

تعیین LC_{50} و ضایعات بافتی ناشی از سم آندوسولفان در بچه فیل ماهی (*Huso huso*)

عیسی شریف‌پور^(۱)، مهدی سلطانی^(۲) و مسعود جوادی^(۳)

issasharifpour@yahoo.com

- ۱- بخش بهداشت و بیماریهای آبزیان، موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۱۶
 - ۲ - گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۴۵۳
 - ۳ - دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۴۶۴۱۴-۳۵۶
- تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۸۲

چکیده

این تحقیق به منظور تعیین غلظت نیمه‌کشنده حشره‌کش ارگانوکلره آندوسولفان، تعیین محدوده‌کشدگی و تعیین مقدار حداکثر غلظت مجاز سم و بررسی علائم رفتاری و ضایعات بافتی ناشی از تأثیر سم بر روی برخی اندامهای حیاتی در بچه فیل ماهی (*Huso huso*) انجام پذیرفته است.

حشره‌کش آندوسولفان (امولسیون ۳۵ درصد) به روش ساکن و براساس روش استاندارد (OECD) روی ۱۵۰ عدد بچه فیل ماهی با وزن ۳ تا ۵ گرم در درجه حرارت 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد، طی چهار روز و در شرایط محیطی ثابت (در آزمایشگاه) به منظور تعیین غلظت نیمه‌کشنده آن مورد آزمایش قرار گرفت. داده‌های بدست آمده با استفاده از برنامه‌های Quatropro و spss پردازش شده و با استفاده از معادله خطی ضریب همبستگی، LC روزهای مختلف تا ۹۶ ساعت پس از قرار گرفتن ماهیها در معرض سم تعیین گردید.

Archive of SID

نتایج حاصله نشان داد که میزان LC50 در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بترتیب ۰/۰۰۰۶۳، ۰/۰۰۰۱۶، ۰/۰۰۰۰۶ و ۰/۰۰۰۰۳ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. محدوده کشندگی با حداقل ۰/۰۰۰۰۱ و حداکثر ۰/۰۰۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. همچنین حداکثر غلظت مجاز سم (MATC) برای فواصل زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بترتیب ۰/۰۰۰۰۶۳، ۰/۰۰۰۰۱۶، ۰/۰۰۰۰۰۶ و ۰/۰۰۰۰۰۳ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید.

در بررسی ضایعات ناشی از سم، ماهیان مسموم از نظر بالینی علائمی از قبیل شنای غیر عادی، چرخش، تشنج شدید و افتادن به کف آکواریوم را از خود نشان دادند. همچنین ماهیهای مسموم، رنگ پریده‌تر بوده و دچار اختلال تنفسی شده و بویژه در غلظتهای بالای سم در فاصله زمانی کوتاهی تلف شدند. از نظر آسیب‌شناسی بافتی نیز در غلظتهای بالای سم (≥ 1 ppm)، پرخونی، تورم و جدا شدن لایه پایه رشته‌های آبششی، پرخونی و نکروز بافت کلیوی، پرخونی عروق، دژنراسانس سلولهای کبدی و تا اندازه‌ای نکروز کبدی در ماهیان مورد آزمایش مشاهده گردید. با توجه به نتایج LC50 (< 0.1) و محدوده کشندگی، آندوسولفان را برای بچه‌فیل ماهی باید در دسته سموم "خیلی زیاد سمی" (Very High Toxic) در نظر گرفت.

کلمات کلیدی: LC50، آندوسولفان، فیل ماهی، *Huso huso* آسیب‌شناسی بافتی

مقدمه

انسان تولید کننده آلاینده‌های متعدد و متنوعی است که بخش اعظم این مواد بطور مستقیم یا غیر مستقیم به محیط آبی راه می‌یابد. بخشی از آلاینده‌ها مانند اغلب مواد آلی طی فرآیندهای زیستی تجزیه می‌گردند ولی سایر مواد از قبیل سموم دفع آفات (هیدروکربنهای کلردار) و فلزات سنگین در مقابل تجزیه مقاوم بوده و مدت زیادی در محیط آبی باقی می‌مانند (اسماعیلی ساری، ۱۳۶۸).

بطور کلی سمیت یک آلاینده از طریق آزمایش سنجش زیستی (Bioassay) ارزیابی می‌گردد که بوسیله آن غلظت لازم جهت ایجاد تلفات نیمی از موجودات مورد آزمایش در یک دوره زمانی مشخص (کوتاه مدت و بلند مدت) معلوم می‌شود. این آزمایش‌ها شاخه‌ای از علم Ecotoxicology بوده و وظیفه آن قضاوت درباره توان بالقوه مواد آلاینده و بررسی تأثیرات زیان‌بخش این مواد بر اکوسیستم و موجودات

ماهیهایی یکی از مهمترین موجودات آبی می‌باشند که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند و به همین دلیل جهت انجام آزمایشهای زیست‌سنجی، در بعد وسیعی از آنها استفاده می‌گردد (اولا، ۱۳۶۹). حساسیت‌گونه‌های مختلف ماهیان به مواد سمی متفاوت، متغیر است، از اینرو ضروری است آزمایشهای سم‌شناسی برای ماهیان مختلف صورت گیرد (Finney, 1971).

