بر لیتر، میزان تلفات ۱۰۰درصد بود (جدول۱).

جدول۱. محدوده کشندگی دیازینون (بر حسب درصد)

غلظت (mg/l)	۲۴ساعت	۴۸ساعت	۷۲ساعت	۹۶ساعت
۰ (شاهد)	۰	۰	۰	۰
۲	۰	۰	۰	۰
۴	۰	۰	۰	۰/۳۳
۸	۰	۰	۰/۳۳	۰/۶۶
۱۶	۰/۱۰۰	۰/۱۰۰	۰/۱۰۰	۰/۱۰۰
۳۲	۰/۱۰۰	۰/۱۰۰	۰/۱۰۰	۰/۱۰۰

بر اساس نتایج بدست آمده محدوده کشندگی دیازینون بر روی این ماهی mg/l ۱۳-۳ می‌باشد. در طی مدت زمان ۲۴ الی ۹۶ساعت با افزایش غلظت دیازینون مرگ و میر نسبی بچه ماهی سیم افزایش پیدا کرد. مرگ و میر نسبی بچه ماهی سیم در غلظت‌های مورد مطالعه در جدول۱ نشان داده شده‌اند. پس از تعیین محدوده کشندگی دیازینون بر بچه ماهی سیم، تست سمیت حاد (LC_{50}) در ۵ غلظت مختلف (۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و mg/l ۱۳) به همراه شاهد و در ۳ تکرار انجام گردید و نتایج مرگ و میر در طی زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ساعت اندازه گیری شدند (جدول۲).

[1] Organization of Economic Cooperation and Development

www.SID.ir

Archive of SID

همان‌گونه که در جدول۲ مشاهده می شود در تیمار شاهد تلفاتی مشاهده نشد در حالی که در غلظت ۱۳ میلی‌گرم بر لیتر ۸۳درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر در غلظت‌های ۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی‌گرم بر لیتر پس از ۲۴ساعت به ترتیب ۰، ۰، ۰، ۳، ۶ و ۱۵ عدد به دست آمد. بر اساس این نتایج میزان غلظت کشنده (LC_{5-95}) دیازینون بر ماهی سیم در طی زمان ۲۴ساعت به دست آمد. غلظت کشنده ۲۴ساعته (LC_{50} 24h) دیازینون بر روی ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵درصد ۱۰/۹۷۴ میلی‌گرم بر لیتر (حد پایینی برابر با ۱۰/۰۸۱ و حد بالایی برابر با ۱۲/۰۹۳) می‌باشد. سایر مقادیر LC (LC_{5-95}) با حدود اطمینان ۹۵درصد در جدول۳ آمده است.

جدول۲. میزان مرگ و میر بچه ماهی سیم در تست سمیت حاد (LC_{50} 96h) دیازینون (تعداد ماهی در هر تیمار = ۱۸ عدد)

غلظت (mg/l)	۲۴ساعت	۴۸ساعت	۷۲ساعت	۹۶ساعت
شاهد	۰	۰	۰	۰
۳	۰	۰	۰	۳
۵/۵	۰	۰	۳	۶
۸	۳	۳	۶	۹
۱۰/۵	۶	۹	۱۲	۱۵
۱۳	۱۵	۱۸	۱۸	۱۸

پس از گذشت ۴۸ساعت در تیمار شاهد هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشد ولی در تیمار ۱۳میلی‌گرم بر لیتر ۱۰۰درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر پس از ۴۸ساعت در غلظت‌های ۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب ۰، ۰، ۰، ۳، ۹ و ۱۸ عدد به دست آمد. بر این اساس میزان غلظت کشنده ۴۸ساعته (LC_{50} 48h) دیازینون با حدود اطمینان ۹۵درصد ۱۰/۳۹۱ میلی گرم بر لیتر (حد پایینی برابر با ۹/۲۸۶ و حد بالایی برابر با ۱۰/۸۱۹)، می‌باشد که میزان LC_{50} 48h نسبت به میزان LC_{50} 24h کاهش داشته است. سایر مقادیرLC (LC_{5-95}) با حدود اطمینان ۹۵درصد در جدول۴ آمده است.

