

## مقایسه تجمع زیستی جیوه و کادمیوم در بافت نرم صدف دوکفه‌ای *Crassostrea sp.* طی در معرض‌گذاری آزمایشگاهی

علی عظیمی<sup>۱\*</sup>، علیرضا صفاهیه<sup>۲</sup>، علی دادالهی سهراب<sup>۳</sup>

۱- پژوهشگاه ملی اقیانوس‌شناسی و علوم جوی، استان تهران، تهران، پست الکترونیکی: a.azimi@inio.ac.ir  
۲- استادیار گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: safahieh@hotmail.com  
۳- استادیار گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: p\_dadolahi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۴/۲۵

\* نویسنده مسوول

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۵

© نشریه علمی - پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۲، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

### چکیده

در این مطالعه تجمع زیستی هر یک از فلزات جیوه و کادمیوم در بافت نرم صدف دوکفه‌ای *Crassostrea sp.* که در شرایط آزمایشگاهی در معرض غلظت‌های آزمایشی این دو فلز قرار داده شدند، مقایسه شده است. همچنین روند تجمع این دو فلز در طی مدت زمان در معرض‌گذاری تحلیل و مقایسه شد. به این منظور صدف‌ها از منطقه‌ای نسبتاً غیرآلوده در بندر امام خمینی (ره) نمونه‌برداری و پس از ۷ روز سازگاری با محیط آزمایشگاه به مدت ۱۴ روز در معرض غلظت‌های آزمایشی جیوه (۱۵ و ۷۵ میکروگرم بر لیتر) و کادمیوم (۱۵ و ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر) قرار داده شدند. هر ۴۸ ساعت یکبار غلظت فلزات سنگین موجود در بافت نرم صدف‌ها توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تجمع زیستی فلز جیوه علی‌رغم غلظت آزمایشی کمتر به‌کار رفته سریع‌تر و قوی‌تر از تجمع زیستی کادمیوم بود. به‌طوری‌که بیشترین تجمع جیوه در بافت نرم صدف،  $107/6 \pm 6/7$  میکروگرم بر گرم وزن خشک در غلظت ۷۵ میکروگرم بر لیتر جیوه در حالی‌که بیشترین تجمع کادمیوم  $86/5 \pm 7/6$  میکروگرم بر گرم در غلظت ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر کادمیوم مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: جیوه، کادمیوم، تجمع زیستی، در معرض‌گذاری، صدف.

### ۱. مقدمه

متفاوتند. اکثر آن‌ها تنها در محدوده خاصی قادر به عمل هستند و فلزات دفع نشده در بدن باقی مانده و به‌طور مداوم طی دوره زندگی، میزان آن‌ها افزوده می‌شود که این امر تجمع زیستی<sup>۱</sup>

فلزات سنگین دارای نیمه عمر زیستی طولانی بوده و به‌همین جهت خطری جدی برای آبزیان محسوب می‌گردند. موجودات آبری مختلف از نظر توانایی تنظیم فلزات وارد شده به بدن

<sup>۱</sup> Bioaccumulation

2006, et al.). دوکفه‌ای‌ها از دهه‌ی هفتاد به‌عنوان تجمع دهنده‌های ترکیبات شیمیایی در برنامه‌های پایش زیستی که "Mussel Watch" نامیده می‌شود، به‌کار برده شده‌اند (Beliaeff et al., 1998). به‌طور کلی در محیط‌های آبی، دوکفه‌ای‌ها به‌دلیل توان بالا در فیلتر نمودن آب و زندگی به‌صورت ثابت و غیر متحرک، به‌طور گسترده‌ای جهت ارزیابی سطوح آلودگی، مخصوصاً آلودگی فلزات سنگین استفاده می‌شوند (Maanan, 2008; Hedge et al., 2009).

