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

سلیمان غلامی پور[1*]، رضاصفری[1]، فرامرزلالوئی[1]، شراره فیروزکندیان[1]، رضا پورغلام[1]، حسن نصرالله زاده[1] ، فرناز شعاعی[2] ، الهام ارجمند[2]، فرهاد عرب ها[2]

1- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران

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

تاریخ دریافت:1391/2/5 تاریخ پذیرش: 1392/10/17

چکیده

عملیات نمونه برداری در چهار فصل زمستان (1386)، بهار، تابستان و پائیز 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 آزینوفوس متیل مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده در کل چهار فصل نشان می دهد که میانگین غلظت سم دیازینون0/70 ±0/35 ، مالاتیون 2/35 ±1/16 و آزینوفوس متیل 1/45 ±0/74 میلی گرم بر کیلوگرم بوده است. همچنین بیشترین میزان غلظت سموم دیازینون، مالاتیون و آزینوفوس متیل در فصل زمستان و بهار مشاهده شده است.

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

[*]مسوول مکاتبات: gholamipor1333@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

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 ومالاتیون می باشد که جزء آنتی کولین استرازهای برگشت ناپذیر هستند.کولین استرازها آنزیمهایی هستند که استیل کولین را هیدرولیز و در بدن تجمع پیدا می‌کنند و مسمومیت حاصل در حقیقت نتیجه تاثیر استیل کولین جمع شده در بدن به مقدار زیاد و خارج از حد فیزیولوژیک آن می‌باشد. مکانیسم عملکرد مسمومیت این سموم بر روی ماهیها شبیه مسمومیت بر روی حیوانات خونگرم می باشد. بدین ترتیب که فعالیت آنزیمهای هیدرولیتیک مخصوصا" استیل کولین هیدرولاز مهار می شود(11) . مهار کولین استراز توسط ترکیبات ارگانوفسفره ، باعث تشکیل استیل کولین و متعاقبا تحریک شدید اعصاب می گردد. واکنش مهار کولین استراز ، بسته به نوع ترکیب ارگانوفسفره ممکن است برگشت پذیر یا غیر قابل برگشت باشد. تفاوت نوع استیل کولین استراز در بافتهای مختلف بدن مانند پلاسما و اعصاب موجب تفاوت در شیوه مهار آنها توسط ترکیبات ارگانوفسفره می گردد. مهار کل استیل کولین استراز 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 آبزی نظیر ماهیان آب شیرین وهمچنین گونه های دریایی بسیار سمی می باشد(5).

تاکنون مطالعات مشابه متعددی توسط محققین سایر کشور ها 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 دماهای28 ،30 و 33/5 درجه سانتی گراد بر رشد تخمکها ی ماهی گورخر (*Danio rerio*) مورد بررسی قراردادند. 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 مخصوصا" ایکوزا پنتانوئیک اسیدودوکوزاهگزانوئیک 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 علظت 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 خصوصا سموم کلره و فسفره در ماهیان اقتصادی دریای خزر ازجمله کپور که به هنگام تخم ریزی به رودخانه مهاجرت می کنند از اهمیت خاصی برخوردار می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

2-مواد و روش ها

2-1-نمونه برداری

نمونه برداری از ماهیان کپور ، از رودخانه های گرگانرود، تجن، بابلرود، چالوس، صفارود 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 رودخانه‌ها مهاجرت نمی‌نمایند صید ماهی از طریق شرکت‌های تعاونی همجوار و یا از دامهای نصب شده در نزدیک مصب صورت گرفت. زمان نمونه‌برداری بصورت فصلی و در نیمه دوم هر فصل انجام شد.

2-2-آماده‌سازی نمونه‌های ماهی

نمونه‌های ماهی جمع‌آوری 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.

2-3-استخراج

نمونه وزن شده را به ظروف آزمایشگاهی مناسب منتقل نموده و به آن مقداری سولفات سدیم بدون آب و 100 میلی‌لیتر اتردوپترول اضافه و بمدت 30 دقیقه بر روی شیکر مخلوط گردید (می‌توان 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.