سموم و آفت‌کش‌ها در حال حاضر از عمده‌ترین موارد مسمومیت‌های ماهی هستند که ممکن است در غلظت کم، تأثیر مستقیمی روی ماهی نداشته باشند ولی در طولانی مدت روی مراحل اولیه تکامل ماهی مؤثر می‌باشند. بهر حال آفت‌کش‌ها در بیشتر موارد منجر به آسیب ماهی می‌شوند (شریف روحانی، ۱۳۷۴). مطالعات مختلفی روی گونه‌های مختلف آبزیان با استفاده از سم آندوسولفان انجام شده است. این سم برای ماهی کپور جزء سموم شدیداً سمی ذکر شده (فتح‌اللهی، ۱۳۷۷) و در تحقیقی توسط Gimeno و همکاران در سال ۱۹۹۴ مشخص شده است که این سم در مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) موجب افزایش غلظت گلیکوژن و اسیدلاکتیک در کبد و نیز گلوکز و اسید لاکتیک در خون شده است. Toledo و Jonsson در سال ۱۹۹۲ نشان دادند که سم آندوسولفان در ماهی زبرا (*Brachydanio rerio*) باعث تجمع بیش از حد چربی در کبد و نیز نکروز آبشش می‌گردد. سم آندوسولفان در ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambica*) در مرحله نوزادی و انگشت قدی باعث افزایش رفتارهای غیرعادی، ترشح مخاط، بیرون زدگی و در نهایت ترکیدن حلقه چشم و ایجاد زخم‌های دارای خونریزی می‌شود (Shafiei & Costa, 1990). همچنین میزان پروتئین، کربوهیدراتها و چربیهای موجود در کبد همین گونه که به مدت ۱۰ روز در معرض سم آندوسولفان قرار گرفته بودند، کاهش یافت (Gansan et al., 1989).

هدف از این مطالعه بررسی اثرات کشنده حشره‌کش آندوسولفان روی بچه فیل ماهی بود. این سم بطور وسیع و به اشکال مختلف در باغها و مزارع مورد استفاده قرار می‌گیرد و پساب آنها به رودخانه‌ها وارد می‌شود. تعیین غلظت نیمه‌کشنده سم، مشخص نمودن محدوده کشندگی و مقدار حداکثر غلظت مجاز سم، بررسی علائم رفتاری ماهیانی که در معرض سم قرار می‌گیرند و همچنین بررسی ضایعات بافتی ناشی

Archive of SID

از این سم روی برخی اندامهای حیاتی بچه فیل ماهی از جمله مواردی هستند که در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفته‌اند.

مواد و روش کار

برای انجام آزمایش از ۱۵۰ عدد بچه فیل ماهی (*Huso huso*) به وزن ۳ تا ۵ گرم و سم حشره‌کش ارگانوکلره آندوسولفان بصورت امولسیون ۲۵ درصد استفاده شده است.

این آزمایشها براساس روش استاندارد O.E.C.D.^(۱) (سازمان توسعه و همکاری اقتصادی اروپا) انجام پذیرفت. آزمایشها بصورت ساکن (static) بود که در آن غلظتهای سم در طول دوره آزمایش در محیط آکواریوم، ثابت نگهداشته شد.

بچه ماهیها از استخرهای آماده رهاسازی، در بخش تکثیر کارگاه شهید مرجانی گرگان تهیه و در حوضچه‌های مصنوعی (ونیرو) در کارگاه نگهداری شدند. آب حوضچه‌ها از طریق آب استخرهای پرورشی ماهیان خاویاری کارگاه تأمین گردید. ماهیها پس از انتقال به حوضچه‌های مصنوعی جهت رفع استرس و سازگاری، بمدت ۸ روز در محیط جدید نگهداری و تغذیه شدند. سپس تعداد مورد نیاز بصورت اتفاقی جمع‌آوری و ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایشها به ۱۵ آکواریوم که کاملاً ضد عفونی و شستشو داده شده بودند، منتقل و تغذیه آنها قطع گردید.

هر آکواریوم به میزان ۷۰ لیتر آبگیری شده بود و به وسیله یک دستگاه کمپرسور هوا، هوادهی می‌شدند. به هر آکواریوم تعداد ۱۰ عدد بچه ماهی معرفی گردید. سپس سم مورد نظر با مقادیر متفاوت در هر آزمایش به آکواریومها افزوده شد. آزمایش بقاء برای اندازه‌گیری توان زیستی و تعیین وضعیت بقاء در بچه ماهیان در شرایط طبیعی آزمایش و محیط عاری از سم در ۳ تکرار انجام شد. برای انجام آزمایش تعیین محدوده کشندگی، غلظت بالائی از سم (۱ppm) انتخاب و به آب اولین آکواریوم افزوده شد. سپس در سایر آکواریومها مقدار سم به روش تصاعد هندسی (۵/۵ppm، ۰/۲، ۰/۱ و...) محاسبه و به آنها اضافه شد. برای تعیین سمیت حاد (LC50 ۹۶ ساعت)، پس از تعیین محدوده کشندگی، محدوده بدست آمده به روش تصاعد حسابی به ۵ قسمت مساوی تقسیم و آزمایشهای تعیین سمیت حاد با مقادیر ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۰۵، ۰/۰۰۰۰۹، ۰/۰۰۰۱۳ و ۰/۰۰۰۱۷ میلی‌گرم در لیتر انجام شد. طی انجام آزمایشها عوامل فیزیکی و شیمیائی آب آکواریومها از قبیل درجه حرارت، اکسیژن محلول، pH، سختی، EC، نیتریت و نیترات

