تعیین محدوده کشندگی و غلظت میانه کشنده ($96h\ LC_{50}$) علف کش پاراکوات بر بچه ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*)

یعقوب جادی[۱]*؛ علیرضا صفاهیه[۲]؛ رضا سلیقه زاده[۳]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی دریا گرایش آلودگی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر .
۲- عضو هیئت علمی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، گروه زیست شناسی دریا، صندوق پستی: ۶۶۹.
۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته شیلات گرایش تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر.

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: دی۱۳۹۲

چکیده

در این تحقیق سمیت حاد علف کش پاراکوات بر بچه ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*) مطالعه گردید. آزمایش سمیت حاد به صورت ساکن و بر اساس روش استاندارد O.E.C.D به مدت ۹۶ ساعت انجام و پارامترهای موثر فیزیکوشیمیایی آب شامل pH، اکسیژن محلول و درجه حرارت کنترل گردید. آزمایشات ابتدایی به منظور یافتن محدوده کشندگی با رهاسازی ۶ عدد بچه ماهی به داخل آکواریوم هایی که به حجم ۱۵ لیتر آبگیری شده بودند انجام شد و بعد از به دست آوردن محدوده کشندگی، تیمارهای نهایی با ۵ تیمار و ۳ تکرار برای تعیین غلظت کشنده (LC_{50} 96h) انجام پذیرفت. داده های حاصل با استفاده از روش آماری Probit در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. غلظت های کشندگی حاد ۲۴ ساعت ($24h\ LC_{50}$)، ۴۸ ساعت ($48h\ LC_{50}$)، ۷۲ ساعت ($72h\ LC_{50}$) و ۹۶ ساعت ($96h\ LC_{50}$) پاراکوات بر بچه ماهی بنی به ترتیب ۶/۸۴، ۵/۲۹، ۲/۵۷ و ۱/۴۹ میلی گرم بر لیتر به دست آمد. حداکثر غلظت مجاز سمیت (MATC) پاراکوات بر بچه ماهی بنی، ۰/۱۴ میلی گرم بر لیتر و حداقل غلظت موثر (LOEC) این سم که به $96h\ LC_{10}$ اطلاق می گردد، ۱/۰۵ میلی گرم بر لیتر بدست آمد. علاوه بر این محدوده کشندگی پاراکوات بر ماهی بنی در یک طیف محدود می باشد.

کلمات کلیدی: سمیت حاد، پاراکوات، غلظت کشنده، ماهی بنی.

*نویسنده مسئول

۱.مقدمه

امروزه یکی از مهمترین دغدغه‌های زیست‌محیطی مسئله افزایش مواد آلاینده در محیط‌زیست به خصوص آب‌ها می باشد که به صورت فاضلاب، نشت نفت، پساب‌های مواد آلی و معدنی کارخانجات، مواد شیمیایی گوناگون اعم از آفت کش ها و - فلزات موجب آلودگی آب‌های جهان به اشکال مختلف می شوند. این مواد سمی به طرق مختلف وارد آب شده و آن را آلوده می‌کنند، این در حالی است که منابع آب محدود ولی رشد جمعیت به طور تصاعدی در حال افزایش است و همین منابع محدود به وسیله آلوده کننده‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک آلوده می‌گردد. با توجه به رشد سریع صنایع، کاربرد کودهای شیمیایی و استفاده از آفت کش های مختلف کیفیت منابع آبی به سرعت در حال کاهش است (۲۱). یکی از عوامل مهم آلودگی اکوسیستم های آبی سموم کشاورزی هستند، که برای مقابله با آفات، گیاهان هرز و بیماری های کشاورزی استفاده می شوند و دارای اثرات سوئی بر محیط زیست هستند (۲۲). این آفت کش ها در عرض چند هفته پس از استفاده در فعالیت های کشاورزی از طریق روان آب های سطحی و زهکشی زیر سطحی، وارد اکوسیستم های آبی می شوند. ۴۰٪ از تولیدات آفت کش ها در جهان مربوط به علف کش ها می باشد. علف کش ها عموما توسط کشاورزان برای کنترل علف های هرز و از بین بردن گیاهان آبزی در اطراف رودخانه ها، دریاچه ها و مخازن آب استفاده می شوند، که عموما دارای اثرات مضر بر سلامتی آبزیان هستند. علف کش ها عموما توسط کشاورزان برای کنترل علف های هرز و از بین بردن گیاهان آبزی در اطراف رودخانه ها، دریاچه ها و مخازن آب استفاده می شوند، که عموما دارای اثرات مضر بر سلامتی آبزیان هستند. پاراکوات (۱، ۱-دی متیل ۱، ۴، ۴- بی پریدینیوم کلرید)، علف کش مورد استفاده در مناطق گرمسیری برای نابودی علف های هرز است و بعد از استفاده وارد اکوسیستم های آبی می شود علف کش پاراکوات در مناطق مختلف ایران با شرایط آب و هوایی متفاوت و فعالیت های کشاورزی مختلف مصرف میگردد و میزان پیشنهادی آن برای مزارع نیشکر ۳ لیتر در هکتار است. پاراکوات استفاده شده در مزارع کشاورزی نیشکر می تواند به هنگام بارش باران همراه رواناب ها وارد آب های جاری، رودخانه ها و نهایتاً دریا گردد (۱۹).

