

بررسی پاسخ‌های کشندگی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

در مواجهه با نفت گاز تجاری

سیدعلی اکبر هدایتی^{۱*}، فاطمه دارابی تبار^۲

چکیده

ماهی‌ها یکی از مهم‌ترین موجودات آبی می‌باشند که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند و به همین دلیل جهت انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی در بعد وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند. آزمون سمیت حاد در ماهیان کپور معمولی به وزن ۱۸ گرم و طول ۱۲ سانتی‌متر انجام شد. به ترتیب غلظت‌های ۰، ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ ppm در زمان‌های ۰، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت برای گازوئیل تجاری در نظر گرفته شد. پردازش آماری داده‌ها با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS و روش تحلیل آماری Probit analysis با سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. در این مطالعه در گروه شاهد ماهی کپور معمولی هیچ مرگ و میری مشاهده نشد و نیز در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، تلفات ۱۰۰٪ ماهیان مشاهده شد. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که $LC50_{96h}$ (MAC Value) این سم برابر ۶۹/۷۱۸ میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید. ماهیان کپور معمولی نسبت به اثرات نامطلوب گازوئیل تجاری مقاوم نیستند و با نشت تانکرهای سوخت و ورود این ترکیبات به محیط زیست دریایی، باعث مرگ و تلفات بسیاری از این ماهیان می‌شود.

کلید واژه: سمیت حاد، نرم افزار پروبیت، گازوئیل، کپور معمولی.

۱- استادیار گروه اکولوژی آبیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران Darabitarbar@gmail.com

۱- مقدمه

به طور کلی سمیت یک آلاینده از طریق سنجش زیستی ارزیابی می گردد که بوسیله آن غلظت لازم جهت ایجاد تلفات نیمی از موجودات مورد آزمایش در یک دوره زمانی مشخص (کوتاه مدت و بلند مدت) معلوم می شود. این آزمایش ها شاخه ای از علم اکوتوکسیکولوژی بوده و وظیفه آن قضاوت درباره توان بالقوه مواد آلاینده و بررسی تأثیرات زیان بخش این مواد بر اکوسیستم و موجودات زنده آن می باشد (علی نژاد، ۱۳۸۳). اطلاعات حاصل از آزمایش های سم شناسی در علم اکوتوکسیکولوژی، اثرات این سموم را بر جمعیت آبزیان نشان می دهد و نتایج حاصله نشان می دهند که توان اثرگذاری کدام یک از مواد آلاینده بیشتر و در چه میزانی از حد مجاز مصرف قرار دارد. همچنین جهت محدودسازی کاربرد مواد سمی باید چنین آزمایش هایی صورت گیرند. بنابراین هدف از آزمایش های سنجش سمیت آلاینده ها، رسیدن به معیارهای قابل اعتماد برای حفاظت منابع آبزیان می باشد (Milijoprojekt, 1994).

ماهی ها یکی از مهم ترین موجودات آبرزی می باشند که به علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند و به همین دلیل جهت انجام آزمایش های زیست سنجی در بعد وسیعی مورد استفاده قرار می گیرند (اولا، ۱۳۶۹). حساسیت گونه های مختلف ماهیان به مواد سمی متغیر است از این رو انجام آزمایش های سم شناسی برای ماهیان مختلف ضروری است (Barak et al., 1990). کپور معمولی متعلق به خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) می باشد. این خانواده بزرگ ترین خانواده در بین ماهیان است اعضای این خانواده را می توان بر اساس داشتن دندان حلقی ۱ تا ۳ ردیف و لب های نازک تشخیص داد. بیشتر آنها شکارچینی هستند که از بی-مهرگان تغذیه می کنند، اما بعضی از آنها نیز گوشتخوار هستند و بعضی دیگر از جلبک ها، گیاهان عالی تر و مواد آلی تغذیه می کنند (ستاری و همکاران، ۱۳۸۶).

گازوئیل به عنوان سوخت های متداول خودرو به طور گسترده در سراسر جهان استفاده می شود. به طور عمده آلودگی آب ها به مواد نفتی از جمله گازوئیل که از تانک های ذخیره سازی نشت می کند نسبت داده شده است. که در نتیجه پتانسیل بالقوه آن بر روی موجودات زنده آبرزی اثر نامطلوب دارد (Simonato et al., 2011). هدف از این مطالعه تعیین سمیت کشنده گازوئیل پمپ بنزین بر روی ماهی کپور معمولی می باشد.

