

تعیین محدوده کشندگی و غلظت میانه کشنده (LC₅₀ 96h) دیازینون بر بچه ماهی سیم دریای خزر (Abramis brama)

علیرضا صفاهیه^۱، یعقوب جادی^۱، عبدالعلی موحدی نیا^{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 بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت.
۴. پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی کشور

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۹

چکیده

آفت‌کش‌ها از آلاینده‌های زیست‌محیطی می‌باشند که پس از مصرف در کشاورزی، وارد اکوسیستم‌های آبی می‌شوند. این آلاینده‌ها می‌توانند وارد زنجیره غذایی شده و سبب بروز مشکلات برای موجودات آبی 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 ۱۰ لیتر آبیگری شده بودند انجام شد و بعد از به دست آوردن محدوده کشندگی، تیمارهای نهایی با ۵ تیمار و ۳ تکرار برای هر تیمار جهت تعیین غلظت کشنده (LC₅₀ 96h) انجام پذیرفت. داده‌های حاصل با استفاده از روش آماری Probit در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. غلظت‌های کشندگی حاد ۲۴ ساعت (LC₅₀ 24h)، ۴۸ ساعت (LC₅₀ 48h)، ۷۲ ساعت (LC₅₀ 72h) و ۹۶ ساعت (LC₅₀ 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 LC₁₀ 96h بیان می‌گردد، 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*

۱. مقدمه

استان‌های گیلان، مازندران و گلستان به عنوان قطب‌های بزرگ کشاورزی کشور به شمار می‌آیند که سطحی بالغ بر ۱/۵ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی محصولات زراعی و دیم کشور را به خود اختصاص می‌دهند، 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 می‌گردد. یکی از آفت‌های مهم برنج در شمال کشور کرم ساقه‌خوار برنج می‌باشد که جزو یکی از مخرب‌ترین آفات کشاورزی محسوب می‌گردد. 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 می‌گیرد. 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 می‌گردد.

دیازینون استفاده شده در مزارع کشاورزی می‌تواند به هنگام بارش باران همراه رواناب‌ها وارد آب‌های جاری، رودخانه‌ها و نهایتاً دریا گردد. تحقیقات مختلف نشان داده است که دیازینون می‌تواند منجر به اثرات زیان بار بر پارامترهای خونی (Padash *et al.*, 2010)، پارامترهای بیوشیمیایی 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 می‌نماید. 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 می‌گردد. 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 بیوشیمیایی، سیستم ایمنی و بافت‌های آبزیان بوده است. با توجه به اثرات سوء سم دیازینون بر آبزیان احتمال می‌رود به دلیل همزمانی رها سازی 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 رها سازی 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 (LC₅₀96h)، تعیین حداکثر غلظت مجاز (MATC) و تعیین حداقل غلظت موثر (LOEC) سم دیازینون بر ماهی سیم می‌باشد.

۲. مواد و روش

برای انجام این مطالعه ماهیان انگشت قد سیم (۲/۱۴±۰/۷۴ 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

^۱ Maximum acceptable toxicant concentration

^۲ Lowest Observed Effect Concentration

Analysis با سطح اطمینان ۹۵ درصد 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 ۲ میلی‌گرم بر لیتر، مرگ و میری مشاهده نشد ولی در غلظت‌های ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم بر لیتر، میزان تلفات ۱۰۰ درصد بود (جدول ۱).

جدول ۱. محدوده کشندگی دیازینون (بر حسب درصد)

غلظت (mg/l)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
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 ۱۳-۳ mg/l می‌باشد. در طی مدت زمان ۲۴ الی ۹۶ ساعت 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 جدول ۱ نشان داده شده‌اند. پس از تعیین محدوده کشندگی دیازینون بر بچه ماهی سیم، تست سمیت حاد (LC_{50}) در ۵ غلظت مختلف (۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و mg/l) به همراه شاهد و در ۳ تکرار انجام گردید و نتایج مرگ و میر در طی زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه‌گیری شدند (جدول ۲).