پاراکوات دارای اثرات سمی بر ماهی بنی با نام علمی *Mesopotamichthys sharpeyi* از خانواده کپور ماهیان و از جنس barbinae می باشد. ماهی بنی جزء ماهیان تجاری تالاب های خوزستان می باشد که به دلیل رشد نسبتا مناسب، تحمل شرایط نامساعد محیطی با مقاومت بالا در آب های راکد و گرم با میزان اکسیژن کم و همچنین ارزش اقتصادی بالا برای پرورش در بین ماهیان بومی از اهمیت زیادی برخوردار است (۱). تالاب شادگان با ورود زهاب واحدهای کشت و صنعت توسعه نیشکر و صنایع جانبی و نیز پساب سموم این واحدها مود تهدید قرار گرفته است. در سال های اخیر تحت تاثیر عوامل غیر طبیعی و ورود آلاینده ها از جمله پساب های کشاورزی توام با انواع سموم دفع آفات نباتی، آسیب دیده و دستخوش تغییراتی است که حیات وحش تالاب را تهدید می کند (۵). در انجام تست سمیت مواد شیمیایی در آبزیان، تعیین محدوده کشندگی سم اولین مرحله از مطالعات توکسیکولوژی است که به بررسی غلظت کشنده میانگین یا LC_{50} مواد شیمیایی محلول در آب می پردازد (۲۴). LC_{50} یک مفهوم آماری است که بیانگر غلظتی از آلاینده است که موجب مرگ و میر ۵۰٪ از جمعیت یک گونه می گردد. مرگ و میر و زنده ماندن دربازه زمانی مشخص از اساسی ترین مفاهیم تست های کوتاه مدت یا حاد هستند (۱۵). در مطالعه سمیت حاد دو متغیر حائز اهمیت هستند، یکی میزان

پاسخ موجود زنده به سم که به صورت مرگ و میر اندازه گیری و دیگری غلظت سم مورد استفاده یا دوزهای مختلف (۱۶).

از مطالعات دیگر در زمینه سمیت حاد می توان به تهرانی فرد و همکاران در سال ۱۳۸۰، با مطالعه سمیت حاد آفت کش دیازینون بر روی ماهی سفید، میزان LC50 96h را ۰/۳۴ میلی گرم بر لیتر بدست آوردند (۴). 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 ppm ۴/۳۸ و ۲/۵۴ (۳) و بر روی ماهی شیب ۰/۳۶ppm (۹) بدست آمد. شریف پور و همکاران در سال۸۲، LC_{50} 96h سم آندوسولفان بر روی فیل ماهی را ۳ ۰/۰۰۰ میلی گرم در لیتر بدست آوردند. از آنجا که در مورد سمیت حاد علف کش پاراکوات بر ماهی بنی مطالعه ای صورت نگرفته، هدف از انجام این مطالعه، مشخص نمودن محدوده کشندگی (Range finding test)، تعیین غلظت کشنده (LC_{50} 96h)، تعیین حداکثر غلظت مجاز (MATC)[۱]، تعیین حداقل غلظت موثر (LOEC)[۲] و تعیین سطح ایمن[۳] (SL) علف کش پاراکوات بر بچه ماهی بنی می باشد.

۲. مواد و روش ها

برای انجام این مطالعه ماهیان انگشت قد بنی (۹/۳۶±۰/۵۶) از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی شهید ملکی اهواز در فصل زمستان ۱۳۹۰ تهیه و به آزمایشگاه شیلات دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل گردید. بچه ماهیان جهت سازگارشدن با شرایط محیط به مدت یک هفته در وان های آزمایشگاه شیلات نگهداری شدند. در این مدت ضمن هوادهی مناسب، غذادهی توسط پلیت (روزانه به ازای ۰/۰۲ وزن بدن) صورت گرفت. در این مطالعه از علف کش پاراکوات امولسیون ۲۰ درصد، ساخت شرکت پرتونار ایران از مرکز فروش سموم دفع آفات نباتی شهرستان اهواز تهیه شد و در آزمایش تست سمیت مورد استفاده قرار گرفت. از آنجایی که غلظت کشنده (96h LC_{50}) علف کش پاراکوات بر روی این ماهی معلوم نبود، برای یافتن محدوده کشندگی پاراکوات بر روی ماهی بنی، ابتدا یک تست اولیه (Range finding test) انجام شد (۱۸) که محدوده کشندگی این سم بر روی ماهی بنی بین mg/l ۸-۱ بدست آمد. تست سمیت حاد به روش ساکن (Static) و بر اساس دستورالعمل استاندارد O.E.C.D[۴] به مدت ۹۶ ساعت بر روی ماهی بنی انجام شد. تغذیه بچه ماهیان ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش سمیت حاد متوقف شد (۱۱). پارامترهای موثر فیزیکوشیمیایی آب شامل pH، اکسیژن محلول و دما به طور روزانه ثبت گردید (جدول ۱). بعد از تعیین محدوده کشندگی آزمایش نهایی سمیت حاد علف کش پاراکوات بر ماهی بنی در ۴ تیمار (۱، ۲، ۴ و ۸ میلی گرم بر لیتر) به همراه شاهد و در ۳ تکرار انجام گردید. در هر تیمار ۶ عدد ماهی درون آکواریم های ۱۵ لیتری 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 بمحض مشاهده جمع آوری و تعداد تلفات ماهی ها در زمان های ۲۴ ساعت، ۴۸ساعت، ۷۲ساعت و ۹۶ ساعت محاسبه و ثبت گردید. پس از اتمام آزمایش داده های حاصل از انجام آزمایش تست سمیت حاد با روش آماری Probit Analysis با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

