

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

عیسی شریفپور<sup>(۱)</sup>، مهدی سلطانی<sup>(۲)</sup> و مسعود جوادی<sup>(۳)</sup>

[issasharifpour@yahoo.com](mailto: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، 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 نیمه کشنده حشره کش ارگانوکلر آندوسولفان، تعیین محدوده کشنده کشندگی و تعیین مقدار حداقل غلظت مجاز سم و بررسی علام رفتاری و ضایعات بافتی ناشی از تأثیر سم بر روی برخی اندامهای حیاتی در بچه فیل ماهی (*Huso huso*) انجام پذیرفته است.

حشره کش 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  $24 \pm 1$  درجه سانتی گراد، طی چهار روز و در شرایط محیطی ثابت (در آزمایشگاه) به منظور تعیین غلظت نیمه کشنده آن مورد آزمایش قرار گرفت. داده های بدست آمده با استفاده از برنامه های Quatropopro و spss پردازش شده و با استفاده از معادله خطی ضریب همبستگی، روزهای مختلف تا ۹۶ ساعت پس از قوار گرفتن ماهیها در معرض سم تعیین گردید.

## Archive of SID

نتایج حاصله نشان داد که میزان LC<sub>50</sub> در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بترتیب ۰/۰۰۶۳، ۰/۰۰۱۶، ۰/۰۰۰۶ و ۰/۰۰۰۳ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. محدوده کشنده‌گی با حداقل ۱٪ و حداکثر ۲۵٪ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. همچنین حداکثر غلظت مجاز سم (MATC) برای فواصل زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بترتیب ۰/۰۰۰۱۶، ۰/۰۰۰۶ و ۰/۰۰۰۳ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید.

در بررسی ضایعات ناشی از سم، ماهیان مسموم از نظر بالینی علائمی از قبیل شنای غیر عادی، چرخش، تشنجه شدید و افتادن به کف آکواریوم را از خود نشان دادند. همچنین ماهیهای مسموم، رنگ پریشه‌تر بوده و دچار اختلال تنفسی شده و بویژه در غلظتهاي بالاي سم در فاصله زمانی کوتاهی تلف شدند. از نظر آسیب‌شناسی بافتی نیز در غلظتهاي بالاي سم ( $\geq 1\text{ ppm}$ )، پرخونی، تورم و جدا شدن لایه پایه رشته‌های آبششی، پرخونی و نکروز بافت کلیوی، پرخونی عروق، دژنرنسانس سلولهای کبدی و تا اندازه‌ای نکروز کبدی در ماهیان مورد آزمایش مشاهده گردید. با توجه به نتایج LC<sub>50</sub> (۱٪) و محدوده کشنده‌گی، آندوسولفان را برای بجهه فیل ماهی باید در دسته سوم "خیلی زیاد سمی" (Very High Toxic) در نظر گرفت.

**کلمات کلیدی:** LC<sub>50</sub>، 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).

بطورکلی 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

زنده در آن می‌باشد (کردوانی، ۱۳۷۳).

ماهیها یکی از مهمترین موجودات آبزی می‌باشند که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند و به همین دلیل جهت انجام آزمایش‌های زیست‌سنگی، در بعد وسیعی از آنها استفاده می‌گردد (اولا، ۱۳۶۹). حساسیت گونه‌های 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 عمدت‌ترین 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. به 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 کبور 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 اروپائی (*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 تیلابیا (*Orechromis mossambica*) در مرحله نوزادی و انگشت قدی باعث افزایش رفتارهای غیرعادی، ترشح مخاط، بیرون زدگی و در نهایت ترکیدن حدقه 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 پس از آنها به رودخانه‌ها وارد می‌شود. تعیین غلظت نیمه کشنده سم، مشخص نمودن محدوده کشنده‌گی و مقدار حداقل غلظت مجاز سم، بررسی علائم رفتاری ماهیانی که در معرض سم قرار می‌گیرند و همچنین بررسی ضایعات بافتی ناشی

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 ۳۵ درصد استفاده شده است.

