

تعیین سمیت و LC50 فنل و ۱- نفتول روی ماهیان انگشت قد سیم و سفید

فاطمه شریعتی^(۱)، عباس اسماعیلی ساری^(۲) و محمد پیری^(۳)

shariat_20@yahoo.com

- ۱- انستیتو تحقیقات بین‌المللی مامیان خاویاری، رشت صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵
 - ۲- دانشکده منابع طبیعی و شیلات دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۳۵۶-۴۶۴۱۴
 - ۳- مرکز تحقیقات شیلات استان گلستان، گرگان صندوق پستی: ۱۲۹-۴۹۱۶۶
- تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۸۲

چکیده

در این تحقیق سمیت حاد ترکیبات فنل و ۱- نفتول روی ماهیان سیم (*Abramis brama orientalis*) و سفید (*Rutilus frisii kutum*) تحت شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات به روش ساکن طی ۹۶ ساعت انجام شد و کلیه پارامترهای مهم فیزیکی، شیمیایی و فیزیکوشیمیایی آب نظیر دما، pH، اکسیژن محلول، سختی و هدایت الکتریکی کنترل گردید. آزمایشات با پنج تیمار و سه تکرار در هر تیمار انجام شد. داده‌ها با استفاده از برنامه نرم‌افزاری Statgraphics و Quatro Pro و روش آماری Probit Analysis مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقدار LC50 ۹۶ ساعته فنل و ۱-نفتول برای ماهی سفید به ترتیب ۲۱/۵۹۲۸ و ۲/۱۵۴۴ میلی‌گرم در لیتر و برای ماهی سیم به ترتیب ۲۵/۱۸۸۰ و ۲/۸۴۹۰ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. حداکثر غلظت مجاز (MAC) فنل برای ماهی سفید و سیم به ترتیب ۲/۱۵۹۳ و ۲/۵۱۸۸ میلی‌گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز ۱-نفتول برای ماهی سفید و سیم به ترتیب ۰/۲۱۵۴ و ۰/۲۸۴۹ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. نتایج آزمایشات نشان دادند که ماهی سفید در برابر فنل و ۱-نفتول حساس‌تر از ماهی سیم می‌باشد و ترکیب ۱-نفتول نیز برای هر دو ماهی سمی‌تر از فنل است.

کلمات کلیدی: فنل، ۱-نفتول، ماهی سفید، ماهی سیم، LC50

مقدمه

سالانه مقدار زیادی نفت در اثر تردد نفتکش‌ها و حمل و نقل دریایی، رواناب رودخانه‌ها، نشت طبیعی، ریزش جوی، رواناب شهری و تصادفات و حوادث، وارد دریا می‌گردد. بعنوان مثال در حال حاضر سالانه تردد نفتکش‌ها از مرز ده‌ها هزار گذشته و پیش‌بینی می‌شود که با بهره‌برداری از منابع نفتی در سالهای آینده بنحو چشمگیری افزایش یابد.

یکی از ترکیبات موجود در نفت و پساب پالایشگاههای نفت، ترکیبات فنلی است که ممکن است تک عاملی (نظیر فنل، کرزول، نفتول و زایلنول) و یا چند عاملی (نظیر پیروکاتکول، رزورسین، هیدروکینون، پیروگال و فلوروگلسین) باشد.

عازره بر این فنل در ساخت و تولید تعداد زیادی از ترکیبات عطری و موارد مختلفی شامل مواد منفجره، کودهای شیمیایی، کک، گازهای درخشان (Illuminating gases)، رنگ‌ها، لاستیک، اجناس تهیه شده از پنبه نسوز (Asbestos)، مواد پاک‌کننده، رنگ‌زدا، رزینهای مصنوعی، مواد محافظت‌کننده چوب، منسوجات، داروها، لوازم کائوچویی (باکلیت) و سایر مواد پلاستیکی نظیر فنل - فرمالدئید بکار می‌رود. فنل در صنایع چرم، کاغذ، صابون، اسباب‌بازی، دباغی، رنگرزی و کشاورزی نیز مصرف دارد (ثنایی، ۱۳۷۶).

