

تعیین مقدار باقیمانده حشره کشهای ارگانوفسفره در ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) در مصب رودخانه های شمال ایران

سلیمان غلامی پور^{1*}، رضاصفری¹، فرامرزلوئی¹، شراره فیروزکنندیان¹، رضا پورغلام¹، حسن نصرالله زاده¹، فرناز شعاعی²، الهام
ارجمند²، فرهاد عرب ها²

1- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران

2- اداره کل سازمان محیط زیست استان تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: 1392/10/17

تاریخ دریافت: 1391/2/5

چکیده

عملیات نمونه برداری در چهار فصل زمستان (1386)، بهار، تابستان و پاییز 1387 از مصب رودخانه های گرگانرود، تجن، بابلرود، چالوس، صفارود و سفید رود از ماهی کپور انجام گردید. نمونه ها پس از آماده سازی براساس دستورالعمل AOAC و با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی از نظر وجود سموم دیازینون، مالاتیون و آزیترفوس متیل مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده در کل چهار فصل نشان می دهد که میانگین غلظت سم دیازینون $0/70 \pm 0/35$ ، مالاتیون $2/35 \pm 1/16$ و آزیترفوس متیل $1/45 \pm 0/74$ میلی گرم بر کیلوگرم بوده است. همچنین بیشترین میزان غلظت سموم دیازینون، مالاتیون و آزیترفوس متیل در فصل زمستان و بهار مشاهده شده است.

واژه های کلیدی: ماهی کپور، دیازینون، مالاتیون، آزیترفوس متیل، دریای خزر

1- مقدمه

بطور کلی استفاده از مواد شیمیایی آلی مصنوعی به عنوان حشره کش از سال 1930 مرسوم گردیده و کاربرد آن به طور وسیعی از سال 1940 و بعد از جنگ جهانی دوم گسترش یافت. موفقیت سم DDT در ریشه کنی پشه های ناقل بیماری مالاریا موجب افزایش کاربرد فراگیر انواع دیگری از آفت کشها گردید و کاربرد دو نوع دیگر از آفت کشها با نامهای علف کش برای کنترل علف های هرز و قارچ کش برای کنترل بیماریهای گیاهی نیز رایج شد. این سه نوع سم از آفت کشها دارای آمار مصرف متفاوتی بودند. اما استفاده مداوم از آفت کشها سلامت بشر را به مخاطره انداخته و اثرات معکوسی بر موجودات غیر هدف داشته و موجب آلودگی منابع آب، خاک و هوا گردید. تخمین زده می شود که حدوداً کمتر از 0/1 درصد از آفت کش های مورد استفاده به آفات هدف می رسند. بنابراین میزان زیادی از آفت کش ها وارد محیط زیست شده و منابع آبی و خاکی را آلوده می سازند (6).

مهمترین ترکیبات ارگانوفسفره، دیازینون و مالاتیون می باشد که جزء آنتی کولین استراژهای برگشت ناپذیر هستند. کولین استراژها آنزیمهایی هستند که استیل کولین را هیدرولیز و در بدن تجمع پیدا می کنند و مسمومیت حاصل در حقیقت نتیجه تاثیر استیل کولین جمع شده در بدن به مقدار زیاد و خارج از حد فیزیولوژیک آن می باشد. مکانیسم عملکرد مسمومیت این سموم بر روی ماهیها شبیه مسمومیت بر روی حیوانات خونگرم می باشد. بدین ترتیب که فعالیت آنزیمهای هیدرولیتیک مخصوصاً "استیل کولین هیدرولاز مهار می شود" (11). مهار کولین استراژ توسط ترکیبات ارگانوفسفره، باعث تشکیل استیل کولین و متعاقباً تحریک شدید اعصاب می گردد. واکنش مهار کولین استراژ، بسته به نوع ترکیب ارگانوفسفره ممکن است برگشت پذیر یا غیر قابل برگشت باشد. تفاوت نوع استیل کولین استراژ در بافتهای مختلف بدن مانند پلاسما و اعصاب موجب تفاوت در شیوه مهار آنها توسط ترکیبات ارگانوفسفره می گردد. مهار کل استیل کولین استراژ موجود در بدن، دارای درجاتی است که در پستانداران، مهار آن تا 50% موجب بروز اثرات سمی و تا 80-90% منجر به مرگ می شود (10). به عنوان مثال مالاتیون برای گونه های آبی نظیر ماهیان آب شیرین و همچنین گونه های دریایی بسیار سمی می باشد (5).