۲- مواد و روش ها

آزمون سمیت حاد در ماهیان کپور معمولی به وزن ۱۸ گرم و طول ۱۲ سانتی متر انجام شد. ماهی ها به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط اسارت آدپتاسون شدند. در دوره آدپتاسیون دو

بار غذا دهی صورت گرفت و در دوره آزمایش قطع غذا دهی انجام شد (Chapman *et al.*, 1998). آزمایش طبق روش استاندارد و تعیین غلظت کشنده گازوئیل تجاری در مدت زمان کوتاه (۹۶ ساعت) به طور ثابت (استاتیک) انجام شد. به منظور انجام تست سمیت کشنده ماهی‌ها به طور تصادفی در گروه‌های ۷ تایی در مخازن فایبرگلاس تقسیم شدند.

یک مخزن که غلظت گازوئیل تجاری در آن صفر بود به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. و در بقیه مخازن به ترتیب غلظت‌های ۰، ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ ppm در زمان‌های ۰، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت در نظر گرفته شد. در هر ۲۴ ساعت و در زمان مشخص میزان مرگ و میر ماهی‌ها ثبت شد و همچنین در تمام مدت آزمایش فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی همانند درجه حرارت، شوری، Ph و میزان اکسیژن ثابت نگه داشته شد. برای تعیین درصد بازماندگی ماهیان در شرایط طبیعی آزمایش و تحت تاثیر غلظت‌های مورد نظر از گازوئیل تجاری، آزمایش‌ها در ۱۴ تیمار به صورت جداگانه برای هر ماهی، در طول مدت ۹۶ ساعت انجام گرفت و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد و یک تیمار هم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

پس از انجام آزمایش‌ها سمیت حاد، میزان مرگ و میر ماهیان در فاصله زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت و بر اساس آن درصد تغییرات مرگ و میر بچه ماهیان نسبت به شاهد محاسبه و از جدول پروبیت، عدد مربوط به هریک از تغییرات استخراج و در ستون جدول پروبیت و لیو جدول مرگ و میر قرار می‌گیرد. پردازش آماری داده‌ها با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS و روش تحلیل آماری Probit analysis با سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد (Finney, 1971).

۳- نتایج

در این مطالعه در گروه شاهد ماهی کپور معمولی هیچ مرگ و میری مشاهده نشد و نیز در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، تلفات ۱۰۰٪ ماهیان مشاهده شد. تاثیر غلظت‌های مختلف گازوئیل پمپ بنزین در زمان‌های مختلف بر ماهی کپور، در جداول ۱ و ۲ آورده شده است. حد کشنده گازوئیل تجاری برای ماهیان کپور معمولی پس از آزمایشات ابتدایی، ۰-۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد. میزان تلفات ماهیان کپور معمولی در مدت زمان ۴ روز در جدول شماره یک ذکر گردیده است.

جدول ۱- میزان مرگ و میر در تست سمیت حاد ($LC_{50_{96h}}$) گازوئیل تجاری (تعداد در هر تیمار=۷ عدد)

غلظت بر حسب ppm	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
شاهد	۰	۰	۰	۰
۲	۰	۰	۰	۰
۵	۰	۰	۰	۰
۱۰	۰	۰	۰	۰
۲۰	۰	۰	۰	۰
۴۰	۰	۰	۰	۰
۶۰	۰	۰	۰	۰
۸۰	۰	۰	۰	۰
۱۰۰	۰	۰	۰	۰
۲۰۰	۰	۰	۰	۰
۴۰۰	۰	۰	۱	۱
۶۰۰	۱	۱	۲	۲
۸۰۰	۲	۳	۳	۴
۱۰۰۰	۷	۷	۷	۷

بر اساس نتایج حاصل از جداول ۱ و ۲ همچنین با استفاده از نرم افزار پروبیت آنالایزر مقادیر $LC_1, LC_{10}, LC_{20}, LC_{30}, LC_{40}, LC_{50}, LC_{60}, LC_{70}, LC_{80}, LC_{90}, LC_{95}, LC_{99}$ گازوئیل تجاری در طی زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه شد که در جدول ۲ آورده شده است (رستمی و سلطانی، ۱۳۸۱). نتایج این بررسی نشان می‌دهد که $LC_{50_{96h}}$ گازوئیل تجاری برای ماهیان کپور معمولی برابر با ۶۹۷/۱۸ ppm است. حداکثر غلظت مجاز (MAC Value) این سم برابر ۶۹/۷۱۸ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید.