بترتیب با استفاده از دماسنج، اکسیژن متر، pH متر و کیت‌های اندازه‌گیری مخصوص، در فواصل زمانی مشخص (هر ۶ ساعت یکبار) کنترل، اندازه‌گیری و تقریباً ثابت نگهداشته شد. کلیه آزمایشها در درجه حرارت 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد و در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و با سه تکرار همزمان انجام شد. هر ۲۴ ساعت یکبار تلفات تیمارها جمع‌آوری و ثبت گردید. معیار اصلی در تعیین LC50 میانگین غلظتی از سموم در تکرارهای متوالی بود که باعث تلفات ۵۰ درصد ماهیان مورد آزمایش می‌شد. ماهیان مورد آزمایش از نظر رفتاری کنترل و علائم بالینی آنها ثبت گردید. همچنین از کلیه، کبد و آبشش ماهیان تلف شده نمونه‌برداری و در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت گردید. سپس از نمونه‌های ثابت شده براساس روش استاندارد بافت‌شناسی، مقاطع میکروسکوپی ۵ میکرونی تهیه و به روش همتاکسیلین و انوزین رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از برنامه‌های رایانه‌ای Quattropro و Spss پردازش شده و با استفاده از معادله خطی ضریب همبستگی، نسبت به تعیین LC طی روزهای مختلف تا ۹۶ ساعت پس از قرار گرفتن بچه ماهیها در معرض سم اقدام شد.

نتایج

طی انجام آزمایشهای مختلف، عوامل فیزیکی و شیمیایی آب آکواریومها کنترل و ثبت گردید که نتایج آن در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: برخی از متغیرهای فیزیکی و شیمیایی آب مورد استفاده طی انجام آزمایشها

مقدار	متغیر
24 ± 1 درجه سانتیگراد	درجه حرارت
۹-۶/۶ میلی‌گرم در لیتر	اکسیژن محلول
۱۱/۰ میلی‌گرم در لیتر	نیترات
۲۷/۰ میلی‌گرم در لیتر	نیتریت
۸/۴	pH
۹/۰ میلی‌زیمنس	هدایت الکتریکی (EC)
۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر	سختی کل (HT)

پس از نگهداری ماهیان در شرایط کیفی یکسان برای آزمایش بقاء به مدت ۸ روز (۱۹۲ ساعت)، تا روز چهارم (۹۶ ساعت) هیچگونه مرگ و میری در ماهیان مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲: آزمایش بقاء برای ماهیان گروه وزنی ۳ تا ۵ گرمی در مدت ۸ روز (n=۱۰)

مدت زمان آزمایش (ساعت)								تکرار
۱۹۲	۱۶۸	۱۴۴	۱۲۰	۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	
درصد بقاء								
۸۰	۹۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱
۸۰	۸۰	۱۰۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۲
۷۰	۸۰	۹۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۳
۷۶	۸۳	۹۷	۹۷	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	میانگین (سه تکرار)

بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که تا روز چهارم با شرایط تعیین شده کیفی آب، هیچ عاملی باعث مرگ و میر ماهیان نگردیده و فقط افزودن سم به آب می‌تواند دلیل مرگ و میر ماهیان باشد.

برای تعیین محدوده کشندگی، مقادیر سم مورد استفاده به روش تصاعد هندسی و بر پایه غلظت ۱ ppm که غلظت بالائی از سم است محاسبه گردیده بود که با توجه به اعداد بدست آمده، مقدار حداقل و حداکثر غلظت کشندگی سم طبق جدول ۳ برای ماهیان بین ۰/۰۰۰۱ تا ۰/۰۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید. در حقیقت محدوده اثر سم در بیشترین غلظتی که هیچگونه مرگ و میر وجود نداشته باشد و حداقل غلظتی که باعث تلفات ۱۰۰ درصد ماهیان می‌شود، محدوده کشندگی سم است.

جدول ۳: تعیین محدوده کشندگی سم آندوسولفان برای ماهیان ۳ تا ۵ گرمی

درصد تلفات (پس از ۹۶ ساعت)	غلظت سم (ppm)
۱۰۰	۱
۱۰۰	۰/۵
۱۰۰	۰/۲۵
۱۰۰	۰/۱
۱۰۰	۰/۰۵
۱۰۰	۰/۰۲۵
۱۰۰	۰/۰۱
۱۰۰	۰/۰۰۵
۱۰۰	۰/۰۰۲۵
۱۰۰	۰/۰۰۱
۵۰	۰/۰۰۰۵
۳۰	۰/۰۰۰۲
۱۰	۰/۰۰۰۱
۰	۰/۰۰۰۱

نتایج بدست آمده برای مقدار LC50 در مدت ۹۶ ساعت در جدول (۴) آمده است.

جدول ۴: مقادیر مختلف LC50 طی ۴ روز برای ماهیان آزمایش شده

زمان (ساعت)	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
LC50 (ppm)	۰/۰۰۰۶۳	۰/۰۰۰۱۶	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۰۳

از روی مقادیر LC50 می‌توان مقدار حداکثر غلظت مجاز سم (MATC)^(۱) را بدست آورد (جدول ۵).