جدول۳. غلظت کشنده (LC_{5-95}) دیازینون (میلی‌گرم‌برلیتر) برای ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۲۴ساعت

LC	غلظت کشنده	حدود اطمینان ۹۵٪	
		حد پایین	حد بالا
LC_5	۷/۰۵۲	۴/۴۹۰	۸/۲۸۶
LC_{10}	۷/ ۹۱۸	۵/۸۷۶	۸/۹۷۶
LC_{20}	۸/۹۶۷	۷/۴۸۹	۹/۸۷۶
LC_{30}	۹/۷۲۴	۸/۵۶۶	۱۰/۶۱۱
LC_{40}	۱۰/۳۷۰	۹/۳۹۶	۱۱/۳۳۱
LC_{50}	۱۰/ ۹۷۴	۱۰/۰۸۱	۱۲/۰۹۳
LC_{60}	۱۱/۵۷۸	۱۰/۶۸۷	۱۲/۹۳۵
LC_{70}	۱۲/۲۲۵	۱۱/۲۷۳	۱۳/۸۹۸
LC_{80}	۱۲/۹۸۱	۱۱/۹۰۷	۱۵/۰۷۶
LC_{90}	۱۴/۰۳۰	۱۲/۷۳۴	۱۶/۷۶۲
LC_{95}	۱۴/۸۹۶	۱۳/۳۹۳	۱۸/۱۷۹

جدول۴. غلظت کشنده (LC_{5-95}) دیازینون بر روی ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵ ٪ در طی زمان ۴۸ساعت

LC	غلظت کشنده (mg/l)	حدود اطمینان ۹۵٪ (mg/l)	
		حد پایین	حد بالا
LC_5	۷/۲۸۶	۵/۳۲۶	۸/۲۴۹
LC_{10}	۷/۶۴۰	۶/۲۸۴	۸/۷۳۳
LC_{20}	۸/۵۸۵	۷/۴۰۶	۹/۳۵۸
LC_{30}	۹/۲۶۶	۸/۱۶۹	۹/۸۵۴
LC_{40}	۹/۸۴۷	۸/۷۷۳	۱۰/۳۲۶
LC_{50}	۱۰/۳۹۱	۹/۲۸۶	۱۰/۸۱۹
LC_{60}	۱۰/۹۳۵	۹/۷۴۸	۱۱/۳۶۳
LC_{70}	۱۱/۵۱۷	۱۰/۱۹۳	۱۱/۹۹۴
LC_{80}	۱۲/۱۹۸	۱۰/۶۶۷	۱۲/۷۷۹
LC_{90}	۱۳/۱۴۲	۱۱/۲۷۵	۱۳/۹۱۸
LC_{95}	۱۱/۷۵۱	۱۱/۷۵۱	۱۴/۸۸۴

در تیمار شاهد پس از مدت زمان ۷۲ساعت هیچ تلفاتی مشاهده نشد در حالی که در غلظت ۱۳ میلی‌گرم بر لیتر

www.SID.ir

Archive of SID

۱۰۰درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر در غلظت‌های ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب ۰، ۰، ۳، ۹ و ۱۸ عدد به دست آمد. میزان غلظت کشنده ۷۲ساعته (LC_{50} 72h) دیازینون با حدود اطمینان ۹۵درصد (حد پایینی برابر با ۷/۸۹۰ و حد بالایی برابر با ۹/۷۵۴)، ۹/۱۳۴ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. همانگونه که ملاحضه می گردد کلیه غلظت‌های کشنده در مدت زمان ۷۲ساعت نسبت به ۲۴ و ۴۸ساعت کاهش واضحی را نشان می دهد. سایر مقادیرLC (LC_{5-95}) با حدود اطمینان ۹۵درصد در جدول۵ آمده است.

جدول۵. غلظت کشنده (LC_{5-95}) دیازینون بر روی ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵ ٪ در طی زمان ۷۲ساعت

LC	غلظت‌کشنده (mg/l)	حدود اطمینان ۹۵٪ (mg/l)	
		حد پایین	حد بالا
LC_5	۴/۶۱۶	۲/۳۱۷	۵/۸۸۱
LC_{10}	۵/۲۷۶	۳/۶۵۲	۶/۶۳۳
LC_{20}	۶/۶۰۰	۵/۲۲۰	۷/۵۹۰
LC_{30}	۷/۵۵۵	۶/۲۹۵	۸/۳۳۸
LC_{40}	۸/۳۷۱	۷/۱۵۲	۹/۰۳۷
LC_{50}	۹/۱۳۴	۷/۸۹۰	۹/۷۵۴
LC_{60}	۹/۸۹۶	۸/۵۶۴	۱۰/۵۳۵
LC_{70}	۱۰/۷۱۲	۹/۲۲۴	۱۱/۴۳۱
LC_{80}	۱۱/۶۶۷	۹/۹۴۱	۱۲/۵۳۶
LC_{90}	۱۲/۹۹۱	۱۰/۸۷۵	۱۴/۱۲۸
LC_{95}	۱۲/۹۷۰	۱۱/۶۱۶	۱۵/۴۷۳

