فصلنامه علمی ـ پژوهشی
دورهٔ ۳، شمارهٔ۲، تابستان ۱۳۹۳ ، صفحه ۱۱- ۱

تعیین درجه سمیت مالاتیون و بررسی اثر آن روی برخی شاخص‌های خونی بچه کپور معمولی دریای خزر (*Cyprinus carpio*)

نیما شیری[۱*]، خدیجه خوشنودی فر[۲]، علیرضا میرواقفی[۳]

۱ـ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
۲ـ دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه شیلات و علوم محیطی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
۳- دانشیار گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

دریافت: ۹۲/۰۵/۱۰ پذیرش: ۹۳/۰۲/۱۷

*نویسنده مسئول مقاله: nima.shiry@gmail.com

چکیده:

درجه سمیت آفت‌کش مالاتیون و LC_{50} آن در بچه‌ماهی کپور معمولی دریای خزر(*Cyprinus carpio*) و اثر این سم بر میزان هماتوکریت، گلوکز، کلسترول و پروتئین کل سرم خون این ماهی در مدت ۹۶ ساعت بررسی شد. غلظت کشنده، حداقل غلظت مؤثر، حداکثر غلظت مجاز مالاتیون به‌ترتیب برابر ۱/۳، ۰/٦٤٦ و ۰/۱۳ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد و این حشره-کش را می‌توان با «درجه سمیت متوسط» برای کپور معمولی طبقه‌بندی کرد. اختلاف معناداری در درصد هماتوکریت، کلسترول و گلوکز در بین گروه‌های آزمایشی مشاهده شد ($p<۰/۰۵$)، اما بین میزان پروتئین کل اختلاف معنادار نبود ($p>۰/۰۵$). درصد هماتوکریت در گروه شاهد از دیگر گروه‌ها پایین‌تر بود و کمترین میزان کلسترول و گلوکز در تیمار با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین میزان آن‌ها به‌ترتیب در غلظت‌های ۲/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید. بنابر این می‌توان گفت، غلظت‌هایی از آفت‌کش مالاتیون که از نظر آزمون کشندگی، غیرمؤثر و مجاز برای گونه‌های غیرهدف شناخته می‌شوند،می‌توانند باعث بروز تغییراتی در شاخص‌های خونی و آسیب‌های زیستی در آن‌ها شوند.

کلیدواژگان: کپور وحشی دریای خزر، مالاتیون، LC_{50}، شاخص‌های خونی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]

مقدمه

بیشترین کاربرد مالاتیون به‌عنوان یک حشره‌کش و کنه‌کش فسفرهٔ آلی در ایران، مربوط به سم‌پاشی باغات مرکبات و شالیزارها است (Talebi Jahromi, 2007). نواحی جنوبی دریای خزر به عنوان یکی از مهم‌ترین قطب‌های کشاورزی کشور بوده که با توجه به تراکم کشت محصولات مختلف، استفادهٔ بیش از حد از آفت-کش‌ها درمزارع کشاورزی این مناطق بسیار معمول است (Shayeghi et al., 2008). اغلب پس ازمصرف، این ترکیبات از طریق شستشوی خاک مزارع در اثر بارش باران و نشت زهاب کشاورزی به منابع آب شیرین به‌ویژه رودخانه‌ها، راه یافته و می‌توانند تا مدت‌ها پس از سم‌پاشی، در نواحی ساحلی و مصبی دریای خزر انباشته شوند (Abbasian et al., 2008). این ترکیب شیمیایی می‌تواند با ورود به بدن ماهیان به عنوان موجودات غیر هدف آبزی، سبب بروز پاسخ‌های زیستی در آن‌ها شده و از طریق انباشتگی زیستی و زنجیره‌های غذایی به انسان منتقل شوند (Rodríguez-Fuentes et al., 2008). بنابراین بررسی آثار سم‌شناختی این سموم بر گونه‌های تجاری دریای خزر نظیر کپور معمولی ضروری است.

آثار حاد آلاینده‌ها به‌وسیلهٔ تعیین متوسط غلظت کشنده و دیگر کمیت‌های حاصل از آزمون سمیت کشنده شناخته می‌شود (NasriTejen, 1996). آلاینده‌ها با ورود به بدن ماهیان، آثار متعددی بر متابولیسم آن‌ها می‌گذارند که در سطوح مختلف از ماده ژنتیکی، آنزیم‌ها و خون تا بافت‌ها متغیر است. این جانوران از طریق سیستم سم‌زدایی دو مرحله‌ای که در کبد رخ می‌دهد، به این تغییرات پاسخ می‌دهند. بدین صورت که ابتدا ماده سمی وارد شده به کبد با واکنش‌های مرحله اول به متابولیت تبدیل می‌شود که ممکن است حتی از ماده سمی اولیه خطرناک‌تر باشند،مانند مالاتیون و متابولیت آن مالااکسون[1]. سپس این متابولیت‌های تولید شده با واکنش‌های مرحله دوم به ماده قابل دفع تبدیل می‌شوند و از طریق گوارشی و یا سیستم دفع ادرار از بدن خارج می‌شوند(Aker et al., 2008). در واقع شاخص‌های زیستی[2]پاسخ‌های زیستی به ورود آلاینده‌ها در سطح یک ارگانیسم یا تولید آن هستند که می‌توانند عمومی یا اختصاصی باشند (Van der Oost et al., 2003). شاخص‌های اختصاصی که اغلب مسیر متابولیسم آلاینده‌ها را بررسی می‌کنند، تشخیص وجود یک آلاینده خاص با غلظت‌های ناچیز را در محیط زیست میسر کرده و در بسیاری موارد گران‌تر از شاخص‌های عمومی هستند (Rodríguez-Fuentes et al., 2008). ویژگی‌های خونی و تغییرات پروفیل بیوشیمیایی خون یکی از مهم‌ترین شاخص‌های زیستی عمومی و نشانگر تغییر در متابولیسم و هموستازی بدن ماهی است که به طور عمده ناشی از تأثیر آلاینده‌هاست که در پژوهش‌های سم‌شناسی آزمایشگاهی از آن‌ها استفاده می‌شود (Edsall, 1999). خون به عنوان یک بافت سیال و سهل‌الوصول، یکی از مهم‌ترین مایعات زیستی بدن است که تحت تأثیر حالت‌های مختلف فیزیولوژیک، ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌شود (Amini and Oryan, 2002). اثرگذاری آلاینده‌ها در متابولیسم این جانوران سبب کاهش معنادار میزان گلیکوژن کبد و بافت عضلانی شده و هم‌زمان غلظت گلوکز و لاکتات خون به‌طور معناداری افزایش

