13 (3) 287-292, Autumn 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Organophosphorus Pesticides Accumulation in Fish Species, South Part of the Caspian Sea and effect on the Acetylcholinesterase Enzyme (AChE)

Reza Golshani *

Deputy Minister of Marine Environment and Wetlands, Department of the Environment, Tehran, Iran

Key Words
Diazinon
Malathion
Azinfos methyl
Acetylcholinesterase
Fish
Caspian Sea

Abstract

Introduction: In this study the distribution and accumulation of diazinon, malathion and azinfos methyl in mullet fish *Liza aurata*, caspian white fish *Rutilus frissi kutum* and common carp fish *Cyprinus carpio* from five estuaries along the Caspian Sea was investigated. Also, the effect of pesticides concentration on the acetylcholinesterase enzyme (AChE) in fish species was studies.

Materials & Methods: Pesticides concentration varied with fish species, sampling station and toxin type.

Result: The results indicate that the pesticides concentration varied from 0.01 to 0.16 mg/kg for diazinon, 0.01 to 0.15 mg/kg for malathion and 0.05 to 0.36 mg/kg for azinfos methyl in three fish species. There was significant difference between different toxin concentrations in fish species, ($P < 0.05$), and the order of toxic concentrations was as follows: azinfos methyl > diazinon > malathion. There was significant difference in toxin concentrations between three fish species, and the highest toxins concentrations were absorbed in detritivores fish (*L. aurata*), followed by herbivorous fish (*C. carpio*) and carnivore fish (*R. kutum*). The results indicate that the AChE enzyme concentration in all estuaries varied from 60.05 to 93.60 ng/ml for *L. aurata*, 91.47 to 95.41 ng/ml for *R. frissi kutum* and 70.09 to 83.8 ng/ml for *C. carpio*. There was negative correlation between pesticides concentration and acetylcholinesterase (AChE) enzyme level in fish species and correlation was ($r = -0.885$) for *L. aurata*, -0.920 for R. *frissi kutum* and ($r = -0.874$) *C. carpio.*

Conclusion: The results confirmed that toxins bioaccumulation in fish species is strongly controlled by habitat and feeding habits. Also, the rsults showed that AChE enzyme activities in the fish tissues were gradually inhibited with increase in the organophosphorus pesticides concentration.

* Corresponding Author's email: golshani.eme88@yahoo.com
Received: 18 July 2020; Reviewed: 26 August 2020; Revised: 28 October 2020; Accepted: 6 December 2020
(DOI): 10.22034/AEJ.2020.257785.2410

مقاله پژوهشی

میزان سموم آلی فسفره در ماهیان اقتصادی حوضه جنوبی دریای خزر و بررسی اثرات آن بر نوسانات میزان آنزیم استیل کولین استراز

رضا گلشنی[*]

معاونت محیط زیست دریایی و تالاب‌ها، سازمان حفاظت محیط زیست، تهران، ایران

کلمات کلیدی

دیازینون
مالاتیون
آزینفوس متیل
استیل کولین استراز
ماهی
دریای خزر

چکیده

مقدمه: سموم ارگانوفسفره سمومی از طیف گسترده سموم شیمیایی هستند که برای مقابله با آفات در باغات، مزارع کشاورزی و شالیزارها و در سطح وسیعی در سه استان شمالی کشور مورد استفاده قرار می‌گیرند. سموم دیازینون، مالاتیون و آزینفوس متیل ازجمله سموم شاخص و پرمصرف این گروه هستند که میزان غلظت آن‌ها در بافت عضله سه گونه ماهی پرمصرف حوضه جنوبی دریای خزر (سفید، کفال و کپور) و بررسی اثرات آن‌ها بر نوسانات میزان آنزیم استیل کولین استراز در عضله ماهی‌ها، مورد مطالعه این تحقیق می‌باشد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌برداری‌ها در دو فصل تابستان و پاییز سال ۱۳۹۷ و از پنج حوضه مصبی گرگانرود، تجن، بابلرود، چالوس و سفیدرود انجام شده است به‌طوری‌که سه استان شمالی و حاشیه‌ای دریای خزر در ایران را پوشش دهد. برای اندازه‌گیری سموم ارگانو فسفره بعد از آماده‌سازی نمونه‌ها از دستگاه گاز کروماتوگرافی GC 6890N, AGILENT در شرایط استاندارد و برای سنجش میزان آنزیم استیل کولین استراز از دستگاه ELIZA با طول موج ۴۵۰ نانومتر با استفاده از کیت استاندارد برای آماده‌سازی نمونه‌ها و به‌دست آمدن اندازه‌ها استفاده شد.

نتایج: بررسی‌های آماری برای به‌دست آمدن تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) و هم‌چنین بررسی وجود همبستگی بین تمامی متغیرها، توسط نرم‌افزارهای Excel و SPSS صورت گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان از بالا بودن آلودگی نمونه‌ها در فصل تابستان می‌داد. ماهی کفال در مجموع دو فصل نیز بیش‌ترین میزان آلودگی به سموم مورد مطالعه را داشت. در مجموع آلوده‌ترین حوضه‌های مصبی مورد مطالعه نیز حوضه‌های بابلرود و تجن بودند.