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

بچه ماهیها از استخرهای آماده رهاسازی، در بخش تکثیر کارگاه شهید مرجانی گرجستان 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 سارگاری، 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 کشنده‌گی، غلظت بالاتری از سم (ppm) انتخاب و به آب اولین آکواریوم افزوده شد. سپس در سایر آکواریومها مقدار سم به روش تصاعد هندسی ( $0.5/0.1/0.05/0.01$  ppm...) محاسبه و به آنها اضافه شد. برای تعیین سمیت حد (LC<sub>50</sub> ۹۶ ساعت)، پس از تعیین محدوده کشنده‌گی، محدوده بدست آمده به روش تصاعد حسابی به ۵ قسمت مساوی تقسیم و آزمایش‌های تعیین سمیت حد با مقادیر  $0.0001$ ,  $0.0005$ ,  $0.0009$ ,  $0.0013$ ,  $0.0017$  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 دماسنجه، 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  $24 \pm 1$  درجه سانتی گراد 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 LC<sub>50</sub> 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 آبپوش ماهیان تلف شده نمونه برداری و در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت گردید. سپس از نمونه‌های ثابت شده براساس روش استاندارد بافت‌شناسی، مقاطع میکروسکوپی ۵ میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین و اتوژن رنگ‌آمیزی و با میکروسکوب 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 بجه ماهیها در معرض سم اقدام شد.

## نتایج

طی انجام آزمایش‌های مختلف، عوامل فیزیکی و شیمیائی 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

متغیر	مقدار
درجه حرارت	$24 \pm 1$ درجه سانتی‌گراد
اکسیژن محلول	۶/۶ میلی‌گرم در لیتر
نیترات	۰/۱ میلی‌گرم در لیتر
نیتریت	۰/۰۲۷ میلی‌گرم در لیتر
pH	۸/۴
هدایت الکتریکی (EC)	۰/۹ میلی زیمنس
سختی کل (HT)	۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر

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).

*Archive of SID*

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	۱۰۰	۱	
۸۰	۸۰	۱۰۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۲	
۷۰	۸۰	۹۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۳	
۷۶	۸۳	۹۷	۹۷	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	میانگین (سد 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 کشنندگی، مقادیر سم مورد استفاده به روش تصاعد هندسی و برایه غلظت ۱ ppm که غلظت بالاتر از سم است محاسبه گردیده بود که با توجه به اعداد بدست آمده، مقدار حداقل و حد اکثر غلظت کشنندگی سم طبق جدول ۳ برای ماهیان بین ۰/۰۰۰۱ تا ۰/۰۰۲۵ میلی گرم 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 کشنندگی سم است.

## جدول ۳: تعیین محدوده کشنندگی 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
۵۰	۰/۰۰۱
۳۰	۰/۰۰۰۵
۱۰	۰/۰۰۰۲
۰	۰/۰۰۰۱

نتایج بدست آمده برای مقدار LC<sub>50</sub> در مدت ۹۶ ساعت در جدول (۴) آمده است.

## Archive of SID

جدول ۴: مقادیر مختلف LC<sub>50</sub> طی ۴ روز برای ماهیان آزمایش شده

زمان (ساعت)	LC <sub>50</sub> (ppm)	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
	۰/۰۰۶۳	۰/۰۰۱۶	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۳

از روی مقادیر LC<sub>50</sub> می‌توان مقدار حداکثر غلظت مجاز سم (MATC) <sup>(۱)</sup> را بدست آورد (جدول ۵).

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

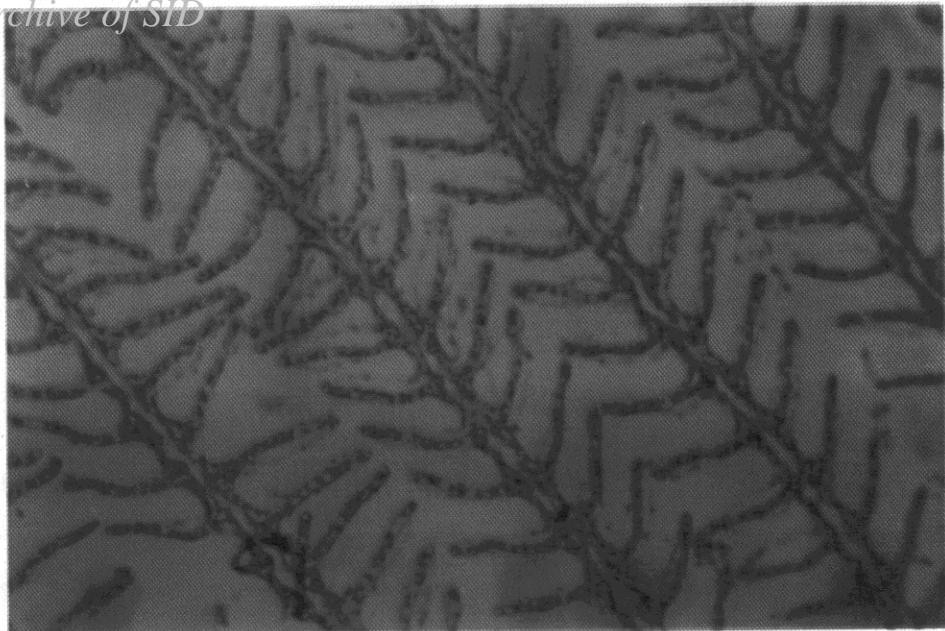
زمان (ساعت)	LC <sub>50</sub> (ppm)	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
	۰/۰۰۰۶۳	۰/۰۰۰۱۶	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۳