1. Malaoxon
2. Biomarkers

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]

می‌یابد (Soltani andRostami, 2002). پروتئین کل به‌عنوان شاخص اختلال کبدی در مطالعات سم‌شناسی کاربرد دارد و همچنین کورتیزول و به‌دنبال آن گلوکز خون در برابر مواجهه ماهیان با هر نوع عامل تنش‌زا افزایش می‌یابند و میزان این افزایش اغلب به شدت و مدت استرس بستگی دارد (Edsall, 1999; Bernet et al., 2001). وجود آفت‌کش در آب نوعی استرس شیمیایی محسوب می‌شود و بر شاخص‌های خون‌شناسی نظیر میزان هماتوکریت اثرگذار است.با سنجش این فراسنجه‌ها می‌توان به رابطه دوز-پاسخ یک آلاینده خاص پی برد(Amini and Oryan, 2002).

کپور معمولی با نام علمی *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758)، یکی از مهم‌ترین گونه‌ها از خانواده کپورماهیان بوده که نژاد بومی آن در حوضه آبریز دریای خزر پراکنش دارد و در ایران اغلب با نام‌های کپور دریایی و وحشی یا سازان شناخته می‌شود. این گونه در فصل بهار برای تولیدمثل به رودخانه‌های جنوبی حوضه‌ی خزر مهاجرت می‌کند و تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه‌ماهیان با هدف بازسازی ذخایر این گونه نیز هر ساله از سوی سازمان شیلات ایران صورت می‌گیرد (Abdoli, 1999).

آمار تولید بچه‌ماهیان کپور دریایی در کشور و میزان رهاسازی این بچه ماهیان برای ارزیابی ذخایر در سال ۱۳۹۱به‌ترتیب برابر با ۲۵۳۳۰ هزار قطعه گزارش شده است (IFO, 2013). بچه‌ماهیان تکثیر شده در مصب رودخانه‌های محل رهاسازی درصد تلفات بالایی دارند و می‌توان این مورد اخیر را با نبود شرایط مناسب برای سازگاری بچه‌ماهیان پیش از مهاجرت به دریا، نظیر آلودگی‌های کشاورزی در محل رهاسازی آن‌ها مرتبط دانست. این مطالعه با هدف تعیین میزان متوسط غلظت کشنده[3](LC_{50})، حداکثر غلظت مجاز سم[4](MATC)، حداقل غلظت مؤثر[5](LOEC)، درجه سمیت[6] مالاتیون و همچنین اثرهای غلظت‌های کشنده این آفت‌کش روی برخی شاخص‌های خونی کپور وحشی دریای خزر صورت گرفته است. نتایج این تحقیق می‌تواند مورد بهره‌برداری سازمان‌های مسئول و متولی بازسازی ذخایر این گونه قرار گرفته وکیفیت و زمان رهاسازی بچه-ماهیان رابا توجه به وجود غلظت‌های کشنده این حشره‌کش در محل رهاسازی، بهبود بخشد.

مواد و روش‌ها

جانوران و شرایط آزمایش: ۳۰۰ قطعه بچه ماهی کپور وحشی با وزن متوسط ۰/٤± ۳ گرم (میانگین ± SD) از مرکز تکثیر و پرورش شهید رجایی در سمسکندهٔ ساری تهیه شد و به کارگاه تکثیر و پرورش گروه شیلات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (واقع در کرج) منتقل شدند. این جانوران به مدت ۱۵ روز در دو تانک ۱۰۰۰ لیتری فایبرگلاس نگهداری شدند تا سازگاری با محیط جدید صورت گیرد. شاخصه‌های فیزیکی و شیمیایی آب از جمله pH در حدود ۷، سختی کل CaCO3 ۱۷۵ mg/lit، اکسیژن محلول بیش از ۷ppm و دمای ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد تحت کنترل بودند. همچنین آفت‌کش مالاتیون از شرکت Arysta life Science (France) خریداری شده و محلول مادر آن با غلظت ۱۰۰۰۰ppm در آب مقطر تهیه گردید.

