

## تعیین محدوده کشندگی و غلظت میانه کشنده (LC<sub>50</sub> 96h) دیازینون بر بچه ماهی سیم دریای خزر (Abramis brama)

علیرضا صفاهیه<sup>۱</sup>، یعقوب جادی<sup>۱</sup>، عبدالعلی موحدی نیا<sup>۲\*</sup>، علی حلاجیان<sup>۳</sup>، سهراب دژندیان<sup>۴</sup>

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

شناسه دیجیتال (DOI): [10.22113/jmst.2018.1506.1](https://doi.org/10.22113/jmst.2018.1506.1)

### 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 (LC<sub>50</sub> 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 (LC<sub>50</sub> 24h)، ۴۸ ساعت (LC<sub>50</sub> 48h)، ۷۲ ساعت (LC<sub>50</sub> 72h) و ۹۶ ساعت (LC<sub>50</sub> 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<sub>10</sub> 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 سالانه 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

مصوب تالاب انزلی به دریای خزر می‌نماید. ماهی سیم *Abramis brama* یکی از گونه‌های با ارزش اقتصادی است که هر ساله توسط این سازمان در مصوب تالاب انزلی ورودی به دریای خزر رها سازی می‌گردد. اثرات سم دیازینون بر ماهیان بومی کشور از جمله تاسماهی ایرانی (Padash *et al.*, 2010)، کپور معمولی (Khoshbavar-Rostami *et al.*, 2006)، ماهی کلمه (Mohammad Banaee *et al.*, 2009) و ماهی کلمه (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 (LC<sub>50</sub>96h)، تعیین حداکثر غلظت مجاز<sup>۱</sup> (MATC) و تعیین حداقل غلظت موثر<sup>۲</sup> (LOEC) سم دیازینون بر ماهی سیم می‌باشد.

## ۲. مواد و روش

<sup>۱</sup> Maximum acceptable toxicant concentration

<sup>۲</sup> Lowest Observed Effect Concentration

مشاهده جمع آوری 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 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<sub>50</sub>) در ۵ غلظت مختلف (۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۰ 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 اندازه گیری شدند (جدول ۲).

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 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 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<sub>50</sub> 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<sup>۱</sup> (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 (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

<sup>۱</sup> Organization of Economic Cooperation and Development

مقادیر LC<sub>5-95</sub> با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۴ آمده است.

جدول ۳. غلظت کشنده (LC<sub>5-95</sub>) 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 <sub>5</sub>	۷/۰۵۲	۴/۴۹۰	۸/۲۸۶
LC <sub>10</sub>	۷/۹۱۸	۵/۸۷۶	۸/۹۷۶
LC <sub>20</sub>	۸/۹۶۷	۷/۴۸۹	۹/۸۷۶
LC <sub>30</sub>	۹/۷۲۴	۸/۵۶۶	۱۰/۶۱۱
LC <sub>40</sub>	۱۰/۳۷۰	۹/۳۹۶	۱۱/۳۳۱
LC <sub>50</sub>	۱۰/۹۷۴	۱۰/۰۸۱	۱۲/۰۹۳
LC <sub>60</sub>	۱۱/۵۷۸	۱۰/۶۸۷	۱۲/۹۳۵
LC <sub>70</sub>	۱۲/۲۲۵	۱۱/۲۷۳	۱۳/۸۹۸
LC <sub>80</sub>	۱۲/۹۸۱	۱۱/۹۰۷	۱۵/۰۷۶
LC <sub>90</sub>	۱۴/۰۳۰	۱۲/۷۳۴	۱۶/۷۶۲
LC <sub>95</sub>	۱۴/۸۹۶	۱۳/۳۹۳	۱۸/۱۷۹