در غلظت‌های ۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی‌گرم بر لیتر میزان مرگ و میر پس از ۹۶ساعت به ترتیب ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۵ و ۱۸ عدد به دست آمد و در تیمار شاهد هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشد. میزان غلظت کشنده ۹۶ساعته (LC_{50} 96h) دیازینون با حدود اطمینان ۹۵درصد (حد پایینی برابر با ۶/۰۶۲ و حد بالایی برابر با ۸/۱۸۶)، ۷/۳۱۶ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. سایر مقادیرLC (LC_{5-95}) با حدود اطمینان ۹۵درصد در جدول۶ آمده است.

تاثیر سم بر روی مرگ و میر ماهیان در زمان‌های مختلف متفاوت بوده به طوری که مرگ و میر بچه ماهیان با افزایش زمان کاهش می یابد. میزان LC_{50} دیازینون بر ماهی سیم نشان می دهد که دیازینون در یک محدوده کم بر بچه ماهیان سیم تأثیر گذار می‌باشد و در نمودار Probit این موضوع نشان داده شده است (شکل۱). با ایجاد همبستگی بین میزان LC_{50} در زمان‌های ۲۴ الی ۹۶ساعت معادله خط y=-0.051x+12.512 به دست آمد و میزان همبستگی ۹۵درصد به دست آمد. با توجه به همبستگی بالا بین میزان LC_{50} و زمان می توان از این معادله برای پیش بینی LC_{50} در زمان‌های مختلف استفاده کرد.

جدول۶. غلظت کشنده (LC_{5-95}) دیازینون بر روی ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵ ٪ در طی زمان ۹۶ساعت

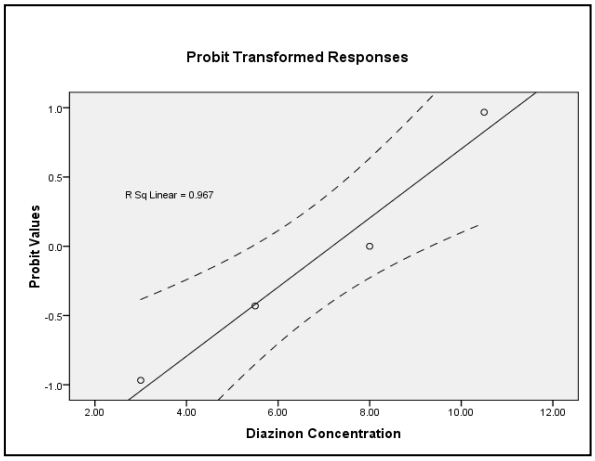
LC	غلظت‌کشنده (mg/l)	غلظت کشنده ۹۵٪ (mg/l)	
		حد پایین	حد بالا
LC_5	۱/۶۹۰	-۱/۰۴۶	۳/۲۵۰
LC_{10}	۲/۶۳۲	۰/۶۳۶	۴/۲۲۸
LC_{20}	۴/۲۴۰	۲/۶۲۴	۵/۴۶۱
LC_{30}	۵/۳۹۹	۳/۹۹۷	۶/۴۱۲
LC_{40}	۶/۳۹۰	۵/۱۰۳	۷/۲۹۰
LC_{50}	۷/۳۱۶	۶/۰۶۲	۸/۱۸۶
LC_{60}	۸/۲۴۲	۶/۹۴۲	۹/۱۶۱
LC_{70}	۹/۲۳۳	۷/۸۰۷	۱۰/۲۸۰
LC_{80}	۱۰/۳۹۲	۸/۷۴۷	۱۱/۶۶۴
LC_{90}	۱۲	۹/۹۷۲	۱۳/۶۵۹
LC_{95}	۱۲/۵۳۹	۱۰/۹۴۷	۱۵/۳۴۵

با ایجاد همبستگی بین زمان‌های در معرض قرارگیری ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ساعت با دیازینون و غلظت کشندگی میانه حاد LC_{50} معادله خط برابر با y=-0.051x + 12.512 بدست می آید. از آنجا که میزان R در این