3. Median Lethal Concentration
4. Maximum Allowable Toxicant Concentration
5.Lowest Observed Effect Concentration
6. Toxicity Degree

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]

پیش آزمایش: پیش از انجام آزمایش اصلی سمیت،برای تعیین محدودهٔ کشندگی آفت‌کش مالاتیون، یک پیش آزمایش طراحی گردید. بدین منظور تعداد ۳۰ قطعه بچه ماهی کپور در یک گستره از غلظت‌های سم بین ۰ تا ۳ میلی‌گرم در لیتر تقسیم شدند تا تحت یک آزمون ٢٤ ساعته قرار داده شوند. این محدوده از غلظت‌ها، بر اساس مروری بر یافته‌های پژوهشگران در خصوص اثر مالاتیون و دیازینون (یک آفت‌کش فسفره هم‌خانواده با سم مورد مطالعه)، بر گونه‌های مختلف کپور ماهیان تخمین زده شد (Beyers and Sikoski, 1994; Khattak and Hafeez, 1996; NasriTejen, 1996; Patil and David, 2008). هنگام قرارگیری بچه ماهیان در معرض مالاتیون با غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر (گروه شاهد)، هیچ تلفاتی بین آن‌ها دیده نشد، اما زمانی که بچه ماهیان در معرض غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر قرار داده شدند، همگی در طی ٢٤ ساعت از بین رفتند. بر اساس نتایج پیش آزمایش، غلظت‌های مورد نظر برای آزمایش اصلی برابر با صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد.

آزمایش نهایی سمیت: برای انجام آزمایش نهایی،۵ تیمار هر کدام با سه تکرار، شامل تیمار ۱ با غلظت سم ۰/۵ (mg/L)، تیمار ۲ با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر، تیمار ۳ با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر، تیمار ٤ با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر، تیمار ۵ با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر (بر اساس پیش آزمایش) در نظر گرفته شد. بچه‌ماهیان به‌طور تصادفی در تعداد ۱۵ تانک فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری (برای هر تیمار و هر تانک شامل ۱۲ قطعه ماهی) توزیع شدند. به‌علاوه یک گروه شاهد با غلظت سم صفر میلی‌گرم در لیتر در سه تکرار هم در نظر گرفته شد. این آزمایش برای تعیین غلظت کشندهٔ میانه (LC_{50}) در ۹٦ ساعت و دیگر کمیت‌های وابسته (LC_{90}، LC_{10} و غیره)، بر اساس راهنمای (1992) OECD با شرایط استاتیک آب (فراسنجه‌های فیزیکو شیمیایی آب مشابه با دوره ۱۵ روزه سازگاری)، صورت پذیرفت. گروه‌های آزمایشی روزی دو مرتبه و در ساعت‌های مشخص کنترل شده و مرگ و میر آن‌ها در زمان‌های ٢٤، ٤٨، ۷۲ و ۹٦ ساعت پس از افزودن این سم، ثبت گردید(Rico et al., 2011).

سنجش هماتوکریت خون: در پایان آزمایش ۹٦ ساعته سمیت، با استفاده از لوله‌های هپارینه ISOLAB، از ماهیان نمونه خون گرفته شد. برای انجام خون‌گیری از روش قطع ساقه دمی ماهیان استفاده گردید و برای آنکه میزان خون مورد نیاز تأمین شود، بر اساس پیشنهاد Turkerو همکاران (۲۰۰٤)، از حدود ٤ قطعه ماهی به‌ازای هر تیمار خون‌گیری صورت گرفت و در پایان با استفاده از خمیر هماتوکریت Labteron ته لوله بسته شد و نمونه‌ها بلافاصله برای اندازه‌گیری هماتوکریت استفاده شدند. برای این کار لوله‌های مویینه محتوای خون، به مدت ۱۰ دقیقه و در ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند، سپس با استفاده از میکرو هماتوکریت خون میزان هماتوکریت نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید (Amini and Oryan, 2002).

سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی خون: همچنین برای مطالعه شاخص‌های بیوشیمیایی خون، خون‌گیری باسرنگ‌های خلادار هپارینه 3Med-X با ظرفیت ۲cc از همان نمونه‌ها (با روش قطع ساقه دمی) انجام شد و سپس به لوله‌های اپندورف ۲ میلی‌لیتری حاوی هپارین منتقل و تا زمان شروع آزمایش‌ها نگهداری شدند. برای تهیه پلاسما، نمونه‌ها درون همان لوله‌های اپندورف،

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]

با دستگاه Eppendorf AG 22311 Hamburg, centrifuge 5415D در دور ۱۳۰۰۰ و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. غلظت گلوکز، کلسترول و پروتئین کل با استفاده از کیت‌های کمی شاخصه‌های بیوشمیایی سرم (شرکت پارس آزمون) و بر اساس روش‌های فتومتریک و بر مبنای کاتالوگ شرکت مذکور(برای سنجش گلوکز و کلسترول) و روش Bradford (1976) (برای سنجش پروتئین کل) به‌وسیله دستگاه اسپکتوفوتومتر S200-UV/VIS England اندازه‌گیری شدند.

انجام محاسبات و تجزیه و تحلیل آماری: میزان LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} با استفاده از اطلاعات به‌دست آمده از روش آماری Probit Analysis (Finney, 1971) پس از تجزیه و تحلیل، محاسبه شد. کمیت‌های MATC و LOEC بر اساس فرمول پیشنهادی OECD (2001) زیر به‌دست آمدند:

$$MATC = \frac{LC_{50}\,96-h}{10}$$

$$LOEC = LC_{10}\,96-h$$

تجزیه آماری داده‌های حاصل از هماتوکریت و شاخص‌های بیوشیمیایی خون از طریق تجزیه واریانس یک‌طرفه[7]انجام پذیرفت که غلظت‌های مالاتیون به‌عنوان عامل مستقل در نظر گرفته شد .مقایسه میانگین تیمارها نیز به‌وسیله آزمون چند دامنه دانکن[8]، با میزان خطای نوع اول ۰/۰۵ و بانرم‌افزار SPSS 18.0انجام شد.