۳. نتایج

[۱] *Maximum acceptable toxicant concentration*
[۲] Lowest Observed Effect Concentration
[۳] Safe Level
[۴] Organization of Economic Cooperation and Development

پارامترهای کیفی آب شامل اکسیژن، درجه حرارت و pH در طی دوره آزمایش به صورت روزانه اندازه گیری و ثبت شدند، که نتایج آنها در جدول ۱ زیر آمده است.

جدول ۱- مقادیر پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مورد استفاده طی انجام آزمایش ها

پارامتر	مقدار
دما (°C)	۲۴/۱±۰/۲۸
pH	۷/۳۸±۰/۰۲
اکسیژن محلول (mg/l)	۷/۴۲±۰/۰۶

در طی تست تعیین محدوده کشندگی پاراکوات بر روی بچه ماهی بنی در غلظت های ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر، کل بچه ماهیان بنی (۶ عدد) تلفات داشتند (جدول ۲). بر اساس نتایج بدست آمده محدوده کشندگی پاراکوات بر روی این ماهی ۸- ۱ میلی گرم بر لیتر می باشد. در طی مدت زمان ۲۴ الی ۹۶ ساعت با افزایش غلظت پاراکوات مرگ و میر بچه ماهی بنی افزایش پیدا کرد. مرگ و میر بچه ماهی بنی در غلظت های مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده اند.

جدول۲- میزان مرگ و میر بچه ماهی بنی در تست تعیین محدوده کشندگی بچه ماهی بنی (تعداد ماهی در هر تیمار = ۶ عدد)

غلظت پاراکوات (mg/l)	تعداد مرگ و میر بچه ماهی بنی در زمان های مختلف			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
شاهد	۰	۰	۰	۰
۲	۰	۱	۳	۶
۴	۱	۲	۵	۶
۶	۳	۴	۵	۶
۸	۴	۵	۶	۶
۱۰	۶	۶	۶	۶

پس از تعیین محدوده کشندگی پاراکوات بر بچه ماهی بنی، تست سمیت حاد (LC_{50}) در ۴ غلظت مختلف (۱، ۲، ۴ و ۸ میلی گرم بر لیتر) به همراه شاهد و در ۳ تکرار انجام گردید و نتایج مرگ و میر در طی زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت شمارش شد (جدول ۳). میزان مرگ و میر در غلظت های ۰، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی گرم بر لیتر پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۰، ۰، ۰، ۳ و ۱۲ عدد به دست آمد.

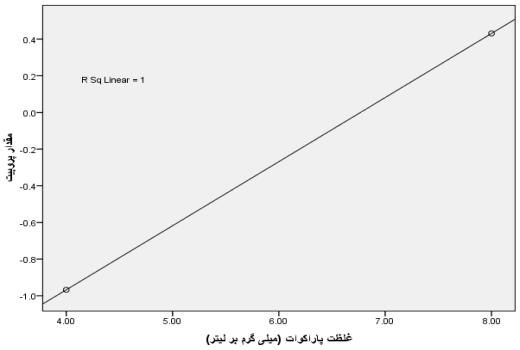
جدول۳- میزان مرگ و میر بچه ماهی بنی در تست سمیت حاد ($96h\ LC_{50}$) پاراکوات (تعداد ماهی در هر تیمار = ۱۸ عدد)

غلظت پاراکوات (mg/l)	تعداد مرگ و میر بچه ماهی بنی در زمان های مختلف			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
شاهد	۰	۰	۰	۰
۱	۰	۰	۰	۰
۲	۰	۳	۹	۱۸
۴	۳	۶	۱۵	۱۸
۸	۱۲	۱۵	۱۸	۱۸