هدف از مطالعه‌ی حاضر، مقایسه تجمع زیستی هر یک از فلزات جیوه و کادمیوم در بافت نرم دوکفه‌ای *Crassostrea sp.* است که به‌مدت ۱۴ روز در شرایط آزمایشگاهی در معرض غلظت‌های آزمایشی این دو فلز قرار داده شدند. همچنین روند تجمع این دو فلز در مدت زمان در معرض‌گذاری، تحلیل و مقایسه شده است.

## ۲. مواد و روش‌ها

صدف‌ها از اسکله ۲۸ بندر امام خمینی (ره) (شمال‌غرب خلیج فارس) که بر اساس نتایج حاصل از مطالعه عظیمی و همکاران (۱۳۹۱) آلودگی فلزات سنگین کمتری نسبت به سایر اسکله‌های بندر دارا هستند نمونه‌برداری گردیدند. حدود ۱۵۰۰ صدف به آزمایشگاه انتقال داده شدند و صدف‌های هم‌اندازه (طول پوسته ۵ ± ۳۵ میلی‌متر) جدا و در مخزن قرنطینه به‌منظور گذراندن دوره آدپتاسیون<sup>۱</sup> قرار داده شدند. آدپتاسیون صدف‌ها در آکواریوم شیشه‌ای بزرگی به ابعاد ۱۷۰×۸۰×۵۰ سانتی‌متر صورت گرفت و برای انجام آزمایش تست سمیت، از تعداد ۱۵ آکواریوم شیشه‌ای به ابعاد ۳۰×۳۰×۴۰ سانتی‌متر استفاده گردید. در هر آکواریوم حدود ۹۰ صدف قرار داده شد. آب مورد استفاده در آزمایش، آب دریای طبیعی بوده که پس از انجام فیلتراسیون وارد آکواریوم‌ها می‌گردید. هر آکواریوم مجهز به سامانه‌ی هواده‌ی و تنظیم اکسیژنی جداگانه‌ای بود، بدین ترتیب میزان آب و محتوای اکسیژنی هر آکواریوم ثابت و کنترل شده بود.

صدف‌ها قبل از شروع تست سمیت به‌منظور سازگار شدن با شرایط آزمایشگاه به مدت ۷ روز در مخزن قرنطینه تحت

نمیده می‌شود. خطرات حاصله از تجمع زیستی این فلزات در سطوح بالاتر زنجیره غذایی، یکی از نگرانی‌های عمده در بحث سلامت انسانی می‌باشد (Zhou et al, 2007). در میان فلزات دو فلز جیوه و کادمیوم خطرناک‌تر از سایرین هستند، لذا بررسی تجمع آن‌ها در محیط و موجودات بسیار قابل توجه است.

جیوه یکی از مهمترین آلاینده‌های سمی در بوم‌سامانه‌های آبی است. بسیاری از آبزیان توانایی تجمع زیستی جیوه را در بافت‌های خود دارند که مصرف آن برای انسان بسیار زیان آور است. جیوه تنها آلاینده ورودی به دریا توسط انسان است که در دریا با ترکیبات آلی خصوصاً پروتئین‌های گوگرددار تشکیل کمپلکس می‌دهد (Santos et al., 2000). آلودگی جیوه در بوم‌سامانه‌های آبی یکی از مشکلات پیچیده بوم‌شناختی و جدی به‌شمار می‌رود. بیشتر جیوه موجود در بدن انسان به‌صورت متیل جیوه است که به‌طور عمده از طریق خوردن آبزیان آلوده وارد بدن انسان می‌شود (Eisler, 2006). نرم‌تنان دوکفه‌ای جیوه را سریعاً از آب اطراف خود جذب می‌کنند (Campbell et al., 2005; Lockhart et al., 2005).