تاکنون مطالعات مشابه متعددی توسط محققین سایر کشورها انجام شده است.

در تحقیقی اثرات، دو سم ساترن 50% (علف کش) و مالاتیون 57 درصد (حشره کش) بر روی بچه ماهیان تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، مورد بررسی قرار گرفت براساس نتایج به دست آمده LC50 96h سم ساترن و مالاتیون بر روی بچه ماهیان به ترتیب 0,0007 و 10 میلی گرم در لیتر محاسبه گردید. در ادامه حداکثر غلظت مجاز سموم ساترن و مالاتیون بر روی بچه ماهیان به ترتیب 0,0007 و 1 میلی گرم در لیتر تعیین شد. در پایان براساس جدول استاندارد از نظر سمیت بر بچه ماهیان مورد آزمایش قرار گرفته، سم ساترن در درجه خیلی سمی و سم مالاتیون در درجه سمی متوسط قرار گرفتند (2).

در تحقیقی اثرات دو حشره کش دیازینون و تیاکلوپراید را در دماهای 28، 30 و 33/5 درجه سانتی گراد بر رشد تخمکهای ماهی گورخر (*Danio rerio*) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داده است که اثر سمی دیازینون با افزایش دما بیشتر شده همچنین با افزایش دما، سم دیازینون زمان تخم کشی ماهی را به تعویق می اندازد (7).

در مطالعه دیگر اثرات سمی دیازینون بر جنین و لارو ماهی کپور معمولی (بعنوان یک مدل مطالعات ارگانو فسفره در اکوسیستم) مورد مطالعه قرار گرفت. اطلاعات بدست آمده سمی بودن دیازینون را برای ماهی کپور نشان داد (9).

در سالهای اخیر مصرف ماهی علی الرغم مواد مغذی و ویتامینها بدلیل داشتن اسیدهای چرب امگا-3 بسیار توصیه شده است چرا که روغن ماهی منبع طبیعی خوبی برای اسیدهای چرب غیر اشباع مخصوصاً ایکوزا پنتانویک اسید و دودوکوزا هگزانویک اسید می باشند از طرفی استفاده گسترده از سموم کشاورزی در مزارع برنج و باغ مرکبات در استانهای شمالی باعث افزایش میزان آلودگی در انواع اکوسیستمهای آبی از جمله رودخانه های منتهی به دریای خزر شده و متعاقب آن غلظت سموم مورد استفاده در مصب دریا افزایش یافته است. در نتیجه باعث تجمع این سم در بافت آبزیان می گردد. که با مصرف انواع ماهیان آلودگی می تواند به انسان انتقال یابد بنابراین ارزیابی کمی و کیفی سموم کشاورزی خصوصاً سموم کلره و فسفره در ماهیان اقتصادی دریای خزر از جمله کپور که به هنگام تخم ریزی به رودخانه مهاجرت می کنند از اهمیت خاصی برخوردار می باشد.

2- مواد و روش ها

1- نمونه برداری

نمونه برداری از ماهیان کپور، از رودخانه های گرگانرود، تجن، بابلرود، چالوس، سفارود و سفیدرود انجام گردید. برای این منظور صید ماهیان از مصب تا فاصله حدود 200 متری بوسیله دستگاه الکتروشوکر (HYUNDAI-140) مجهز به دو سیم آند و کاتد) انجام شد.

قابل ذکر است در فصولی که ماهیان به رودخانه ها مهاجرت نمی نمایند صید ماهی از طریق شرکت های تعاونی همجوار و یا از دامهای نصب شده در نزدیک مصب صورت گرفت. زمان نمونه برداری بصورت فصلی و در نیمه دوم هر فصل انجام شد.