نتیجه‌گیری و بحث: نتایج حاصل از این تحقیق هم‌چنین نشان داد که با افزایش میانگین غلظت سموم ارگانوفسفره، میزان آنزیم AChE در بدن ماهی‌ها کاهش محسوسی داشته، ارتباط و همبستگی کاملاً معنی‌دار و معکوس بین متغیرهای میانگین غلظت سموم و میزان آنزیم AChE در ماهی‌های مورد مطالعه برقرار است.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: golshani.eme88@yahoo.com

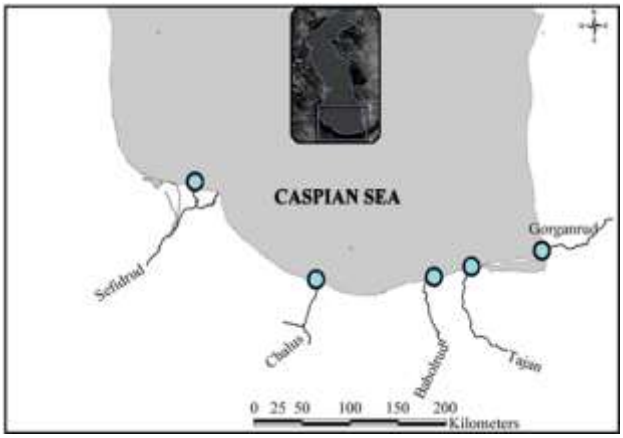
تاریخ دریافت: ۲۸ تیر ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۵ شهریور ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۷ آبان ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۶ آذر ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/AEJ.2020.257785.2410

مقدمه

سموم فسفره مشتق شده از اسیدهای فسفریک، پیرو فسفریک، فلوئوروفسفریک، ایزومرمتوفسفریک، تیوفسفریک و دی تیونوفسفریک می‌باشند که در واقع از مهم‌ترین پیشرفت‌های مبارزه با آفات هستند. ترکیبات ارگانوفسفره ترکیبات سمی هستند که در سطح وسیعی از مزارع کشاورزی و باغات مرکبات در استان‌های شمالی هم‌جوار با سواحل جنوبی خزر، استفاده از آن‌ها بسیار رایج است (Golshani و همکاران، ۲۰۱۲). این ترکیبات در آب حل شده و سپس مزارع و باغات با این آب، آبیاری و یا سم‌پاشی می‌شوند. بسیاری از این سموم پس از مصرف به طرق مختلف به منابع آب‌های سطحی راه پیدا می‌کنند و از این طریق به موجودات آبزی ازجمله ماهی‌ها می‌رسند (ابراهیم‌زاده و همکاران، ۱۳۸۳). از آن‌جاکه سموم ارگانوفسفره بر آنزیم کولین استراز تاثیر گذاشته و موجب کاهش فعالیت آن می‌شوند (Altuntas و همکاران، ۲۰۰۳)، با ترکیب شدن سم فسفره با آنزیم کولین استراز ، این آنزیم به آنزیم فسفریله تبدیل و حاصل تقریباً غیر قابل برگشت بوده و هفته‌ها وقت لازم است تا هیدرولیز شود (Mayer، ۱۹۸۶). سموم ارگانوفسفره (دیازینون، مالاتیون، آزینوفوس متیل) از دسته آلاینده‌های آلی (فسفات‌های آلی) می‌باشند که پایدار نیستند. به‌سرعت غیرفعال شده و تجزیه می‌شوند. سمی‌تر از سموم ارگانوکلره می‌باشند (Hoffman و همکاران، ۲۰۰۶). اثر سمیت این سموم روی اعصاب سمپاتیک بوده و آنزیم استیل کولین استراز را مهار می‌کنند و درنتیجه انتقالات عصبی دچار اختلال می‌شوند (Hamm و همکاران، ۱۹۹۸). ماده خالص این سموم غالباً به‌صورت مایع شفاف و یا بلورهای سفید رنگ می‌باشند. این سموم می‌توانند از طریق تماس پوستی و یا از راه تغذیه وارد بدن موجود زنده شوند. حدوداً کم‌تر از ۰/۱ درصد از آفت‌کش‌های مورد استفاده به آفات هدف می‌رسند. بنابراین میزان زیادی از آفت‌کش‌ها وارد محیط‌زیست شده و منابع آبی و خاکی را آلوده می‌سازند. آفت‌کش‌ها از دو طریق وارد منابع آبی می‌شوند: ورود مستقیم آفت‌کش‌ها به‌اکوسیستم‌های آبی و ورود غیرمستقیم آفت‌کش‌ها از طریق ریزش‌های اتمسفری و فرسایش حاصل از زمین‌های کشاورزی (Ewing، ۱۹۹۹). با اندازه‌گیری سه سم پرمصرف این گروه (دیازینون، مالاتیون و آزینفوس متیل) در بافت عضله ماهیان اقتصادی شاخص حوضه جنوبی دریای خزر (سفید، کفال و کپور)، اثرات سموم ارگانو فسفره بر نوسانات میزان آنزیم استیل کولین استراز در ماهیان دریایی، مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