جدول ۴. غلظت کشنده (LC<sub>5-95</sub>) 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 <sub>5</sub>	۷/۲۸۶	۵/۳۲۶	۸/۲۴۹
LC <sub>10</sub>	۷/۶۴۰	۶/۲۸۴	۸/۷۳۳
LC <sub>20</sub>	۸/۵۸۵	۷/۴۰۶	۹/۳۵۸
LC <sub>30</sub>	۹/۲۶۶	۸/۱۶۹	۹/۸۵۴
LC <sub>40</sub>	۹/۸۴۷	۸/۷۷۳	۱۰/۳۲۶
LC <sub>50</sub>	۱۰/۳۹۱	۹/۲۸۶	۱۰/۸۱۹
LC <sub>60</sub>	۱۰/۹۳۵	۹/۷۴۸	۱۱/۳۶۳
LC <sub>70</sub>	۱۱/۵۱۷	۱۰/۱۹۳	۱۱/۹۹۴
LC <sub>80</sub>	۱۲/۱۹۸	۱۰/۶۶۷	۱۲/۷۷۹
LC <sub>90</sub>	۱۳/۱۴۲	۱۱/۲۷۵	۱۳/۹۱۸
LC <sub>95</sub>	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

همان گونه که در جدول ۲ مشاهده می شود در تیمار شاهد تلفاتی مشاهده نشد در حالی که در غلظت ۱۳ میلی گرم بر لیتر ۸۳ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر در غلظت های ۰، ۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی گرم بر لیتر پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۰، ۰، ۰، ۰، ۳، ۶ و ۱۵ عدد به دست آمد. بر اساس این نتایج میزان غلظت کشنده (LC<sub>5-95</sub>) دیازینون بر ماهی سیم در طی زمان ۲۴ ساعت به دست آمد. غلظت کشنده ۲۴ ساعته (LC<sub>50 24h</sub>) 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) می باشد. سایر مقادیر LC (LC<sub>5-95</sub>) با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۳ آمده است.

جدول ۲. میزان مرگ و میر بچه ماهی سیم در تست سمیت حاد (LC<sub>50 96h</sub>) دیازینون (تعداد ماهی در هر تیمار = ۱۸ عدد)

غلظت (mg/l)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
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 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 غلظت های ۰، ۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۰، ۰، ۰، ۳، ۹ و ۱۸ عدد به دست آمد. بر این اساس میزان غلظت کشنده ۴۸ ساعته (LC<sub>50 48h</sub>) دیازینون با حدود اطمینان ۹۵ درصد ۳/۹۱ میلی گرم بر لیتر (حد پایینی برابر با ۹/۲۸۶ و حد بالایی برابر با ۱۰/۸۱۹)، می باشد که میزان LC<sub>50 48h</sub> نسبت به میزان LC<sub>50 24h</sub> کاهش داشته است. سایر

مقادیر LC<sub>5-95</sub> با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۶ 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 می‌یابد. میزان LC<sub>50</sub> دیازینون بر ماهی سیم نشان می‌دهد که دیازینون در یک محدوده کم بر بچه ماهیان سیم تأثیر گذار می‌باشد و در نمودار Probit این موضوع نشان داده شده است (شکل ۱). با ایجاد همبستگی بین میزان LC<sub>50</sub> در زمان‌های 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<sub>50</sub> و زمان می‌توان از این معادله برای پیش بینی LC<sub>50</sub> در زمان‌های مختلف استفاده کرد.

جدول ۶. غلظت کشنده (LC<sub>5-95</sub>) دیازینون بر روی ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۹۶ ساعت

LC	غلظت کشنده (mg/l)	غلظت کشنده ۹۵٪	
		حد پایین (mg/l)	حد بالا (mg/l)
LC <sub>5</sub>	۱/۶۹۰	-۱/۰۴۶	۳/۲۵۰
LC <sub>10</sub>	۲/۶۳۲	۰/۶۳۶	۴/۲۲۸
LC <sub>20</sub>	۴/۲۴۰	۲/۶۲۴	۵/۴۶۱
LC <sub>30</sub>	۵/۳۹۹	۳/۹۹۷	۶/۴۱۲
LC <sub>40</sub>	۶/۳۹۰	۵/۱۰۳	۷/۲۹۰
LC <sub>50</sub>	۷/۳۱۶	۶/۰۶۲	۸/۱۸۶
LC <sub>60</sub>	۸/۲۴۲	۶/۹۴۲	۹/۱۶۱
LC <sub>70</sub>	۹/۲۳۳	۷/۸۰۷	۱۰/۲۸۰
LC <sub>80</sub>	۱۰/۳۹۲	۸/۷۴۷	۱۱/۶۶۴
LC <sub>90</sub>	۱۲	۹/۹۷۲	۱۳/۶۵۹
LC <sub>95</sub>	۱۲/۵۳۹	۱۰/۹۴۷	۱۵/۳۴۵