کادمیوم یکی دیگر از تهدیدکننده‌های محیط زیست است که پس از جیوه دومین فلز سمی در محیط دریایی محسوب می‌گردد (Timbrell, 1989). استفاده و کاربرد کادمیوم به‌طور فزاینده‌ای در قرن بیستم افزایش یافت و در دو دهه‌ی اخیر به اوج خود رسیده است (Nordberg, 2004). حدود ۶۰ درصد این عنصر از طریق فعالیت‌های انسانی وارد اقیانوس‌ها می‌شود (Laws, 2000). این فلز به‌دلیل سمیت بالا برای موجودات و پراکندگی وسیع در محیط‌های آبی به‌عنوان آلاینده‌ای مهم محسوب می‌شود (Frery et al., 1993). اگرچه محققین برای فلزات سنگینی همچون جیوه و کادمیوم نقش زیستی قائل نبوده و در واقع این فلزات در آبزیان دارای عملکردهای متابولیکی شناخته شده‌ای نیستند، اما برخی فلزات نظیر مس و روی - عناصر ضروری - عملکردهای زیستی مهمی دارند (Wang and Fisher, 1999; Soto-Jimenez et al., 2001; Thompson, 2005). طی دهه‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای پیرامون تجمع فلزات سنگین مانند جیوه، کادمیوم، سرب، مس و... در آبزیان به‌ویژه دوکفه‌ای‌ها صورت گرفته است (Yap et al., 2002; Usero et al., 2005; Sidoumou et al., 2006; Zizek et al., 2007). در میان موجودات دریایی، دوکفه‌ای‌ها به‌طور عمده بهترین گزینه جهت مطالعه تجمع زیستی آلاینده‌ها به‌خصوص فلزات سنگین هستند (Rainbow, 1995; Liu et al., 2005; Silva

<sup>1</sup> Adaptation

در میان صورت گرفت، بدین صورت که یک ساعت پیش از هر بار تعویض آب، میکروجلبک‌های کشت داده شده *Chlorella* و *Chithoserous* برای تغذیه صدف‌ها به آب آکواریوم‌ها اضافه گردیدند (Boutet et al., 2002). صدف‌های تلف شده در طول دوره‌های سازگاری و در معرض‌گذاری، بلافاصله از آکواریوم‌ها خارج و تعداد آن‌ها ثبت گردید.

### ۳-۲. نمونه‌برداری صدف از تیمارها

پس از آغاز تست سمیت، هر ۴۸ ساعت یکبار از هر کدام از تیمارهای آزمایشی و همچنین تیمار شاهد، تعداد ۱۵ صدف به‌طور تصادفی نمونه‌برداری گردید و به‌منظور سنجش فلزات جیوه و کادمیوم، در فریزر در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شدند (Gavrilovic et al., 2007).

### ۴-۲. نحوه تهیه محلول ذخیره/استاندارد

تهیه محلول ذخیره استاندارد برای فلزات جیوه و کادمیوم، با توجه به دستورالعمل کارخانه سازنده دستگاه جذب اتمی (UNICAM 919) انجام شد. به‌این صورت که مقدار ماده مورد نیاز جهت تهیه محلول ذخیره استاندارد ۱۰۰۰ ppm، از نمک مناسب آن‌ها (به‌صورت کلرید Merck آلمان) توسط ترازوی دیجیتال با دقت  $0.0001$  گرم وزن شد و با استفاده از آب دو بار تقطیر با هدایت الکتریکی  $1/2$  میکروموس بر سانتی‌متر در بالن ژوژه ۱۰۰۰ میلی‌لیتری به حجم رسانده شد و در یخچال نگهداری گردید. جهت اطمینان از ثابت بودن غلظت محلول استاندارد، هر ۵ روز یک بار محلول استاندارد جدید ساخته شد. غلظت‌های مورد نیاز جهت در معرض‌گذاری صدف‌ها با رقیق کردن متوالی محلول ذخیره استاندارد به‌دست آمد.

### ۳. آنالیز فلزات سنگین

#### ۱-۳. آماده‌سازی و هضم نمونه‌ها

بافت‌های نرم جدا شده از صدف به مدت ۴۸ ساعت (تا ثابت شدن وزنشان) در خشک‌کننده انجمادی خشک شدند (Shi et

Moraga et al., ) نگهداری شدند (استرسی) (2005).