محدوده‌های مطالعاتی در تحقیق حاضر، پنج حوضه مصبی بزرگ و مهم رودخانه‌های ورودی حوضه جنوبی دریای خزر که به‌ترتیب از شرق به‌غرب شامل گرگانرود، تجن، بابلرود، چالوس و سفیدرود مطابق شکل ۱، به‌نحوی انتخاب شدند که هر سه استان شمالی کشور را به نوعی پوشش دهند.



شکل ۱: نقشه شماتیک حوضه‌های مصبی مورد مطالعه و نمونه‌برداری

نمونه‌برداری‌ها در دو فصل تابستان و پائیز و از سه گونه ماهی شاخص اقتصادی حوضه جنوبی دریای خزر و از هر حوضه مصبی انجام گرفت.

گونه‌های مورد مطالعه: شامل؛ کفال طلایی (*Liza aurata*)، سفید خزر (*Rutilus frissi kutum*)، کپور خزر (*Cyprinus carpio*) در مجموع تعداد ۹ قطعه ماهی از هر گونه، در هر حوضه مصبی و در هر فصل تهیه شد و بدین‌ترتیب مجموع تعداد نمونه‌های هر سه گونه ماهی در هر فصل به ۱۳۵ عدد رسید. تمامی نمونه‌ها از پره‌های ساحلی (Beach Seine) هم‌جوار با محدوده مورد مطالعه تهیه شد.

روش اندازه‌گیری سموم فسفره در ماهی‌ها: نمونه‌های جمع‌آوری شده پس از انتقال به آزمایشگاه بیومتری شده و طول و وزن کل نمونه‌ها به‌دقت اندازه‌گیری گردید و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شده و برای انجام آزمایشات ابتدا فلس‌گیری از ماهی‌ها و جداسازی بافت از پوست صورت گرفت و پس از خالی کردن امعاء و احشاء مقدار دقیق آن توزین و به دستگاه فریز درایر به‌منظور خشک‌کردن نمونه‌ها انتقال پیدا کرد و سپس توسط آسیاب پودر شده و توزین گردید و در ظروف مخصوص قرار گرفته و در نهایت به مرحله استخراج انتقال یافتند (Helrick، ۲۰۰۰). نمونه وزن شده به ظروف آزمایشگاهی مناسب منتقل گردید و به آن مقداری سولفات سدیم بدون آب و ۱۰۰ میلی‌لیتر اتردوپترول اضافه و به‌مدت ۳۰ دقیقه بر روی شیکر مخلوط گردید (می‌توان عمل به‌هم زدن را بر روی بلندر با دور بالا به‌مدت ۵ دقیقه انجام داد).سپس محلول از صافی عبور داده شد و با استفاده از دستگاه تبخیر در خلاء، خشک گردید (Helrick، ۲۰۰۰).برای عمل خالص‌سازی باقی‌مانده خشک‌شده مرحله استخراج

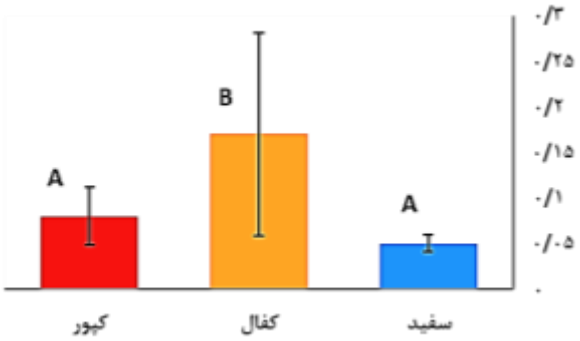
در ۲۰-۱۵ میلی‌لیتر اتردوپترول حل‌نموده و سپس به ستون شیشه‌ای کروماتوگرافی حاوی سولفات سدیم انیدر، سیلیکاژل و فلوئوروزیل منتقل و با باز کردن شیر خروجی ستون اجازه داده شد که حلال تا سقف ۰/۵ میلی‌لیتر بالای سطح محتویات ستون مایع خارج شود در ادامه با ۱۵۰ میلی‌لیتر مخلوط اتردوپترول و اتراتیلیک باقی‌مانده از ستون خارج گردید، محلول را توسط دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ نموده و باقی‌مانده خشک در حلال اترودوپترول به‌مقدار ۲ میلی‌لیتر حل گردید (Helrick، ۲۰۰۰). در این مرحله، نمونه برای تزریق به دستگاه گاز کروماتوگرافی (G.C) آماده بوده و یا می‌توان باقی‌مانده خشک را در مقادیری حلال در سه نوبت حل کرده و در یک بالن ژوژه ۱۰ میلی‌لیتری به حجم رسانده سپس به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق نمود. دستگاه گاز کروماتوگرافی GC 6890N, AGILENT با دمای تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و دتکتور اختصاصی سموم فسفره (TSD) با دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و حساسیت ۴×۱۰^{-۱۰} و هم‌چنین دمای ستون ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد، کالیبره شده و آماده دریافت نمونه بود. چون اساس کار با دستگاه گاز کروماتوگرافی در مرحله اول شناسایی پیک‌ها و سپس تعیین مقدار می‌باشد، با آماده‌سازی استانداردهای سموم مورد نظر با غلظت مشخص در مرحله اول با تزریق حلال و سپس تزریق استانداردها مکان پیک‌ها را مشخص نموده سپس نمونه‌های آماده شده به دستگاه تزریق گردید (Helrick، ۲۰۰۰).

