

بررسی اثر استفاده از سطوح مختلف آفت کش دیازینون (diazinon) همراه و یا بدون بنتونیت سدیم بر پارامترهای تولید گاز در شرایط *in vitro*

محسن کاظمی^{۱*}، آمنه اسکندری تربقان^۲، عبدالمنصور طهماسبی^۳، رضا ولی زاده^۴، عباسعلی ناصریان^۵، مهدی مرادی^۱
۱. عضو هیئت علمی مجتمع آموزش عالی تربت جام . ۲- عضو هیئت علمی گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده علوم پزشکی تربت جام.
۳- استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
*ایمیل نویسنده مسئول: phd1388@gmail.com

چکیده

دیازینون جزو یکی از پرکاربردترین آفت کش های ارگانوفسفره در بخش کشاورزی ایران تلقی می گردد. بنتونیت یک کانی رسی بوده و معمولاً به عنوان یک ماده باند کننده سموم در محیط عمل می کند. در این آزمایش، اثر استفاده از سطوح مختلف آفت کش دیازینون (۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام) با سطوح مختلف بنتونیت سدیم (۰، ۱ و ۲ درصد ماده خشک جیره) بر پارامترهای تولید گاز در شرایط *in vitro* بر روی یک جیره غذایی متداول در قالب یک طرح فاکتوریل ۳×۶ با پایه کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح دیازینون از صفر به ۱۰۰۰ پی پی ام، کلیه پارامترها در شرایط *in vitro* اعم از تولید گاز در زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعت، نرخ ثابت تولید گاز (Cgas) و گاز تولید شده از بخش نامحلول ولی قابل تخمیر در محیط کشت (bgas) کاهش معنی داری پیدا کردند ($p < 0.001$). همچنین اضافه کردن بنتونیت سدیم منجر به کاهش معنی دار پارامترهای تولید گاز گردید ($p < 0.001$). هر چند که اضافه کردن دیازینون باعث کاهش شدید فعالیت های تخمیری محیط کشت گردید، ولی بنتونیت سدیم نتوانست به عنوان یک جاذب، باعث خنثی سازی اثرات منفی کاربرد دیازینون بر محیط کشت گردد.

واژه های کلیدی: دیازینون-آفت کش-بنتونیت سدیم-باند کننده سموم-*in vitro*

مقدمه

ارگانوفسفره ها (از قبیل دیازینون) جزو یکی از پرکاربردترین آفت کش ها در بخش کشاورزی برای مبارزه با آفات در ایران مطرح می باشند. مطالعات گسترده، نشان داده که سموم کشاورزی قابلیت انتقال را به فرآورده های دامی دارند (۳). در واقع اولین سد دفاعی نشخوارکنندگان جهت خنثی کردن اثرات منفی سموم موجود در جیره آن ها، شکمبه آن ها می باشد (۱ و ۳). به نظر می رسد که بیشترین تاثیر سموم پس از مصرف توسط نشخوارکنندگان، جمعیت میکروبی موجود در شکمبه آن ها بوده که در برخی موارد اگر سطوح مصرف سم زیاد باشد، منجر به کاهش جمعیت آن ها می گردد (۱ و ۳). با توجه به اهمیت سلامت و بهداشت عمومی و ضررهای اقتصادی احتمالی بخش دامپروری، کنترل و نابود کردن اثرات منفی سموم ورودی از طریق خوراک به اولین سد دفاعی بدن نشخوارکنندگان یعنی شکمبه، از اهمیت ویژه ای برخوردار است. تحقیقات اخیر نشان داده است که بهترین و در عین حال با صرفه ترین شیوه کاهش بروز اختلالات مربوط به سموم دفع آفات و یا جلوگیری از انتقال این سموم به شیر و سایر فرآورده های دامی، استفاده از مواد جاذب و یا مواد باند کننده می باشد. معمولاً این ترکیبات، ماده موثره سم موجود در خوراک آلوده را با خود باند کرده و در نهایت از طریق مدفوع حیوان دفع می گردد و به این صورت از جذب سموم جلوگیری کرده و یا آنرا به حداقل می رساند (۷). از جمله مواد باند کننده سموم می توان به ترکیبات جاذب معدنی-رسی، بنتونیت، زئولیت، اکسید منیزیم، زغال فعال شده و غیره اشاره نمود (۱ و ۷).

