

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 گلشانی*

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

کلمات کلیدی

چکیده

دیازینون
مالاتیون
آزینفوس متیل
استیل کولین استراز
ماهی
دریای خزر

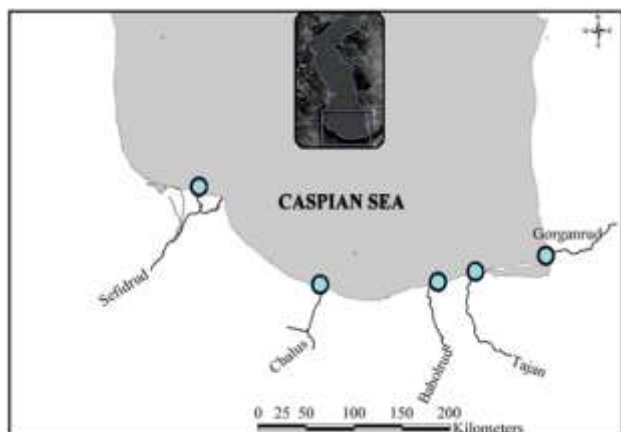
مقدمه: سموم ارگانوفسفره سمومی از طیف گسترده سموم شیمیایی هستند که برای مقابله با آفات در باغات، مزارع کشاورزی و شالیزارها و در سطح وسیعی در سه استان شمالی کشور مورد استفاده قرار می‌گیرند. سموم دیازینون، مالاتیون و آزینفوس متیل از جمله سموم شاخص و پرمصرف این گروه هستند که میزان غلظت آن‌ها در بافت عضله 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 به طوری که سه استان شمالی و حاشیه‌ای دریای خزر در ایران را پوشش دهد. برای اندازه‌گیری سموم ارگانوفسفره 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 ($p < 0/05$) 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.

مقدمه

شرق به غرب شامل گرگانرود، تجن، بابلرود، چالوس و سفیدرود مطابق شکل ۱، به نحوی 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 طلائی (*Liza aurata*),

سفید خزر (*Rutilus frissii 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 بدین ترتیب 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 خشک کردن 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 اتروپتترول 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

سموم فسفره مشتق شده از اسیدهای فسفریک، پیرو فسفریک، فلوئوروفسفریک، ایزومر متوفسفریک، تیوفسفریک و دی‌تیونوفسفریک 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 آبی از جمله ماهی‌ها می‌رسند (ابراهیم‌زاده و همکاران، ۱۳۸۳). از آن‌جا که 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 سمپاتییک بوده و آنزیم استیل کولین استراز را مهار می‌کنند و در نتیجه 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 به اکوسیستم‌های 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 آزینوفوس 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.

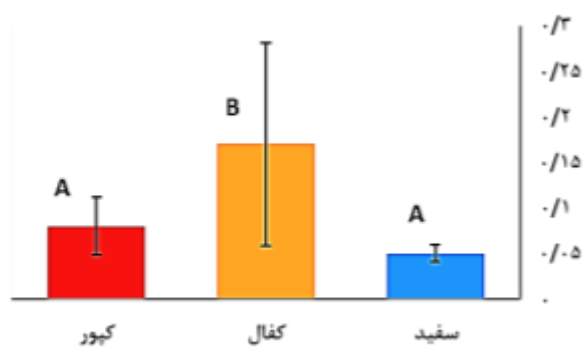
مواد و روش‌ها

محدوده‌های مطالعاتی در تحقیق حاضر، پنج حوضه مصبی بزرگ و مهم رودخانه‌های ورودی حوضه جنوبی دریای خزر که به‌ترتیب از

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 آزینافوس متیل) ماهی کفال می‌باشد که به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با دو گونه دیگر نشان می‌دهد ($p < 0.05$) (شکل ۲).



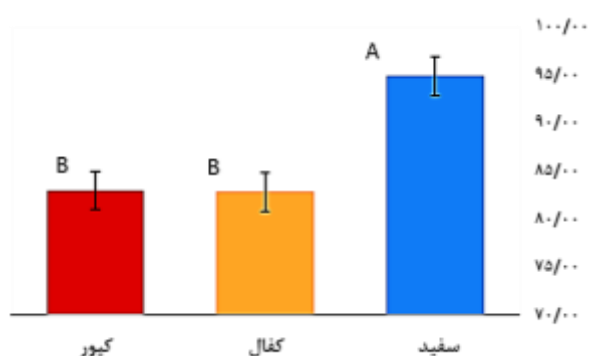
شکل ۲: نمودار میانگین غلظت سموم در سه گونه ماهی مورد مطالعه در مجموع دو فصل تابستان و پاییز (برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه)

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 ($p < 0.05$) (شکل ۳). بالاترین غلظت به‌دست آمده از سموم، مربوط به سم ارگانوفسفره آزینافوس متیل می‌باشد که به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با دو سم دیگر نشان می‌دهد ($p < 0.05$) (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).