### ۱-۲. در معرض‌گذاری

سطوح جیوه و کادمیوم جهت در معرض‌گذاری صدف‌ها بر اساس غلظت  $LC50^1$  و غلظت آستانه‌ی مرگ<sup>۲</sup> این فلزات در صدف مورد مطالعه تعیین گردید. به‌طوری که  $LC50$  ۹۶ ساعته جیوه و کادمیوم برای صدف *Crassostrea sp.*، به‌ترتیب ۱/۱ و ۱۹/۵ میلی‌گرم بر لیتر و غلظت آستانه مرگ این فلزات برای ۷ روز در این صدف ۱ میلی‌گرم بر لیتر جیوه و ۲ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم است (Park and Kim, 1978). بر این اساس، صدف‌ها در معرض دو سطح متفاوت از هر یک از فلزات (۱۵ و ۷۵ میکروگرم بر لیتر جیوه - ۱۵ و ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر کادمیوم) و سه تکرار برای هر غلظت قرار داده شدند. یک آکواریوم نیز بدون افزودن فلز به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. تیمار شاهد نیز دارای ۳ تکرار بود.

### ۲-۲. شرایط آزمایش

در طول دوره‌های سازگاری و در معرض‌گذاری، پارامترهای فیزیوشیمیایی آب به‌طور مداوم و روزانه کنترل می‌شدند. به‌طوری‌که میزان دما، اکسیژن و شوری دو مرتبه و pH نیز یک مرتبه در روز اندازه‌گیری می‌شد. پارامترهای فیزیوشیمیایی آب در آزمایشگاه مشابه با شرایط طبیعی مکان زیست این صدف‌ها تنظیم گردیدند. به‌گونه‌ای که دمای آب  $17 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ، شوری  $23 \pm 2$  گرم در لیتر (ppt)، اکسیژن محلول  $8 \pm 0.5$  میلی‌گرم در لیتر و میزان pH  $8 \pm 0.2$  تنظیم و کنترل گردید. همچنین صدف‌ها در طول دوره آزمایشات، در دوره‌های روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند (Baudrimont et al., 1997).

طی دوره‌های سازگاری و در معرض‌گذاری، آب آکواریوم‌ها یک روز در میان تعویض گردید (Serafim and Bebianno, 2010). فیلتراسیون آب مورد استفاده در آکواریوم‌ها توسط تور چشمه ریز (۲۰ میکرون) انجام شد. تغذیه صدف‌ها نیز یک روز

<sup>۱</sup> غلظتی که موجب مرگ ۵۰ درصد از نمونه‌ها در ۹۶ ساعت می‌گردد.

<sup>۲</sup> Lethal Threshold Concentration

جذب بخار جیوه آزاد شده توسط دستگاه قرائت گردید. در پایان با استفاده از منحنی کالیبراسیون میزان غلظت جیوه بر اساس میکروگرم بر گرم وزن خشک در هر نمونه به دست آمد (MOOPAM, 1999).

به منظور حصول اطمینان از صحت نتایج به دست آمده در خصوص اندازه‌گیری میزان جیوه، از ماده مرجع استاندارد Dorm-3 (fish protein, کانادا) استفاده شد. درصد بازیافت نمونه‌های مرجع بین ۹۸٪ تا ۱۰۲٪ به دست آمد.

#### ۲-۴. سنجش میزان کادمیوم

سنجش غلظت فلز کادمیوم موجود در نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی با شعله (AAS) مدل GBC-Savanta Σ صورت گرفت. در این نمونه‌ها نیز به منظور حصول اطمینان از صحت نتایج به دست آمده در خصوص اندازه‌گیری کادمیوم، از ماده مرجع استاندارد Dorm-3 (fish protein, کانادا) استفاده شد. درصد بازیافت نمونه‌های مرجع بین ۹۳٪ تا ۱۰۷٪ به دست آمد.

#### ۳-۴. تعیین غلظت جیوه و کادمیوم

غلظت نهایی جیوه و کادمیوم با استفاده از معادله ۱ بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید:

معادله ۱:  $M = C.V.D/W$  (Yap et al., 2002)

در معادله ۱، M میزان غلظت فلز موجود در نمونه بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک، C مقدار فلز مورد نظر در محلول استخراجی بر حسب میلی‌گرم در لیتر، V حجم نهایی نمونه، D فاکتور رقیق‌سازی و W وزن نمونه خشک شده جهت هضم بر حسب گرم است.