2-2- آماده سازی نمونه های ماهی

نمونه های ماهی جمع آوری شده، تا زمان آزمایش در فریزر 20°C- نگهداری شد. برای انجام آزمایشات، ابتدا ماهی فلس گیری و پس از خالی کردن امعاء و احشاء چرخ گردید و سپس مقدار 50 گرم برای انجام سه بار تکرار توزین گردید.

3-3- استخراج

نمونه وزن شده را به ظروف آزمایشگاهی مناسب منتقل نموده و به آن مقداری سولفات سدیم بدون آب و 100 میلی لیتر اتردوپترول اضافه و بمدت 30 دقیقه بر روی شیکر مخلوط گردید (می توان عمل بهم زدن را بر روی بلندر با دور بالا به مدت 5 دقیقه انجام داد). سپس محلول از صافی عبور داده شده و با استفاده از دستگاه تبخیر در خلاء (ROTAVAPOR- BUCHI-464)، خشک گردید.

4-4- خالص سازی

برای عمل خالص سازی، باقیمانده خشک شده مرحله استخراج را در 15-20 میلی لیتر اتردوپترول حل نموده و سپس به ستون شیشه ای کروماتوگرافی حاوی سولفات سدیم انیدر، سیلیکاژل و فلئوروزیل منتقل و با باز کردن شیر خروجی ستون، اجازه داده شد که حلال تا سقف 0/5 میلی لیتر بالای سطح محتویات ستون مایع خارج شود در ادامه با 150 میلی لیتر مخلوط اتردوپترول و اتراتلیک باقی مانده از ستون خارج گردید. در مرحله بعد، عمل تغلیظ محلول با استفاده دستگاه تقطیر انجام و باقیمانده خشک در حلال اتردوپترول بمقدار 2 میلی لیتر حل گردید. در این مرحله،

نمونه برای تزریق به دستگاه گاز کروماتوگرافی (G.C:Varian- 2400) با مشخصات دتکتور اختصاصی سموم فسفره (Thermal specified detector) TSD و ستون picil capillary (25m × 0/24mm ci 8) آماده بوده و یا می توان باقیمانده خشک را در مقادیری حلال در سه نوبت حل کرده و در یک بالن ژوژه 10 میلی لیتری به حجم رسانده سپس به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق نمود. چون اساس کار با دستگاه گاز کروماتوگرافی در مرحله اول شناسایی پیکها و سپس تعیین مقدار می باشد با آماده سازی استانداردهای سموم مورد نظر با غلظت مشخص در مرحله اول با تزریق حلال و سپس تزریق استانداردها مکان پیکها را مشخص نموده سپس نمونه های آماده شده بدستگاه تزریق گردید (4).

5-2- تجزیه تحلیل آماری

نرم افزار مورد استفاده جهت رسم نمودارها و آنالیز آماری به ترتیب Excel و SPSS بوده است. جهت تجزیه و تحلیل داده ها و ارزیابی تفاوت معنی دار ما بین داده ها از تستهای آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و Duncan استفاده گردید.

3- نتایج و بحث

نتایج بدست آمده در کل چهار فصل در جدول 1 آورده شده است.

جدول 1- میانگین و انحراف معیار سموم فسفره در ماهی کپور در رودخانه های شمالی کشور در کل چهار فصل (بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم)

دیازینون	مالاتیون	آزینوفوس متیل	میانگین
0/35± 0/70b	1/16± 2/35d	0/74± 1/45c	

تعداد نمونه شصت و شش عدد بوده و به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده است. حروف کوچک در ردیف جدول نشان دهنده معنی داری اعداد می باشد.

فعالیت تحقیقاتی مشابه با فعالیت انجام شده در این تحقیق بر روی ماهی سفید انجام گردید که میانگین غلظت سم در کل چهار فصل، دیازینون 0/26±0/72، مالاتیون 0/80±1/47 و آزینوفوس متیل 1/03±1/84 میلی گرم بر کیلوگرم بوده است (1).