نتایج

تعیین کمیت‌های آزمون سمیت کشنده

میانگین تلفات تیمارهای آزمایشی در طی ۹۶ ساعت در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس میزان مرگ و میر در آزمایش سمیت، میانگین مقادیر LC_{10}، LC_{50}، LC_{90} در ۲٤، ٤٨، ۷۲ و ۹٦ ساعت برای ترکیب مالاتیون روی بچه‌ماهیان کپور وحشی دریای خزر محاسبه گردید (α=۰/۹۵) و در جدول ۲ نشان داده شد.

7. ANOVA
8. Duncan's Multiple Range Tests

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]

جدول ۱ میانگین تلفات تیمارهای آزمایشی در طی ۹۶ ساعت

میانگین باقی‌مانده ۳ تکرار	میانگین تلفات ۳ تکرار				غلظت مالاتیون (mgL^{-1})	تیمارهای آزمایشی
	۹۶ ساعت	۷۲ ساعت	٤٨ ساعت	۲٤ ساعت		
۱۲	---	---	---	---	۰	شاهد
۱۰	۱/۳۳	۰/۳۳	---	---	۰/۵	۱
۹	۲/۳۳	۱/۳۳	۱	۰/۳۳	۱	۲
۵	٦/۳۳	۵/٦٦	٤/۳۳	٤	۱/۵	۳
۳	۹	٦/٦٦	٦/۳۳	٦	۲	٤
۰	۱۲	۱۲	۱۱/٦٦	۱۰	۲/۵	۵

جدول ۲ میانگین مقادیر حاصل از آزمایش سمیت کشنده بر کپور معمولی دریای خزر(Mean±SD)

غلظت کشنده (mgL^{-1})	۲٤ ساعت	٤٨ ساعت	۷۲ ساعت	۹٦ ساعت
LC_{10}	۱/۱۸٤±۰/۳۸	۱/۱۰۵±۰/۳٤	۰/۹۰۳±۰/۵۹	۰/٦٤٦±۰/۳٦
LC_{50}	۱/۸۵۷±۰/٦	۱/۷۰۳±۰/۲۹	۱/۵٦۲±۰/۷۹	۱/۳۰۱±۰/۳۹
LC_{90}	۲/٤۱±۱/۱۲	۲/۱۲۳±۰/۸٤	۱/۸۰۲±۲/۳۵	۱/٦۱۷±۱/۵٤

بر اساس این نتایج LC_{50} 96h، LOEC و MATC مالاتیون برای بچه ماهیان کپور به‌ترتیب برابر ۱/۳، ۰/٦٤٦ و ۰/۱۳ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد.

یافته‌های خون‌شناسی

بر اساس نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس، اختلاف معناداری بین درصد هماتوکریت، میزان کلسترول و گلوکز خون ماهیان تحت تیمار با غلظت‌های مختلف مالاتیون وجود داشته است ($p<۰/۰۵$). ولی در بین میزان پروتئین کل گروه‌های آزمایشی تفاوت معناداری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). نتایج مقایسه میانگین‌های درصد هماتوکریت، میزان کلسترول و گلوکز خون ماهیان گروه‌های آزمایشی در جدول ۳ نشان داده شده است. میانگین درصد هماتوکریت در گروه شاهد از دیگر گروه‌ها پایین‌تر بوده و حد طبیعی این شاخص خونی است. کمترین میزان کلسترول و گلوکز در تیمار ۱ و بیشترین میزان آن‌ها به‌ترتیب در تیمارهای ۵ و ٤ مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$).

طبق داده‌های مندرج در این جدول، افزایش غلظت سم مالاتیون سبب ایجاد تقریباً یک روند افزایشی در میزان هماتوکریت، کلسترول و گلوکز سرم خون شده است، بنابراین رابطه‌ای مستقیم بین غلظت سم مالاتیون با شاخص‌های خونی ذکر شده دیده می‌شود.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]

جدول ۳ میانگین میزان هماتوکریت، گلوکز، کلسترول و پروتئین کل سرم خون بچه‌ماهیان کپور وحشی دریای خزر

گروه‌های آزمایشی	غلظت مالاتیون (mgL^{-1})	میزان هماتوکریت (٪)	گلوکز (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	پروتئین کل (g/dl)
شاهد	۰	۳۸/۸٦±۱/۳٤^{a}	۱۰٤/۱۲±٤/۸۳^{a}	۱٤۸/۱۲±۲۰/۳۰^{a}	٤/۵۱±۰/۲۷
۱	۰/۵	۵۱/۵۸±۰/۹۲^{b}	۹۷/٤۲±۷/٦۲^{a}	۱۳۷/٦۹±۱۷/۵۹^{a}	٤/٦۲±۰/٤۷
۲	۱	۵۳/۸۱±۳/۲۳^{b}	۱۰۹/۳۲±٤/۰۳^{a}	۲۹۲/۲٦±۳۳/۲۱^{b}	۳/٦٤±۰/۱۹
۳	۱/۵	٤۹/۵۱±۱/٤۹^{b}	۱۱۵/۳۹±۵/٦٦^{ab}	۳۱۱/۲۵±۱۷/۳٤^{b}	۳/۲۵±۰/۱۲
٤	۲	۵۹/۹۲±۲/۳۸^{c}	۱۳۱/٦۲±۷/۱٦^{b}	۳۰٦/۳٤±۲٦/٦۳^{b}	۲/۱۳±۰/۲۳
۵	۲/۵	۵۷/۱٦±۱/۱۲^{bc}	۱۲٤/٤۳±۹/۱۹^{b}	۳٦۹/۵۳±۲۷/٦۸^{c}	٤/۲۱±۰/۰۹

●حروف مختلف (a،b و c) در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار در بین گروه‌های آزمایشی است (p<۰/۰۵).