با ایجاد همبستگی بین زمان‌های در معرض قرارگیری ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت با دیازینون و غلظت کشندگی میانه حاد LC<sub>50</sub> معادله خط برابر با  $y = -0.051x + 12.512$  بدست می‌آید. از آنجا که میزان R در این

۱۰۰ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر در غلظت‌های ۰، ۰، 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 ۷۲ ساعته (LC<sub>50</sub> 72h) دیازینون با حدود اطمینان ۹۵ درصد (حد پایینی برابر با ۷/۸۹۰ و حد بالایی برابر با ۹/۷۵۴)، ۹/۱۳۴ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. همانگونه که ملاحظه می‌گردد کلیه غلظت‌های کشنده در مدت زمان ۷۲ ساعت نسبت به ۲۴ و ۴۸ ساعت کاهش واضحی را نشان می‌دهد. سایر مقادیر LC<sub>5-95</sub> با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۵ آمده است.

جدول ۵. غلظت کشنده (LC<sub>5-95</sub>) دیازینون بر روی ماهی سیم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۷۲ ساعت

LC	غلظت کشنده (mg/l)	حدود اطمینان ۹۵٪	
		حد پایین (mg/l)	حد بالا (mg/l)
LC <sub>5</sub>	۴/۶۱۶	۲/۳۱۷	۵/۸۸۱
LC <sub>10</sub>	۵/۲۷۶	۳/۶۵۲	۶/۶۳۳
LC <sub>20</sub>	۶/۶۰۰	۵/۲۲۰	۷/۵۹۰
LC <sub>30</sub>	۷/۵۵۵	۶/۲۹۵	۸/۳۳۸
LC <sub>40</sub>	۸/۳۷۱	۷/۱۵۲	۹/۰۳۷
LC <sub>50</sub>	۹/۱۳۴	۷/۸۹۰	۹/۷۵۴
LC <sub>60</sub>	۹/۸۹۶	۸/۵۶۴	۱۰/۵۳۵
LC <sub>70</sub>	۱۰/۷۱۲	۹/۲۲۴	۱۱/۴۳۱
LC <sub>80</sub>	۱۱/۶۶۷	۹/۹۴۱	۱۲/۵۳۶
LC <sub>90</sub>	۱۲/۹۹۱	۱۰/۸۷۵	۱۴/۱۲۸
LC <sub>95</sub>	۱۲/۹۷۰	۱۱/۶۱۶	۱۵/۴۷۳

در غلظت‌های ۰، ۰، ۳، ۵/۵، ۸، ۱۰/۵ و ۱۳ میلی‌گرم بر لیتر میزان مرگ و میر پس از ۹۶ ساعت به ترتیب ۰، 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<sub>50</sub> 96h) دیازینون با حدود اطمینان ۹۵ درصد (حد پایینی برابر با ۶/۰۶۲ و حد بالایی برابر با ۸/۱۸۶)، ۷/۳۱۶ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. سایر

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 آبزبان 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، ۷/۳۱۶ mg/l بدست آمد.

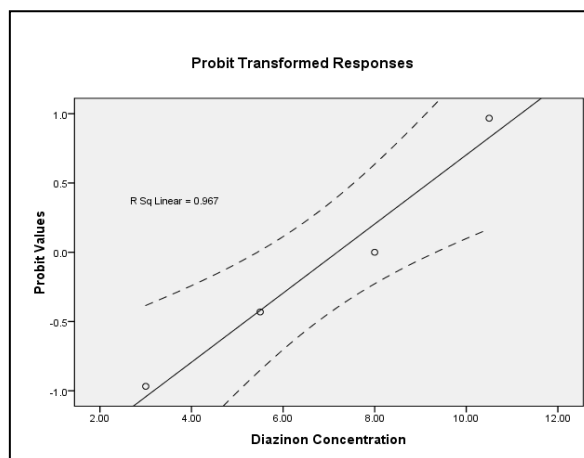
با توجه به اینکه درجه بندی سمیت آفت‌کش‌ها با استفاده از میزان  $LC_{50}$  96h مشخص می شود، از این نظر آفت‌کش دیازینون از نظر سمیت برای بچه ماهی سیم دارای سمیت متوسط محسوب می گردد (Louis *et al.*, 1996) (جدول ۷).