در پساب کارخانجات آلومینیوم‌سازی، اتومبیل‌سازی، ساخت مواد شیمیایی آلی، ذوب آهن و پالایشگاه‌های نفت و زباله‌های بیمارستانی نیز ترکیبات فنلی وجود دارند (خورشیدی‌راد و آذری، ۱۳۶۴؛ رضانی‌گورابی، ۱۳۶۹).

ترکیبات مذکور از سمی‌ترین ترکیبات برای آبزیان می‌باشند و از آنجاییکه براساس منابع، مقدار این مواد در بعضی از نواحی دریای خزر با توجه به اکتشاف و بهره‌برداری از منابع نفتی و نیز در اثر ورود از طریق رودخانه‌های حوضه آبریز افزایش یافته، اثر سمیت دو ترکیب فنلی (فنل و ۱-نفتول) بر ماهیان سیم و سفید که از ماهیان با ارزش دریای خزر می‌باشند، مورد بررسی قرار گرفت (بذرافشان، ۱۳۷۳؛ تقی‌پور، ۱۳۷۷؛ حسنی‌ضیابری، ۱۳۷۹؛ شریعتی، ۱۳۷۸).

طی تحقیقی عنوان گردیده که LC₅₀ ۹۶ ساعته فنل برای ماهیان دریایی بین ۵/۶ تا ۳۰/۱۶ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد (Berton, 1998). مروری بر مطالعات گذشته نشانگر آن است که در یک تحقیق مقدار

LC50 ۹۶ ساعته فنل برای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی آزمایش به روش ساکن، ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و در بررسی دیگری روی ماهی مینوی فتهد (*Pimephales promelas*) ۲۴/۹ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (Anderson et al., 1979)؛ (De Graeve et al., 1980). همچنین طی یک بررسی مشخص گردید مقدار LC50 ۹۶ ساعته ۱-نفتول برای ماهی (*Channa punctata*) در حد ۲/۹۹ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد (Tilak, 1982).

ماهی سفید با نام علمی (*Rutilus frisii kutum*) مهم‌ترین ماهی فلس‌دار استخوانی اقتصادی سواحل جنوبی دریای خزر است که ذخایر آن با تکثیر مصنوعی بازسازی شده و همه ساله بیش از صد میلیون بچه ماهی تولید و مقادیر بسیار زیادی از آنها در خروجی‌های تالاب انزلی رهاسازی می‌شوند. ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) نیز از ماهیان اقتصادی دریای خزر می‌باشد که در سال‌های اخیر میزان صید آن کاهش یافته و آلودگی آبها در این زمینه عامل مؤثری بوده است (پیری و اردگ، ۱۳۷۷).

مواد و روش کار

برای انجام آزمایش‌ها ترکیبات فنل و ۱-نفتول با درجه خلوص بالا (extra pure) استفاده شدند. ماهیان انگشت قد سیم و سفید به وزن ۰/۵ تا ۲/۵ گرمی از کارگاه تکثیر و پرورش شهید انصاری تهیه و به محل آزمایش منتقل شدند. ماهیان به مدت حداقل یک هفته به شرایط آزمایشگاه سازگاری یافتند. آزمایشات با پنج تیمار و سه تکرار در هر تیمار انجام شد. تعداد ۱۶ آکواریوم در آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت که تا حجم ۲۰ لیتر آبگیری شدند. آب موجود در آکواریوم‌های آزمایشی قبل از وارد نمودن بچه ماهی‌ها به آنها به مدت ۲۴ ساعت هوادهی شد تا کلرزدایی گردد. ضمناً این عمل موجب کاهش سختی آب نیز شد.

غلظت‌هایی از سم که به روش لگاریتمی تعیین شده بود، تهیه گردیده (با استفاده از آب مقطر) و سپس به هر آکواریوم ۱۰ عدد ماهی منتقل شد. تراکم ماهیان در آکواریوم‌ها بایستی در حد ۱ گرم در لیتر باشد که ترتیب مذکور رعایت گردید (TRC, 1984). برای رسیدن به میزان واقعی، آزمایشات چند بار تکرار شد تا اندازه‌های تقریبی مورد نظر بدست آمد.