جدول ۵: مقادیر حداکثر غلظت مجاز سم آندوسولفان برای ماهیان مورد آزمایش

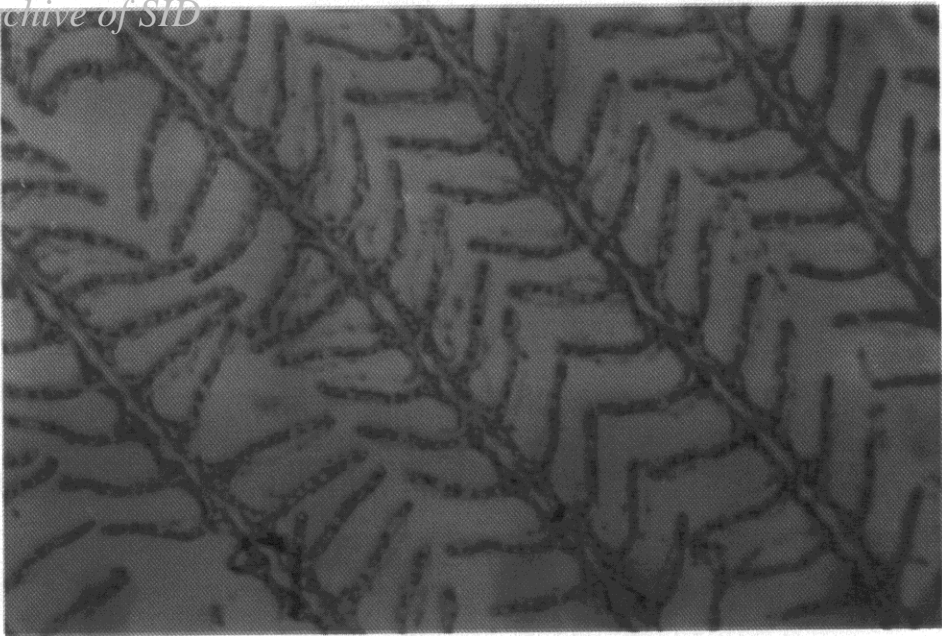
زمان (ساعت)	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
LC50 (ppm)	۰/۰۰۰۰۶۳	۰/۰۰۰۰۱۶	۰/۰۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۰۰۳

رفتار عمومی و طبیعی ماهیان پس از تأثیر سم بصورت غیر عادی درآمده بصورتی که ماهیان ابتدا دچار شنای عمودی و غیرعادی شده و سپس در کف آکواریوم بصورت افقی یا به پهلو شنا می‌کردند. بعد از مدتی به سطح آب آمده و مجدداً به کف آکواریوم رفته و بصورت وارونه شنا می‌کردند. ماهیانی که در معرض این سم قرار گرفته بودند دچار اختلالات تنفسی شده بطوری که سربوش‌های آبششی را تندتر باز و بسته کرده و در اطراف سنگ هوا و حباب‌های هوا شنا می‌کردند. رنگ ماهیان نیز در طول این دوره روشن بوده و ماهی دچار رنگ پریدگی و تشنج و لرز بود. این حالات بصورت دوره‌ای تکرار و بعد از مدتی ماهی تلف می‌شد. در هنگام آزمایش تعیین محدوده کشندگی، در غلظت‌های بالا، رفتار و حالات غیر عادی ماهیان بشدت افزایش می‌یافت و حالات دوره‌ای در رفتار آنها مشاهده نمی‌شد و ماهی در همان دقایق اولیه تلف می‌شد.

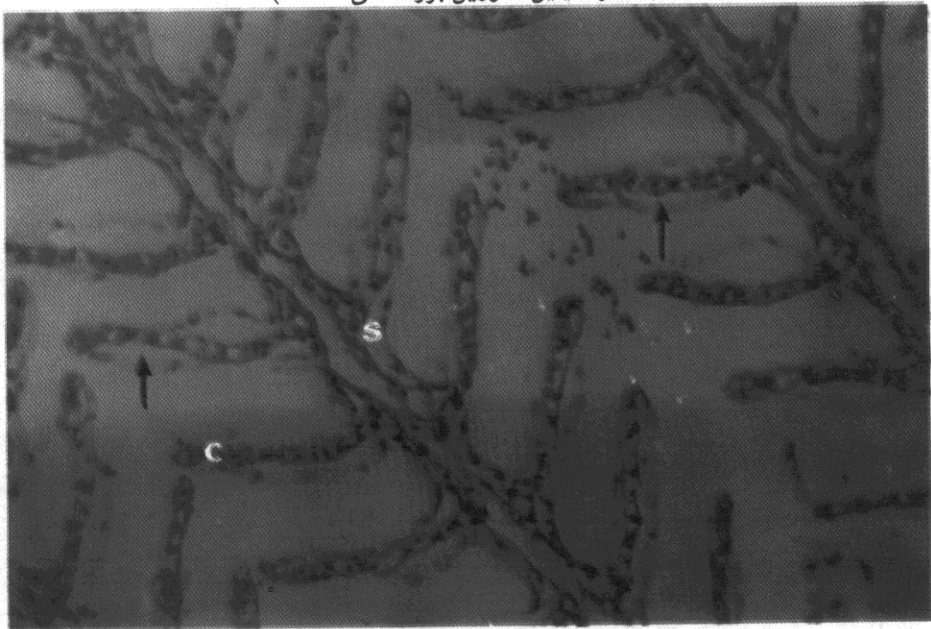
بافت‌های آبشش، کلیه و کبد ماهیانی که در معرض مقادیر ۰/۰۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۱۵، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از سم آندوسولفان قرار گرفته بودند مورد مطالعات آسیب‌شناسی قرار گرفتند که نتایج این بررسی‌ها در غلظت‌های بالای سم (≥ 1 ppm) بشرح زیر می‌باشد:

در آبشش‌ها پرخونی، تورم و جدا شدن لایه پایه رشته‌های آبششی قابل مشاهده بود (اشکال ۱ و ۲). در بافت کلیه برخی از نمونه‌ها ضایعاتی مشاهده نشد ولی در تعدادی از نمونه‌ها عروق کلیوی و شبکه گلومرولی اندکی پر خون بوده و در سلول‌های اپی‌تلیال شبکه گلومرولی، لوله‌های ادراری و همچنین بافت بینابینی کلیه، نکروز بافتی مشاهده گردید (شکل ۳). در بافت کبد نیز پرخونی عروق، دژنراسانس سلول‌های کبدی و تا اندازه‌ای مقداری نکروز در برخی از قسمت‌ها قابل رؤیت بود (شکل ۴).