همان‌گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود در تیمار شاهد تلفاتی مشاهده نشد در حالی که در غلظت ۱۳ میلی‌گرم بر لیتر ۸۳ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر در غلظت‌های ۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی‌گرم بر لیتر پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۰، ۰، ۰، ۰، ۳،

گردید. بچه ماهیان جهت سازگار شدن 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 ۶۰ درصد، 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 ۳-۱۳ mg/l بدست آمد. تست سمیت حاد به روش ساکن (Static) و بر اساس دستورالعمل استاندارد^۱ (TRC, 1984) O.E.C.D به مدت ۹۶ ساعت بر روی ماهی سیم انجام شد. تغذیه بچه ماهیان ۲۴ ساعت 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 (۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی‌گرم بر لیتر) به همراه شاهد و در ۳ تکرار انجام گردید. در هر تیمار ۶ عدد ماهی درون آکواریوم‌های ۱۵ لیتری محتوی ۱۰ لیتر 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 جمع‌آوری و تعداد تلفات ماهی‌ها در زمان‌های ۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت، ۷۲ ساعت و ۹۶ ساعت محاسبه و ثبت گردید. پس از اتمام آزمایش داده‌های حاصل از انجام آزمایش تست سمیت حاد با روش آماری Probit

^۱ Organization of Economic Cooperation and Development

جدول ۳. غلظت کشنده (LC₅₋₉₅) دیازینون (میلی گرم بر لیتر) برای ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۲۴ ساعت

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

جدول ۴. غلظت کشنده (LC₅₋₉₅) دیازینون بر روی ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۴۸ ساعت

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 ۷۲ ساعت هیچ تلفاتی مشاهده نشد در حالی که در غلظت ۱۳ میلی گرم بر لیتر ۱۰۰ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر در غلظت‌های ۰، ۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۰، ۰، ۳، ۹ و ۱۸ عدد به دست آمد. میزان غلظت

۶ و ۱۵ عدد به دست آمد. بر اساس این نتایج میزان غلظت کشنده (LC₅₋₉₅) دیازینون بر ماهی سیم در طی زمان ۲۴ ساعت به دست آمد. غلظت کشنده ۲۴ ساعته (LC_{50 24h}) دیازینون بر روی ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵ درصد ۱۰/۹۷۴ میلی گرم بر لیتر (حد پایینی برابر با ۱۰/۰۸۱ و حد بالایی برابر با ۱۲/۰۹۳) می‌باشد. سایر مقادیر LC (LC₅₋₉₅) با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۳ آمده است.

جدول ۲. 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)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	شاهد				
					۰	۰	۰	۰	۰
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۳	۰	۰	۰	۰	۳	۰	۰	۰	۰
۵/۵	۰	۰	۳	۰	۶	۰	۰	۰	۰
۸	۳	۳	۶	۰	۹	۰	۰	۰	۰
۱۰/۵	۶	۹	۱۲	۱۵	۱۵	۰	۰	۰	۰
۱۳	۱۵	۱۸	۱۸	۱۸	۱۸	۰	۰	۰	۰

پس از گذشت ۴۸ ساعت در تیمار شاهد هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشد ولی در تیمار ۱۳ میلی گرم بر لیتر ۱۰۰ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر پس از ۴۸ ساعت در غلظت‌های ۰، ۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۰، ۰، ۳، ۹ و ۱۸ عدد به دست آمد. بر این اساس میزان غلظت کشنده ۴۸ ساعته (LC_{50 48h}) دیازینون با حدود اطمینان ۹۵ درصد 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 مقادیر LC (LC₅₋₉₅) با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۴ آمده است.

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 می باشد و در نمودار Probit این موضوع نشان داده شده است (شکل ۱). با ایجاد همبستگی بین میزان LC_{50} در زمان های ۲۴ الی ۹۶ ساعت معادله خط $y = -0.051x + 12.512$ به دست آمد و میزان همبستگی ۹۵ درصد 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 زمان های مختلف استفاده کرد.

جدول ۶. غلظت کشنده (LC_{5-95}) دیازینون بر روی ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۹۶ ساعت

LC	غلظت کشنده (mg/l)	غلظت کشنده ۹۵٪	
		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 زمان های در معرض قرارگیری ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت 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 معادله بالا و برابر با ۹۸ درصد است می توان با این معادله میزان LC_{50} را در طی زمان های مختلف به دست آورد (شکل ۲).

کشنده ۷۲ ساعته (LC_{50} 72h) دیازینون با حدود اطمینان ۹۵ درصد (حد پایینی برابر با ۷/۸۹۰ و حد بالایی برابر با ۹/۷۵۴)، ۹/۱۳۴ میلی گرم بر لیتر می باشد. همانگونه که ملاحظه می گردد کلیه غلظت های کشنده در مدت زمان ۷۲ ساعت نسبت به ۲۴ و ۴۸ ساعت کاهش واضحی را نشان می دهد. سایر مقادیر LC_{5-95} با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۵ آمده است.