روش اندازه‌گیری آنزیم استیل کولین استراز: جهت آنالیز آنزیم AChE از بافت ماهی‌ها استفاده گردید. به بافت ماهی بافر فسفات سالین اضافه شد تا pH آن ثابت بماند. نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار با ۵۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. مایع هموژن شده رویی به‌دقت جدا گردید و جهت آنالیز مجدداً در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. برای سنجش میزان آنزیم استیل کولین استراز محلول استاندارد را در غلظت‌های ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴ و ۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر رقیق‌سازی نموده و ۵۰ میکرولیتر از محلول استاندارد را به‌همراه ۵۰ میکرولیتر از streptomycin- HRP، ۴۰ میکرولیتر از نمونه، ۱۰ میکرولیتر از AChE antibodies و ۵۰ میکرولیتر از streptavidin-HRP را داخل پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای تزریق کرده و روی پلیت پوشانده شده و به آرامی تکان داده شد و در دمای ۳۷ درجه به‌مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفت. washing solution را ۲۰ بار رقیق کرده و برای شستشو، آماده شد. کاور روی پلیت را به آرامی برداشته محلول رویی را خالی کرده و با محلول شستشو، ۵ بار شستشو داده شد تا اثری از محلول در آن باقی نماند. ۵۰ میکرولیتر Chromogen solution A به پلیت اضافه گردید، سپس ۵۰ میکرو لیتر دیگر از Chromogen solution B به پلیت اضافه شد و به آرامی تکان داده شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ برای تغییر رنگ قرار گرفت. در مرحله آخر ۵۰ میکرولیتر Stop Solution به آن اضافه شد تا واکنش پایان پذیرد (تغییر رنگ از آبی به زرد اتفاق افتاد). سپس در مدت ۱۰ دقیقه در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه ELISA، OD قرائت شد. در نهایت با توجه به معادله خط، غلظت نمونه‌ها محاسبه گردید.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) برای بررسی وجود تفاوت معنی‌دار و آزمون همبستگی پیرسون (Pearson Correlation) برای بررسی وجود همبستگی بین تمامی متغیرها (غلظت سموم در سه گونه ماهی و میزان آنزیم AChE) در محدوده‌های مصبی مورد مطالعه توسط نرم‌افزارهای Excel و SPSS تحت ویندوز استفاده شد.

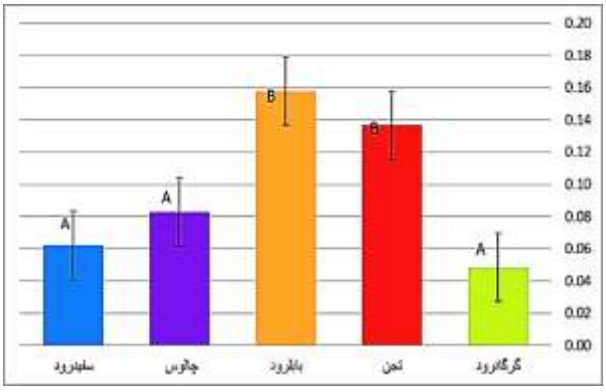
نتایج

در مجموع نتایج به‌دست آمده از دو فصل تابستان و پاییز، آلوده‌ترین ماهی به سموم فسفره (دیازینون، مالاتیون و آزینفوس متیل) ماهی کفال می‌باشد که به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با دو گونه دیگر نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$) (شکل ۲).