بحث

در این تحقیق علاوه بر تعیین درجه سمیت مالاتیون، اثرهای غلظت‌های کشنده این حشره‌کش روی برخی شاخص‌های خونی ماهی کپور وحشی دریای خزر نیز بررسی شد. نتایج به دست آمده از آزمایش سمیت مالاتیون نشان داد که میزان غلظت کشنده در طی ۹٦ ساعت برای ۵۰ درصد از بچه ماهیان کپور برابر با ۱/۳ میلی‌گرم در لیتر است و بر پایهٔ این کمیت و مقایسهٔ آن با جدول طبقه‌بندی سمیت آفت‌کش‌ها در موجودات زنده مالاتیون با درجه سمیت «متوسط» محسوب می‌شوند.

مقایسهٔ مقدار متوسط غلظت کشنده ۹٦ ساعت با جدول طبقه‌بندی سمیت آفت‌کش‌ها در موجودات زنده (Pesticide Dictionary, 1993) نشان می‌دهد که مالاتیون برای کپور وحشی دریای خزر جزء سموم با «درجه سمیت متوسط» محسوب می‌شود (LC_{50}بین ۱ تا ۱۰ میلی گرم در لیتر). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سم مالاتیون، میزان مرگ و میر بچه‌ماهیان افزایش یافت. همچنین زمان مواجهه با سم نیز در افزایش میزان مرگ و میر مؤثر بوده است، به طوری که با افزایش زمان مواجهه با سم از لحظه شروع آزمایش تا ۲٤ ساعت در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر، میانگین تلفات سه تکرار ۰/۳۳ قطعه بوده است و با افزایش زمان به ٤۸ ساعت، میانگین تلفات به ۱ قطعه رسید.

بیشتر ترکیبات فسفره، دارای فسفروتیونات (عامل تیون) می‌باشند که پس از تجزیه در پی فعالیت دسولفوراسیون اکسیداتیو طی واکنش‌های مرحله اول آنزیمی در کبد جانوران، به متابولیت‌های فسفات استر یا اوکسون، که از قابلیت بالایی در ممانعت از فعالیت آنزیم کولین استراز برخوردارند، تبدیل یا به‌عبارتی فعال می‌شوند (Liao et al., 2006). حشره‌کش مالاتیون نیز سمیت بسیار کمتری نسبت به متابولیت خود یعنی مالااوکسون دارد (Aker et al., 2008).

بر اساس بسیاری از گزارش‌ها حشره‌کش مالاتیون سمیت بالایی برای کپورماهیان دارد، به طوری که میانه غلظت کشندهٔ سم مالاتیون در ۹٦ ساعت برای کپور روهو (*Labeo rohita*) ۰/۰۰۹ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است (Patil and David, 2008)، که این مقدار برای *Ptychocheilus lucius* حدود چهارصد برابر و ۳/۷۱ میلی‌گرم در لیتر بود (Beyers and Sikoski, 1994). همچنین نتایج LC_{50} ۹٦ ساعت مالاتیون برای *Colisa fasciatus* حاکی از میزان ۲/۲ میلی‌گرم در لیتر برای این گونه است (Singh et al., 2004). این کمیت برای سم

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]

دیازینون به عنوان یک آفت‌کش ارگانوفسفره هم خانواده با مالاتیون بر روی ماهی سفید (*Rutilus frissi kutum*)، کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و اوزون برون (*Acipenser stellatus*) به ترتیب ۰/۳٤، ۱/۹ و ٤/۹۸ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد (NasriTejen, 1996;Khoshbabar Rostami et al., 2005). میزان LC_{50} ۹٦ ساعت کلرید کبالت، سولفات روی و حشره‌کش آندوسولفان در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به ترتیب ۳۲۸، ۵۰ و ۰/۰۰۰۹ میلی‌گرم در لیتر تعیین شده است (Fatholahi, 1998; Naji et al., 2006; Naji et al., 2007). با توجه به این نتایج می‌توان گفت مقاومت ۹٦ ساعته کپور معمولی در برابر کلرید کبالت و سولفات روی بسیار بیشتر از مالاتیون و در برابر آندوسولفان بسیار کمتر از مالاتیون است.