جدول ۵. غلظت کشنده (LC_{5-95}) دیازینون بر روی ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۷۲ ساعت

LC	غلظت کشنده (mg/l)	حدود اطمینان ۹۵٪	
		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 غلظت های ۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی گرم بر لیتر میزان مرگ و میر پس از ۹۶ ساعت 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 ۹۶ ساعته (LC_{50} 96h) دیازینون با حدود اطمینان ۹۵ درصد (حد پایینی برابر با ۶/۰۶۲ و حد بالایی برابر با ۸/۱۸۶)، ۷/۳۱۶ میلی گرم بر لیتر می باشد. سایر مقادیر LC_{5-95} با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۶ آمده است.

تأثیر سم بر روی مرگ و میر ماهیان در زمان های مختلف متفاوت بوده به طوری که مرگ و میر بچه

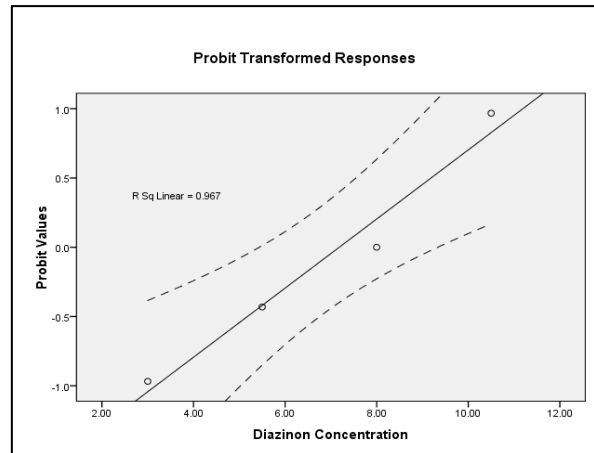
انجام آزمایش می‌باشد، نکته ای مهم است. یکی از عوامل تاثیر گذار در مسمومیت آبزین عامل زمان است. هنگامی که ماهی در معرض غلظت ثابتی از سم باشد، به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می رود و هم سم فرصت بیشتری برای تاثیر گذاری روی ماهی دارد. علاوه بر این در مواردی تجمع سم در بافت‌های ماهی نیز باعث افزایش تاثیر سو آن بر بدن ماهی و در مدت ۹۶ ساعت انجام آزمایش‌ها موجب پایین آمدن LC_{50} می شود (David *et al.*, 2003). بر اساس جدول ۵ میزان غلظت کشنده دیازینون در طی چهار روز متوالی (۹۶ ساعت) برای ۵۰ درصد (LC_{50} 96h) از بچه ماهیان ۱-۳ گرمی سیم، $7/316$ 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) (جدول ۷).

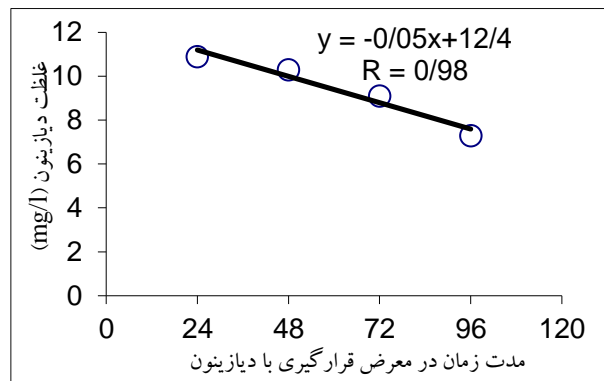
جدول ۷. دسته‌بندی سطوح سمیت برخی آفت‌کش‌ها (Louis *et al.*, 1996)

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

حداکثر غلظت سمی که وجود آن در آب برای آبزین مجاز در نظر گرفته می شود غلظتی معادل ۰/۱ غلظت کشندگی حاد ۹۶ ساعته (LC_{50} 96h) می‌باشد (Di Giulio and Hinton, 2008). این غلظت که غلظت غیرموثر (NOEC) نیز نامیده می شود برای ماهی سیم، برابر با $0/73$ mg/l بدست آمد.