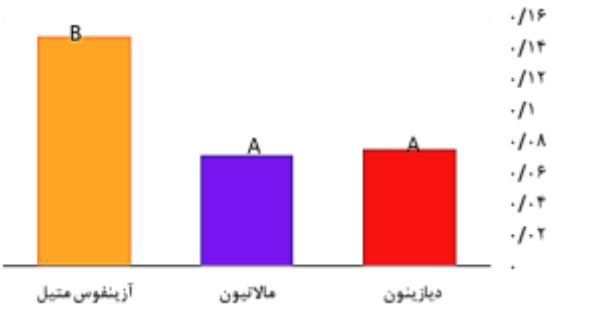


شکل ۲: نمودار میانگین غلظت سموم در سه گونه ماهی مورد مطالعه در مجموع دو فصل تابستان و پاییز (برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه)

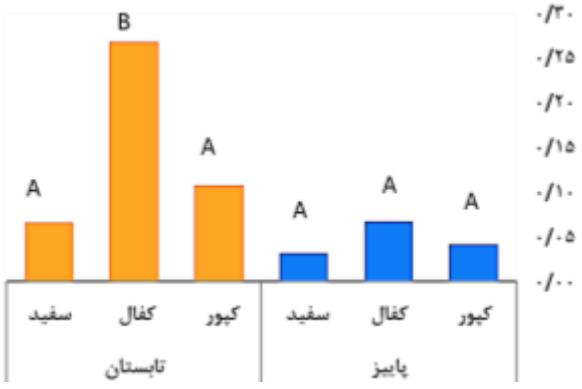
مقادیر سموم اندازه‌گیری شده در عضله ماهیان حوضه‌های مطالعاتی بابلرود و تجن نیز بیش‌ترین میزان آلودگی به سموم را در خود نشان می‌دهند که به لحاظ آماری نیز اختلاف معنی‌داری با حوضه‌های دیگر دارند ($p<۰/۰۵$) (شکل ۳). بالاترین غلظت به‌دست آمده از سموم، مربوط به سم ارگانوفسفره آزینفوس متیل می‌باشد که به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با دو سم دیگر نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$) (شکل ۴). هم‌چنین مقایسه میانگین غلظت آلودگی ماهی‌ها (سفید، کفال و کپور) به سموم ارگانوفسفره مورد مطالعه بین دو فصل، نشان از آلودگی بیش‌تر فصل تابستان دارد (شکل ۵).



شکل ۳: نمودار میانگین مجموع غلظت سموم در نمونه‌های سه گونه ماهی در حوضه‌های مصبی مورد مطالعه (برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه)

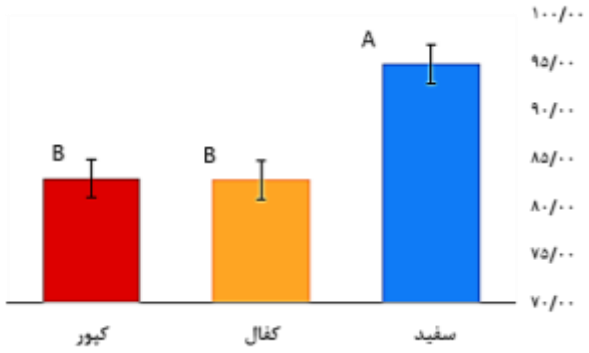


شکل ۴: نمودار میانگین غلظت سموم در عضله ماهی‌ها در حوضه‌های مطالعاتی و در مجموع دو فصل (برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه)



شکل ۵: نمودار مقایسه میانگین غلظت سموم در سه گونه ماهی مورد مطالعه در دو فصل تابستان و پاییز (برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه)

درخصوص سم دیازینون بالاترین میانگین غلظت به‌دست آمده به نمونه ماهی کفال حوضه مطالعاتی بابلرود در فصل تابستان و با غلظت ۰/۲۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه مربوط است. بالاترین میانگین غلظت به‌دست آمده از سم مالاتیون مربوط است به نمونه ماهی کفال حوضه رودخانه تجن در فصل تابستان و با غلظتی معادل ۰/۱۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه و درخصوص سم آزینفوس متیل بالاترین میانگین غلظت به‌دست آمده مربوط می‌شود به نمونه ماهی کفال حوضه مصبی بابلرود با غلظتی معادل ۱/۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه. از طرفی بالاترین مقدار میانگین غلظت به‌دست آمده از آنزیم AChE در ماهی‌های مورد مطالعه در مجموع دو فصل، مربوط است به ماهی سفید (شکل ۶).



شکل ۶: نمودار مقایسه میانگین غلظت آنزیم AChE در نمونه‌های مورد مطالعه (بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر)

بررسی نتایج به‌دست آمده از آزمون همبستگی بین میانگین غلظت سموم در عضله سه گونه ماهی مورد مطالعه در همه موارد یک همبستگی معنی‌دار و مثبت را نشان می‌دهد (p<۰/۰۱) (جدول ۱). همبستگی بین میانگین غلظت سموم وآنزیم استیل‌کولین استراز در بافت عضله ماهی سفید یک همبستگی قوی و منفی را نشان می‌دهد (p<۰/۰۱، r: -۰/۸۸۵). درخصوص ماهی کفال نیز این ارتباط یک ارتباط کاملاً قوی و معکوس می‌باشد(p<۰/۰۱، r:-۰/۹۲۰).همبستگی بین میانگین غلظت مجموع سموم مورد مطالعه و آنزیم استیل کولین استراز در ماهی کپور یک همبستگی قوی و منفی را نشان می‌دهد (p<۰/۰۱، r: -۰/۸۷۴) (جدول ۱).