#### ۴-۴. پردازش داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری تراکم جیوه و کادمیوم، با استفاده از نرم افزار SPSS V.17 صورت گرفت. از آزمون Shapiro-wilk جهت بررسی پراکنش نرمال داده‌ها استفاده شد. پس از حصول اطمینان از نرمال بودن داده‌ها،

al., 2005). پس از خشک شدن بافت‌ها، نمونه‌ها توسط هاون کاملاً پودر و هموژن گردیدند.

به منظور سنجش میزان جیوه، ابتدا ۱ گرم از بافت خشک هموژن شده را به دقت وزن کرده و با ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ و ۴۵ میلی‌گرم پتتا اکسید وانادیوم<sup>۱</sup> درون لوله‌های آزمایش مخلوط شدند. درب لوله‌ها جهت جلوگیری از خروج بخار جیوه در طول هضم، با فویل آلومینیومی پوشانده شد. نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند، سپس به مدت ۳ ساعت در دمای ۹۰°C بر روی دستگاه هضم، هضم گردیدند. بعد از سرد شدن کامل نمونه‌ها در دمای اتاق، ۱ میلی‌لیتر محلول دی کرومات پتاسیم<sup>۲</sup> به آن‌ها افزوده شد، سپس نمونه‌ها به بالن ژوژه ۵۰ میلی-لیتری انتقال یافته و پس از رقیق شدن با آب دوبار تقطیر و عبور از کاغذ صافی واتمن ۴۲، آماده آنالیز بودند (MOOPAM, 1999).

به منظور سنجش میزان کادمیوم نمونه‌ها، ۱ گرم از بافت خشک هموژن شده را به دقت وزن کرده و به لوله آزمایش انتقال داده شدند. سپس ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به نمونه‌ها افزوده شد و لوله‌های آزمایش بر روی هات پلیت قرار داده شدند. نمونه‌ها ابتدا به مدت ۱ ساعت در دمای ۴۰°C، سپس به مدت ۳ ساعت در دمای ۱۴۰°C کاملاً هضم گردیدند و پس از خنک شدن به بالن‌های ۵۰ میلی‌لیتری انتقال داده، رقیق نموده و از کاغذ صافی عبور داده شدند. در این هنگام نمونه‌ها آماده آنالیز بودند (EPA, 1994; Blackmore, 1999).

#### ۴. اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین

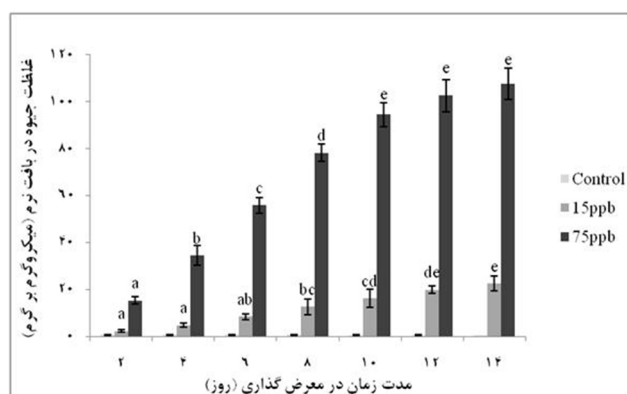
##### ۱-۴. سنجش میزان جیوه

سنجش غلظت جیوه موجود در نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی بدون شعله مدل UNICAM 919 با تکنیک بخار سرد (CVAAS<sup>۳</sup>) انجام شد. اساس عملکرد این تکنیک بدین صورت است که از محلول SnCl<sub>2</sub> به عنوان عامل کاهنده استفاده گردید، به طوری که هر کدام از نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۲۰٪ SnCl<sub>2</sub> قرار گرفتند و سپس