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

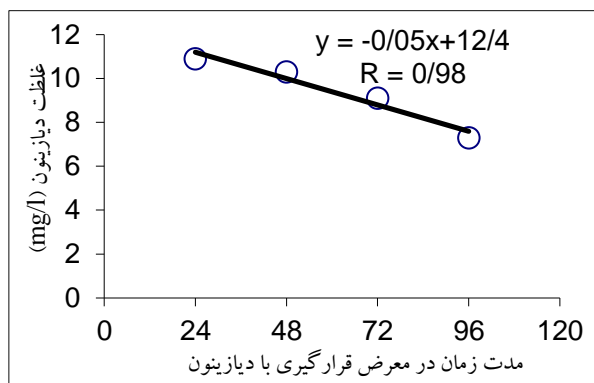
درجه سمیت	$LC_{50}$ (mg/l)
نسبتاً سمی	۱۰۰
کمی سمی	۱۰-۱۰۰
متوسط سمی	۱-۱۰
خیلی سمی	۰/۱-۱
شدیدا سمی	۰/۱

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

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



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 آبزبان 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

میکروگرم بر لیتر بود که برای بچه ماهی سیم مشکلی ایجاد نمی کند. با توجه به اینکه بچه ماهی سیم برای رشد ۱-۲ 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 اشکم 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 رها سازی بچه ماهیان سیم مناسب نمی باشد.

(Giulio and Hinton, 2008). این غلظت که غلظت غیرموثر (NOEC) نیز نامیده می شود برای ماهی سیم، برابر با  $0.73 \text{ mg/l}$  بدست آمد.

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

$LC_{50} 96 \text{ h}$  را  $0/01$  سطح ایمن و مطمئن برای آبزیان توصیه می کنند (CWQC, 1972) که در این مطالعه برابر با  $0/07$  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،  $0/4$

جدول ۸. غلظت گزارش شده دیازینون در برخی رودخانه‌های شمال ایران

منبع	غلظت دیازینون	نام رودخانه
Khara <i>et al.</i> , 2008	$0/29$ میکروگرم بر لیتر	رودخانه اشکم
Taghavi <i>et al.</i> , 2008	$0/004$ میکروگرم بر لیتر	رودخانه سفید رود
Shayeghi <i>et al.</i> , 2008	$22/4$ میلی گرم بر لیتر	رودخانه قره سو
Shayeghi <i>et al.</i> , 2008	$6/74$ میلی گرم بر لیتر	رودخانه گرگان رود

با توجه به نتایج  $LC_{50}$  96h، سمیت دیازینون بر روی ماهی سیم با افزایش غلظت و زمان مواجهه افزایش می‌یابد 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 می‌باشد.

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 ۴/۳۸ mg/l و ۲/۵۴ (Pajand et al., 2003) و بر روی ماهی شیپ ۰/۳۶ mg/l (Mohammad Nejad et al., 2008) بدست آمده است. Mohammad Nejad Shamoushaki و Shahkar در سال ۲۰۱۰،  $LC_{50}$  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 قزل‌آلای 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 < ازون برون < قره برون < 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 آفت کش، 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

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  $LC_{50}$  96h دیازینون برای گونه‌های مختلف

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

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 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.

### 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 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 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. 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<sub>50</sub>(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 (LC<sub>50</sub> 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<sub>50</sub> 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 Assessment, 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. 12<sup>th</sup> National conference on environmental health. Shahid Beheshti University, Tehran. 1348-1353. (In Persian)
- Vieira, L.R. Gravato, C.Soaes 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 (LC<sub>50</sub> 96h) values of diazinon on Caspian Sea common bream (*Abramis brama*)

Safahieh, Alireza<sup>1</sup>. Jaddi, Yaghoob<sup>1</sup>. Movahedinia, Abdolali \*<sup>2</sup>. Hallajian, Ali<sup>3</sup> and Dezhandian, Sohrab<sup>4</sup>

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 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, LC<sub>50</sub> 24h, LC<sub>50</sub> 48h, LC<sub>50</sub> 72h and LC<sub>50</sub> 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<sub>50</sub> 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<sub>50</sub> 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 (LC<sub>50</sub> 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 (LC<sub>50</sub> 96h) of diazinon against different fish species