2-4-خالص سازی

برای عمل خالص سازی، باقیمانده خشک شده مرحله استخراج را در 20-15 میلی‌لیتر اتردوپترول حل نموده و سپس به ستون شیشه‌ای کروماتوگرافی حاوی سولفات سدیم انیدر، سیلیکاژل و فلوئوروزیل منتقل و با باز کردن شیر خروجی ستون، اجازه داده شد که حلال تا سقف 0/5 میلی‌لیتر بالای سطح محتویات ستون مایع خارج شود درادامه با 150 میلی‌لیتر مخلوط اتردوپترول و اتراتیلیک باقی مانده از ستون خارج گردید. در مرحله بعد، عمل تغلیظ محلول با استفاده دستگاه تقطیر انجام و باقیمانده خشک در حلال اترودوپترول بمقدار 2 میلی‌لیترحل گردید. در این مرحله، نمونه برای تزریق به دستگاه گاز کروماتوگرافی (G.C:Varian- 2400) با مشخصات دتکتور اختصاصی سموم فسفره TSD (Thermal specified detector) و ستون picil capillary (25m × 0/24mm ci 8) آماده بوده و یا می‌توان باقیمانده خشک را در مقادیری حلال در سه نوبت حل کرده و در یک بالن ژوژه 10 میلی‌لیتری 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 می‌باشد با آماده سازی استانداردها ی سموم مورد نظربا غلظت مشخص در مرحله اول با تزریق حلال و سپس تزریق استانداردها مکان پیکها را مشخص نموده سپس نمونه‌های آماده شده بدستگاه تزریق گردید(4).

2-5-تجزیه تحلیل آماری

نرم افزار مورد استفاده جهت رسم نمودارها و آنالیز آماری به ترتیب Excel و SPSS بوده است. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها 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 (برحسب میلی گرم بر کیلوگرم)

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

تعداد نمونه شصت وشش 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 بافعالیت انجام شده در این تحقیق بر روی ماهی سفید انجام گردید که میانگین غلظت سم در کل چهار فصل، دیازینون0/72±0/26 ، مالاتیون 1/47±0/80 و آزینوفوس متیل 1/84±1/03 میلی گرم بر کیلوگرم بوده است (1).

Archive of SID

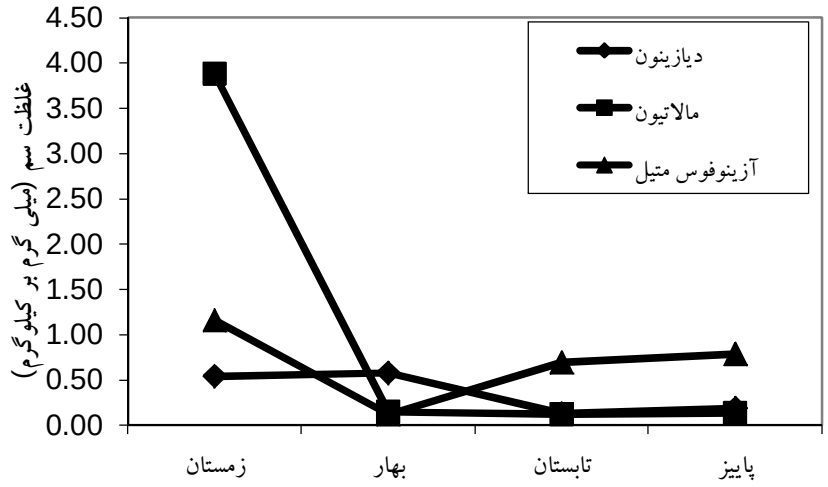
www.SID.ir

همچنین در تحقیقی دیگر میزان سموم ارگانوفسفره ,Diazinon Dichlorovos, Chlopyridon, Fenitrothion در آبشش، بافت، کبد و معده در تیلا پیا (*Tilapia zilli*) اندازه گیری گردید که نتایج نشان می دهد غلظت انواع سموم در کبد(2/22-0/77)،در آبشش(1/76-0/55)، در معده (1/45-0/32) و بافت(0/67-0/27) 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 آزینوفوس متیل در فصل زمستان و بهار مشاهده شده است (شکل 1). وتغییرات 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 2و3و4و5).

یکی از دلایل افزایش بار آلودگی در ماهیان در فصول زمستان و بهار احتمالا" مربوط به مهاجرت ماهیان به رودخانه می باشد .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 آزینوفوس متیل در فصل زمستان و بهار مشاهده شده است که با نتایج در مورد ماهی کپور همخوانی دارد زیرا مهاجرت ماهیان سفید وکپور به رودخانه ومواجه با انواع آلودگی در رودخانه ها می تواند دلیلی بر افزایش بار آلودگی در بافت ماهی در فصول زمستان وبهار باشد(1).