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 سرپوش‌های 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 کشنندگی، 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.

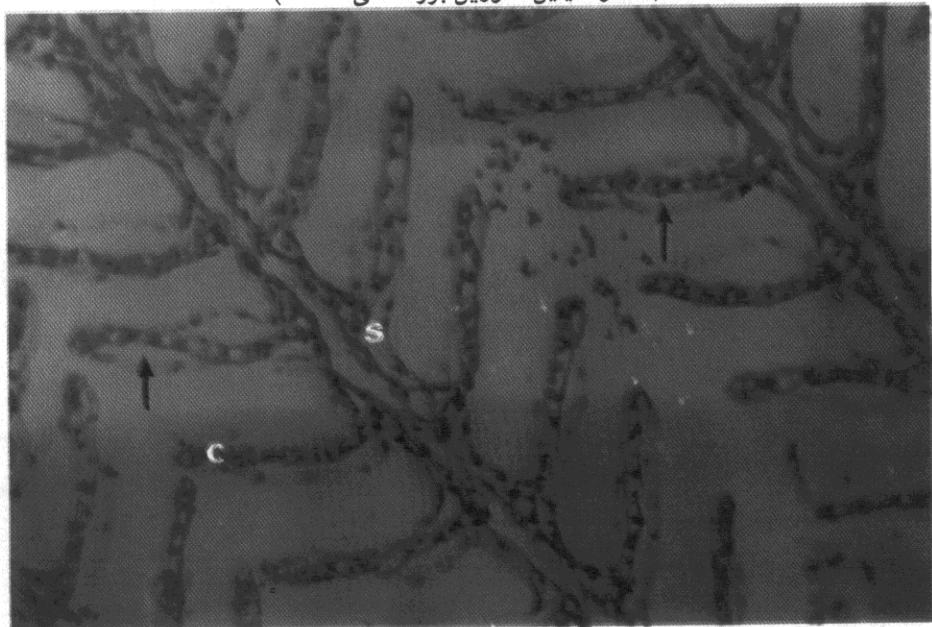
بافت‌های آبشش، کلیه و کبد ماهیانی که در معرض مقادیر ۱۰/۰۰۰۱۵، ۱۰/۰۰۰۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از سم آندوسولفان قرار گرفته بودند مورد مطالعات آسیب‌شناسی قرار گرفتند که نتایج این بررسی‌ها در غلظتهاي بالاي سم ( $\geq 1\text{ ppm}$ ) بشرح زير مي باشد:

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 پرخون بوده و در سلولهای اپی‌تیلیال شبکه گلومرولی، لوله‌های ادراری و همچنین بافت بینابینی کلیه، نکروز بافتی مشاهده گردید (شکل ۳). ذر بافت کبد نیز پرخونی عروق، دزترسانس سلولهای کبدی و تا اندازه‌ای مقداری نکروز در برخی از قسمتها قابل روئیت بود (شکل ۴).