در ۲۰-۱۵ میلی‌لیتر اتردوپترول حل‌نموده و سپس به ستون شیشه‌ای کروماتوگرافی حاوی سولفات سدیم انیدر، سیلیکاژل و فلئوروزیل 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 اتراتیلک باقی‌مانده از ستون خارج گردید، محلول را توسط دستگاه تقطیر در حلال تغلیظ نموده و باقی‌مانده خشک در حلال اتردوپترول به مقدار ۲ میلی‌لیتر حل گردید (Helrick, 2000). 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 دکتور اختصاصی سموم فسفره (TSD) با دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و حساسیت $10^{-11} \times 4$ 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, 2000).

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 به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. مایع هم‌وزن 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 به همراه 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 به مدت 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 به مدت ۱۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ برای تغییر رنگ قرار

ماهی کفال حوضه رودخانه تجن در فصل تابستان و با غلظتی معادل ۰/۱۹ میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه و در خصوص سم آزینافوس متیل بالاترین میانگین غلظت به دست آمده مربوط می شود به نمونه ماهی کفال حوضه مصبی بابلرود با غلظتی معادل ۱/۲۸ میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه. از طرفی بالاترین مقدار میانگین غلظت به دست آمده از آنزیم AChE در ماهی های مورد مطالعه در مجموع دو فصل، مربوط است به ماهی سفید (شکل ۶).



شکل ۶: نمودار مقایسه میانگین غلظت آنزیم AChE در نمونه های مورد مطالعه (بر حسب نانوگرم بر میلی لیتر)

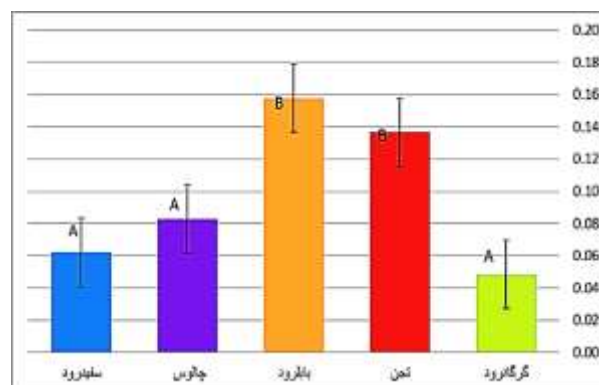
بررسی نتایج به دست آمده از آزمون همبستگی بین میانگین غلظت سموم در عضله سه گونه ماهی مورد مطالعه در همه موارد یک همبستگی معنی دار و مثبت را نشان می دهد ($p < 0.01$) (جدول ۱). همبستگی بین میانگین غلظت سموم و آنزیم استیل کولین استراز در بافت عضله ماهی سفید یک همبستگی قوی و منفی را نشان می دهد ($p < 0.01$), ($r = -0.885$). در خصوص ماهی کفال نیز این ارتباط یک ارتباط کاملاً قوی و معکوس می باشد ($r = -0.920$, $p < 0.01$). همبستگی بین میانگین غلظت سموم مورد مطالعه و آنزیم استیل کولین استراز در ماهی کپور یک همبستگی قوی و منفی را نشان می دهد ($p < 0.01$), ($r = -0.874$) (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

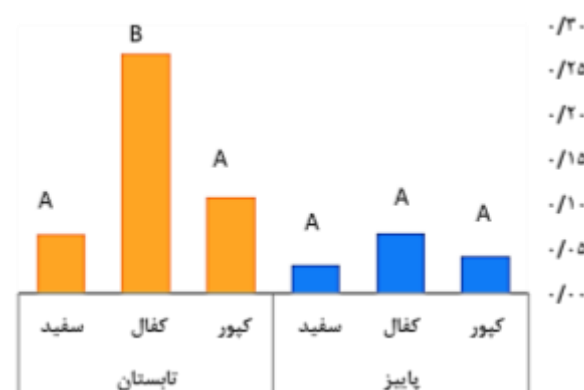
** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



شکل ۳: نمودار میانگین مجموع غلظت سموم در نمونه های سه گونه ماهی در حوضه های مصبی مورد مطالعه (بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه)



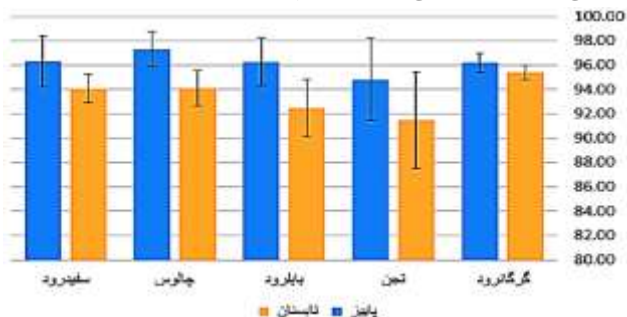
شکل ۴: نمودار میانگین غلظت سموم در عضله ماهی ها در حوضه های مطالعاتی و در مجموع دو فصل (بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه)