بر اساس نتایج جدول ۳ میزان غلظت کشنده (LC_{5-95}) پاراکوات بر ماهی بنی در طی زمان ۲۴ ساعت به دست آمد. غلظت کشنده ۲۴ ساعته ($24h\ LC_{50}$) پاراکوات بر روی ماهی بنی با حدود اطمینان ۹۵ درصد ۶/۸۴ میلی گرم بر لیتر (حد پایینی برابر با ۵/۸۳ و حد بالایی برابر با ۸/۲۸) بدست آمد. پس از گذشت ۴۸ ساعت در تیمار شاهد هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشد ولی در تیمار ۸ میلی گرم بر لیتر ۸۳ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر پس از ۴۸ ساعت در غلظت های ۰، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۰، ۰، ۳، ۶ و ۱۵ عدد به دست آمد. بر این اساس میزان غلظت کشنده ۴۸ ساعته ($48h\ LC_{50}$) پاراکوات با حدود اطمینان ۹۵ درصد ۵/۲۹ میلی گرم بر لیتر (حد پایینی برابر با ۴/۳۸ و حد بالایی برابر با ۶/۵۴)، بدست آمد که میزان $48h\ LC_{50}$ نسبت به میزان $24h\ LC_{50}$ کاهش داشته است. در تیمار شاهد پس از مدت زمان ۷۲ ساعت هیچ تلفاتی مشاهده نشد در حالی که در غلظت ۸ میلی گرم بر لیتر ۱۰۰ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر در غلظت های ۰، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۰، ۰، ۹، ۱۵ و ۱۸ عدد به دست آمد. میزان غلظت کشنده ۷۲ ساعته ($72h\ LC_{50}$) پاراکوات با حدود اطمینان ۹۵ درصد (حد پایینی برابر با ۱/۲۳ و حد بالایی برابر با ۵/۳۱)، ۲/۵۷ میلی گرم بر لیتر بدست آمد. همانگونه که ملاحظه می گردد کلیه غلظت های کشنده در مدت زمان ۷۲ ساعت نسبت به ۲۴ و ۴۸ ساعت کاهش واضحی را نشان داد. در غلظت های ۰، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی گرم بر لیتر میزان مرگ و میر پس از ۹۶ ساعت به ترتیب ۰، ۰، ۱۸، ۱۸ و ۱۸ عدد به دست آمد و در تیمار شاهد هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشد. میزان غلظت کشنده ۹۶ ساعته ($96h\ LC_{50}$) پاراکوات با حدود اطمینان ۹۵ درصد (حد پایینی برابر با ۱/۲۳ و حد بالایی برابر با ۱/۷۴)، ۱/۴۹ میلی گرم بر لیتر بدست آمد.

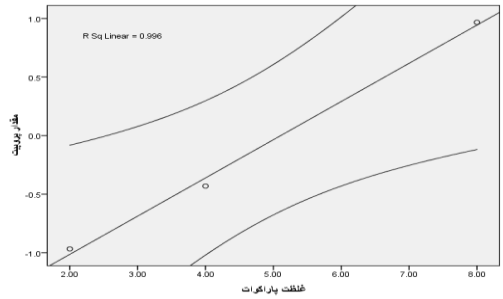
تاثیر سم بر روی مرگ و میر ماهیان در زمان های مختلف متفاوت بوده به طوری که مرگ و میر بچه ماهیان با افزایش زمان کاهش یافت. با گذشت مدت زمان ۲۴ ساعت از در معرض گیری بچه ماهی بنی با علف کش پاراکوات، بین مقدار پروبیت و غلظت علف کش پاراکوات (بر حسب میلی گرم بر لیتر) با روش آماری Probit Analysis با سطح اطمینان ۹۵ همبستگی ایجاد شد (شکل ۱). با توجه به شکل ۱ میزان ضریب همبستگی (مقدار r) برابر یک می باشد که نشان داد که با افزایش غلظت سم در غلظت های مختلف افزایش آشکاری در

مرگ و میر بچه ماهی بنی دیده شد و این امر نشان دهنده یک رابطه مستقیم بین مرگ و میر بچه ماهی بنی و افزایش غلظت پاراکوات بود.



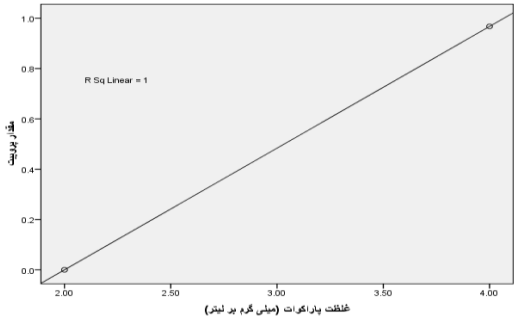
شکل ۱- پروبیت غلظت کشنده ۲۴ ساعته ($24h\ LC_{50}$) پارا کوات بر بچه ماهی بنی در سطح اطمینان ۹۵ درصد

در شکل ۲ بین مقدار پروبیت و غلظت علف کش پاراکوات (بر حسب میلی گرم بر لیتر) با گذشت مدت زمان ۴۸ ساعت از در معرض گیری بچه ماهی بنی با علف کش پاراکوات، از طریق روش آماری Probit Analysis با سطح اطمینان ۹۵ همبستگی ایجاد شد. با توجه به این شکل میزان ضریب همبستگی (مقدار r) برابر ۰/۹۹ بود که نشان داد که با افزایش غلظت سم در غلظت های مختلف افزایش آشکاری در مرگ و میر بچه ماهی بنی دیده شد و این امر نشان دهنده یک رابطه مستقیم بین مرگ و میر بچه ماهی بنی و افزایش غلظت پاراکوات بود. خطوط کمانی اطراف خط مستقیم نشان دهنده این موضوع است که علف کش پاراکوات در یک محدوده کم بر بچه ماهیان بنی تأثیر گذار است و در شکل پروبیت (شکل ۲) این موضوع نشان داده شد.