شکل ۱. نمودار Probit غلظت کشنده دیازینون بر بچه ماهی سیم در سطح اطمینان ۹۵ درصد



شکل ۲. 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 آبزین 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

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 می باشد. غلظت آفت کش دیازینون در سایر رودخانه‌های شمال اندازه گیری شده است (جدول ۸). با توجه به غلظت دیازینون در رودخانه‌های شمال، آب رودخانه‌های اشمک و سفید رود برای رها سازی بچه ماهیان سیم مناسب می باشد ولی رودخانه‌های قره سو و گرگان رود با توجه به اینکه غلظت دیازینون در آنها بالاتر از حد مجاز می باشد برای رهاسازی بچه ماهیان سیم مناسب نمی باشد.

جدول ۸. غلظت گزارش شده 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	۰/۰۴ میکروگرم بر لیتر	Taghavi et al., 2008
رودخانه قره سو	۲۲/۴ میلی گرم بر لیتر	Shayeghi et al., 2008
رودخانه گرگان رود	۶/۷۴ میلی گرم بر لیتر	Shayeghi et al., 2008

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 ۵۰ درصد از جمعیت ماهیان تلف شوند و مقدار LC_{50} در ۲۴ ساعت اولیه آزمایش همواره بیشتر از LC_{50} در پایان ۹۶ ساعت می باشد. میزان غلظت کشنده دیازینون در ماهی سیم با سایر مطالعات انجام شده در جدول ۹ مقایسه شده است. مطالعاتی نیز در مورد سمیت حاد آفت کش دیازینون بر روی ماهیان خاویاری انجام شده است که، $LC_{50} 96h$ دیازینون بر روی تاس ماهی ایرانی و ازون برون به ترتیب $4/38$ و $2/54$ (Pajand et al., 2003) و بر روی ماهی شیب $0/36$ mg/l (Mohammad Nejad)

کمترین غلظت موثر سم دیازینون بر بچه ماهیان سیم (LOEC) معادل $96h LC_{10}$ (غلظتی از سم که در مدت زمان ۹۶ ساعت ۱۰٪ از ماهیان را می کشد) می باشد. این غلظت برای سم دیازینون معادل $2/63$ mg/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.

$LC_{50} 96h$ ۰/۰۱ را سطح ایمن و مطمئن برای آبیان توصیه می کنند (CWQC, 1972) که در این مطالعه برابر با ۰/۰۷ میلی گرم بر لیتر می باشد. میزان غلظت آفت کش 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

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 ۵۰ درصد از جمعیت ماهیان تلف شوند و مقدار LC_{50} در ۲۴ ساعت اولیه آزمایش همواره بیشتر از LC_{50} در پایان ۹۶ ساعت می باشد.

میزان غلظت کشنده دیازینون در ماهی سیم با سایر مطالعات انجام شده در جدول ۹ مقایسه شده است. مطالعاتی نیز در مورد سمیت حاد آفت کش دیازینون بر روی ماهیان خاویاری انجام شده است که، $LC_{50} 96h$ دیازینون بر روی تاس ماهی ایرانی و ازون برون به ترتیب $4/38$ و $2/54$ (Pajand et al., 2003) و بر روی ماهی شیب $0/36$ mg/l (Mohammad Nejad)

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 مهندس عابدین زاده، 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 acetylcholinesterase and Phosphatase in the nervous tissue of zebra fish *Brachidanio rerio Cyprinidae*. Acta Hydrochemical Hydrobiologica, 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.

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

جدول ۹. مقادیر LC₅₀ 96h دیازینون برای گونه‌های مختلف

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

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 و رودی به دریای خزر زمان و محل مناسبی است ولی با توجه به اینکه در ماههای مرداد و شهریور میزان دیازینون در آب بالا می‌رود، 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.

- 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 LC₅₀(96h) of *Acipenser nudiventris*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 14(3): 49-60. (In Persian)
- Khosbavar-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 (LC₅₀ 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 LC₅₀ 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., Blacksburg, 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)
- 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.

Determination of lethal range and median lethal concentration (LC₅₀ 96h) values of diazinon on Caspian Sea common bream (*Abramis brama*)

Alireza Safahieh¹, Yaghoob Jaddi¹, Abdolali Movahedinia^{*2}, Ali Hallajian³ and Sohrab Dezhandian⁴

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.

*Corresponding author: amovahedinia@yahoo.com

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 performed in 5 treatments and 3 replicates for each treatment. Obtained data were analyzed using probit analysis with %5 confidence limit. According to the results, LC₅₀ 24h, LC₅₀ 48h, LC₅₀ 72h and LC₅₀ 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 LC₅₀ 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 LC₅₀ 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

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 (LC₅₀ 96h) of diazinon against different fish species