<sup>۱</sup> V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

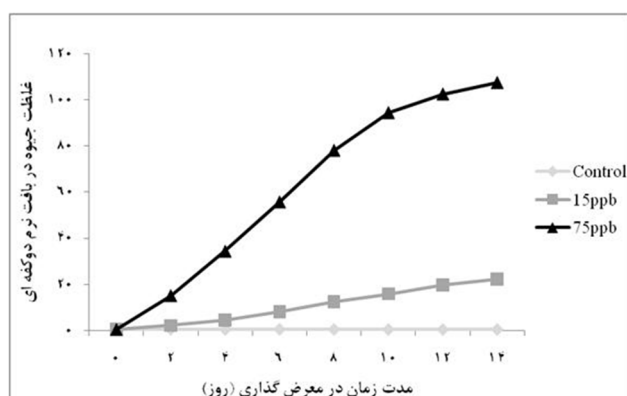
<sup>۲</sup> K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>

<sup>۳</sup> Cold Vapor Atomic Absorption Spectrophotometry



نمودار ۱: مقایسه میزان تجمع زیستی جیوه در بافت نرم صدف در طی دوره در معرض‌گذاری (ستون‌های مشخص شده با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنی‌داری هستند ( $P < 0.05$ )).

نمودار ۲ روند تجمع زیستی جیوه در بافت نرم دوکفه‌ای‌ها در طی ۱۴ روز در معرض‌گذاری با سطوح ۱۵ و ۷۵ میکروگرم بر لیتر جیوه را نشان می‌دهد



نمودار ۲: روند تجمع زیستی جیوه در بافت نرم صدف در طی دوره در معرض‌گذاری

تجمع زیستی جیوه به غلظت و مدت زمان در معرض قرارگیری با آن بستگی داشت. بدین صورت که با افزایش غلظت جیوه و یا افزایش مدت زمان در معرض قرارگیری صدف، میزان تجمع زیستی جیوه در بافت نرم افزایش پیدا کرده است ( $P < 0.05$ ). روند تجمع جیوه در بافت نرم دوکفه‌ای‌های در معرض قرار گرفته با غلظت ۱۵ میکروگرم بر لیتر به این صورت بود که از ابتدای در معرض‌گذاری تا پایان آزمایش روندی افزایشی و یکنواخت در تجمع جیوه نشان دادند. در حالی‌که دوکفه‌ای‌های در معرض قرار گرفته با غلظت ۷۵ میکروگرم بر لیتر جیوه، از ابتدا تا روز دهم آزمایش، جیوه را با روندی سریع و

به‌منظور مقایسه بین غلظت فلزات سنگین بین تیمارهای مختلف، از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه<sup>۱</sup> و در صورت معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد، جهت مقایسه‌های چندگانه از پس آزمون توکی<sup>۲</sup> استفاده گردید. نتایج به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (SD) ارائه گردیده است.

## ۵. نتایج

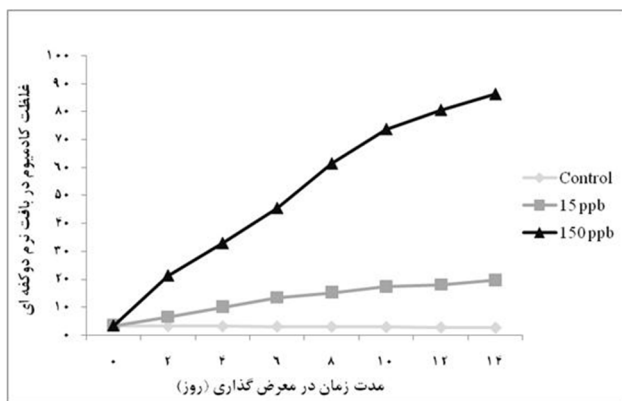
تجمع زیستی فلزات سنگین جیوه و کادمیوم در بافت نرم صدف‌ها پس از ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ روز در معرض‌گذاری در شرایط آزمایشگاهی با غلظت‌های ۱۵ و ۷۵ میکروگرم بر لیتر جیوه - ۱۵ و ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر کادمیوم، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تجمع زیستی جیوه در بافت نرم دوکفه‌ای‌ها با وجود غلظت پایین‌تر به‌کار رفته، نسبت به تجمع زیستی کادمیوم قوی‌تر و بیشتر است.