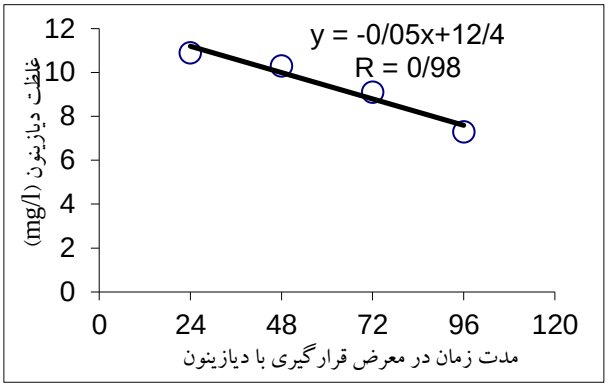
www.SID.ir

Archive of SID

معادله بالا و برابر با ۹۸درصد است می توان با این معادله میزان LC_{50} را در طی زمان‌های مختلف به دست آورد (شکل ۲).



شکل۱. نمودار Probit غلظت کشنده دیازینون بر بچه ماهی سیم در سطح اطمینان ۹۵درصد



شکل۲. نمودار همبستگی بین زمان در معرض قرارگیری با دیازینون در غلظت‌های مختلف

۴. بحث و نتیجه گیری:

در هنگام انجام تست سمیت حاد، کنترل کردن شرایط آزمایش از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. عوامل متعددی در نتایج آزمایش‌های سمیت بر روی آبزیان تاثیر دارند که می توان به ویژگی‌های آب و خصوصیات زیستی گونه‌های مورد آزمایش اشاره کرد. به هنگام اجرای آزمایش‌های سمیت، از روش‌های آزمایش استاندارد شده برای به حداقل رساندن متغیرهای خارجی و تصادفی استفاده نمود و شرایط آزمایش را باید تحت کنترل قرار داد (Abel and Axiak, 1990). اطمینان از اینکه همه موجودات مورد آزمایش از یک گروه سالم بوده و توزیع آنها به صورت تصادفی در هنگام انجام آزمایش می‌باشد، نکته ای مهم است. یکی از عوامل تاثیر گذار در مسمومیت آبزیان عامل زمان است. هنگامی که ماهی در معرض غلظت ثابتی از سم باشد، به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می رود و هم سم فرصت بیشتری برای تاثیر گذاری روی ماهی دارد. علاوه بر این در مواردی تجمع سم در بافت‌های ماهی نیز باعث افزایش تاثیر سو آن بر بدن ماهی و در مدت ۹۶ساعت انجام آزمایش‌ها موجب پایین آمدن LC_{50} می شود (David *et al.*, 2003). بر اساس جدول۵ میزان غلظت کشنده دیازینون در طی چهار روز متوالی (۹۶ساعت) برای ۵۰درصد (LC_{50} 96h) از بچه ماهیان ۳-۱ گرمی سیم، ۷/۳۱۶ mg/l بدست آمد.

با توجه به اینکه درجه بندی سمیت آفت‌کش‌ها با استفاده از میزان LC_{50} 96h مشخص می شود، از این نظر آفت‌کش دیازینون از نظر سمیت برای بچه ماهی سیم دارای سمیت متوسط محسوب می گردد (Louis *et al.*, 1996) (جدول۷).

جدول۷. دسته‌بندی سطوح سمیت برخی آفت‌کش‌ها (Louis *et al.*, 1996)

LC_{50} (mg/l)	درجه سمیت
۱۰۰	نسبتا سمی
۱۰-۱۰۰	کمی سمی
۱-۱۰	متوسط سمی
۰/۱-۱	خیلی سمی
۰/۱	شدیدا سمی

حداکثر غلظت سمی که وجود آن در آب برای آبزیان مجاز در نظر گرفته می شود غلظتی معادل ۰/۱ غلظت کشندگی حاد (LC_{50} 96h) ۹۶ساعته می‌باشد (Di

www.SID.ir

Archive of SID

Giulio and Hinton, 2008). این غلظت که غلظت غیرموثر (NOEC) نیز نامیده می شود برای ماهی سیم، برابر با ۰/۷۳mg/l بدست آمد.

کمترین غلظت موثر سم دیازینون بر بچه ماهیان سیم (LOEC) معادل 96h LC_{10} (غلظتی از سم که در مدت زمان ۹۶ساعت ۱۰ ٪ از ماهیان را می کشد) می‌باشد. این غلظت برای سم دیازینون معادل ۲/۶۳mg/l تعیین گردید.این سطح در واقع حداقل غلظتی از سم است که در مقایسه با نمونه شاهد اثر قابل توجهی بر مرگ و میر ماهی مورد آزمایش اعمال نماید.