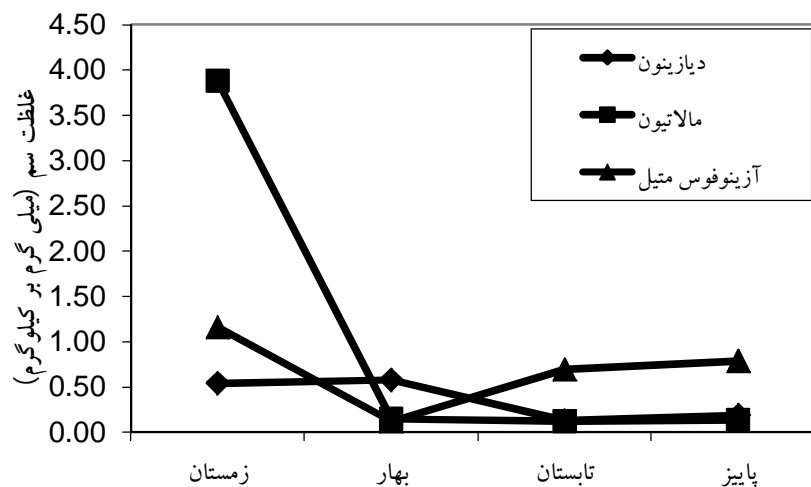
همانگونه که در مبحث روش کار عنوان شد صید و جمع آوری نمونه ها در فصول زمستان و بهار از رودخانه انجام شد و در فصل تابستان بدلیل عدم مهاجرت ماهیان به رودخانه نمونه برداری از دریا صورت گرفته است. مهاجرت ماهیان کپور به رودخانه و مواجه با انواع آلودگی در رودخانه ها می تواند دلیلی بر افزایش بار آلودگی در بافت ماهی در فصول زمستان و بهار باشد. همچنین سم پاشی مزارع و باغات در فصل بهار نیز از دیگر دلایل افزایش آلودگی در این فصل است.

همچنین در تحقیقی که در ارتباط با ماهی سفید انجام گرفت بیشترین میزان غلظت سموم دیازینون، مالاتیون و آزیترفوس متیل در فصل زمستان و بهار مشاهده شده است که با نتایج در مورد ماهی کپور همخوانی دارد زیرا مهاجرت ماهیان سفید و کپور به رودخانه و مواجه با انواع آلودگی در رودخانه ها می تواند دلیلی بر افزایش بار آلودگی در بافت ماهی در فصول زمستان و بهار باشد (1).

همچنین در تحقیقی دیگر میزان سموم ارگانوفسفره، Diazinon, Dichlorovos, Chlopyridon, Fenitrothion در آبشش، کبد و معده در تیلایا پیا (*Tilapia zilli*) اندازه گیری گردید که نتایج نشان می دهد غلظت انواع سموم در کبد (2/22-0/77)، در آبشش (0/55-1/76)، در معده (0/32-1/45) و بافت (0/27-0/67) میلی گرم بر کیلوگرم بوده است که مقادیر بدست آمده از استاندارد اتحادیه اروپا بیشتر است (8).

نتایج حاکی از آن است که بیشترین میزان غلظت سموم دیازینون، مالاتیون و آزیترفوس متیل در فصل زمستان و بهار مشاهده شده است (شکل 1). و تغییرات سموم فقط در فصل زمستان در رودخانه های مختلف معنی دار می باشد ($p < 0/05$) و همچنین بسته به موقعیت رودخانه و فصول مورد بررسی، غلظت سموم فسفره نیز متفاوت بوده است (جدول 3 و 4 و 5).