تجمع جیوه در بافت نرم صدف‌های در معرض قرار گرفته با دو سطح این فلز و همچنین در مقایسه با نمونه‌های کنترل، اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت بالاتر (۷۵ میکروگرم بر لیتر جیوه) تجمع بیشتری نسبت به صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت کمتر (۱۵ میکروگرم بر لیتر جیوه) نشان دادند. همچنین تجمع جیوه در بافت نرم دوکفه‌ای‌های در معرض قرار گرفته با غلظت واحد اما در مدت زمان‌های متفاوت، اختلافات معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ) (نمودار ۱). بیشترین تجمع جیوه مربوط به صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت ۷۵ میکروگرم بر لیتر جیوه به مدت ۱۴ روز بود. میزان جیوه در بافت نرم این تیمار  $107.59 \pm 6.73$  میکروگرم بر گرم وزن خشک اندازه‌گیری شد. کمترین تجمع جیوه نیز مربوط به صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت ۱۵ میکروگرم بر لیتر جیوه به مدت ۴۸ ساعت بود که میزان آن  $2.27 \pm 0.56$  میکروگرم بر گرم وزن خشک سنجش گردید. میزان جیوه در بافت نرم نمونه‌های کنترل  $0.14 \pm 0.06$  میکروگرم بر گرم در روز دوم و  $0.47 \pm 0.04$  میکروگرم بر گرم در پایان آزمایش اندازه‌گیری شد، نمونه‌های کنترل در طول ۱۴ روز آزمایش اختلاف معنی‌داری با هم از لحاظ میزان جیوه نشان ندادند ( $P > 0.05$ ).

<sup>1</sup> One Way of ANOVA

<sup>2</sup> Tukey

در مورد کادمیوم نیز غلظت و مدت زمان در معرض گذاری، تأثیر مستقیم در میزان تجمع زیستی فلز در بافت نرم صدف‌ها داشته است. به طوری که با افزایش غلظت کادمیوم و افزایش مدت زمان در معرض قرارگیری صدف، میزان تجمع زیستی آن در بافت نرم افزایش پیدا کرده است ( $P < 0.05$ ). روند تجمع کادمیوم نیز به این صورت بود که دوکفه‌ای‌هایی که در معرض ۱۵ میکروگرم بر لیتر کادمیوم قرار داشتند تا روز آخر آزمایش روندی تقریباً یکنواخت و افزایشی در تجمع کادمیوم نشان دادند. دوکفه‌ای‌های در معرض قرار گرفته با غلظت ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر کادمیوم از ابتدای آزمایش با روندی سریع و افزایشی کادمیوم را در بافت نرم خود تجمع داده که این روند همانند صدف‌های در معرض قرار گرفته با جیوه از روز دهم به بعد به تدریج کند می‌گردد و سرعت جذب فلز کمتر می‌شود (نمودار ۴).