در طول آزمایش پارامترهای مهم فیزیکی، شیمیایی و فیزیکوشیمیایی آب آکواریومها نظیر درجه حرارت، اکسیژن محلول آب، pH، سختی و هدایت الکتریکی بطور روزانه و در بعضی موارد چند بار در روز اندازه گیری شد. هوادهی آکواریومها توسط سیستم هواده مرکزی صورت گرفت و اکسیژن محلول همواره بیشتر از ۵ میلی گرم در لیتر بود (جدول ۱). در پایان هر روز، مرگ و میر ماهیها ثبت و ماهیان مرده به دقت مورد بررسی قرار گرفتند. علائم ظاهری ایجاد شده بر اثر ترکیبات مذکور ثبت گردید. این آزمایشات براساس روش OECD (TRC, 1984) به مدت ۹۶ ساعت برای هر تکرار انجام گرفت و در پایان، دادههای حاصله با استفاده از رایانه به کمک برنامه نرم افزاری Statgraphics و Quatro Pro و روش آماری Probit analysis تجزیه و تحلیل گردید و سپس مقادیر ترکیبات آزمایشی برای ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ماهیان سیم و سفید محاسبه شد. غلظت‌های آزمایشی فنل برای ماهی سفید ۲۰/۱، ۲۱/۹، ۲۴/۰، ۲۶/۴ و ۲۸/۸ میلی گرم در لیتر و برای ماهی سیم ۲۱/۰، ۲۳/۱۰، ۲۴/۹، ۲۷/۳ و ۲۹/۷ میلی گرم در لیتر بود. غلظت‌های آزمایش ۱-نفتول برای ماهی سفید ۲/۰۰، ۲/۲۰، ۲/۴۵، ۲/۷۰ و ۳/۰۰ میلی گرم در لیتر و برای ماهی سیم ۵/۰، ۶/۰، ۷/۰، ۸/۳ و ۱۰/۰ میلی گرم در لیتر بود. ضمناً فاکتور حساسیت دو گونه مختلف در برابر هر ماده نیز طبق معادله ۱ محاسبه شد. در طول آزمایش، ماهیان غذادهی نشدند و کلیه آزمایشها در دمای 25 ± 2 درجه سانتیگراد انجام گردید.

$$\text{معادله (۱)} = \frac{\text{LC}_{50} \text{ ماهی سیم}}{\text{LC}_{50} \text{ ماهی سفید}} = \text{فاکتور حساسیت}$$

جدول ۱: پارامترهای شیمیایی آب آکواریومهای آزمایشی

پارامتر	مقدار
سختی	۱۹۸ میلی گرم / لیتر کربنات کلسیم
اکسیژن	همواره بیش از ۵ میلی گرم / لیتر
هدایت الکتریکی	(۰/۵ تا ۰/۷) میکروزیمنس / سانتیمتر
pH	8.3 ± 0.25
TDS	(۰/۳ تا ۰/۵) گرم / لیتر
فسفات	۰/۱۱۰ میلی گرم / لیتر
نیترات	۰/۵ میلی گرم / لیتر
نیتریت	۰/۰۰۳۴ میلی گرم / لیتر

نتایج

اثر ظاهری فنل بر ماهیان انگشت قد سیم و سفید یکسان بوده و در مورد هر دو گونه ملاحظه گردید که در غلظت‌های کمتر، ماهیان حالت غیرعادی و شتاب‌زده داشتند و از وضعیت فرار می‌کردند. افزایش فعالیت و تحریک‌پذیری همراه با پریدن به بیرون از آب و عدم تعادل در ماهیان بوضوح رؤیت شد. در غلظت‌های بالاتر ماهیان بطور معکوس و عمودی شنا می‌کردند و رنگ سطح بدن آنان پس از اینکه مدتی در معرض سم قرار گرفتند، به روشنی گرایش یافت. در بعضی از ماهیان بیرون‌زدگی چشم (اکزوفتالمی)، وجود مخاط فراوان روی سطح بدن، لکه‌های خونی اطراف چشم و پرخونی آبشش‌ها مشاهده گردید. افزودن فنل به آب تغییری در pH و سختی آب آکواریوم‌ها ایجاد نمود. اما پس از پایان دوره آزمایش (۹۶ ساعت) مقدار سختی آب به دلیل هوادهی مکرر کمی کاهش یافت.

مقادیر LC₅₀, LC₉₀ و LC₁₀ ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته فنل برای ماهیان سیم و سفید در جدول ۲ ارائه شده است. با مشاهده جدول استنباط می‌گردد که عمده تلفات حاصله از فنل طی ۲۴ ساعت اول صورت گرفته است. مقادیر حداقل غلظت موثر (LOEC)^(۱) غلظت غیرموثر (NOEC)^(۲) و حداکثر غلظت مجاز (MAC)^(۳) نیز از مقادیر LC محاسبه گردیده است (جدول ۳).