96h LC_{50} ۰/۰۱ را سطح ایمن و مطمئن برای آبزیان توصیه می کنند (CWQC, 1972) که در این مطالعه برابر با ۰/۰۷ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. میزان غلظت آفت‌کش دیازینون در زمان رها سازی بچه ماهی سیم در مصب‌های تالاب انزلی ورودی به دریای خزر، ۰/۴ میکروگرم بر لیتر بود که برای بچه ماهی سیم مشکلی ایجاد نمی کند. با توجه به اینکه بچه ماهی سیم برای رشد ۲-۱ سال در مصب‌های تالاب انزلی ورودی به دریای خزر زندگی می کند، غلظت دیازینون در ماههای مرداد و شهریور به دلیل استفاده در مزارع برنج به طور محسوسی بالا می رود که دارای اثرات زیان باری بر این گونه می‌باشد. غلظت آفت‌کش دیازینون در سایر رودخانه‌های شمال اندازه گیری شده است (جدول۸). با توجه به غلظت دیازینون در رودخانه‌های شمال، آب رودخانه‌های اشمک و سفید رود برای رها سازی بچه ماهیان سیم مناسب می‌باشد ولی رودخانه‌های قره سو و گرگان رود با توجه به اینکه غلظت دیازینون در آنها بالاتر از حد مجاز می‌باشد برای رهاسازی بچه ماهیان سیم مناسب نمی باشد.

جدول۸. غلظت گزارش‌شده دیازینون در برخی رودخانه‌های شمال ایران

نام رودخانه	غلظت دیازینون	منبع
رودخانه اشمک	۰/۲۹ میکروگرم بر لیتر	Khara *et al.*, 2008
رودخانه سفید رود	۰/۰۰۴ میکرو گرم بر لیتر	Taghavi *et al.*, 2008
رودخانه قره سو	۲۲/۴ میلی‌گرم بر لیتر	Shayeghi *et al.*, 2008
رودخانه گرگان رود	۶/۷۴ میلی‌گرم بر لیتر	Shayeghi *et al.*, 2008

www.SID.ir

Archive of SID

دانستد. Dutta و همکاران در سال ۱۹۹۵ اثرات متفاوت سمیت را به پاسخ گونه‌ها، اندازه ماهی و مدت زمان مواجهه در معرض سموم مرتبط دانستند.

جدول۹. مقادیر LC_{50} 96h دیازینون برای گونه‌های مختلف ماهی

گونه	LC_{50} 96h (mg/l)	منبع
تاس ماهی ایرانی	۴/۳۸	Pajand *et al.*, 2003
ازون برون	۲/۵۴	Pajand *et al.*, 2003
ماهی شیپ	۰/۳۶	Mohammad Nejad Shamoushak *et al.*, 2008
ماهی کلمه	۱۲/۸۱	Mohammad Nejad Shamoushaki and Shahkar, 2010
قزل آلای رنگین کمان	۱/۱۷	Banaee *et al.*, 2011
ماهی سیم	۷/۳۱۶	مطالعه حاضر

بر اساس مطالعه حاضر، مقاومت ماهی سیم در برابر دیازینون نسبت به سایر گونه‌ها زیاد می‌باشد و محدوده کشندگی دیازینون بر ماهی سیم در یک طیف محدود می‌باشد. با توجه به غلظت دیازینون در تیر ماه، زمان و محل رها سازی بچه ماهیان سیم به مصب تالاب انزلی ورودی به دریای خزر زمان و محل مناسبی است ولی با توجه به اینکه در ماههای مرداد و شهریور میزان دیازینون در آب بالا می رود، بچه ماهی سیم در حال رشد می‌باشد که باعث عوارض فیزیولوژیک در این گونه خواهد شد و بقا و نسل این گونه را در خطر قرار خواهد داد.

سپاسگزاری:
این تحقیق با همکاری مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت صورت گرفته است به همین دلیل از آقای مهندس صمد درویشی رئیس این مرکز و کارشناسان محترم آقایان

با توجه به نتایج LC_{50} 96h، سمیت دیازینون بر روی ماهی سیم با افزایش غلظت و زمان مواجهه افزایش می یابد به عبارت دیگر با افزایش ساعات آزمایش میزان غلظت کمتری از سم لازم است تا ۵۰درصد از جمعیت ماهیان تلف شوند و مقدار LC_{50} در ۲۴ساعت اولیه آزمایش همواره بیشتر از LC_{50} در پایان ۹۶ساعت می‌باشد.