شکل ۲- پروبیت غلظت کشنده ۴۸ ساعته (48h) LC_{50}پاراکوات بر بچه ماهی بنی در سطح اطمینان ۹۵ درصد

با گذشت مدت زمان ۷۲ ساعت از در معرض گیری بچه ماهی بنی با علف کش پاراکوات، بین مقدار پروبیت و غلظت علف کش پاراکوات (بر حسب میلی گرم بر لیتر) با روش آماری Probit Analysis با سطح اطمینان ۹۵ همبستگی ایجاد شد (شکل ۳). با توجه به شکل ۳ میزان ضریب همبستگی (مقدار r) برابر یک بود که نشان داد که با افزایش غلظت سم در غلظت های مختلف افزایش آشکاری در مرگ و میر بچه ماهی بنی دیده شد و این امر نشان دهنده یک رابطه مستقیم بین مرگ و میر بچه ماهی بنی و افزایش غلظت پاراکوات است.

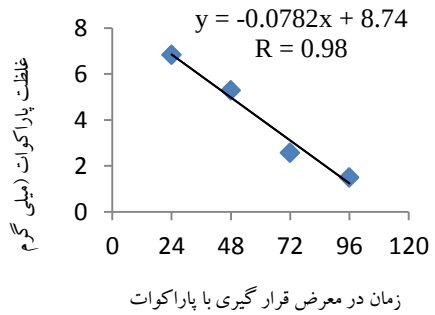


شکل ۳- پروبیت غلظت میانه کشنده ۷۲ ساعته (72h) LC_{50} پاراکوات بر بچه ماهی بنی در سطح اطمینان ۹۵ درصد

با توجه به اینکه پس از گذشت ۹۶ ساعت از در معرض قرار گیری با پاراکوات کل بچه ماهیان بنی (۱۸ عدد) در غلظت های

۲، ۴ و ۸ میلی گرم بر لیتر تلف شدند، نمودار پروبیت و ضریب همبستگی در غلظت میانه کشنده ۹۶ ساعته ($96h\ LC_{50}$) شکل نگرفت.

با ایجاد همبستگی بین زمان های در معرض قرار گیری ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بچه ماهیان بنی با پاراکوات و غلظت کشندگی میانه حاد در این زمان ها ($96h\ LC_{50}$-$72h$ -$24h\ LC_{50}$ LC_{50}-$48h\ LC_{50}$) معادله خط $y=-0.051x+12.512$ به دست آمد و میزان همبستگی ۹۸ 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. (شکل ۴).



شکل ۴- همبستگی بین زمان در معرض قرار گیری پاراکوات با غلظت های مختلف

۴. بحث و نتیجه گیری

میزان سمیت اغلب آفت کش ها در محیط آبی تغییر می کند و این میزان تغییر بستگی به شرایط محیط آبی دارد به طوری که آفت کش ها پس از ورود به منابع آبی دارای سمیتی شبیه یا کمتر و یا بیشتر از ترکیب اصلی خود دارند (۱۷). سمیت حاد یک واکنش کشنده و یا پاسخ مرگ آوری است که به دلیل تماس کوتاه مدت با یک ماده سمی حادث می گردد. در واقع هدف تست های سمیت حاد، تعیین غلظت کشنده میانه (LC_{50}) می باشد که غلظتی از یک ماده آلاینده است که سبب مرگ و میر در ۵۰ درصد از جمعیت موجودات می شود. در هنگام انجام تست سمیت حاد، کنترل کردن شرایط آزمایش از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. عوامل متعددی در نتایج آزمایش های سمیت بر روی آبزیان تاثیر دارند که می توان به ویژگی های آب و خصوصیات زیستی گونه های مورد آزمایش اشاره کرد. به هنگام اجرای آزمایش های سمیت، از روش های استاندارد شده برای به حداقل رساندن متغیرهای تصادفی استفاده نمود و شرایط آزمایش را باید تحت کنترل قرار داد (۱۰). اطمینان از اینکه همه موجودات مورد آزمایش از یک گروه سالم بوده و توزیع آنها به صورت تصادفی در هنگام انجام آزمایش می باشد، 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 بافت های ماهی نیز باعث افزایش تاثیر سو آن بر بدن ماهی و در مدت ۹۶ ساعت انجام آزمایش ها موجب پایین آمدن LC_{50} می شود (۱۳). بر اساس نتایج جدول ۷ میزان غلظت کشنده پاراکوات در طی ۹۶ ساعت برای ۵۰ درصد ($96h\ LC_{50}$) از بچه ماهیان بنی، ۱/۴۹ میلی گرم بر لیتر بدست آمد. با توجه به اینکه درجه بندی سمیت علف کش ها با استفاده از میزان $96h\ LC_{50}$ مشخص می شود، از این نظر علف کش پاراکوات از نظر سمیت برای بچه ماهی بنی دارای سمیت متوسط محسوب می گردد (۲۰) (جدول ۴).