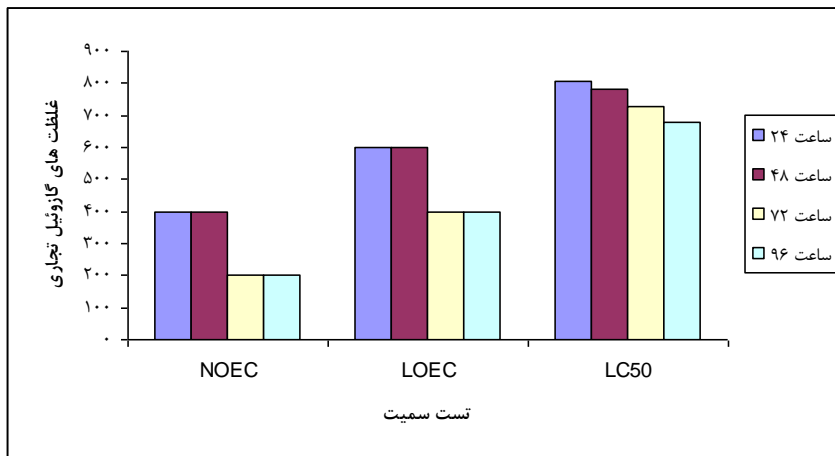
جدول ۲- غلظت کشنده ($LC_{50_{96h}}$) گازوئیل تجاری با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان‌های ۲۴-۹۶ ساعت

(بیشترین - کمترین) غلظت

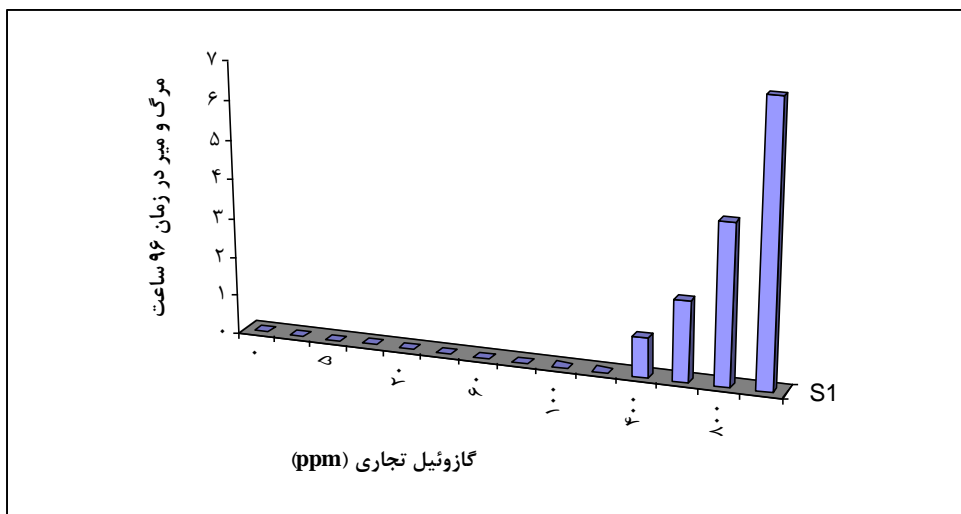
LC	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
LC1	۴۹۰/۵۶(۶۴/۹-۶۲۷/۱)	۴۷۴/۴۱(۷۹/۸-۶۰۹/۶)	۲۲۷/۰۵(۲۱۸/۸-۳۹۹/۶)	۲۳۰/۹۳(۱۹۹/۸-۳۹۷/۱)
LC10	۶۳۲/۱۷(۳۱۷/۲-۷۳۰/۱)	۶۱۱/۶۱(۲۹۲/۴-۷۰۸/۵)	۴۵۱/۴۱(۱۹۵/۷-۵۷۴/۱)	۴۴۰/۳۳(۱۸۸/۲-۵۵۹/۱)
LC20	۶۹۱/۸۰(۴۶۸/۳-۷۸۳/۳)	۶۶۹/۳۹(۴۴۰/۴-۷۵۸/۸)	۵۴۵/۸۸(۳۵۷/۴-۶۶۰/۵)	۵۲۸/۵۰(۳۴۰/۵-۶۳۸/۴)
LC30	۷۳۴/۸۰(۵۶۷/۷-۸۳۱/۱)	۷۱۱/۰۴(۵۳۸/۸-۸۰۳/۵)	۶۱۴(۴۶۳/۲-۷۳۳/۵)	۵۹۲/۰۸(۴۴۱/۳-۷۰۴/۶)