جدول ۱: همبستگی (r) بین میانگین غلظت سموم در سه گونه ماهی مورد مطالعه

	Mean Rutilus.f Pearson Correlation	**Mean Liza.a** Pearson Correlation	**Mean Cyprinus.c** Pearson Correlation
Mean Rutilus.f Pearson Correlation	۱	۰/۴۷۰ **	۰/۳۸۹ **
Mean Liza.a Pearson Correlation		۱	۰/۳۱۱ **
Mean Cyprinus.c Pearson Correlation			۱

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

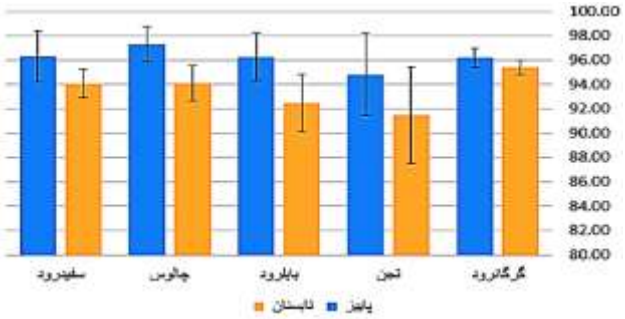
جدول ۲: همبستگی (r) بین میانگین غلظت سموم در سه گونه ماهی مورد مطالعه و میزان آنزیم استیل کولین استراز در آنها

		Mean AChE
Mean Rutilus.f	Pearson Correlation	-۰/۸۸۵ **
Mean Liza.a	Pearson Correlation	-۰/۹۲۰ **
Mean Cyprinus.c	Pearson Correlation	-۰/۸۷۴ **

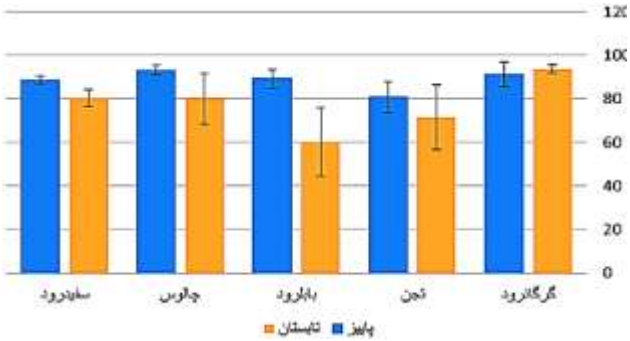
**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