جدول ۲: سمیت فنل برای ماهی سفید و سیم

LC90 (میلی‌گرم/لیتر)				LC50 (میلی‌گرم/لیتر)				LC10 (میلی‌گرم/لیتر)				سمیت
۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	زمان (ساعت)
												ماهی
۲۵/۶۶۵۲	۲۵/۶۶۵۲	۲۵/۶۶۵۲	۳۱/۵۲۹	۲۱/۵۹۲۸	۲۱/۵۹۲۸	۲۱/۵۹۲۸	۲۵/۲۳۳۹	۱۸/۱۶۶۶	۱۸/۱۶۶۶	۱۸/۱۶۶۶	۲۰/۱۸۱۴	سفید
۲۸/۸۴۴۲	۲۸/۸۴۴۲	۲۸/۹۲۸۹	۳۰/۲۰۸۱	۲۵/۱۸۸۰	۲۵/۱۸۸۰	۲۵/۳۲۸۱	۲۶/۲۷۵۰	۲۱/۹۹۳۷	۲۱/۹۹۳۷	۲۲/۱۷۵۵	۲۲/۸۵۵۱	سیم

- 1 - Lowest Observed Effect Concentration 2 - No-Observed Effect Concentration
3 - Maximum Allowable Concentration

جدول ۳: مقادیر LOEC, NOEC, MAC فنل برای ماهیان آزمایشی

غلظت	LOEC	NOEC	MAC
ماهی	(میلی گرم/لیتر)	(میلی گرم/لیتر)	(میلی گرم/لیتر)
سفید	۱۸/۱۶۶۶	۲/۱۵۹۳	۲/۱۵۹۳
سیم	۲۱/۹۹۳۷	۲/۵۱۸۸	۲/۵۱۸۸

در مورد تأثیر ۱-نفتول شنای نامتعادل و در بعضی موارد کندی حرکات ملاحظه شد. پس از مدتی قرار گرفتن در معرض ۱-نفتول رنگ سطح بدن ماهیان به روشنی گرایید و مخاط روی پوست افزایش یافت. برخی آبخش‌ها و بیرون‌زدگی چشم در بعضی از ماهیان آزمایشی ملاحظه گردید. اضافه نمودن ۱-نفتول به آب آکواریوم‌ها تأثیر عمده‌ای بر عواملی نظیر pH، سختی و هدایت آب نداشت. مقادیر LC50 ۹۶ ساعته ۱-نفتول روی ماهیان سیم و سفید در جدول ۴ ارائه گردیده است. مقادیر حداقل غلظت مؤثر (LOEC)، غلظت غیرمؤثر (NOEC) و حداکثر غلظت مجاز (MAC) ۱-نفتول نیز در جدول ۵ ارائه شده است.