میزان غلظت کشنده دیازینون در ماهی سیم با سایر مطالعات انجام شده در جدول۹ مقایسه شده است. مطالعاتی نیز در مورد سمیت حاد آفت‌کش دیازینون بر روی ماهیان خاویاری انجام شده است که، LC_{50}96h دیازینون بر روی تاس ماهی ایرانی و ازون برون به ترتیب۴/۳۸ mg/l و ۲/۵۴ (Pajand *et al.*, 2003) و بر روی ماهی شیپ ۰/۳۶mg/l (Mohammad Nejad Shamoushaki *et al.*, 2008) بدست آمده است. Mohammad Nejad Shamoushaki و Shahkar در سال 2010، LC_{50} 96h دیازینون بر روی ماهی کلمه را ۱۲/۸۱ میلی‌گرم در لیتر بدست آوردند. Banaee و همکاران در سال ۲۰۱۱ با مطالعه سمیت حاد دیازینون بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان، LC_{50} آن را ۱/۱۷ میلی‌گرم بر لیتر بدست آوردند. با توجه به میزان LC_{50} 96h، حساسیت گونه‌های مختلف ماهیان در برابر سم دیازینون به صورت "سفید>شیپ>قزل‌آلای رنگین کمان>ازون‌برون>قره‌برون>سیم>کلمه" می‌باشد و ماهی سیم از این نظر گونه نسبتاً مقاوم می‌باشد.

سمیت دیازینون در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت است و به سن، جنسیت، اندازه بدن گونه، شرایط آب و هوایی، فرمول آفت‌کش، خصوصیات شیمیایی محیط و فاکتورهای دیگر بستگی دارد (Montez, 1983). Oh و همکاران در سال ۱۹۹۱ تفاوت حساسیت اختصاصی گونه‌های مختلف ماهیان به دیازینون را به علت قابلیت‌های مختلف گونه‌ها در جذب، ممانعت از عملکرد آنزیم استیل کولین استراز و عمل سمیت زدایی از بدن

www.SID.ir

Archive of SID

مهندس عابدین‌زاده، مهندس عاشوری و مهندس قناعت پرست که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند، نهایت سپاسگزاری و تشکر را داریم.

منابع:

Abel, P. and Axiak, V. 1990. Ecotoxicology and the marine environment. Old University Building, Malta, P: 269.

Alijani Ardeshir, R., Zolgharnein, H., Movahedinia, A., Salamat, N. and Zabihi, E., 2017. Comparison of waterborne and intraperitoneal exposure to fipronil in the Caspian white fish (*Rutilus frisii)* on acute toxicity and histopathology. Toxicology Reports. 4: 348-357.

Ansari, B. A., Aslam, M. and Kumar, K. 1987. Diazinon toxicity: Activities of acetycholinesterase and Phosphatase in the nervous tissue of zebra fish *Brachidanio rerio Cyprinidae*. Acta Hydrochemical Hydrobioligica, 15(3):301-306.

Banaee, M., Mirvagefei, R., Rafei, G. and Majazi Amiri, B. 2008. Effect of sub-lethal Diazinon Concentrations on Blood Plasma Biochemistry. Int. J. Environ. Res, 2(2): 189-198.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvagefei, R. and Ahmadi. 2011. Effect of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (oncorhynchus mykiss). Pesticide Biochemistry and Physiology, 99: 1-6.

Committee on Water Quality Criteria (CWQC). 1972. Report of the committee on water Quality Criteria. Ecological Research Series, EPA-R3-73-003.

Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. 2008. The toxicology of fishes. Taylor and Francis Group. Pp:1101.Giron-perez, M. I., Fernandez, J. V., Diaz-Salas, F., Canto-Montero, C., Median-Diaz, I., Robledo-Marenco, M., Rojas-Garcia, A. and Zaitseva, G. 2009. Immunologic parameters evaluations in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to sublethal concentrations of diazinon. Fish and Shellfish Immunology, 27: 383-385.