بحث

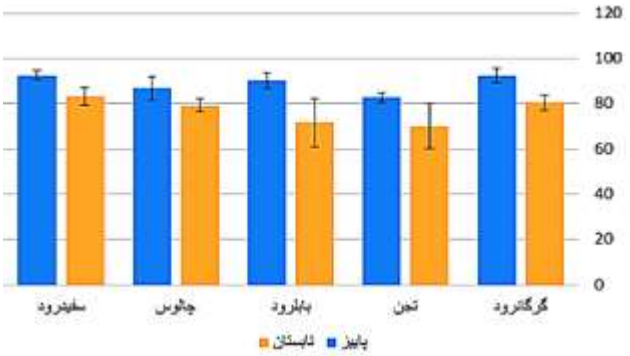
چنین به‌نظر می‌رسد که بالاتر بودن میزان آلودگی به سموم ارگانوفسفره در حوضه‌های مصبی مورد مطالعه در فصل تابستان ارتباط مستقیمی می‌تواند با مصرف بیش‌تر این سموم در این فصل (به‌خصوص اواسط تیرماه) داشته باشد. اواسط تیرماه و اواخر اسفند ماه معمولاً زمان مناسبی برای به‌کارگیری آفت‌کش‌های ارگانوفسفره در باغات مرکبات و مزارع برنج بوده و به‌خصوص در مزارع برنج، بیست روز تا یک ماه قبل از زمان برداشت (که از مرداد تا شهریورماه است) سم‌پاشی صورت می گیرد (سند توسعه زیست‌محیطی استان مازندران، ۱۳۸۹). آلوده‌تر بودن ماهی کفال به نسبت دو گونه دیگر را شاید بتوان به نوع تغذیه این گونه (دیتریت‌خواری) و محدوده زندگی آن که یک ماهی کرانه‌ای است، دانست. به‌طوری‌که این ویژگی می‌تواند این گونه را بیش‌تر در معرض رویارویی با انواع آلودگی‌ها قرار دهد. ماهی کفال یک ماهی دریایی و رژیم غذایی آن دیتریت‌خواری می‌باشد (رضوی‌صیاد، ۱۳۶۹). از طرفی با رسیدن به سن بلوغ و فرا رسیدن فصل تولیدمثل، ماهیان رودکوچ (مانند ماهی سفید) به‌تدریج از نواحی عمیق دریا به نواحی کم عمق و سواحل دریا حرکت می‌کنند تا خود را به رودخانه‌ها رسانده و تخم‌ریزی طبیعی در نواحی بالادست رودخانه صورت پذیرد (Kuliev، ۱۹۹۷). بنابراین شاید پایین بودن آلودگی ماهی سفید به نسبت دو گونه دیگر در این تحقیق را علاوه بر نوع تغذیه آن که همه‌چیزخوار است (رضوی‌صیاد، ۱۳۷۴) را بتوان به نوع حضور این ماهی که غالباً در قسمت‌های عمیق‌تر دریا تردد کرده و کم‌تر در مواجهه با منشاء آلودگی‌ها می‌باشد و تنها در زمان تخم‌ریزی به حوضه‌های مصبی و رودخانه‌ها مهاجرت می‌کند، دانست. هم‌چنین در مطالعه‌ای که میزان غلظت سموم ارگانوفسفره را در ماهی‌های اقتصادی حوضه جنوبی دریای خزر مورد بررسی قرارداده بود، بیش‌ترین میزان آلودگی مربوط به ماهی کفال عنوان شده است (غلامی‌پور و همکاران، ۱۳۸۷). بالاتر بودن غلظت سم آزینفوس‌متیل با وجود حذف شدن آن از فهرست سموم مجاز ایران (موسوی، ۱۳۸۹) را نسبت به دو سم دیگر شاید بتوان به دوز مصرف، تعدد دفعات مصرف و هم‌چنین طولانی‌تر بودن اثر و دوام بیش‌تر آن در محیط و روی محصولات زراعی دانست (سند توسعه زیست‌محیطی استان مازندران، ۱۳۸۹). بررسی ارتباط همبستگی میان میانگین غلظت سموم مورد مطالعه و میزان میانگین آنزیم AChE در مجموع نمونه‌های سه گونه ماهی، نشان از یک ارتباط کاملاً معکوس و معنی‌دار دارد (p<۰/۰۱، r: -۰/۸۲). به‌طوری‌که بالارفتن میزان میانگین غلظت سموم، با کاهش میزان آنزیم AChE در بافت عضله ماهی‌ها همراه است. چنان‌چه در مطالعه‌ای، مهار آنزیم AChE در بافت ماهی‌ها و دیگر حیوانات را به‌عنوان یک نشانگر زیستی برای نشان دادن استفاده از ارگانوفسفره‌ها و کاربامات‌ها در محیط، بیان می‌کند (Oliveira و همکاران، ۲۰۰۷). ماهی سفید مورد مطالعه این تحقیق با توجه به این‌که در مجموع کم‌ترین آلودگی را به سموم فسفره نسبت به دو گونه دیگر داشته است، دارای بیش‌ترین میزان میانگین غلظت آنزیم AChE اندازه‌گیری شده می‌باشد (شکل ۶). بنابراین در ماهی کفال که به‌عنوان آلوده‌ترین ماهی حوضه‌های مصبی مورد مطالعه تحقیق حاضر به‌حساب می‌آید، می‌توان کم‌ترین میزان آنزیم AChE اندازه‌گیری شده را یافت. این یافته را می‌توان در مطالعات مختلف دیگری نیز به‌وضوح مشاهده کرد به‌طوری‌که در مطالعه‌ای درخصوص بررسی فعالیت آنزیم کولین‌استراز در مغز ماهی سفید در انواع دریایی و پرورشی مشخص گردید که میزان آلودگی به سموم ارگانوفسفره در نوع دریایی کم‌تر از نوع پرورشی بوده و کاهش فعالیت این آنزیم در نوع پرورشی ماهی سفید بیش‌تر می‌باشد (ابراهیم‌زاده و همکاران، ۱۳۸۳).



شکل ۷: نمودار میانگین غلظت آنزیم AChE در بافت عضله ماهی سفید (بر حسب نانوگرم بر میلی لیتر)



شکل ۸: نمودار میانگین غلظت آنزیم AChE در بافت عضله ماهی کفال (بر حسب نانوگرم بر میلی لیتر)



شکل ۹: نمودار میانگین غلظت آنزیم AChE در بافت عضله ماهی کپور (بر حسب نانوگرم بر میلی لیتر)

در تحقیقات صورت گرفته توسط محققین دیگر، بیش‌ترین بررسی‌های انجام گرفته، تحت تاثیر سم دیازینون بر فعالیت آنزیم کولین استراز می‌باشد که در همه مطالعات صورت گرفته برروی کپور ماهیان و نیز سایر ماهیان کاهش فعالیت این آنزیم گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به کاهش مقدار این آنزیم در سرم خون ماهی کپور اشاره کرد (O¨zcan Oruc و همکاران، ۲۰۰۲). میان میانگین آلودگی حوضه‌های مورد مطالعه، حوضه مصبی بابلرود و تجن با دیگر حوضه‌های مورد مطالعه وجود اختلاف کاملا معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$). این نشان‌دهنده آلودگی بالای دو حوضه بابلرود و تجن نسبت به حوضه‌های مصبی دیگر است که به‌نظر می‌رسد یک ارتباط و نسبت منطقی با گستردگی باغات و شالیزارهای موجود در حوالی و مجاورت هر یک از رودخانه‌های منتهی به حوضه‌های مصبی مورد مطالعه، وجود داشته باشد. همان‌طورکه در بازدیدهای میدانی نیز مشاهده شد میزان گستردگی باغات (به‌ویژه مرکبات)، و شالیزارها در بالادست رودخانه‌های بابلرود و تجن به‌مراتب بیش‌تر از حوضه‌های دیگر به چشم می‌خورد.