جدول ۴: سمیت ۱-نفتول برای ماهیان سیم و سفید

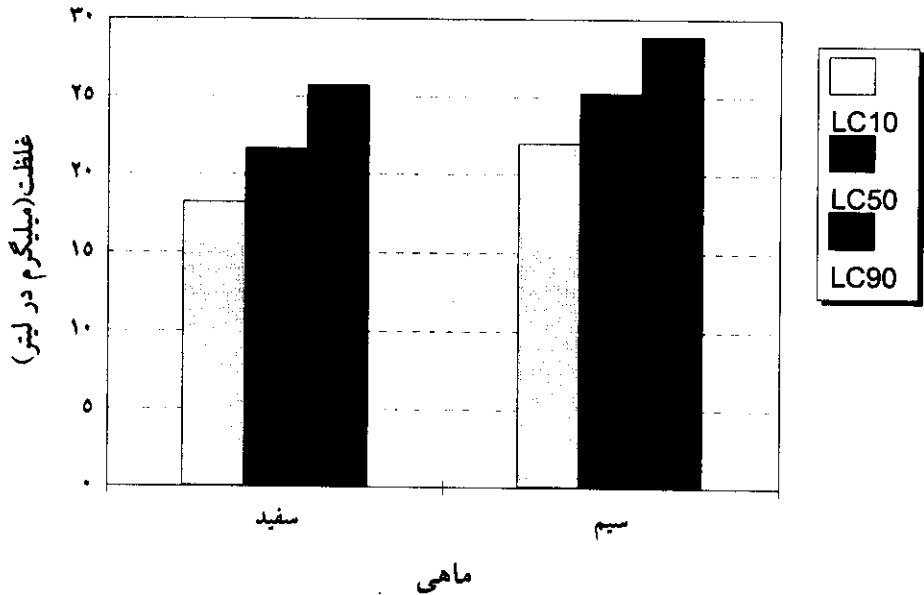
سمیت	LC10				LC50				LC90			
	(میلی گرم/لیتر)				(میلی گرم/لیتر)				(میلی گرم/لیتر)			
زمان (ساعت)	۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	۹۶	۷۲	۴۸	۲۴
ماهی سفید	۱/۸۳۰۱	۱/۵۹۴۹	۱/۷۹۳۹	۱/۲۸۳۶	۲/۱۵۲۴	۲/۳۲۷۶	۲/۶۶۱۵	۳/۱۵۵۲	۲/۵۳۶۲	۲/۳۹۷۷	۲/۹۲۸۸	۲/۰۰۸
ماهی سیم	۲/۴۵۶۲	۲/۴۵۶۲	۲/۵۷۲۶	۲/۷۷۷۷	۲/۸۲۹	۲/۸۷۷۱	۲/۶۳۲۲	۲/۶۳۲۲	۲/۳۰۴۷	۲/۸۵۶۵	۲/۳۹۲۵	۲/۷۶۷

جدول ۵: مقادیر LOEC, NOEC, MAC نفتول برای ماهیان آزمایشی

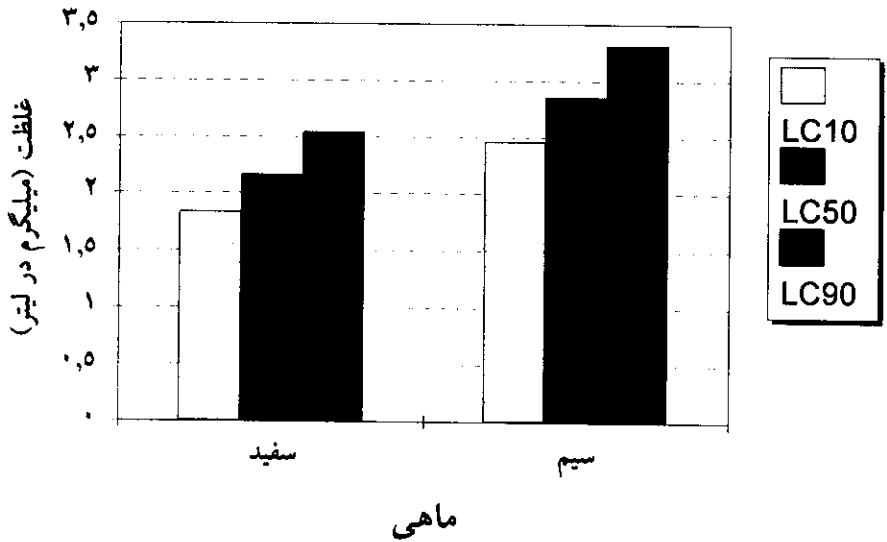
غلظت	LOEC	NOEC	MAC
ماهی	(میلی گرم/لیتر)	(میلی گرم/لیتر)	(میلی گرم/لیتر)
سفید	۱/۸۳۰۱	۰/۲۱۵۲	۰/۲۱۵۴
سیم	۲/۴۵۶۲	۰/۲۸۴۹	۰/۲۸۴۹

مقایسه اثر سمیت فنل و ۱-نفتول به تفکیک در مورد ماهیان سیم و سفید در نمودارهای ۱،

۲، ۳ ارائه شده است.