بیشترین قسمت پروتئین سرم در کبد سنتز می‌شود و این عامل به‌عنوان یک شاخص اختلال کبدی در تشخیص بیماری یا مسمومیت قابل اندازه‌گیری است (Bernet et al., 2001). در پژوهش پیش‌رو اختلاف معناداری بین میزان پروتئین کل سرم خون ماهیان تحت تیمار با غلظت‌های مختلف مالاتیون وجود نداشته است ($p>0/05$). در مقابل گزارش‌های بسیاری مبنی بر کاهش معنادار پروتئین پلاسمای خون ماهیان تحت تیمار با سموم مختلف وجود دارند (Srivastava et al., 1995;Khattak and Hafeez, 1996; Sanchoet al., 1997; Luskova et al., 2002; Soltani and Rostami, 2002). کاهش پروتئین در پلاسمای خون را می‌توان با آسیب کبدی ناشی از در معرض سموم بودن ماهیان مرتبط دانست (Soltani and Rostami, 2002). البته اغلب پروتئین کل در دوره‌های آزمایشی بلند مدت در مواجهه با سم کاهش یافته است، ولی در تحقیق حاضر این زمان مواجهه کوتاه (۹٦ ساعت) بوده است و احتمال می‌رود دلیل عدم اختلاف معنادار در بین تیمارها همین مسئله باشد.

نتایج پژوهش حاکی از افزایش معناداری در میانگین درصد هماتوکریت خون ماهیان است ($p<0/05$). طبق تحقیقات Svobodova and Pecena (1988) کپور ماهیان پس از مواجهه با سمیت حاد آترزین، افزایش معنادار در درصد هماتوکریت خون را نشان دادند. همچنین Amini و Oryan (۲۰۰۲) افزایش معنادار حداقل ۱۳ و حداکثر ٤۵ درصدی شاخص هماتوکریت ناشی از استرس کلرید سدیم روی کپور معمولی را گزارش کردند. از طرف دیگر نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های Soltani و Rostami (۲۰۰۲) مغایرت داشت، به‌طوری‌که میزان هماتوکریت تاس‌ماهی روسی کاهش معناداری را در مواجهه با دیازینون نشان داد. با این وجود افزایش هماتوکریت اغلب در موقعیت‌های استرس‌زا صورت می‌پذیرد تا سبب افزایش ظرفیت حمل اکسیژن و فراهم کردن اکسیژن بیشتر برای اندام‌های اصلی در پاسخ به نیازهای متابولیکی بالاتر باشد (Rutten et al., 1992). به طور کلی تغییرات میزان هماتوکریت ماهیان احتمالاً ناشی از تأثیر مستقیم آفت‌کش‌ها بر بافت‌های خون‌ساز کلیه و طحال است (Luskova et al., 2002).

در این تحقیق افزایش معناداری در میانگین‌های میزان کلسترول و گلوکز خون ماهیان مشاهده گردید ($p<0/05$). یافته‌های سلطانی و رستمی (۲۰۰۲) نشان می‌دهد که میزان گلوکز مطابق نتایج تحقیق حاضر با افزایش غلظت سم، به‌طور معناداری افزایش یافته است. همچنین افزایش میزان گلوکز سرم خون گونه‌های *Oreochromis niloticus* و *Chrysichthyes auratus* پس از مواجهه با سم آترزین گزارش شده

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]

است (Mekkawy et al., 1996). غلظت گلوکز در سرم در اثر فعل و انفعالات پیچیده هورمون‌هایی مانند گلوکاگون و کورتیزول تنظیم می‌گردد، هرچند استرس‌های محیطی می‌تواند سبب افزایش مقادیر گلوکز در پلاسما شود (Martin and Black, 1998). از طرف دیگر تغییرات میزان گلوکز در سرم می‌تواند به‌علت سوء تغذیه یا جراحات کلیوی باشد(Jacobson-Kram and Keller, 2001). کاهش شدت متابولیسم گلوکز تحت تأثیر آفت‌کش می‌تواند باعث افزایش غلظت گلوکز شده گردد که این حالت اغلب توأم با کاهش میزان محصولات حاصل از متابولیسم گلوکز (یونهای فسفر و لاکتات پلاسما) و فعالیت آنزیم فعال کننده‌ای متابولیسم (LDH[9])، است (Sancho et al., 1997). با توجه به نتایج پژوهش حاضر، افزایش میزان کلسترول سرم خون در ماهیان تحت تیمار با غلظت‌های تحت کشنده سبز مالاشیت نیز دیده شد (Srivastava et al., 1995). به‌علاوه کلسترول از ترکیبات ضروری ساختار غشای سلول بوده و افزایش غلظت کلسترول سرم می‌تواند به‌علت آسیب وارد شده به کبد یا سندرم کلیوی حاصل از مسمومیت باشد (Seyit et al., 2000).

در نهایت می‌توان نتیجه گرفت، با وجود اینکه به‌وسیلهٔ آزمایش‌های سمیت حاد و تعیین LC_{50} می‌توان مقادیری مانند حداقل غلظت مؤثره، حداکثر غلظت مجاز و درجه سمیت ترکیب مالاتیون رامحاسبه کرد، اماغلظت‌هایی از آفت‌کش مالاتیون که از نظر آزمون کشندگی، غیرمؤثر و مجاز برای گونه‌های غیرهدف شناخته می‌شوند، می‌توانند باعث بروز تغییراتی در شاخص‌های خونی و آسیب‌های زیستی در آن‌ها شوند.