جدول ۴-دسته بندی سطوح سمیت علف کش ها (۲۰)

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 (MATC)[1] غلظتی معادل ۰/۱ غلظت کشندگی حاد ۹۶ ساعته ($96h\ LC_{50}$) می باشد (۱۴). این غلظت که غلظت غیر موثر نیز نامیده می شود برای ماهی بنی، برابر با ۰/۱۴ میلی گرم بر لیتر بدست آمد. کمترین غلظت موثر سم پاراکوات بر بچه ماهیان بنی (LOEC)[2] معادل $96h\ LC_{10}$ (غلظتی از سم که در مدت زمان ۹۶ ساعت ۱۰٪ از ماهیان را می کشد) می باشد 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 (۱۴). این غلظت برای سم پاراکوات بر بچه ماهیان بنی معادل ۱/۰۵ میلی گرم بر لیتر تعیین گردید. $96h\ LC_{50}$ ۰/۰۱ را سطح ایمن و مطمئن برای آبزیان توصیه می کنند (۱۲) که در این مطالعه برابر با ۰/۰۱۴ میلی گرم بر لیتر می باشد. نتایج به دست آمده برای مقدار $96h\ LC_{50}$ نشان می دهد که میزان LC_{50} با افزایش زمان آزمایش کاهش یافته است. به عبارت دیگر هر چقدر زمان آزمایش افزایش می یابد 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. علت این امر را می توان چنین ذکر کرد که یکی از عوامل تاثیرگذار 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 تاثیرگذاری روی ماهی دارد. علاوه بر این در مواردی تجمع سم در بافت های ماهی نیز باعث ایجاد غلظت های فزاینده ای می شود که خود به مرور زمان موجب پایین آمدن LC_{50} است (۷). از مطالعاتی که در زمینه سمیت حاد علف کش ها بر آبزیان انجام شده می توان به مطالعه Tilak و همکاران اشاره کرد که $48h\ LC_{50}$ علف کش ارگانوکلره بوتاکلر را بر ماهی *Channa punctata*، ppb ۲۴۷/۴۶ به دست آوردند. میزان $96h\ LC_{50}$ سم سوین بر بچه ماهیان کپور *(Cyprinus carpio)* ۱۴/۱۸۷ میلی گرم در لیتر به دست آمد (۶). همچنین حداکثر غلظت مجاز سم سوین در محیط های طبیعی بر گونه کپور ۱/۴۱۸۷ میلی گرم در لیتر محاسبه شد که بر اساس طبقه بندی جدول سطوح سمیت آفت کش ها، سم سوین برای گونه کپور جزو سموم سمیت متوسط طبقه بندی شد. در بررسی ضایعات ناشی از این سم، ماهیان مسموم از نظر بالینی علایمی از قبیل شنای غیر عادی، چرخش، تند شدن حرکات تنفسی و افتادن به کف وان را از خود نشان دادند. همچنین ماهیان مسموم دچار انحنا ستون فقرات و رنگ پریدگی آبشش شدند (۶). در مطالعه محمد نژاد شموشکی و شاهکار میزان غلظت کشنده سم کلرپیریفوس در طی ۹۶ ساعت برای ۵۰ درصد از بچه ماهیان ۳-۱ گرمی کلمه، ۰/۰۱۶ میلی گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز (MAC value) این سم که به عبارتی غلظت غیر موثر (NOEC) نیز خوانده می شود، ۰/ ۰۰ ۱۶ میلی گرم در لیتر می باشد. همچنین حداقل غلظت موثر (LOEC) این سم که به $96h\ LC_{10}$ اطلاق می گردد و ۴ ۰/۰۰ میلی گرم در لیتر تعیین گردید (۸). بر اساس نتایج به دست آمده میزان غلظت کشنده سم دیازینون در طی ۹۶ ساعت برای ۵۰ درصد از بچه ماهیان ۳-۱ گرمی کلمه ۱۲/۸۱ میلی گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز (MAC value) این سم که به عبارتی غلظت غیر موثر (NOEC) نیز خوانده می شود ۱/۲۸۱ میلی گرم در لیتر می باشد. همچنین حداقل غلظت موثر (LOEC) این سم که به $96h\ LC_{10}$ اطلاق می گردد، ۹/۱۸ میلی گرم در لیتر تعیین گردید. با توجه به این مطالعه سم کلرپیریفوس دارای سمیت خیلی زیاد و سم دیازینون از نظر سمیت برای بچه ماهی کلمه دارای سمیت کم محسوب می

[1] *Maximum acceptable toxicant concentration*
[2] Lowest Observed Effect Concentration