منابع

۱. **ابراهیم‌زاده، م.ع.؛ شکرزاده‌لموکی، م. و ببوک‌آبادی، م.، ۱۳۸۴.** بررسی تاثیر سموم ارگانوفسفره بر فعالیت کولین استراز اریتروسیت در کارگران مزارع برنج. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. دوره ۷، شماره ۱، صفحات ۱ تا ۷.

۲. **رضوی‌صیاد، ب.، ۱۳۶۹.** ارزیابی و مدیریت ذخایر ماهیان استخوانی اقتصادی دریای خزر. مرکز تحقیقات شیلات استان گیلان. ۸۶ صفحه.

۳. **غلامی‌پور، س.؛ صفری، ر. و لالویی، ف.، ۱۳۸۶.** تعیین مقدار باقی‌مانده حشره‌کش‌های فسفره در ماهی در مصب رودخانه‌های استان‌های شمالی ایران. سازمان حفاظت محیط زیست. ۱۱۱صفحه.

4. **Altuntas, I.; Delibas, N.; Doguc, D. and Ozmen, S., 2003.** Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. Toxicol in vitro. Vol. 17, pp: 153-157.

5. **Ebrahimzadeh, M.A.; Karami, M.; Golrokh, M. and Masroor, Y., 2004.** Determination of AChE activity in brain of *Rutlus frisi* and *cyprinus carpio* as health index. Chemistry an Indian journal. Vol. 19, pp: 13-15.

6. **Ewing, R.D., 1999.** Diminishing returns: Salmon decline and pesticides. Oregon pesticide Education Network.

7. **Gholamipour, S.; Safari, R. and Lalouyee, F., 2007.** determining the residual of phosphorus insecticides in fishes of estuary of the rivers of Iran northern provinces, Department of environment. 98 p.

8. **Golshani, R.; Mashinchian, A. and Mostafavi, P.Gh., 2012.** Concentration determination of organophosphate pesticides (diazynon – malathion – azinfos methyl) in mullet (*Liza aurata*) muscle tissue of babolrood, gorganrood and tajan rivers estuaries. International Journal of MArine Science and Engineering. Vol. 2, pp: 255-258.

9. **Hamm, J.T.; Wilson, B.W. and Hinton, D.E., 1998.** Organophosphate induced acetylcholine sterase inhibition and embryonic vetinal cell necrosis in vivo in the teleost (*oryzias latipes*). Neurotoxicology. Vol. 19, pp: 853-870.

10. **Helrick, K., 2000.** AOAC official methods of analysis of the association of official analysis. Seventeenth Edi. Vol. 2, pp: 10-12.

11. **Hoffman, V. and Papendrof, T., 2006.** Organophosphate poisonings with parathion and diamethoate. Intensive care Med. Vol. 32, pp: 464-468.

12. **Kirby, M.F.; Morris, S.; Hurst, M.; Kirby, S.J.; Neall, P.; Tylor, T. and Fagg, A., 2000.** The Use of Cholinesterase Activity in Flounder (*Platichthys flesus*) Muscle Tissue as a Biomarker of Neurotoxic Contamination in UK Estuaries. Marine Pollution Bulletin. Vol. 9, pp: 780-791.

13. **Kuliev, Z.M., 1997.** Caps and perches of the southern and middle Caspian (structure of the population, ecology, distribution and measures for population restocking). Author abstract of the dissertation for the doctors degree. Babu. 14 p.

14. **Mayer, F.L. and Ellersieck, M.R., 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. 505 p.

15. **Mousavi, M.R., 2010.** Pesticides and their use insecticides and herbicides. 358 p.

16. **Oliveira, M.M.; Silva Filho, M.V.; Cunha Bastos Vera, L.F. and Fernandes, F.C., 2007.** Brain acetylcholinesterase as a marine pesticide biomarker using Brazilian fishes. Marine Environmental Research. Vol. 63, pp: 303-312.

17. **O¨zcan Oruc, E. and Usta, D., 2007.** Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 23, pp: 48-55.

18. **RazaviSayad, B., 1990.** Management of Economic Resources of Bone fishes of Caspian Sea, Fishery Organization of Mazandaran Provice, Babolsar. Iran. 120 p.

19. **RazaviSayad, B., 1995.** *Rutilus frisii kutum*. Iranian Fisheries Research and Training Institute. Tehran. 165 p.