9. Lactate dehydrogenase

به‌طور کلی سم‌پاشی در حوضه خزری سه بار با فواصل حدود ۲۰ روزه انجام می‌شود که نخستین آن در اوایل خردادماه است؛ البته تاریخ زراعی دقیق آن در دست نیست زیرا در هر روستا و هر مزرعه بسته به شرایط، می‌تواند متفاوت باشد (Abbasian et al., 2008). بنابراین پیشنهاد می‌گردد پس از طی شدن فصل سم-پاشی مزارع، اقدام به رهاسازی بچه‌ماهیان کپور حاصل از تکثیر مصنوعی صورت گیرد تا از خطرهای احتمالی و تلفات بالای ناشی از باقیمانده سموم کشاورزی به‌ویژه حشره‌کش‌های فسفرهٔ آلی نظیر مالاتیون جلوگیری شود. لازم به ذکر است که پیش از آغاز فصل سم‌پاشی بچه ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی هنوز به سن بهینه رهاسازی نرسیده‌اند، پس بهتر است با توجه به زمان‌های سم‌پاشی در هر منطقه و کاهش یافتن باقیمانده آفت‌کش‌ها در اکوسیستم آبی رودخانه و مصب به این کار مبادرت شود. همچنین ضروری است اندازه‌گیری مقادیر باقیماندهٔ آفت‌کش‌های مهم در برنامه‌های پایش مداوم محیط زیست به‌ویژه در مصب رودخانه‌های دریای خزر انجام گیرد. امید است این برنامه‌ها بتواند در حفظ ذخایر ماهیان مهاجر بومی این زیست بوم مؤثر باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مقاله از جناب آقای دکتر رفیعی استاد گروه شیلات دانشگاه تهران، مهندس عاشوری مسئول آزمایشگاه بیماری‌های آبزیان گروه شیلات دانشگاه تهران و همچنین مهندس مخدومی کارشناس ارشد مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]

منابع

Abbasian, H., Ashayeri, A. and Hasanzadeh, H. 2008. Agricultural drainage water in the Caspian Sea and their ecological impacts. *Aquatic Sciences*, 5: 123-129. (In Persian)

Abdoli, A. 1999. Inland Water Fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wild Life Press (1st Ed.). Tehran, Iran. 387 pp. (In Persian)

Aker, W. G., Hu, X., Wang, P. and Hwang, H. M. 2008. Comparing the relative toxicity of malathion and malaoxon in blue catfish *Ictalurus furcatus. Environmental Toxicology*, 23: 548-554.

Amini P.H. and Oryan, S. 2002. Effects of NaCl stress on hematocrit and hemoglobin levels in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fisheries Science*, 3(11): 13-22.

Bernet, D., Schmidt, H., Wahli, T. and Burkhardt-Holm, P. 2001. Effluent from a sewage treatment works causes changes in serum chemistry of brown trout (*Salmo trutta*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 48: 140-147.

Beyers, D. W. and Sikoski, P. J. 1994. Acetylcholinesterase inhibition in federally endangered colorado squawfish exposed to carbaryl and malathion. *Environmental Toxicology and Chemistry*,13: 935-939.

Edsall, C. C. 1999. A blood chemistry profile for lake trout. *Journal of Aquactic Animal Health*, 11: 81-86.

Fatholahi, B. 1998. Study of lethal toxicity and their impacts endosulfan pesticide on *Cyprinus carpio*. Tarbiat Modarres University. pp: 24-46. (Abstract in English)

Finney, D. 1971. Probit analysis. Cambridge University Press, pp: 1-222.

IFO. 2013. Statistical almanac 2000-2012. Iraninan Fishery Organization,Planing and Development Association, Program and Budget Agency. (In Persian)

Jacobson-Kram, D. and Keller, K. A. 2001. Toxicology Testing Handbook. Marcel Dekker, New York. pp. 282- 283.

Khattak, I. U. D. and Hafeez, M. A. 1996. Effect of malathionon blood parameters of fish, *Cyprinion watsoni*. *pakistan Journal of Zoology,* 28: 45-49.

KhoshbabarRostami, H. A., Soltani, M. and Yelghi, S. 2005. Effects of diazinon on the histopatological profiles of *Acipenserstellatus*and detetmination of LC_{50}. *Journal of Agricultural Sciences and NaturalResources*, 5:100-108. (Abstarct in English)

Liao, C. Y., Fu, J. J., Shi, J. B., Zhou, Q. F., Yuan, C. G. and Jiang, G.B., 2006. Methylmercury accumulation, histopathology effects, and cholinesterase activity alterations in medaka (*Oryzias latipes*) following sublethal exposure to methylmercury chloride. *Environmental Toxicology and Pharmacology,* 22: 225-233.

Luskova, V., Svoboda, M. and Kolarova, J. 2002. The effect of Diazinon on blood plasma biochemistry in carp (*Cyprinus carpio*). *Acta Veterinaria Brno*, 71: 117-123.

Martin, J. R. L. K. and Black, M. C. 1998. Biomarker assessment of the effects of coal-strip mine contamination on channel catfish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 41: 307-320.

Mekkawy, A. A., Hussain, S. Y. and Ahmed, S. M. 1996. Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on some blood constituents and protein electrophoretic patterns of *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthyes auratus* at Assiut, Egypt. *Egyptianjournal of Zoology*. 19: 283-319.

Naji, T., Oryan, S. and Karami, S. 2006. Determination of LC_{50} 96h of $CdCl_2$ in common carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental Sciences and Technology*, 8(4): 51-57.

Naji, T., Safaiyan, S., Rostami, M. and Sabrjou, M. 2007. Assessment of $ZnSO_4$ on common carp (*Cyprinus carpio*) gill tissue. *Environmental Sciences and Technology*, 9(2): 29-36. (Abstract in English)

NasriTejen, M. 1996. Determination of LC_{50} 96h in *Abramis brama* exposure to 5% granol and 60% Emulsion of diazinon. MSc Thesis, Azad University of Lahijan. pp: 9-10. (Abstarct in English)

OECD. 1992. Guideline for testing of chemicals No. 203. Section: Fish, Acute Toxicity Test, Adopted by the Council on 17th July.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]

carbaryl pesticides: effects on some biochemical profiles of the freshwater fish *Colisa fasciatus. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*,72: 592-599.