گردد. همچنین حالات و رفتار بچه ماهیان در برابر غلظت های مختلف سم نیز در طول مدت آزمایش بررسی گردید، به گونه ای که در آزمایش با غلظت های بالای این سموم بچه ماهیان کلمه سریعا عکس العمل نشان داده و با حرکات تند و سریع دائما در جنبش بوده تا جایی که خسته شده و بی حال در کف آکواریوم می افتادند. در حالی که در غلظت های پایین بچه ماهیان در ساعات اولیه عکس العمل محسوسی نداشتند اما به تدریج دچار سستی می گردیدند (۸). مطالعه پژند و همکاران در سال ۱۳۸۴ نشان داد که میزان 96h LC_{50} علف کش بوتاکلر بر روی بچه ماهیان ۱ تا ۳ گرمی قره برون و ازون برون به ترتیب ۰/۴۴ و ۰/۰۷ میلی گرم در لیتر می باشد. بر این اساس حداکثر غلظت مجاز (Mac value) علف کش بوتاکلر بر روی بچه ماهیان خاویاری قره برون و ازون برون به ترتیب ۰/۰۴۴ و ۰/۰۰۷ میلی گرم در لیتر تعیین و بر اساس سطوح سمیت علف کش های مختلف، در ردیف خیلی سمی درجه بندی گردید. مقایسه قره برون و ازون برون در برابر این سم نشان داد که 96h LC_{50} علف کش بوتاکلر بر روی ماهی قره برون تقریبا ۶ برابر ماهی ازون برون می باشد. به عبارت دیگر ازون برون در برابر علف کش بوتاکلر حساس تر از قره برون است (۲).

سپاسگزاری

از همکاری صمیمانه اساتید محترم گروه شیلات دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر آقایان دکتر موسوی، دکتر ذاکری، خانم دکتر پریتا کوچنین، مدیریت محترم گروه بیولوژی دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر آقای دکتر موحدی نیا و همچنین از آقایان مهندس عماد حبیبی، محمد اسدی، نیما یزدی، اردوان فرهادی و مهدی مرمضی که در انجام این تحقیق ما را یاری کردند نهایت سپاسگزاری را داریم.

منابع

۱-بساک کاهکش، ف.، صالحی، ح.، امیری، ف. و نیک پی، م. ۱۳۸۹. پرورش توأم ماهی بنی(*Barbus sharpeyi*) با کپور ماهیان چینی و مقایسه اقتصادی آن با روش پرورش مرسوم. مجله شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر. ۴ (۳) :ص ۷۳ تا ۸۵.

۲-پژند.، ذ. اسماعیلی ساری، ع. و پیری، م. ۱۳۸۴. تعیین غلظت کشنده علف کش ماچتی (Butachlor) بر روی بچه ماهیان قره برون (*Acipenser persicus*) و ازون برون (*Acipenser stellatus*). مجله شیلات. ۱۴ (۱) :ص۴۱ تا ۵۰.

۳-پژند، ذ.، سکری، م.، اسماعیلی ساری، ع. و پیری زیر کوهی، م. ۱۳۸۲. نقش و تاثیر حشره کش دیازینون در مطالعات اکوتوکسیکولوژی بر روی بچه ماهیان خاویاری (قره برون و ازون برون). فصلنامه پژوهش و سازندگی. ۵۸ (۱۶) :ص ۶۴ تا ۶۷.

۴-تهرانی فرد، ا.، فاضلی، م. و پیری، م. ۱۳۸۰. تعیینLC_{50} و اثر مخلوط شوینده های آنیونی خطی و سم دیازنیون بر ماهی سفید، مجله علوم و فنون دریایی ایران. ۱ (۵۵) :ص ۵۵ تا ۵۹.

۵-خواجه پور، م.، گلابکش، ش. و غیاثی خیاط، م. ۱۳۸۹. بررسی اهمیت تالاب بین المللی شادگان (ارزش ها، تهدیدها و روش های بهبود آن). همایش ملی تالاب ها و نقش آن در مدیریت جامع منابع آب.

۶-شاملوفر، م. و حاجی مرادلو، ع. ۱۳۸۷. تعیین LC 50 و بررسی ضایعات بافتی ناشی از سم سوین در بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*). مجله شیلات. ۲ (۳) :ص ۱ تا ۹.

۷-شریف پور، ع.، سلطانی، م. و جوادی، م. ۱۳۸۲. تعیین LC 50 و ضایعات بافتی ناشی از سم آندوسولفان در بچه فیل ماهی (*Huso huso*).مجله شیلات. ۱۲ (۴) :ص ۶۹ تا ۸۴.

۸-محمد نژاد شموشکی، م. و شاهکار، ع. ۱۳۸۸. تعیین غلظت کشنده (LC_{50} 96h) حشره کش کلرپیریفوس و دیازینون بر روی بچه ماهی کلمه *(Rutilus rutilus caspicus)*. مجله شیلات. ۴ (۳) :ص ۷۳ تا ۷۸.