یکی از دلایل افزایش بار آلودگی در ماهیان در فصول زمستان و بهار احتمالا" مربوط به مهاجرت ماهیان به رودخانه می باشد



شکل 1- میانگین غلظت سموم فسفره در ماهی کپور در فصول مختلف

جدول 2- میانگین و انحراف معیار سموم فسفره در ماهی کپور در رودخانه های استان مازندران در فصول سال (زمستان 86، بهار، تابستان و

پاییز 87) (میلی گرم بر کیلوگرم)*

رودخانه	ماهی	آزینوفوس متیل	مالاتیون	دیازینون
تجن	زمستان	0/05±0/01 ^{bB}	1/62±0/11 ^{cE}	0/05±0/01 ^{bB}
	بهار	0/03±0/00 ^{bB}	0/03±0/00 ^{bB}	0/51±0/84 ^{cE}
	تابستان	1/01±0/88 ^{cD}	0/21±0/13 ^{bD}	0/14±0/08 ^{bC}
	پاییز	1/23±1/10 ^{cD}	0/29±0/14 ^{bD}	0/30±0/20 ^{bD}
بابلرود	زمستان	0/03±0/00 ^{bB}	6/29±1/07 ^{cF}	0/03±0/00 ^{bB}
	بهار	0/03±0/00 ^{bB}	0/03±0/00 ^{bB}	0/03±0/00 ^{bB}
	پاییز	0/70±0/58 ^{bC}	0/15±0/11 ^{cD}	0/17±0/15 ^{cC}
	تابستان	1/05±1/24 ^{dD}	0/08±0/08 ^{bC}	0/20±0/30 ^{cC}
چالوس	پاییز	1/21±1/11 ^{dD}	0/09±0/09 ^{bC}	0/24±0/27 ^{cC}

a همه آزمایش ها در سه تکرار و به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده است.

حروف کوچک و بزرگ به ترتیب در هر ردیف و ستون جدول نشان دهنده ارتباط معنی داری ما بین داده ها می باشد.

جدول 3- میانگین و انحراف معیار سموم فسفره در ماهی کپور در رودخانه های استان گیلان در فصول سال (زمستان 86، بهار، تابستان و

پاییز 87) (میلی گرم بر کیلوگرم)*

رودخانه	ماهی	آزینوفوس متیل	مالاتیون	دیازینون
سفید رود	زمستان	0/07±0/03 ^{bB}	2/32±0/35 ^{cF}	1/75±0/19 ^{cF}
	بهار	0/48±0/77 ^{cC}	0/03±0/00 ^{bB}	0/03±0/00 ^{bB}
	تابستان	0/25±0/20 ^{cC}	0/08±0/02 ^{bC}	0/09±0/10 ^{bC}
	پاییز	1/13±1/00 ^{cD}	0/13±0/10 ^{bD}	0/14±0/11 ^{bD}
صفا رود	زمستان	0/08±0/02 ^{bB}	1/45±0/26 ^{cE}	1/09±0/12 ^{bE}
	بهار	0/03±0/00 ^{bB}	0/03±0/00 ^{bB}	0/03±0/00 ^{bB}
	تابستان	1/13±1/04 ^{dD}	0/17±0/08 ^{cD}	0/08±0/16 ^{bC}
	پاییز	0/08±0/07 ^{bB}	0/08±0/05 ^{bC}	0/14±0/16 ^{cD}

a همه آزمایش ها در سه تکرار و به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده است.

حروف کوچک و بزرگ به ترتیب در هر ردیف و ستون جدول نشان دهنده ارتباط معنی داری ما بین داده ها می باشد.

جدول 4- میانگین، انحراف معیار سموم فسفره در ماهی کپور در رودخانه های استان گلستان در فصول سال (زمستان 86، بهار، تابستان و

پاییز 87) (میلی گرم بر کیلوگرم)*

رودخانه	ماهی	آزینوفوس متیل	مالاتیون	دیازینون
اترک	زمستان	4/72±4/06 ^{cE}	7/41±4/83 ^{dE}	0/08±0/04 ^{bC}
	زمستان	2/55±2/38 ^{cD}	4/28±3/67 ^{dD}	0/11±0/08 ^{bD}
گرگانرود	بهار	0/03±0/00 ^{bB}	0/61±1/00 ^{cC}	2/28±1/96 ^{dE}
	تابستان	0/03±0/00 ^{bB}	0/05±0/04 ^{bB}	0/03±0/00 ^{bB}
	پاییز	0/36±0/36 ^{dC}	0/06±0/03 ^{bB}	0/13±0/16 ^{cD}

a همه آزمایش ها در سه تکرار و به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده است.