1 - Maximum Allowable Toxicant Concentration



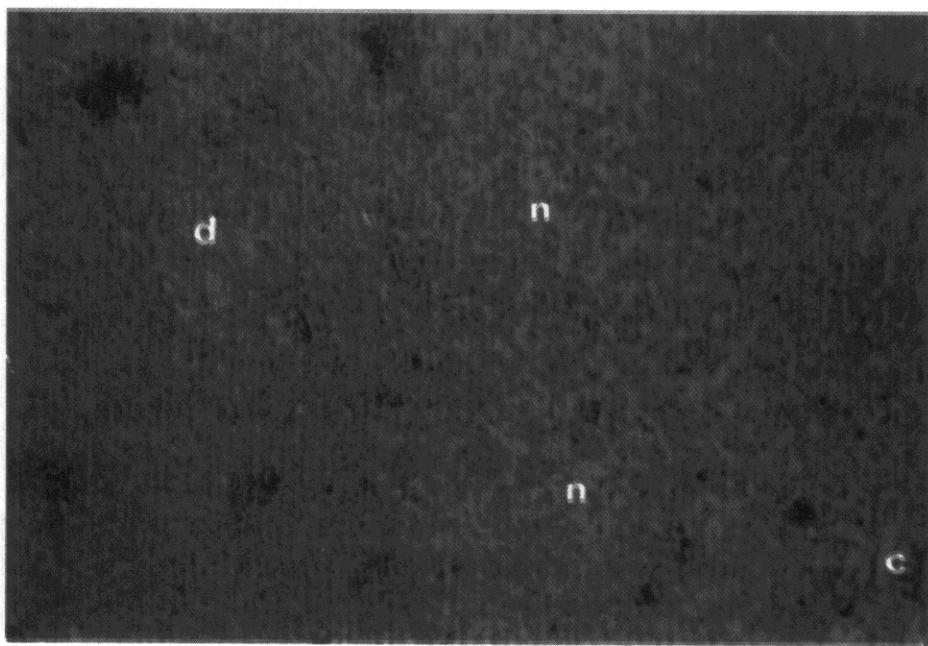
شكل ۱: منظره عمومی آبشنش آسیب دیده بچه فیل ماهی مسموم  
(هماتوكسیلین، اوزین بزرگنمائی  $\times 200$ )



شكل ۲: در بزرگنمائی بیشتر شکل ۱ پرخونی (C)، تورم لایه پایه رشته‌های آبشنشی (بیکانها) و تورم و جدا شدن لایه پریکندریوم رشته اولیه آبشنشی (S) در بچه فیل ماهی که در معرض سم آندوسولفان قرار گرفته به وجود آمد (هماتوكسیلین، اوزین بزرگنمائی  $\times 400$ )



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، اوزین بزرگنمائی  $\times 200$ )



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

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 ضايرات ناشی از این سم در بافت‌های مختلف می‌باشد.

میزان LC50 بدست آمده برای سم آندوسولفان در این تحقیق کمتر از ۱/۰ ppm تعیین شده است (جدول ۴). جدول ۶ سطوح سمیت حشره‌کش‌های مختلف در (1993) Pesticide Dictionary را نشان می‌دهد (پيرى و همكاران، ۱۳۷۶).

جدول ۶: سطوح سمیت حشره‌کش‌های مختلف

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

براساس جدول ۶ و با توجه به اینکه LC50 سم آندوسولفان برای بچه فیل ماهی در این تحقیق کمتر از ۱/۰ ppm بدست آمده لذا می‌توان گفت که سم آندوسولفان برای بچه فیل ماهی از نظر درجه سمیت در درجه سوم "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 ۵۰ 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 فزاينده‌ای می‌شود که خود به مرور زمان موجب پائین آمدن LC50 است.

حداکثر غلظت مجاز سم (MATC) با توجه به مقادیر  $LC_{50}$  بدست آمده محاسبه و تعیین شده است. این مقدار بطور متوسط  $10\text{ mg/L}$  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 نیاندارد. 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)<sup>(۱)</sup> 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 نداشته باشد که آنرا (LOEC)<sup>(۲)</sup> می‌گویند. حداکثر غلظت مجاز سم بیشتر از غلظتی است که هیچ اثری ندارد و کمتر از غلظتی است که کمترین اثر را دارد (Rand, 1995).  $NOEC < MATC < LOEC$ .

سرایلو در سال ۱۳۷۶ گزارش نموده است که شرایط کیفی آب بیوژه 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 مشت است یعنی با افزایش دمای آب به میزان سمیت آن افزوده می‌شود. در مطالعه‌ای توسط Gansan و همکاران در سال ۱۹۸۹، مقادیر  $LC_{50}$  سم آندوسولفان در ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) در فواصل زمانی ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ و ۹۶ ساعت بترتیب  $50.2\text{ mg/L}$ ،  $50.7\text{ mg/L}$  و  $50.6\text{ mg/L}$  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  $20\%$  مقاوم‌تر است.

و همکاران در سال ۱۹۸۸ میزان  $LC_{50}$  ۲۴ ساعته سم آندوسولفان را روی نوعی تیلاپیا Loing  $ppm$  برآورد نمودند که این نتایج نشان می‌دهد این گونه تیلاپیا نسبت به فیل ماهی  $20\%$  برابر مقاوم‌تر است.