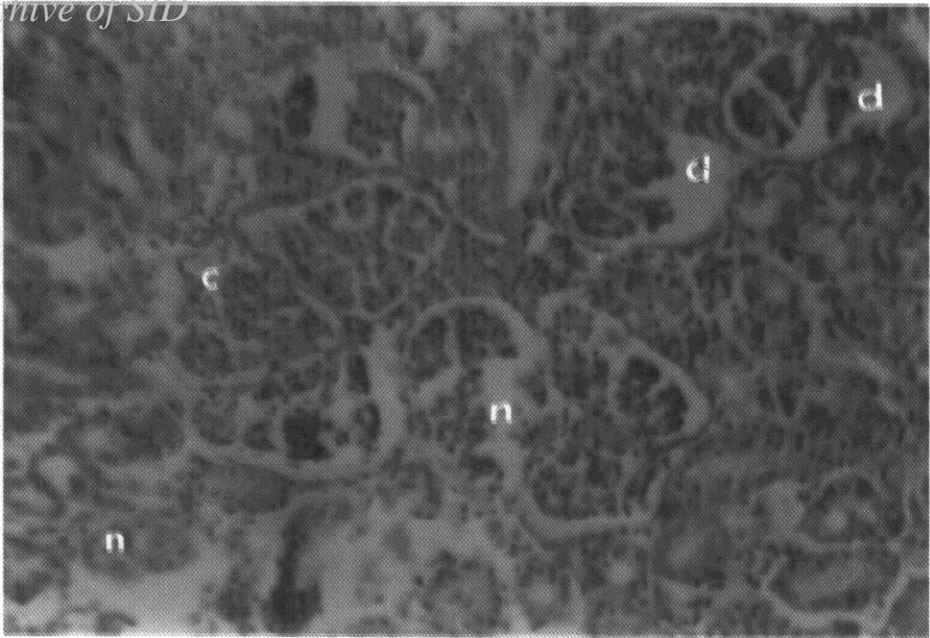
1 - Maximum Allowable Toxicant Concentration



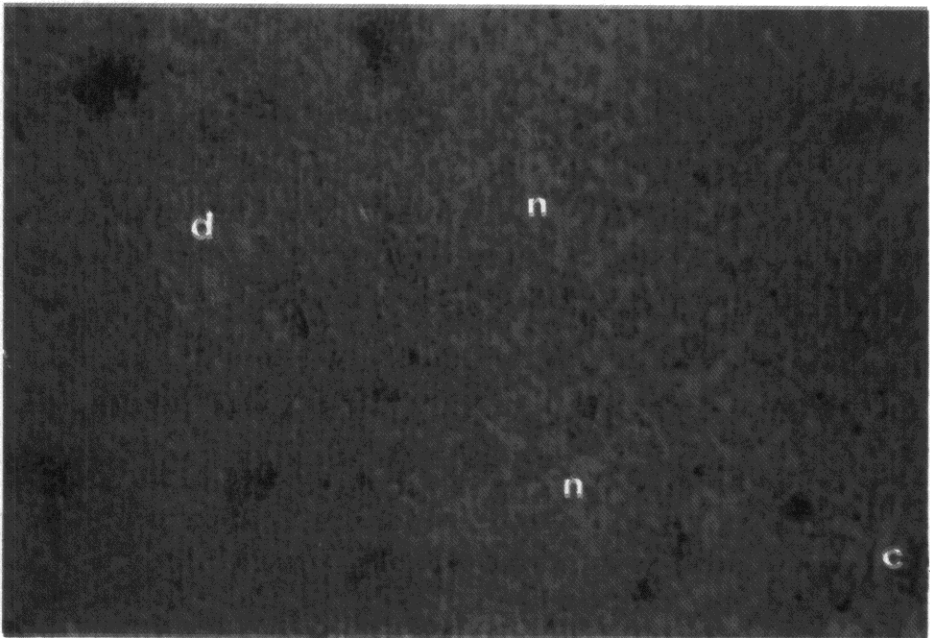
شکل ۱: منظره عمومی آبشش آسیب دیده بچه فیل ماهی مسموم
(هماتوکسیلین، اتوزین بزرگنمایی $\times 200$)



شکل ۲: در بزرگنمایی بیشتر شکل ۱ پرخونی (c)، تورم لایه پایه رشته‌های آبششی (پیکانها) و تورم و جدا شدن لایه پریکندریوم رشته اولیه آبششی (s) در بچه فیل ماهی که در معرض سم آندوسولفان قرار گرفته به وضوح قابل رویت است (هماتوکسیلین، اتوزین بزرگنمایی $\times 400$)



شکل ۳: پرخونی (c)، اتساع فضای بومن (d) و نکروز بافت کلیوی (n) در بچه فیل ماهی که در معرض سم آندوسولفان قرار گرفته مشاهده می شود (هماتوکسیلین، ائوزین بزرگنمایی $\times 200$)



شکل ۴: پرخونی (c)، دژنراسانس (d) و نکروز (n) در بعضی از قسمتهای کبد، در بچه فیل ماهی که در معرض سم آندوسولفان قرار گرفته دیده می شود (هماتوکسیلین، ائوزین بزرگنمایی $\times 200$)

با توجه به آزمایشات انجام شده و نتایج بدست آمده و همچنین با استناد به مطالعات انجام شده در این زمینه می‌توان در چند مورد خاص به یک نتیجه‌گیری کلی دست یافت که این موارد شامل سمیت سم مورد نظر، اثر عوامل محیطی بر روی این سم، اثر سم در سایر گونه‌های ماهیان و مقایسه آن با فیل ماهی و ضایعات ناشی از این سم در بافتهای مختلف می‌باشد.