۶۴۶/۴۰(۵۱۸/۵-۷۷۰)	۶۷۲/۲۱(۵۴۳/۳-۸۰۶/۲)	۷۴۶/۶۴(۶۱۳/۱-۸۵۱/۴)	۷۷۱/۵۴(۶۴۱/۷-۸۸۲/۹)	LC40
۶۹۷/۱۸(۵۸۲/۱-۸۳۹/۸)	۷۲۶/۶۱(۶۰۸/۹-۸۸۳/۶)	۷۷۹/۹۱(۶۷۱/۴-۹۰۷/۴)	۸۰۵/۸۸(۶۹۹/۱-۹۴۳/۲)	LC50
۷۴۷/۹۵(۶۳۸-۹۱۷/۳)	۷۸۱/۰۲(۶۶۶/۳-۹۶۹)	۸۱۳/۱۸(۷۱۸/۶-۹۷۴/۵)	۸۴۰/۲۲(۷۴۵/۳-۱۰۱۴)	LC60
۸۰۲/۲۸(۶۹۱-۱۰۰۷)	۸۳۹/۲۳(۷۲۱/۲-۱۰۶۷)	۸۴۸/۷۷(۷۵۹/۳-۱۰۵۶)	۸۷۶/۹۶(۷۸۵/۴-۱۱۰۰)	LC70
۸۴۵/۸۶(۷۴۶/۹-۱۱۱۸)	۹۰۷/۳۵(۷۷۹/۵-۱۱۸۷)	۸۹۰/۴۳(۷۹۸/۷-۱۱۵۹)	۹۱۹/۹۵(۸۲۴/۸-۱۲۰۸)	LC80
۹۵۴/۰۳(۸۱۷/۹-۱۲۷۸)	۱۰۰۱/۸(۸۵۴/۲-۱۳۶۰)	۹۴۸/۲۰(۸۴۵/۳-۱۳۱۱)	۹۷۹/۵۸(۸۷۲-۱۳۶۵)	LC90
۱۰۲۶/۸(۸۳۷/۳-۱۴۱۴)	۱۰۷۹/۸(۹۱۲/۷-۱۵۰۷)	۹۹۵/۹۱(۸۸۰/۲-۱۴۴۰)	۱۰۲۸/۸(۹۰۷/۶-۱۴۹۸)	LC95
۱۱۶۳/۴(۹۷۲/۶-۱۶۷۴)	۱۲۲۶/۱(۱۰۱۸-۱۷۸۵)	۱۰۸۵/۴(۹۴۱/۳-۱۶۸۶)	۱۱۲۱/۲(۹۷۰/۳-۱۷۵۲)	LC99

با توجه به نتایج سمیت حاد (LC50)، در ساعت‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت با افزایش زمان LC50 کاهش پیدا کرد. در شکل ۱ پایین‌آمدن شاخص‌های NOEC، LOEC و LC50 را با افزایش زمان نشان می‌دهد. با توجه به شکل ۲، میزان مرگ و میر با افزایش مدت زمان قرارگیری در معرض گازوئیل تجاری و با افزایش غلظت بیشتر شده است. به‌طوری که در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ۱۰۰ درصد تلفات در تیمارها مشاهده شده است.