نمودار ۱: مقایسه سمیت فنل برای ماهیان مختلف



نمودار ۲: مقایسه سمیت ۱-نفتول برای ماهیان مختلف



نمودار ۳: مقایسه سمیت فنل و ۱-نفتول برای ماهیان مختلف

بحث

مقایسه نتایج حاصل از جداول نشانگر آن است که سمیت ۱-نفتول برای ماهیان سیم و سفید بیشتر از فنل می‌باشد که این نتایج با نتایج حاصله توسط سایر محققین در مورد ماهیان دیگر مطابقت دارد (Crookes & Howe, 1996 ; Noga, 2000 ; Stene & Lonning, 1985 ; Chen & Rong, 1991) (Svobodova *et al.*, 1993 ; Mason, 1996 ; Dang & Masurekar, 1985 ; Tilak, 1982

ماهی سفید در برابر فنل حساس‌تر از ماهی سیم بود که میزان تغییرات این فاکتور در ارتباط با فنل ۱/۱۷ بدست آمد. ماهی سفید در برابر ۱-نفتول نیز ۱/۳۲ برابر حساس‌تر از ماهی سیم بود.

محدوده نتایج حاصل از آزمایشات انجام شده نشانگر آن است که LC_{50} ۹۶ ساعته فنل برای ماهیان سفید و سیم به ترتیب ۲۱/۵۹۳ و ۲۵/۱۸۸ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد که به نتایج تحقیقات سایر محققین نزدیک است و در محدوده ذکر شده Berton و همکاران (۱۹۹۸) قرار می‌گیرد (De Graeve *et al.*, 1980 ; Anderson *et al.*, 1979 ; Berton, 1998).

همچنین سمیت ۱- نفتول برای دو گونه ماهی سفید و سیم بترتیب ۲/۱۵۴ و ۲/۸۴۹ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد که به مقدار گزارش شده توسط Tilak (1982) نزدیک است.

از آنجایی که در چندین تحقیق صورت گرفته، ترکیبات فنلی در حوضه جنوبی دریای خزر اندازه‌گیری شده‌اند، نتایج حاصله از آزمایشات فوق با اعداد مذکور مقایسه گردیدند و مشاهده شد در همه موارد مقادیر فنل موجود کمتر از حد سمی تعیین شده در آزمایشات بود (تقی‌پور، ۱۳۷۷؛ بذرافشان، ۱۳۷۳؛ تمسکنی اصفهانکلاویه، ۱۳۷۷؛ حسنی ضیابری، ۱۳۷۹).

اما با توجه به عملیات استخراج نفت در دریای خزر و افزایش فضولات و فاضلاب‌های شهری و صنعتی که ممکن است حاوی ترکیبات فنلی باشند، احتمال افزایش این مقادیر وجود دارد که بایستی تمهیداتی در این زمینه‌ها فراهم آید. بعنوان مثال فاضلاب‌های شهری و صنعتی بایستی تصفیه شده و سپس به محیط‌های آبی طبیعی منتقل گردند تا از اثرات سمی آن‌ها کاسته شود.

ضمناً پیشنهاد می‌گردد آزمایشات سم‌شناسی به روش جاری (flow-through) روی آبزیان انجام شود زیرا در آن صورت امکان شبیه‌سازی به محیط طبیعی بیشتر وجود دارد. توصیه می‌گردد آزمایشات سمیت با مخلوط مواد سمی که در محیط آبی وجود دارند نظیر آفتکش‌های ارگانوکلره و ارگانوفسفره، کودهای شیمیایی نیتروژن دار و فسفردار و فلزات سنگین و سایر مواد انجام شود تا اثرات تشدیدکنندگی (Synergism) و تضعیف‌کنندگی (antagonism) و برهم‌کنش‌های این مواد با هم که طبیعتاً در اکوسیستم‌های واقعی نیز وجود دارد، مورد مطالعه قرار گیرد.

مقایسه سمیت دو ترکیب فنل و ۱-نفتول برای ماهیان مختلف نشان‌دهنده آن است که ۱-نفتول برای هر دو ماهی سمی‌تر از فنل می‌باشد و این اختلاف در حدود ۱۰ برابر است (نمودار ۳). احتمالاً دلیل اختلاف سمیت و بیشتر بودن سمیت ۱-نفتول، دو حلقه‌ای بودن آن در مقایسه با فنل یک حلقه‌ای است زیرا در ترکیبات آروماتیک هر چه تعداد حلقه بیشتر شود، سمیت نیز بیشتر می‌گردد.