حروف کوچک و بزرگ به ترتیب در هر ردیف و ستون جدول نشان دهنده ارتباط معنی داری ما بین داده ها می باشد.

7- Heinz, R.K. 2008. Pesticides thiacloprid and diazinon on the embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*).
 8- Joseph, C., Zakari M., L and Stephen, I. 2013. Organophosphorus Pesticide Residues in Different Tissues of Fish Samples from Alau Dam, Borno State, Nigeria. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 5 (5): 519-526, 2013
 9- Rahmi, A. and Kenan, K. 2005. Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae.
 10- Mayer, F.L.J. and M.R. Ellersieck. 1986. Manual of acute toxicity: interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals. Resource publ. No. 160, U.S. Dept. Interior, Fish and Wildlife Service, Washington, DC. 505pp
 11- TDK Environmental. 2001. Diazinon & Chlorpyrifos products: Screening for Water Quality. Contract Report prepared for California Department of pesticide Regulation. San Mateo, California.

نتیجه کلی اینکه در مقایسه دوز کشندگی هر یک از سموم فسفره دیازینون، مالاتیون و آزیترفوس متیل مشخص گردید که غلظت سم دیازینون $0/35 \pm 0/70$ نسبت به استاندارد ایران با دوز کشندگی 50 درصدی با نقطه بحرانی $2/6 - 23/4$ میلی گرم در لیتر (3) به نسبت کمتر بوده است. غلظت سم مالاتیون $2/35 \pm 1/16$ نسبت به استاندارد ایران با دوز کشندگی 50 درصدی با نقطه بحرانی $0/1 - 0/28$ میلی گرم در لیتر (3) و غلظت سم آزیترفوس متیل $0/74 \pm 1/45$ نسبت به استاندارد ایران با دوز کشندگی 50 درصدی با نقطه بحرانی $0/03 - 0/12$ میلی گرم در لیتر (3) به مراتب بالاتر بوده که برای آبیان می تواند خطر ناک باشد. همچنین دز مورد نیاز برای کشتن نیمی از ارگانسیم های تحت آزمایش که بر حسب واحد میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن جانور مشخص می گردد برای پرندگان طبق استاندارد ایران برای سم دیازینون $4/3 - 3/5$ میلی گرم بر کیلوگرم، مالاتیون 4320-3500 میلی گرم بر کیلوگرم و آزیترفوس متیل 32 میلی گرم بر کیلوگرم می باشد.

4- منابع

- 1- غلامی پور، 1387. تعیین مقدار باقی مانده حشره کشهای ارگانوفسفره در ماهی در مصب رودخانه های استانهای شمالی ایران. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر- سازمان حفاظت محیط زیست
- 2- نظامی، ش. 1383. تعیین LC_{50} 96h دو سم ساترن (علف کش) و مالاتیون (حشره کش) بر روی بچه ماهی تاسماهی ایرانی. فصلنامه علوم و تکنولوژی محیط زیست، جلد 6، شماره 1، 1-12.
- 3- نوروزیان، م. 1378. فهرست سموم مجاز کشور. سازمان حفظ نباتات.
- 4- AOAC, 2000. official methods of extraction, cleanup of Analysis 17Ed. Association of official Analytical chemists, Washington, DC, USA
- 5- Beyers, D.W., T.J. Keefe, and C.A. Carlson. 1994. Toxicity of carbaryl and malathion to two federally endangered fishes, as estimated by regression and ANOVA. *Environ. Toxicol. Chem.* 13:101-107.
- 6- Ewing R.D. (1999). Diminishing returns: Salmon decline and pesticides. Oregon pesticide Education Network.