شکل ۱- مقایسه نتایج تست‌های مختلف گازوئیل تجاری در ماهی کپور معمولی



شکل ۲- میزان مرگ و میر ماهی کپور معمولی در غلظت‌های مختلف گازوئیل تجاری (ppm) در زمان ۹۶ ساعت

۴- بحث و نتیجه‌گیری

به منظور مطالعه اثرات حاد و مزمن در موجودات آبی عموماً از آزمایشات سم‌شناسی حاد و مزمن استفاده می‌کنند و در این میان به منظور به دست آوردن سریع اطلاعات از آزمایش‌های کوتاه مدت (حاد) به نسبت بیشتر از آزمایش‌های طولانی مدت (مزمن) استفاده می‌شود. از این آزمایش‌ها (کوتاه مدت) به طور کلی به منظور تعیین سمیت کلی آلاینده‌ها در موجوداتی که اطلاعاتی از سمیت آلاینده مورد نظر در آن‌ها وجود ندارد استفاده می‌شود. به طور کلی از تست‌های سمیت حاد به عنوان یک شاخص مناسب به منظور بررسی اثرات کوتاه مدت آلاینده‌ها و همچنین یک مقایسه ساده بین مقدار اثرات مختلف آلاینده‌ها بر ماهی و همچنین میزان حساسیت ماهی نام برده می‌شوند (Buikema et al., 1982).

نتایج بدست آمده از این بررسی نشان می‌دهد که، میزان $LC_{50_{96h}}$ گازوئیل تجاری با افزایش مدت زمان آزمایش (۹۶ ساعت)، کاهش می‌یابد، به عبارتی با افزایش مدت زمان آزمایش به میزان غلظت پایین‌تری از این ترکیب هیدروکربنه نیاز است تا ۵۰٪ از جمعیت ماهیان تلف شوند. بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق، با قرار گرفتن ماهی کپور معمولی در معرض غلظت‌کننده گازوئیل تجاری، ۱۰۰۰ ppm، ۱۰۰ درصد ماهیان تلف شدند. به طور کلی عوامل گوناگونی بر نتایج آزمایش‌های سمیت تاثیرگذار هستند که از این عوامل می‌توان به، خصوصیات آب و ویژگی‌های زیستی گونه‌های آزمایشی اشاره کرد؛ بنابراین در انجام تست‌های سمیت حاد لازم است که با استفاده از

روش‌های آزمایش استاندارد متغیرهای خارجی و تصادفی را به حداقل برسانیم؛ همچنین باید از سالم بودن گونه‌های مورد آزمایش اطمینان کسب کنیم و آن‌ها را به طور تصادفی توزیع نماییم (شریعی فیض آبادی، ۱۳۸۰). نتایج این تحقیق نشان داد که LC₅₀96h برای ماهیان کپور معمولی برابر با ۶۹۷/۱۸ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. در مطالعه‌ای که توسط Steven و همکاران انجام شد، سمیت پنج نوع نفت خام بر روی چهارگونه آبی آب‌های شیرین مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اختلاف زیادی در میزان سمیت اندازه‌گیری شده بر روی نمونه‌ها وجود دارد. فاکتورهای مؤثر بر روی این اختلاف‌ها شامل نوع نفت خام، اختلاف بین محصولات به دست آمده از یک نوع خاص نفت، روش وارد کردن نفت به سیستم، تغییر طبیعت نفت با زمان، زمان مواجه شدن ارگانسیم‌ها با مواد نفتی و نوع ارگانسیم مورد مطالعه برای آزمون سمیت و همچنین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه آب استفاده شده در آزمایش بیان شده است (Steven et al., 1982).

در تحقیقات صورت گرفته میزان LC₅₀ ۹۶ ساعت روغن دیزل، برای ماهی خامه ماهی (*Chanos chanos*) ۵/۱۲ میلی‌لیتر بر لیتر همچنین برای ماهی کپور دنداندار (*Cyprinodon variegates*) ۹۴ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه گردید (Adams et al., 1999). بنابراین در ارزیابی خطرات آلاینده‌های محیط زیست در تعیین محیط زندگی ایده آل به منظور محافظت از موجودات آبی از مقادیر ۰/۱ تا ۰/۰۱ مقدار LC₅₀ استفاده می‌کنند (Jiunn and Cheng, 2000). همچنین غلظت بی‌اثر (NOEC) در زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و در زمان‌های ۷۲ و ۹۶ ساعت، ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد. و حداقل غلظت مؤثر (LOEC) در زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و در زمان‌های ۷۲ و ۹۶ ساعت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد. به بالاترین غلظتی که اثر نامطلوب بر موجود مورد آزمایش ایجاد نکند غلظت بی‌اثر گفته می‌شود. با توجه به این که بسیاری از گونه‌های موجود در رودخانه‌های ایران از جمله ماهی کپور معمولی به اثرات نامطلوب گازوئیل تجاری مقاوم نیستند و با ورود این ترکیب هیدروکربنه به رودخانه‌ها و همچنین نشت تانکرهای سوخت و ورود این ترکیبات به محیط زیست دریایی، موجب مرگ و تلفات ماهیان می‌شوند. بنابراین ضروری است که مسئولان محیط زیست و ارگان‌های ذیربط در فکر راهکاری برای جلوگیری یا کاهش ورود این سوخت به محیط زیست و محیط‌های دریایی در کشور شوند.