منابع

- بذرافشان؛ ع.ا.، ۱۳۷۳. بررسی پارامترهای فیزیکوشیمیایی و آلودگی‌های نفتی در بخش جنوب شرقی دریای خزر. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد آلودگی دریا. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ۱۷۶ صفحه.
- پیری، م. و اردگ، و.، ۱۳۷۷. بررسی اثرات سموم دیازینون، مالاتیون، ماچتی و ساترن بر روی مرگ و میر بچه ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*). مجله علمی شیلات ایران، سال هفتم، شماره ۴، صفحات ۹ تا ۱۸.
- تقی‌پور، و.، ۱۳۷۷. تعیین بار آلودگی سواحل جنوبی دریای خزر نسبت به ترکیبات فنلی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد آلودگی دریا. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ۹۴ صفحه.
- تمسکنی اصفهانکلاته، م.ر.، ۱۳۷۷. استفاده از روش اسپکتروفوتومتری برای شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات فنلی موجود در آب خلیج گرگان. صفحات ۴۲ تا ۵۰.
- ثنایی، غ.ح.، ۱۳۷۶. سم‌شناسی صنعتی جلد دوم. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۶۱ تا ۹۵.
- حسینی ضیابری، س.ا.، ۱۳۷۹. بررسی کیفی هیدروکربن‌های نفتی (PAHs) در آب اسکله صیادی-تجاری بندر انزلی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد آلودگی دریا. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.
- خورشیدی‌راد، ف. و آذری، ف.، ۱۳۶۴. بررسی صنایع آلوده‌کننده آب و خاک. اداره کل حفاظت محیط زیست استان گیلان. صفحات ۵۸ تا ۶۱، ۱۰۵ تا ۱۰۶ و ۹۵.
- رضائی گورابی، ب.، ۱۳۶۹. بررسی منابع آلوده‌کننده آب و خاک. سازمان برنامه و بودجه. واحد مطالعات و برنامه ریزی، صفحه ۴۲.
- شریعتی، ا.، ۱۳۷۸. اکولوژی دریای خزر. موسسه تحقیقات شیلات ایران. صفحات ۱۷۱ تا ۲۰۸.
- Anderson, P. ; Spear, P. ; D Apollonia, S. ; Perry, S. and Dick, J. , 1979. Alberta oil sands environmental research program, Report 79.

- Chen, Y. and Rong, P. , 1991.** Effect of no.2 fuel oil, phenol and sodium sulphide on growth, reproduction and chlorophyll a content of *Nitzschia closterium*, oceanol. limnol. Sin. Haiyang. Yu. Huzhao, Vol.22, No.1, pp.21-28.
- Crookes, M.J. and Howe, P. , 1996.** Environmental hazard assessment: phenol, Toxic substances the division department of environment, London, TSD/25, 98 P.
- Dang, A.D. and Masurekar, V.B. , 1985.** Toxicity of petroleum hydrocarbons to the estuarine fish *Therapon jarba* and the estuarine clam *Katetylsia opima*, proceeding of the symposium on coastal aquaculture held at Cochio from January 12 to 18, 1980. part 3 - Finfish culture. India 1985, No.6, pp.828-832.
- De Graeve, G.M. ; Geiger, D.L. ; Meyers, J.S. and Bergman, H.L. , 1980.** Acute and embryo-larval of phenolic compounds. Arch. Environ. Contam. Toxicol. Vol. 9, pp.557-568.
- Breton, R. , 1998.** Supporting document for the environmental assessment of the priority substances phenol. Canadian Environmental Protection Act., Environment Canada, Government Canada.
- Mason, C.F. , 1996.** Biology of freshwater pollution. London. pp.23,27,34-35,71.
- Noga, E.J. , 2000.** Fish disease diagnosis and treatment, Iowa State University Press. 234 P.
- Stene, A. and Lonning, S. , 1985.** Effects of short time exposure to naphthalenic, methyl and hydroxynaphthalenes on two different embryonic stages of cod (*Gadus morhua*), Sarsia, Vol. 70, No.4., pp.279-285.
- Svobodova, Z.R. and Machova, L.J. , 1993.** Water quality and fish health. FAO.

pp.27-28.

Tilak, K.S. , 1982. Relative toxicity of carbaryl, 1-naphthol and three hydrocarbons to the estuarine fish *Channa punctata*. Malaysia. No, 8, pp.15-17.

TRC , 1984. OECD guideline for testing of chemicals. Section 2. Effects on biotic systems. pp.1-39.