میزان LC50 بدست آمده برای سم آندوسولفان در این تحقیق کمتر از ۱ ppm تعیین شده است (جدول ۴). جدول ۶ سطوح سمیت حشره‌کشهای مختلف در Pesticide Dictionary (1993) را نشان می‌دهد (پیری و همکاران، ۱۳۷۶).

جدول ۶: سطوح سمیت حشره‌کشهای مختلف

درجه سمیت	LC50
تقریباً غیرسمی	> ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر
سمیت کم	۱۰-۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر
سمیت متوسط	۱-۱۰ میلی‌گرم در لیتر
سمیت زیاد	۰/۱-۱ میلی‌گرم در لیتر
سمیت خیلی زیاد	< ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر

براساس جدول ۶ و با توجه به اینکه LC50 سم آندوسولفان برای بچه فیل ماهی در این تحقیق کمتر از ۱ ppm بدست آمده لذا می‌توان گفت که سم آندوسولفان برای بچه فیل ماهی از نظر درجه سمیت در درجه سموم "خیلی زیاد سمی" قرار دارد.

نتایج بدست آمده برای مقدار LC50 در ۹۶ ساعت نشان می‌دهد که میزان LC50 با افزایش ساعات آزمایش کاهش یافته است. بعبارت دیگر هر چقدر ساعات آزمایش افزایش می‌یابد میزان غلظت کمتری از سم لازم است تا ۵۰ درصد از جمعیت ماهیان تلف شوند و مقدار LC50 در ۲۴ ساعت اولیه آزمایش همواره بیشتر از LC50 در پایان ۹۶ ساعت می‌باشد. علت این امر را می‌توان چنین ذکر کرد که یکی از عوامل تأثیرگذار در مسمومیت آبزیان عامل زمان است. هنگامی که ماهی در معرض غلظت ثابتی از سم باشد، به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می‌رود و هم سم فرصت بیشتری برای تأثیرگذاری روی ماهی دارد. علاوه بر این در مواردی تجمع سم در بافتهای ماهی نیز باعث ایجاد غلظتهای فزاینده‌ای می‌شود که خود به مرور زمان موجب پائین آمدن LC50 است.

حداکثر غلظت مجاز سم (MATC) با توجه به مقادیر LC50 بدست آمده محاسبه و تعیین شده است.

این مقدار بطور متوسط ۰/۱ میزان LC50 می‌باشد. حداکثر غلظت مجاز سم در حقیقت غلظتی از سم است که در طول مدت آزمایش هیچ اثر سوئی بر ماهی مورد آزمایش نگذارد و سلامتی آنرا به خطر نیاندازد. حداکثر غلظت قابل قبول سم را می‌توان بعنوان معدل هندسی غلظت با کمترین تأثیر و غلظت بدون تأثیر سم محاسبه نمود. بالاترین غلظت از یک ماده که در یک آزمایش سمیت استفاده شده، غلظتی است که هیچ اثر قابل توجه آماری در مقایسه با نمونه‌های شاهد روی جمعیت نمونه‌های مورد آزمایش که در معرض آن ماده سمی قرار گرفته‌اند نداشته باشد که آنرا (NOEC)^(۱) می‌نامند. کمترین غلظت از یک ماده در آزمایش سمیت نیز غلظتی است که از نظر آماری در مقایسه با نمونه‌های شاهد اثر قابل توجهی روی جمعیت نمونه‌های مورد آزمایش که در معرض آن ماده سمی قرار گرفته‌اند داشته باشد که آنرا (LOEC)^(۲) می‌گویند. حداکثر غلظت مجاز سم بیشتر از غلظتی است که هیچ اثری ندارد و کمتر از غلظتی است که کمترین اثر را دارد (NOEC < MATC < LOEC) (Rand, 1995).

سرایلو در سال ۱۳۷۶ گزارش نموده است که شرایط کیفی آب بویژه عواملی نظیر درجه حرارت، میزان اکسیژن محلول، درجه سختی و pH بر میزان جذب و سمیت اثر می‌گذارد. بعنوان مثال سم آندوسولفان دارای ضریب دمایی مثبت است یعنی با افزایش دمای آب به میزان سمیت آن افزوده می‌شود. در مطالعه‌ای توسط Gansan و همکاران در سال ۱۹۸۹، مقادیر LC50 سم آندوسولفان در ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) در فواصل زمانی ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ و ۹۶ ساعت بترتیب ۰/۰۲، ۰/۰۱۲، ۰/۰۰۷ و ۰/۰۰۶ میلی‌گرم در لیتر تعیین شده است که در مقایسه با اعداد بدست آمده در این تحقیق در مورد فیل ماهی می‌توان گفت که تیلاپیای مذکور در مقابل این سم نسبت به فیل ماهی ۲۰ برابر مقاوم‌تر است.

Loing و همکاران در سال ۱۹۸۸ میزان LC50 ۲۴ ساعته سم آندوسولفان را روی نوعی تیلاپیا ppm (Tilapia sp.) ۰/۰۱۳ برآورد نمودند که این نتایج نشان می‌دهد این گونه تیلاپیا نسبت به فیل ماهی ۲ برابر مقاوم‌تر است.

1 - No Observed Effect Concentration

2 - Lowest Observed Effect Concentration

Archive of SID

میزان LC50 ۹۶ ساعته در نوعی ماهی سیم دریایی (striped bass) مقدار ppm ۰/۰۰۰۱ تخمین

زده شده (Jonsson & Toledo, 1993)، که در مقایسه با فیل ماهی که میزان LC50 ۹۶ ساعته آن ppm ۰/۰۰۰۳ تعیین شده است، می‌توان گفت که فیل ماهی در مقابل این سم نسبت به ماهی سیم دریایی ۳ برابر مقاوم‌تر است.