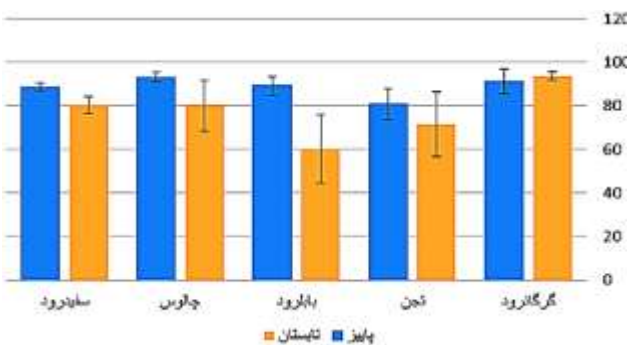
شکل ۵: نمودار مقایسه میانگین غلظت سموم در سه گونه ماهی مورد مطالعه در دو فصل تابستان و پاییز (بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه)

در خصوص سم دیازینون بالاترین میانگین غلظت به دست آمده به نمونه ماهی کفال حوضه مطالعاتی بابلرود در فصل تابستان و با غلظت ۰/۲۷ میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه مربوط است. بالاترین میانگین غلظت به دست آمده از سم مالاتیون مربوط است به نمونه

توسعه‌زیست‌محیطی 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 ($r = -0.82$, $p < 0.01$). به طوری که بالاترین 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 ارگانوفسفرها و کاربامات‌ها در محیط، بیان می‌کند (Oliveira و همکاران، ۲۰۰۷). ماهی سفید مورد مطالعه این تحقیق با توجه به این که 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 به حساب می‌آید، می‌توان کم‌ترین میزان آنزیم AChE اندازه‌گیری شده را یافت. این یافته را می‌توان در مطالعات مختلف دیگری نیز به‌وضوح مشاهده کرد به طوری که 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)

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	-0.885 **
Mean Liza.a	Pearson Correlation	-0.920 **
Mean Cyprinus.c	Pearson Correlation	-0.874 **

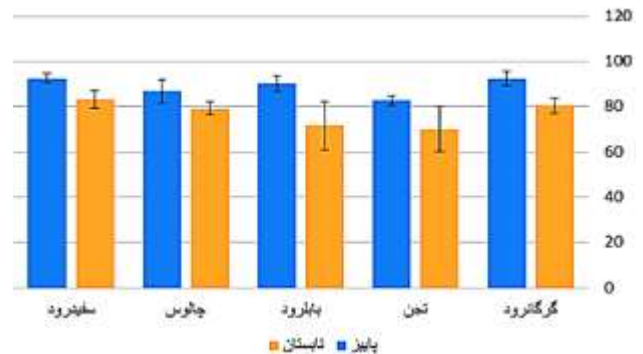
** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

بحث

چنین به نظر 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 می‌گیرد (سند توسعه زیست‌محیطی استان مازندران، ۱۳۸۹). آلوده‌تر بودن ماهی کفال به نسبت دو گونه دیگر را شاید بتوان به نوع تغذیه این گونه (دیتیریت‌خواری) و محدوده زندگی آن که یک ماهی کرانه‌ای است، دانست. به طوری که این ویژگی می‌تواند این گونه را بیش‌تر در معرض رویارویی با انواع آلودگی‌ها قرار دهد. ماهی کفال یک ماهی دریایی و رژیم غذایی آن دیتیریت‌خواری می‌باشد (رضوی‌صیاد، ۱۳۶۹). از طرفی با رسیدن به سن بلوغ و فرا رسیدن فصل تولیدمثل، ماهیان رودکوچ (مانند ماهی سفید) به تدریج 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 قرار داده بود، بیش‌ترین میزان آلودگی مربوط به ماهی کفال عنوان شده است (غلامی‌پور و همکاران، ۱۳۸۷). بالاتر بودن غلظت سم آزینیفوس متیل 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

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 *Rutilus frisii* 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 Papendorf, 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.



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 بر روی 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 کاملاً معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p < 0.05$). این نشان‌دهنده آلودگی بالای دو حوضه بابلرود و تجن نسبت به حوضه‌های مصبی دیگر است که به نظر 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. همان‌طور که 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 بیوک‌آبادی، 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. ۱۱۱ صفحه.
4. **Altuntas, I.; Delibas, N.; Doguc, D. and Ozmen, S., 2003.** Role of reactive oxygen species in organophosphate