Hoffman, D. J., Rattner, B. A., Burton, G. A and Cairns, J. Handbook of Ecotoxicology. A CRC Press Company, P: 1253

Inyang, I., Daka, E., Ogamba, E. 2010. Changes in electrolyte activities of Clarias gariepinus exposed to diazinon Biol Environ Sci, 198-200

Khara, H., Salar Amoli, J., Mazloumi, H., Nezami, S., Zolfinejad, K., Khodaparast, H., Hasan, J., Akbarzadeh, A., Mohammadi, S., Gholipoor, S., Ahmadnejad, M., Ahmadzadeh, T., Gholipoor, Z. and Taghizadeh, M., 2008. Survey and seasonal measurement of Pesticide (Hinosan, Machete and Diazinon) in water of Oshmak River (East of Guilan). Journal of Biology Science (Islamic Azad University, Lahijan branch), 2(1): 29-43. (In Persian)

Khosbavar Rostami, H. and Soltani, M., 2005. The effects of diazinon on haematological indices and LC_{50}(96h) of *Acipenser nudiventris*. Iranian Scientific Fisheries Journal, 14(3): 49-60. (In Persian)

Khoshbavar-Rostami, H.A., Soltani, M. and Hassan, H.M.D. 2006. Immune response of great sturgeon (*Huso huso*) subjected to long-term exposure to sublethal concentration of the organophosphate, diazinon. Aquaculture, 256, 88-94.

Louis, A. H, Diana, L.W. Patricia, H. and Elizabeth, R.S. 1996. Pesticides and Aquatic Animals, Virginia Cooperation Extension, Virginia State university, Virginia, pp:24.

Mohammad Nejad Shamoushaki, M. and Shahkar, E., 2010 Determination the lethal concentration (LC_{50} 96 H) of chloropyrifos and diazinon on (*Rutilus rutilus caspicus*). Journal of Fisheries, 3(4):73-78. (In Persian)

Mohammad Nejad Shamoushaki, M., Nazemi, Sh.A., Esmaeli Sari, A., Khara, H., Pazhand, Z. and Yousefi Garagoraki, M., 2008. Determination of LC_{50} 96h of diazinon, Hinosan and Tilt for *Acipenser nudiventris* fingerlings. Iranian Scientific Fisheries Journal, 17(2): 113-122. (In Persian)

Montz, E., Jr. 1983. Effect of organophosphate insecticides on aspects of reproduction and survival in small mammal. Ph.D. thesis. Virginia Polytech. State Univ., Blacsuburg, 179pp.

Movahedinia, A., Savari A., Morovvati, H., Kochanian P. and Hedayati, A., 2009a. Endocrine responses of Yellowfin Seabream *Acanthopagrus latus* in adaptation to different environmental salinities. Journal of Marine Science and Technology, 8: 1-14. (In Persian)

www.SID.ir

Archive of SID

Movahedinia, A., Savari, A., Morovvati, H., Koochanin, P., Marammazi, G. Nafisi, M., 2009b. The Effects of Changes in Salinity on Gill Mitochondria-Rich Cells of Juvenile Yellowfin Seabream, *Acanthopagrus latus*. Journal of Biological Sciences, 9(7): 710-720.

Oh, H.S., Lee, S.K., Kim, Y.H. and Roh, J.K. 1991. Mechanism of selective toxicity of diazinon to kill fish Oryzias latipes and loach *Misgurnus anguillicaudatus*. Aquatic Toxicology and Risk Assesment, 14(1): 343-353.

Padash-Barmchi, Z., Safahieh, A., Bahmani, M., Savari, A. and Kazemi, R. 2010. Immune responses and behavior of Persian sturgeon fingerlings *Acipenser persicus* exposed to sublethal concentrations of diazinon. Toxicological and Environmental Chemistry, 92(1): 159-167.

Pajand, Z.O., Esmaeli Sari, A. and Piri Zirkoohi, M., 2003. Effect of diazinon on the persian sturgeon and stellate sturgeon fingerlings Pajouhesh and Sazandegi, 58:64-67. (In Persian)

Rand, G. 1995. Fundamental of aquatic toxicology effects, environmental fate and risk assessment. Tylor and Francis, Washington D.C, USA,

Rubia-Sanchez, E., Diah, N., Heong, K., Zaluki, M. and Norton, G. 1997. White stem borer damage and grain yield in irrigated rice in WEST Java. Indonesia. Crop Protection, 665-671.

Sadeghi, P., Savari, A., Movahedinia, A., Safahieh, A. and Azhdari, D., 2014. Determination the Lethal Concentration (LC50) of Potassium Dichromate and Behavioral Responses in Epaulet Grouper (*Epinephelus stoliczkae*). Journal of Oceanography, 5(17): 1-9.