همچنین مقدار LC50 ۹۶ ساعته در مار ماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) در برابر سم آندوسولفان ۰/۰۴۲ میلی گرم در لیتر گزارش شده (Gimeno et al., 1994) که در مقایسه می‌توان گفت که مقاومت این ماهی در مقابل سم آندوسولفان ۱۴۰ برابر فیل ماهی است.

فتح‌اللهی در سال ۱۳۷۷ میزان LC50 ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت سم آندوسولفان را در کیپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بترتیب ۰/۰۰۰۶۱، ۰/۰۰۰۲۹، ۰/۰۰۰۱۶ و ۰/۰۰۰۰۹ میلی‌گرم در لیتر تعیین نمود که با توجه به آن می‌توان گفت که کیپور معمولی در مقابل سم آندوسولفان ۸ برابر مقاوم‌تر از فیل ماهی است. Costa و همکاران در سال ۱۹۸۷ در بررسی اثر متقابل حشره‌کش‌ها و سیستم عصبی به این نتیجه رسیدند که اکثر حشره‌کشهای امروزی قادر به تأثیرگذاری بر روی سیستم عصبی جانوران از جمله ماهی هستند. بطور کلی اولین هدف حشره‌کشهای تأثیرگذار بر روی سیستم عصبی، غشای سلولی می‌باشد. بعضی از حشره‌کشها در عمل انتقال سدیم به داخل غشای آکسونها دخالت دارند لذا باعث تغییر در جریان یون سدیم (Na^+) به داخل غشاء سلول می‌شوند. ATPase غشای آکسونها یکی از نقاطی است که به عنوان هدف، تحت تأثیر حشره‌کشها قرار می‌گیرد و سم آندوسولفان از عملکرد ATPase (Na^+/K^+) جلوگیری می‌کند. ATPase (Mg^{2+}/Ca^{2+}) که در آزاد کردن انتقال دهنده‌های عصبی نقش دارند نیز بوسیله آندوسولفان و DDT و دیگر حشره‌کشهای ارگانوکلره مورد تأثیر قرار می‌گیرند (Mason, 1996). بهر حال تصور می‌شود که سموم ارگانوکلره از عملکرد طبیعی پمپ Na^+/K^+ که برای انتقال پیام عصبی حیاتی است ممانعت بعمل آورده، لذا منجر به تحریک خود بخودی نرونها توأم با انقباض غیرارادی عضلات می‌شود که نهایتاً به مرگ می‌انجامد (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱). به هر حال آفت‌کشهای ارگانوکلره شبیه به سموم عصبی عمل می‌کنند و سمیت زیاد تا فوق‌العاده برای ماهی دارند (غفاری و شریف‌پور، ۱۳۸۰).

سم آندوسولفان بر روی اندامهای حیاتی آبشش، کلیه و کبد عوارضی نظیر پرخونی، تورم، دژنراسانس و

Archive of SID

نکروز ایجاد نمود که بعضی از این عوارض مثل پرخونی و تورم، پاسخ آماسی بافت به ماده محرک و بعضی دیگر از جمله دژنراسانس و نکروز، تخریب بافتی است که در پی تأثیر سم بر روی سلولهای اندامهای فوق الذکر بوجود می‌آید. نکروز کبدی و کلیوی از آسیب‌هایی است که توسط *Urdaneta* و همکاران در سال ۱۹۸۷ در ماهیان پرورشی پس از استفاده از سم آندوسولفان و آلدترین گزارش شده است. آسیب‌های آبشش نیز توسط *Bhatnagar* و همکاران در سال ۱۹۸۲ در گربه ماهی (*Clarias batrachus*) و *Toledo & Jonsson* در سال ۱۹۹۲ در ماهی زبرا (*Branchydanio rerio*) بعد از استفاده آزمایشی از سم آندوسولفان نیز گزارش گردیده است. تغییرات دیستروفیک در کلیه و کبد بر اثر سموم ارگانوکلره نیز ذکر شده است (غفاری و شریف‌پور، ۱۳۸۰). از آنجا که ضایعات بوجود آمده در کلیه، کبد و آبشش ماهیانی که در معرض سم آندوسولفان قرار گرفته‌اند به حد شدید و خطرناکی نبوده بطوریکه بتواند موجب مرگ ماهیان در زمان کمی شود (در غلظت بالا در کمتر از یک دقیقه مرگ اتفاق می‌افتاد)، بنابراین علت مرگ را می‌توان در اثر عوامل دیگر مانند تأثیر سم بر روی سیستم عصبی، قطع زنجیره تنفسی و انقباض غیرارادی شدید عضلات از جمله عضله قلب دانست که این امر نیازمند مطالعات بیشتری می‌باشد.

در یک نتیجه‌گیری کلی براساس نتایج این تحقیق و سایر مطالعات انجام گرفته در خصوص تأثیر سم آندوسولفان بر ماهی و سایر آبزیان می‌توان گفت که این سم برای آبزیان خصوصاً ماهیان فوق‌العاده سمی بوده و جزء سموم خطرناک محسوب می‌شود. میزان عکس‌العمل و ضایعات ناشی از این سم در آبزیان به عواملی مانند سن، گونه و وضعیت فیزیولوژی بدن آبی و نیز شرایط کیفی آب مانند درجه حرارت، pH و سختی کل بستگی دارد.