۹-محمد نژاد شموشکی، م.، نظامی، ش.، اسماعیلی ساری، ع.، خارا، ح.، پژند، ذ. و یوسفی گراکوئی، م. ۱۳۸۴. تعیین غلظت کشنده (LC_{50} 96h) سموم کشاورزی دیازینون، هینوزان و تیلت بر روی بچه ماهی شیب *(Acipencer nudiventris)*. مجله علمی شیلات ایران. ص ۱ تا ۱۰.

10-Abel, P. and Axiak, V. 1990. Ecotoxicology and the marine environment, Old University Building, Malta, pp:250- 269.

11-Banaee, M., Mirvagefei, R., Rafei, G., Majazi Amiri, B. 2009. Effect of sub-lethal Diazinon Concentrations on Blood Plasma Biochemistry. Int. J. Environ. Res, Vol. 2(2), pp. 189-198.

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

13-David, M., S. B. Mushigeri, R. Shivakumar, G. H. Philip., 2004. Responseof *Cyprinus carpio* (Linn) to sublethal concentration of cypermethrin: alterationsin protein metabolism profiles. Chemospher, 56: 347–352.

14-Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. 2008. The toxicology of fishes. Taylor and Francis Group. pp:1101.

15-Elia, A. C., Galarini, R., Taticchi, M. I., Dorr, A. J., Mantilacci, L. 2003. Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol. 55, pp. 162-167.

16-Gooley, G.J., Gavine, F. M., Dalton, W., De Silva, S. S., Bretherton, M., Samblebe, M. 2000. Feasibility of aquaculture in dairy manufacturing wastewater to enhance environmental performance and offset costs. Final Report DRDC Project No. MAF001. Marine and Freshwater Resources Institute, Snobs Creek, pp. 84.

17-Hodgson, H. 2004. A Textbook of Modern Toxicology. Wiley Interscience Publication, New Jersey, 557 p.

18-Inyang, I., Daka, E., Ogamba, E. 2010. Changes in electrolyte activities of Clarias gariepinus exposed to diazinon Biological and Environmetal Sciences, 198-200.

19-Kori-Siakpere O., Adamu K. M., Madukelum I. T., 2007. Acute haematological effect of sublethal of paraquat on the African catfish, *Clarias gariepinus* (Osteichthyes: Clariidae). Research Journal of Environmental Sciences, Vol. 1, pp. 331-335.

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

21-Ramesh, M., Srinivasan, R., Saravanan, M., 2009. Effect of atrazine (Herbicide) on blood parameters of common carp *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes). African Journal of Environmental Science and Technology, Vol. 3(12), pp. 453-458.

22-Sarikaya, R., Yılmaz, M., 2003. Investigation of acute toxicity and the effect of 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) Biology. 28(2): 485-487.

herbicide on the behavior of the common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758; Pisces, Cyprinidae). Chemosphere Vol. 52, pp. 195-201.

23-Tilak, K, S. Veeraiah, K. Bhaskara, P. Butchiram, M. S., 2007. Toxicity studies of butachlor to the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). Journal of Environmental Biology. 28(2): 485-487.

microps: Linking biomarkers to behavior fish *Pomatoschistus*.Chemospher, Vol. 76, pp. 1416-1427.

24-Vieira, L.R. Gravato, C.Soares A., Morgado F., Guilhermino. L. 2009. Acute effects of copper and mercury on the estuarine

Determination of lethal range and the median lethal concentration (LC_{50} 96h) of Paraquat on Benny fish (*Mesopotamichthys sharpeyi*)

Jaddi Y.[(1)*]; SaFahie A.[(2)]; Salighezadeh R.[(3)]

Yaqubjaddi1987@gmail.com

1-Corresponding author: Postgraduated, Department of marine biology-marine pollution, Khorramshahr University of Marine Science and Technology.
2- Department of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, P.O. Box: 669.
3- Department of Fisheries, Khorramshahr University of Marine Science and Technology.

Received: November 2013 Accepted: January2013

Abstract

In this study, acute toxicity of Paraquat was studied on *Mesopotamichthys sharpeyi* fingerling. The acute toxicity test was performed in static renewal system based in the standard method proposed by OECD during 96 h, physicochemical parameters of water including pH, dissolved oxygen and Temperature were monitored. In order to determine the lethal range of paraquat a range finding test was carried out. The acute toxicity test was preformed in 5 treatments in triplicates. The obtained data were analyzed by using Probit analysis with 0.05 confidence limit. According to the results of this study, 24 h LC_{50}, 48 h LC_{50}, 72 h LC_{50} and 96 h LC_{50} of paraquat on *Mesopotamichthys sharpeyi* was 6.84, 5.29, 2.57 and 1.49 mg/l respectively. The Maximum acceptable toxicant concentration (MATC) of paraquat on *Mesopotamichthys sharpeyi* was 0.14 mg/l and the lowest was observed effect concentration witch is equal to 96 h LC_{50} was 1.05 mg/l. in addition paraquat lethal toxicity takes place in a narrow range of toxicant concentration.

Keywords: Acute Toxicity, Paraquat, Lethal Concentration, *Mesopotamichthys sharpeyi.*

*Corresponding author