فهرست منابع

۱. اولای، ی.، (۱۳۶۹). آلودگی ناشی از فضولات خانگی (شهری)، کشا ورزی، صنعتی و طبیعی، ساختار و نقش تالاب انزلی در مقابل آنها. سند شماره ۲ مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان، ۳۸ ص.

۲. ستاری، م.، شاهسونی، د.، شفیع، ش.، (۱۳۸۶). ماهی شناسی (۲) سیستماتیک، نشر حق شناس، ۱۸۷-۱۸۸.
۳. سلطانی، م.، و خوشباور رستمی، ح.، (۱۳۸۱). مطالعه اثر سم دیازینون بر شاخص های خونی و بیوشیمیایی تاس ماهی روسی (چالباش). مجله علوم دریایی ایران؛ شماره چهارم، صفحات ۶۵-۷۵.
۴. شریعتی فیض آبادی، ف.، (۱۳۸۰). تعیین فنل، نفتول و قارچ کش هینوزان بر روی ماهیان سیم، سفید و کپور نقره‌ای، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران- شمال. دانشکده علوم و فنون دریایی. ۱۶۰ صفحه.
۵. کردوانی، پ. (۱۳۷۳). اکوسیستم های طبیعی (جلد دوم) اکوسیستم های آبی. انتشارات پالیز. ۱۵۷-۱۵۵ ص.
6. Adams, G.G., P.L. Klerks, S.E. Belange and D. DantinJaritkhuan, (1999). The effect of the oil dispersant Omni-clean on the toxicity of fuel oil No. 2 in two bioassays with the sheepshead minnow *Cyprinodon variegates*. exposure. Chemosphere, 39(12): 2141-2157.
7. Barak, N.A.E. , Mason, C.E. (1990). Mercury, Cadmium and lead concentration in five species of freshwater fish from eastern England. Sci . Total, Environ. 92. 257 – 64. Finney, D . , 1971 . Probit analysis combridge Univ,press PP. 1 –222 .
8. Buikema, A. L. Jr., Niedertehner, R.R and Carins, J. (1982). Biological monitoring Part 4 – toxicity testing. Water Res. 16: 239-262.
9. Chapman, P.M. Dexter, R. N and Long, E. R. (1998). Synoptic measures of sediments contamination, toxicity and infaunal community composition (the Sediment Quality Triad) in San Francisco Bay. Mar. Ecol. Progr. Ser. 37: 75-93.
10. Finney, D.J., (1971). Probit Analysis. Univ. Press, Cambridge, p. 333.
11. Milijoprojekt, N. (1994). Ecotoxicological evolution of industrial wastewater. 254p.
12. Simonato, J. D., M. N. Fernandes & C. B. R. Martinez. (2011). Gasoline effects on biotransformation and antioxidant defenses of the freshwater fish *Prochilodus lineatus*. Ecotoxicology, 20: 1400-1410.
13. Steven, F., Hedtker, F., and Puglisi A. (1982). “Short-term toxicity of five oils to four freshwater species.” Arch. Invironm, Contam. Toxicol, 11, 425-430.
14. Wen-Jiunn ,S. and Hon-Cheng, C. (2000). Acute Toxicity of Copper, Cadmium, and Mercury to the Freshwater Fish *Varicorhinus barbatus* and *Zacco barbata*. Acta Zoologica Taiwanica. 11(1): 33-45.