تشکر و قدردانی

از مدیریت محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان و همکاران محترم این مرکز آقایان مهندس فارابی، مهندس قصری و سایر کارکنان که صمیمانه در اجرای این پژوهش ما را یاری نموده‌اند کمال تشکر را داریم. از آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و جناب آقای حسنی مسئول محترم آزمایشگاه آسیب‌شناسی آن دانشکده و همچنین دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین از سرکار خانم فاطمه قریشی به

منابع

- اسماعیلی ساری، ع.، ۱۳۶۸. چرخه عناصر سنگین سرب، جیوه، کادمیوم... و نحوه جذب و اثرات آن بر آبزیان. مجموعه مقالات اولین کنفرانس ملی بهره‌برداری مناسب از ذخایر آبزیان خلیج فارس و دریای عمان، شرکت سهامی شیلات ایران. صفحات ۲۶۷ تا ۲۷۷.
- اسماعیلی ساری، ع.، ۱۳۸۱. آلاینده‌ها، بهداشت و استاندارد در محیط زیست. انتشارات نقش مهر، ۷۶۷ صفحه.
- اولا، ی.، ۱۳۶۹. آلودگی ناشی از فضولات خانگی (شهری)، کشاورزی، صنعتی و طبیعی، ساختار و نقش تالاب انزلی در مقابل آنها. سند شماره ۲ مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان، ۳۸ صفحه.
- پیری، م.؛ نظامی، ش.ع.؛ امینی رنجبر، غ.ر. و اردگ، و.، ۱۳۷۶. مطالعات اکوتوکسیکولوژیکی ب با *Daphnia magna* و تعیین اثر سموم Malathion, Diazinon, Saturn, Machete بر این ارگانیزم. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، سال ششم، صفحات ۲۳ تا ۳۴.
- سرایلو، م.ح.، ۱۳۷۶. سم‌شناسی حشرات. صفحات ۱۷۳ تا ۱۷۴.
- شریف روحانی، م.، ۱۳۷۴. تشخیص، پیشگیری و درمان بیماریها و مسمومیتهای ماهی (ترجمه). معاونت تکثیر و پرورش شیلات ایران، ۲۵۶ صفحه.
- غفاری، م. و شریف‌پور، ع.، ۱۳۸۰. کیفیت آب و بهداشت ماهی (ترجمه). معاونت تکثیر و پرورش شیلات ایران. نشریه علمی، شماره ۲۰، ۱۰۷ صفحه.
- فتح‌اللهی، ب.، ۱۳۷۷. مطالعه اثرات کشندگی و ضایعات ناشی از سم آندوسولفان در ماهی کپور معمولی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، صفحات ۲۴ تا ۴۶.
- کردوانی، پ.، ۱۳۷۳. اکوسیستمهای طبیعی جلد دوم اکوسیستمهای آبی. مرکز فرهنگی و انتشاراتی پالیز، صفحات ۱۵۵ تا ۱۵۷.

Bhatnagar, M.C. ; Bana, A.K. and Tyagi, M. , 1982. Respiratory distress to *Clarias*

batrachus exposed to endosulfan- a histological approach. Journal of Environmental Biology, Vol. 13, pp.227-231.

Costa, L.G. ; Galli, C.L. and Murphy, S.D. , 1987. Toxicology of pesticides. Experimental clinical and regulatory perspectives. Interaction of insecticides with the nervous system. Berlin, NewYork, Springer-Verlag. pp.77-82.

Finney, D. , 1971. Probit analysis. Cambridge University Press, pp.1-33.

Gansan, R.M. ; Jebakumar, S.R.D. and Jayaraman,J. , 1989. Sublethal effect of organochlorine insecticide (endosulfan) on protein, carbohydrate and lipid contents in liver tissues of *Oreochromis mossambicus*. Proceeding of the Indian Academy of Sciences, Vol. 98, pp.51-55.

Gimeno, L. ; Ferrendo, M.D. ; Sanchez, S. and Andrea, E. , 1994. Endosulfan effect on liver and blood of the eel (*Anguilla anguilla*), Comparative Biochemistry and Physiology-C-Pharmacology-Toxicology and Endocrinology. Vol. 108, pp.343-348.

Jonsson, C.M. and Toledo, M.C.F. , 1993. Acute toxicity of endosulfan to the fish *Hyphessobrycon bifasciatus* and *Brachydanio rerio*. Archives of Environmental contamination and Toxicology, Vol. 24, pp.151-155.

Liong, P.C. ; Wan, P.H. and Velu, M. , 1988. Toxicity of some pesticides towards freshwater fishes. Malaysian Agricultural Journal, Vol. 54, pp.147-156.

Mason, C.F. , 1996. Biology of freshwater pollution. 3rd ed. Harlow, Essex, England, Longman, 356 P.

Rand, G.M. , 1995. Fundamental of aquatic toxicology effects, environmental fate and risk assessment. Second Edition. Tylor & Francis, Washington D.C., USA. 1125 P.

Shafiei, T.M. and Costa, H.H. , 1990. The susceptiblity and resistance of fry and

Archive of SID

fingerlings of *Oreochromis mossambicus* to some pesticides commonly used in Srilanka. Journal of Applied-Ichthyology, Vol. 67, pp.3-80.

Toledo, M.C.F. and Jonsson, C.M. , 1992. Bioaccumulation and elimination of endosulfan in zebra fish (*Brachydanyo rerio*). Pesticide Science, Vol. 36, pp.207-211.

Urdaneta, H. ; Camacho, Ch. and Quinones, G. , 1987. Amalignant Lymphoma in bager Pintado (*Pimelodus clarias*) from Zulia State Venezuela. Acta Cientifica Venezolana, Vol. 38, pp.279-281.