Soltani, M. and Rostami, H. K. 2002. Effects of diazinon on the hematological and biochemical profiles of *Acipenser gueldenstaedtii. Journal of Marine Science*, 4: 65-75. (Abstract in English)

Srivastava, S. J., Singh, N. D., Srivastava, A. K. and Sinha, R. 1995. Acute toxicity of malachite green and its effects on certainblood parameters of a catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Aquatic Toxicology*, 31: 241-247.

Svobodova, Z. and Pecena, M. 1988. Changes in the red and white blood picture of carp after acute exposure to toxic substance. *Bulletin RIFCH in Vodnany*, 17: 116-128.

Talebi Jahromi, Kh. 2007. Pesticides Toxicology. University of Tehran Press (2nd Ed.) Tehran, Iran. (In Persian)

Turker, A., Ergon, S. and Yigit, M. 2004. Changes in blood levels and mortality rate in different sized rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following direct transfer to sea water. *The Israeli Journal of Aquaculture- Bamidgeh*, 56: 51-58.

Van der Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkersin environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology,* 13: 57-149.

OECD. 2001. Guideline for testing of chemicals No. 210. Section 2. Effect of some biotic system direction, pp. 1-39.

Patil, V. K. and David, M. 2008. Behaviour and respiratory dysfunction as an index of malathion toxicity in the freshwater fish, *Labeo rohita* (Hamilton). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8: 233-237.

Pesticide Dictionary. 1993. Concise International Chemical Assessment Document No. 13, Prepared by: World Health Organization, Geneva.

Rico. A., Waichman, A. V., Geber-Correa, R. and Van den Brink, P. J. 2011. Effects of malathion and carbendazim on Amazonian freshwater organisms: comparison of tropical and temperate species sensitivity distributions. *Ecotoxicology,* 20:625-634.

Rodríguez-Fuentes, G., Armstrong, J. and Schlenk, D. 2008. Characterization of muscle cholinesterases from two demersal flatfish collected near a municipal wastewater outfall in Southern California. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69: 466-471.

Rutten, A. A., Falke, H. E., Catsburg, J. F., Wortelboer, H. M., Blaauboer, B. J., Doorn, L., Vanleeuwen, F. X., Theelen, R. and Rietjens, I. M. 1992. Inter laboratory comparison of microsomal ethoxyresorufin and pentoxyresorufin O-dealkylation determi- nation. Standardization of assay conditions. *Archives of Toxicology,* 66: 237-244.

Sancho, E., Ferrando, M. D. and Andrew, E. 1997. Sublethal effects of an organophosphate insecticide on the European eel, *Anguilla anguilla. Ecotoxicology and Environmental Safety*, 36: 57-65.

Seyit, A., Nejdet, G. and Harun, Y. 2000. Natural and experimental infections of Campylobacter cryaerophila in rainbow trout: gross pathology, bacteriology, clinical pathology and chemotherapy. *Fish Pathology*, 35: 117-123.

Shayeghi, M., Khoobdel, M., Bagheri, F. and Abtahi, M. 2008. Azinphos-methyl and diazinon residues in Gorgan rood and Gharesoo river Golestan province. *Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research* 6(1): 75-82. (Abstarct in English)

Singh, S. K., Tripathi, P. K., Yadav, R. P., Singh, D. and Singh, A. 2004. Toxicity of malathion and

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 3, No. 1, Spring 2014

Toxicity and Impacts of Malathion on some Blood Indices in Caspian Common Carp (*Cyprinus carpio*)

Nima Shiry[*1], Khdije Khoshnoodifar[2], Alireza Mirvaghefi[3]

1- M. Sc. Student, Department of Fishery and Environment, Natural Resources Faculty, University of Tehran, Karaj
2- M. Sc. Graduated, Department of Fisheries and Environmental Science, Natural Resources Faculty, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan
3- Associate Prof., Department of Fishery and Environment, Natural Resources Faculty, University of Tehran, Karaj

Received: 1/8/2013 Accepted: 7/5/2014
*Corresponding author: nima.shiry@gmail.com

Abstract:

Toxicity and LC_{50} 96-h of Malathion on the Caspian common carp fingerlings, *Cyprinuscarpio*, and its effects on some blood indices, including hematocrit, glucose, cholesterol and total protein content, were investigated. The median lethal concentration, the lowest effective concentration and the maximum allowable concentration were found to be 1.3, 0.646 and 0.13 $mg.L^{-1}$, respectively. Based on the LC_{50} finding, Malathion can be regarded as "moderately toxic" for this fish. Significant differences between the hematocrit, glucose, and cholesterol among treatments were evident, but no significant difference in the total protein of blood plasma was observed. The hematocrit level in the control group was lower than the other groups. The lowest levels of cholesterol and glucose were observed in 0.5 mg/L, and the maximum levels were found in 2.5 and 2 mg/L, respectively. Therefore, malathion which is supposed to be ineffective for non-target species at allowable concentrations, can lead to their blood indicies responses and bio-damages.

Keywords: Caspian common carp, LC_{50}, Blood indices, Malathion.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.2.6.9]