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

www.SID.ir

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	$0/05\pm0/01^{bB}$	$1/62\pm0/11^{cE}$	$0/05\pm0/01^{bB}$
	بهار	$0/03\pm0/00^{bB}$	$0/03\pm0/00^{bB}$	$0/51\pm0/84^{cE}$
	تابستان	$1/01\pm0/88^{cD}$	$0/21\pm0/13^{bD}$	$0/14\pm0/08^{bC}$
	پاییز	$1/23\pm1/10^{cD}$	$0/29\pm0/14^{bD}$	$0/30\pm0/20^{bD}$
بابلرود	زمستان	$0/03\pm0/00^{bB}$	$6/29\pm1/07^{cF}$	$0/03\pm0/00^{bB}$
	بهار	$0/03\pm0/00^{bB}$	$0/03\pm0/00^{bB}$	$0/03\pm0/00^{bB}$
	پاییز	$0/70\pm0/58^{bC}$	$0/15\pm0/11^{cD}$	$0/17\pm0/15^{cC}$
چالوس	تابستان	$1/05\pm1/24^{dD}$	$0/08\pm0/08^{bC}$	$0/20\pm0/30^{cC}$
	پاییز	$1/21\pm1/11^{dD}$	$0/09\pm0/09^{bC}$	$0/24\pm0/27^{cC}$

a همه آزمایش ها در سه تکرار وبه 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)a

رودخانه	ماهی	آزینوفوس متیل	مالاتیون	دیازینون
سفید رود	زمستان	$0/07\pm0/03^{bB}$	$2/32\pm0/35^{cF}$	$1/75\pm0/19^{cF}$
	بهار	$0/48\pm0/77^{cC}$	$0/03\pm0/00^{bB}$	$0/03\pm0/00^{bB}$
	تابستان	$0/25\pm0/20^{cC}$	$0/08\pm0/02^{bC}$	$0/09\pm0/10^{bC}$
	پاییز	$1/13\pm1/00^{cD}$	$0/13\pm0/10^{bD}$	$0/14\pm0/11^{bD}$
صفا رود	زمستان	$0/08\pm0/02^{bB}$	$1/45\pm0/26^{cE}$	$1/09\pm0/12^{bE}$
	بهار	$0/03\pm0/00^{bB}$	$0/03\pm0/00^{bB}$	$0/03\pm0/00^{bB}$
	تابستان	$1/13\pm1/04^{dD}$	$0/17\pm0/08^{cD}$	$0/08\pm0/16^{bC}$
	پاییز	$0/08\pm0/07^{bB}$	$0/08\pm0/05^{bC}$	$0/14\pm0/16^{cD}$

a همه آزمایش ها در سه تکرار وبه 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	$4/72\pm4/06^{cE}$	$7/41\pm4/83^{dE}$	$0/08\pm0/04^{bC}$
گرگانرود	زمستان	$2/55\pm2/38^{cD}$	$4/28\pm3/67^{dD}$	$0/11\pm0/08^{bD}$
	بهار	$0/03\pm0/00^{bB}$	$0/61\pm1/00^{cC}$	$2/28\pm1/96^{dE}$
	تابستان	$0/03\pm0/00^{bB}$	$0/05\pm0/04^{bB}$	$0/03\pm0/00^{bB}$
	پاییز	$0/36\pm0/36^{dC}$	$0/06\pm0/03^{bB}$	$0/13\pm0/16^{cD}$

a همه آزمایش ها در سه تکرار وبه 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.

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه کلی اینکه در مقایسه دوز کشندگی هر یک از سموم فسفره دیازینون، مالاتیون و آزینوفوس متیل مشخص گردید که غلظت سم دیازینون 0/70 ±0/35 نسبت به استانداردایران با دوز کشندگی 50 درصدی با نقطه بحرانی 23/4- 2/6 میلی گرم در لیتر (3) به نسبت کمتر بوده است. غلظت سم مالاتیون 2/35 ±1/16 نسبت به استانداردایران با دوز کشندگی 50 درصدی با نقطه بحرانی 0/28- 0/1 میلی گرم در لیتر(3) و غلظت سم آزینوفوس متیل 1/45 ±0/74 نسبت به استانداردایران با دوز کشندگی 50 درصدی با نقطه بحرانی 0/12-0/03 میلی گرم در لیتر(3) به مراتب بالاتر بوده که برای آبزیان می تواند خطر ناک باشد. همچنین دز مورد نیاز برای کشتن نیمی از ارگانیسم 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 وآزینوفوس متیل32 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 اکولوزی دریای خزر- سازمان حفاظت محیط زیست

2- نظامی،ش.1383. تعیین LC50 96h دو سم ساترن (علف کش) و مالاتیون (حشره کش) بر روی بچه ماهی تاسماهی ایرانی. فصلنامه علوم وتکنولوژی محیط زیست، جلد 6، شماره 1، 1-12.

3- نوروزیان ، م.1378.فهرست سموم مجاز کشور.سازمان حفظ نباتات.

4- AOAC,2000.offical 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.

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.

Archive of SID

www.SID.ir