*Archive of SID*

میزان ۹۶ LC<sub>50</sub> ساعته در نوعی ماهی سیم دریایی (striped bass) ppm مقدار ۰/۰۰۰۱ تخمین زده شده (Jonsson & Toledo, 1993)، که در مقایسه با فیل ماهی که میزان ۹۶ LC<sub>50</sub> 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 ۹۶ LC<sub>50</sub> 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 ۹۶ LC<sub>50</sub> و ۷۲، ۴۸، ۲۴ ساعت سم آندوسولفان را در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بترقیب ۰/۰۰۶۱، ۰/۰۰۲۹، ۰/۰۰۱۶ و ۰/۰۰۰۹ میلی گرم در لیتر تعیین نمود که با توجه به آن می‌توان گفت که کپور معمولی در مقابل سم آندوسولفان ۸ برابر مقاومتر از فیل ماهی است. Costa و همکاران در سال ۱۹۸۷ در بررسی اثر مقابل حشره‌کش‌ها و سیستم عصبی به این نتیجه رسیدند که اکثر حشره‌کش‌های امروزی قادر به تأثیرگذاری بر روی سیستم عصبی جانوران از جمله ماهی هستند. بطوط کلی اولین هدف حشره‌کش‌های تأثیرگذار بر روی سیستم عصبی، غشای سلولی می‌باشد. بعضی از حشره‌کش‌ها در عمل انتقال سدیم به داخل غشاء اکسونها دخالت دارند لذا باعث تغییر در جریان یون سدیم ( $\text{Na}^+$ ) به داخل غشاء سلول می‌شوند. ATPase غشای اکسونها یکی از نقاطی است که به عنوان هدف، تحت تأثیر حشره‌کشها قرار می‌گیرد و سم آندوسولفان از عملکرد ATPase ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ) جلوگیری می‌کند.  $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$  ATPase که در آزاد کردن انتقال دهنده‌های عصبی نقش دارند نیز بوسیله آندوسولفان و DDT و دیگر حشره‌کش‌های ارگانوکلره مورد تأثیر قرار می‌گیرند (Mason, 1996). به حال تصور می‌شود که سموم ارگانوکلره از عملکرد طبیعی پمپ  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  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 فوق العاده برای ماهی دارند (غفاری و شریفپور، ۱۳۸۰).

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

نکروز ایجاد نمود که بعضی از این عوارض مثل پرخونی و تورم، پاسخ آماسی بافت به ماده محرك و بعضی دیگر از جمله دزترسانس و نکروز، تخریب بافتی است که در بی 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 آلدرين 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 آنجاکه 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 می‌افتد)، 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 فوق العاده سمی بوده و جزء سموم خطرناک محسوب می‌شود. میزان عکس العمل و ضایعات ناشی از این سم در آبزیان به عواملی مانند سن، گونه و وضعیت فیزیولوژی بدن آبزی 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 قمری 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 نقش‌مهر، 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 اکوتوكسیکولوژیکی ب با ارگانیزم. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، سال ششم، صفحات ۲۳ تا ۳۴.
- سرايلو، م.ح.، ۱۳۷۶. سمشناسی حشرات. صفحات ۱۷۳ تا ۱۷۴.
- شريف روحاني، م.، ۱۳۷۴. تشخيص، پيشگيری و درمان بيماريها و مسموميتهای ماهی (ترجمه). معاونت تکشیر و پرورش شیلات ایران، ۲۵۶ صفحه.
- غفاری، م. و شريف پور، ع.، ۱۳۸۰. كيفيت آب و بهداشت ماهی (ترجمه). معاونت تکشیر و پرورش شیلات ایران. نشریه علمی، شماره ۲۰، ۱۰۷ صفحه.
- فتحاللهی، ب.، ۱۳۷۷. مطالعه اثرات کشنده‌گی و ضایعات ناشی از سم آندوسولفان در ماهی کبیر معمولی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، ۴۶ صفحات ۲۴ تا ۲۴.
- كردواني، پ.، ۱۳۷۳. اکوسیستمهای طبیعی جلد دوم اکوسیستمهای آبی. مرکز فرهنگی و انتشاراتی بالیز، صفحات ۱۵۷ تا ۱۵۵.
- 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. Berling, New York, Springer-Verlag. pp.77-82.

**Finney, D. , 1971.** Probite 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 *Hypessobrycon 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 susceptibility 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.