بتنونیت یکی از کانی‌های رسی رایج بوده که در جیره حیوانات اهلی برای بهبود قابلیت هضم مواد مغذی به کار می‌رود (۹). این پژوهش با هدف بررسی تاثیر استفاده از سطوح مختلف دیازینون بر فراسنجه های تولید گاز و اینکه آیا بتنونیت سدیم به عنوان یک سوپرجاذب می تواند جلوی اثرات منفی دیازینون ورودی به محیط کشت را بگیرد یا خیر، صورت پذیرفت.

مواد و روش ها

یک جیره آزمایشی با استفاده از نرم افزار NRC (۶) برای کاربرد در محیط کشت تهیه گردید بطوریکه مقدار انرژی متابولیسمی، پروتئین خام، ADF، NDF و NFC آن به ترتیب برابر با ۲/۵۳ (مگا کالری در کیلوگرم DM)، ۲۲/۲، ۳۴/۶، ۲۳/۴ و ۳۵ درصد بود. روش تولید گاز بر اساس تئودور و همکاران (۱۰) انجام شد. همچنین تهیه مواد محیط کشت اعم از بزاق مصنوعی و مایع شکمبه مشابه روش منک و استینگاس (۵) انجام شد. مایع شکمبه هم قبل از تغذیه صبحگاهی از ۳ راس گاو نر هلشتاین (با وزن 12 ± 420 کیلوگرم) تهیه گردید. فشار گاز در زمان های ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از انکوباسیون ثبت گردید و از طریق معادله رگرسیونی بین فشار و حجم گاز که بر اساس روش تئودور و (۱۰) بدست آمد، فشار در هر لحظه تبدیل به حجم گردید و در نهایت در محاسبات لحاظ گردید. تولید تجمعی گاز در زمان های مختلف محاسبه شده و بر اساس مدل آماری ارسکو و مک دونالد $\{P=b(1-e^{-ct})\}$ برخی از پارامترهای تولید گاز مثل نرخ تولید گاز (C) و تولید گاز از بخش نامحلول ولی قابل تخمیر، برآورد گردید (۸).

نتایج و بحث

تاثیر سطوح مختلف دیازینون همراه با سطوح مختلف بتنونیت سدیم بر فراسنجه های تولید گاز در جدول ۱ آورده شده است. نتایج آنالیز داده ها نشان داد با افزایش سطح دیازینون از صفر به ۱۰۰۰ پی پی ام به محیط کشت، کلیه پارامترهای گزارش شده در جدول یک کاهش یافت. همچنین اضافه کردن بتنونیت سدیم به عنوان جاذب به محیط کشت نه تنها باعث کاهش اثرات منفی دیازینون بر پارامترهای تخمیری محیط کشت نشد، بلکه باعث کاهش معنی داری در این پارامترها گردید. در تفسیر این بخش از آزمایش باید عنوان کرد که بتنونیت سدیم نتوانسته است از اثرات سوء دیازینون در محیط کشت بکاهد و در واقع خود بتنونیت سدیم یک نقش مهارکنندگی بیشتری بر پارامترهای تولید گاز گذاشته است. ال ابید و همکاران (۲) گزارش کردند که با افزایش استفاده از سطوح فوزالون، اندوسولفان و کلرپیریفوس از صفر به ۱۵ پی پی ام در محیط کشت حاوی مایع شکمبه، ناپدید شدن ماده خشک به طور معنی داری کاهش پیدا کرد ($p < 0.05$). بنابراین هر چه میزان ناپدید شدن ماده خشک کاهش یابد، به دنبال آن تولید گاز در محیط کشت کاهش می یابد. همچنین کاجز و همکاران (۴) مشاهده کردند که با افزایش استفاده از سطوح بعضی آفت کش ها مثل DDT، مالاتیون، سوین و توکرافن روند ناپدید شدن ماده خشک نسبت به گروه شاهد کاهش یافت هرچند که در بین این آفت کش ها، توکرافن از روند کاهشی بیشتری در ناپدید شدن ماده خشک برخوردار بود و این نشان می دهد که درجه سمیت آفت کشهای مختلف بر روی فعالیت میکروارگانیزم ها متفاوت می باشد.