Sancho, E., Ferrando, M., Andereu, E, Gamon, M., 1992. Acute toxicity, uptake and clearance of diazinon by the European eel, *Anguilla Anguilla*. Environ Sci Health, Part B: Pestic, Food Contam. Pp: 209-221.

Shayeghi, M., Khoobdel, M., Bagheri, F. and Abtahi, M., 2008. The residues of azinphosmethyl and diazinon in Garaso and Gorganrood rivers in Golestan Province. School of Health and Institute of Public Health Research, 6(1):75-82. (In Persian)

Taghavi, K., Naghipoor, D., Mohagheghian, A., Jamali, M. and Rafiei, Z., 2008. Determination of three pesticides in drinking water of Rasht-Iran. 12th National conference on environmental health. Shahid Beheshti University, Tehran. 1348-1353. (In Persian)

Vieira, L.R. Gravato, C.Soares A., Morgado F., Guilhermino. L. 2009. Acute effects of copper and mercury on the estuarine fish *Pomatoschistus microps*: Linking biomarkers to behavior. Chemosph. 76, 1416-1427.

www.SID.ir

Archive of SID

Determination of lethal range and median lethal concentration (LC_{50} 96h) values of diazinon on Caspian Sea common bream (*Abramis brama*)

Safahieh, Alireza[1]. Jaddi, Yaghoob[1]. Movahedinia, Abdolali *[2]. Hallajian, Ali [3] and Dezhandian, Sohrab [4]

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology.
2. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.
3. International Sturgeon Research Institute, Rasht, Iran.
4. National Inland Water Aquaculture Institute, Anzali, Iran.

Abstract

Pesticides are environmental contaminants which normally enter to aquatic ecosystems after being used in aquaculture. In this research, acute toxicity of diazinon was studied on Caspian Sea common bream (*Abramis brama*). This pesticide may enter in aquatic food chain and cause serious problems for aquatic organisms as well as human. The acute toxicity test was performed during 96h in static renewal system based on the standard method proposed by OECD. A range finding test was carried out in aquariums containing 10L of test solution to determine the lethal range of diazinon on fish. The acute toxicity test was then preformed in 5 treatments and 3 triplicates for each treatment. Obtained data were analyzed using probit analysis with %5 confidence limit. According to the results, LC_{50} 24h, LC_{50} 48h, LC_{50} 72h and LC_{50} 96h of diazinon on Caspian Sea common bream was 10.974, 10.391, 9.134 and 7.316 respectively. The maximum acceptable toxicant concentration (MATC) of diazinon on Caspian Sea common bream was 0.073 mg/l and the lowest observed effect concentration which is equal to LC_{50} 96h was 2.63 mg/l. According to the results and comparing with other studies, it can be discussed that Caspian Sea common bream is more resistant against diazinon rather than other fish species. In addition, lethal toxicity of diazinon takes place in a moderate range of toxicant concentrations.

Keyword: Acute toxicity, pesticide, Lethal concentration, Ecotoxicology, *Abramis brama*

List of figures and tables:

Fig1. Probit graph for LC_{50} value of diazinon against Caspian Sea common bream (*Abramis brama*) at 95% significant level
Fig2. Correlation analysis for exposure times and different concentrations
Table1. Lethal range of diazinon (percentage) against Caspian Sea common bream (*Abramis brama*)
Table2. Death rate value for Caspian Sea common bream (*Abramis brama*) during diazinon acute toxicity test (LC50 96h) (individual in each treatment=18)
Table3. Lethal concentrations (LC5-95) of diazinon against Caspian Sea common bream (*Abramis brama*) during 24hours at 95% significant level
Table4. Lethal concentrations (LC5-95) of diazinon against Caspian Sea common bream (*Abramis brama*) during 48hours at 95% significant level
Table5. Lethal concentrations (LC5-95) of diazinon against Caspian Sea common bream (*Abramis brama*) during 72hours at 95% significant level

*Corresponding author: amovahedinia@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

Table6. Lethal concentrations (LC5-95) of diazinon against Caspian Sea common bream (*Abramis brama*) during 96hours at 95% significant level

Table7. Toxicity levels of some pesticides (Louis *et al.*, 1996)

Table8. Reported concentrations of diazinon in some rivers in north parts of Iran

Table9. Lethal concentrations (LC_{50} 96h) of diazinon against different fish species

www.SID.ir