هفتمین کنفرانس علوم دامی ایران



جدول ۱- تاثیر سطوح مختلف دیازینون همراه با سطوح مختلف بنتونیت سدیم بر فراسنجه های تولید گاز

سطوح دیازینون (ppm)	سطوح بنتونیت سدیم (% از ماده خشک جیره)	تولید گاز (ml/24h)	تولید گاز (ml/48h)	b _{gas} (ml)	نرخ تولید گاز (ml/h)
۰	۰	۸۷/۱۳ ^a	۱۰۶/۱۲ ^a	۱۰۸/۹۲ ^a	۰/۰۶۶ ^{bcd}
۰	۱	۸۴/۵۹ ^a	۱۰۰/۷۵ ^a	۱۰۵/۲۹ ^{ab}	۰/۰۶۸ ^{abc}
۰	۲	۷۱/۸۱ ^b	۸۹/۷۳ ^b	۹۷/۲۱ ^{cd}	۰/۰۵۳ ^{gf}
۱۰۰	۰	۸۷/۲۰ ^a	۸۷/۲۰ ^b	۱۰۷/۰۷ ^a	۰/۰۷۳ ^a
۱۰۰	۱	۷۵/۶۴ ^b	۸۵/۶۵ ^b	۱۰۰/۱۴ ^{bc}	۰/۰۵۸ ^{ef}
۱۰۰	۲	۶۳/۸۰ ^c	۷۴/۰۳ ^c	۹۰/۱۰ ^{def}	۰/۰۴۷ ^h
۲۵۰	۰	۷۲/۹۷ ^b	۷۲/۹۷ ^{dc}	۹۲/۰۷ ^{de}	۰/۰۶۳ ^{cde}
۲۵۰	۱	۵۹/۳۸ ^{cd}	۶۹/۵۹ ^{cd}	۸۷/۰۶ ^{ef}	۰/۰۴۵ ^h
۲۵۰	۲	۵۷/۳۶ ^{cde}	۶۶/۶۲ ^{de}	۸۴/۲۱ ^{gf}	۰/۰۴۴ ^h
۵۰۰	۰	۷۲/۷۴ ^b	۷۲/۷۴ ^{cd}	۹۰/۷۸ ^{def}	۰/۰۶۹ ^{ab}
۵۰۰	۱	۵۲/۸۲ ^{ef}	۶۰/۲۸ ^{ef}	۷۶/۵۴ ^{hi}	۰/۰۴۶ ^h
۵۰۰	۲	۵۱/۸۱ ^{ef}	۶۰/۳۵ ^{ef}	۷۶/۹۷ ^{hi}	۰/۰۴۳ ⁱ
۷۵۰	۰	۶۰/۳۷ ^{cd}	۶۰/۳۷ ^{ef}	۷۹/۱۰ ^{gh}	۰/۰۶۱ ^{de}
۷۵۰	۱	۵۰/۱۷ ^f	۵۸/۱۰ ^f	۷۶/۰۳ ^{hi}	۰/۰۴۳ ^{hi}
۷۵۰	۲	۴۱/۱۰ ^g	۴۸/۵۸ ^g	۷۱/۱۱ ^{ij}	۰/۰۳۴ ^j
۱۰۰۰	۰	۵۴/۱۷ ^{def}	۵۴/۱۷ ^{gf}	۷۸/۶۳ ^{gh}	۰/۰۴۸ ^{gh}
۱۰۰۰	۱	۴۳/۰۰ ^g	۴۹/۴۲ ^g	۷۰/۶۲ ^{ij}	۰/۰۳۸ ^{ij}
۱۰۰۰	۲	۴۱/۵۲ ^g	۴۷/۲۶ ^g	۶۶/۴۸ ^j	۰/۰۳۸ ^{ij}
SEM		۲/۱۴	۲/۲۹	۲/۳۳	۰/۰۰۱۸
اثرات اصلی					
دیازینون	۰	۸۱/۱۸ ^a	۹۸/۸۷ ^a	۱۰۳/۸۰ ^a	۰/۰۶۲ ^a
	۱۰۰	۷۵/۵۵ ^b	۸۲/۲۹ ^b	۹۹/۴۰ ^b	۰/۰۵۹ ^a
	۲۵۰	۶۳/۲۴ ^c	۶۹/۷۳ ^c	۸۷/۷۸ ^c	۰/۰۵۱ ^b
	۵۰۰	۵۹/۱۲ ^d	۶۴/۴۶ ^d	۸۱/۴۳ ^d	۰/۰۵۳ ^b
	۷۵۰	۵۰/۵۵ ^e	۵۵/۹۸ ^e	۷۵/۴۱ ^e	۰/۰۴۶ ^c
	۱۰۰۰	۴۶/۲۳ ^f	۵۰/۲۸ ^f	۷۱/۹۱ ^e	۰/۰۴۱ ^d
SEM		۱/۲۳	۱/۳۲	۱/۳۵	۰/۰۰۱

بنتونیت سدیم



	۰	۷۲/۴۳ ^a	۷۵/۶۰ ^a	۹۲/۷۶ ^a	۰/۰۶۳ ^a
	۱	۶۰/۹۳ ^b	۷۰/۷۸ ^b	۸۵/۹۵ ^b	۰/۰۴۹ ^b
	۲	۵۴/۵۷ ^c	۶۴/۴۳ ^c	۸۱/۱۶ ^c	۰/۰۴۳ ^c
SEM		۰/۹۱	۰/۹۷	۰/۹۸	۰/۰۰۰۸
		p value			
دیازینون		p<۰/۰۰۰۱	p<۰/۰۰۰۱	p<۰/۰۰۰۱	p<۰/۰۰۰۱
بتونیت سدیم		p<۰/۰۰۰۱	p<۰/۰۰۰۱	p<۰/۰۰۰۱	p<۰/۰۰۰۱
دیازینون×بتونیت		p<۰/۰۰۰۵	Ns	Ns	p<۰/۰۰۰۱
سدیم					

میانگین ها در هرستون با حروف متفاوت نماینده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد هستند.

^۱شامل خطاهای کل یعنی خطای حاصل از اثرات متقابل و اثرات اصلی می باشد. b_{gas} = گاز تولید شده از بخش نامحلول ولی

قابل تخمیر

بنابراین در کل دیازینون نقش منفی خود را بر فراسنجه های تولید گاز در این پژوهش گذاشت و اینکه بتونیت سدیم نتوانست از

اثرات منفی دیازینون بر محیط کشت میکروبی بکاهد.

منابع

1. Cook, R.M., and K.A.Wilson. 1971. Removal of pesticide residues from dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 54: 712-717.
2. El-Obied, G.H., Ahmed, F.A., and N.H.H. Bashir. 2005. *In vitro* effects of some insecticides on rumen fluid fermentation. *Chez Journal of Agriculture Science*. 3(1): 80-89.
3. Kazemi, M., Tahmasbi, A.M., Valizadeh, R., Naserian, A.A., and A. Soni. 2012. Organophosphate pesticides: A general review. *Agricultural Science Research Journals*. 2(9): 512- 522.
4. Kutches, A.J., Church, D.C., and F.L. Duryee. 1970. Toxicological effect of pesticides on rumen function *in vitro*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 18(3):112-119.
5. Menke, K.H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. 28: 7-55.
6. NRC, National Research Council. 2001. Nutrient requirement of dairy cattle. 7nd ed. National Academic Sciences, Washington, DC.
7. Philips, T.D. 1999. Dietary clay in the chemoprevention of the aflatoxin induced disease. *Toxicological sciences*. 52: 118-126.
8. Ørskov, E.R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*. 92: 499-503.
9. Salem, F.A.F., El-Amary, H., and S. H. Hassanin. 2001. Effect of bentonite supplementation on nutrients digestibility, rumen fermentation, some blood physiological parameters and performance of growing lambs. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*. 4(1): 179-191.



10. Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., Mc Allan, A.B., and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 48: 185–197.

The effect of different levels of diazinon pesticide with or without sodium bentonite on *in vitro* gas production parameters

Abstract

Diazinon is one of the most organophosphate pesticides that widely use in agriculture of Iran. Bentonite is a clay mineral and often acts as a toxin binder in the environment. In this experiment, the effect of different levels of diazinon pesticide (0, 100, 250, 500, 750 and 1000 ppm) with or without sodium bentonite (0, 1 and 2% of DM) was evaluated with a conventional diet on *in vitro* gas production parameters according to 6×3 completely randomized factorial design. Increasing the levels of diazinon from 0 to 1000 ppm, significantly decreased all parameters such as *in vitro* gas production after 24 and 48h, constant rate of gas production (c_{gas}) and produced gas from insoluble but fermentable fraction (b_{gas}) in the culture media ($p < 0.0001$). Also the gas production parameters significantly decreased with increasing the levels of sodium bentonite ($p < 0.0001$). Although the high levels of diazinon decreased the fermentation activities, but bentonite sodium could not neutralize the negative effects of diazinon in the culture media.

Keywords: Diazinon-pesticide-sodium bentonite-toxin binder-*in vitro*