نمودار ۴: روند تجمع زیستی کادمیوم در بافت نرم صدف در طی دوره در معرض گذاری

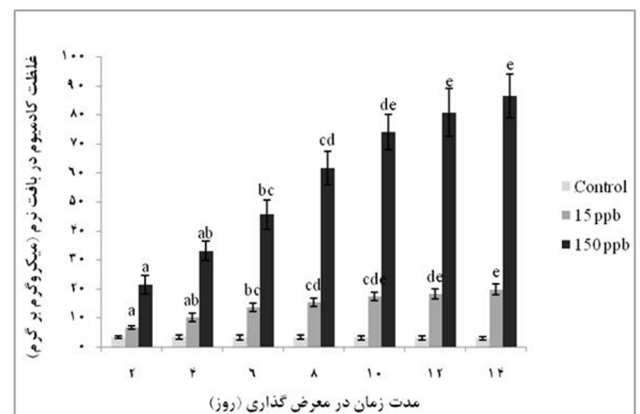
## ۶. بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از در معرض گذاری صدف‌ها با فلزات سنگین جیوه و کادمیوم به مدت ۱۴ روز در محیط آزمایشگاه نشان داد که تجمع زیستی فلز جیوه در بافت نرم صدف، علی‌رغم غلظت کمتر به کار رفته، قوی‌تر و بیشتر از تجمع کادمیوم است. این نتیجه در مطالعات دیگری نیز که محققین مختلف در سایر نقاط دنیا دوکفه‌ای‌ها را در معرض فلزات سنگین اعم از جیوه و کادمیوم قرار داده‌اند به دست آمده است. Baudrimont و همکاران (۱۹۹۷) دوکفه‌ای‌های *Corbicula fluminea* را در معرض فلزات جیوه و کادمیوم در غلظت‌های مختلف قرار دادند و مشاهده نمودند که پس از ۳۰ روز در معرض گذاری، تجمع جیوه در

افزایشی تجمع داده، اما از روز دهم تا چهاردهم، روند تجمع جیوه به تدریج کند می‌شود.

میزان تجمع زیستی کادمیوم در بافت نرم صدف‌های در معرض قرار گرفته با دو سطح متفاوت این فلز در نمودار ۳ نشان داده شده است. تجمع کادمیوم در بافت نرم صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت‌های متفاوت و همچنین در مقایسه با نمونه‌های شاهد، اختلافات معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ). در مورد کادمیوم نیز صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت بالاتر کادمیوم (۱۵۰ میکروگرم بر لیتر) تجمع بیشتری نسبت به صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت کمتر این فلز (۱۵ میکروگرم بر لیتر) نشان دادند.

مقادیر تجمع زیستی کادمیوم در بافت نرم صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت معین و مدت زمان‌های متفاوت، دارای اختلافات معنی‌داری بودند ( $P < 0.05$ ). بیشترین تجمع کادمیوم  $86/49 \pm 7/62$  میکروگرم بر گرم وزن خشک اندازه‌گیری شد که مربوط به دوکفه‌ای‌های در معرض قرار گرفته با ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر کادمیوم به مدت ۱۴ روز بود و کمترین میزان آن  $6/67 \pm 0/71$  میکروگرم بر گرم وزن خشک و مربوط به دوکفه‌ای‌های در معرض قرار گرفته با ۱۵ میکروگرم بر لیتر کادمیوم به مدت ۴۸ ساعت بود. مقادیر کادمیوم در بافت نرم نمونه‌های کنترل از  $3/49 \pm 0/43$  در روز دوم تا  $2/91 \pm 0/59$  میکروگرم بر گرم در روز چهاردهم کاهش یافت که البته اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های کادمیوم در نمونه‌های کنترل در طی ۱۴ روز مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ).



نمودار ۳: مقایسه میزان تجمع زیستی کادمیوم در بافت نرم صدف در طی دوره در معرض گذاری. (ستون‌های مشخص شده با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند ( $P < 0.05$ )).

بر لیتر کادمیوم) طی ۱۰ روز نخست در معرض قرارگیری با روندی صعودی، افزایش یافته ولی از روز دهم به بعد این روند ملایم‌تر شده است، که در صدف‌های در معرض قرار گرفته با جیوه به تدریج رو به ثبات می‌رود. بنابراین مشهود است که با افزایش غلظت جیوه و کادمیوم در بافت نرم صدف، میزان جذب آن‌ها از محیط کمتر می‌شود. Serafim و Bebianno (۲۰۱۰) با در معرض گذاری صدف‌های *Ruditapes decussates* با فلزات کادمیوم، مس و روی به مدت ۲۵ روز مشاهده نمودند که روند تجمع زیستی فلزات تا ۱۴ روز نخست آزمایش شدید و رو به افزایش بوده، در حالی‌که از روز چهاردهم تا پایان در معرض‌گذاری، شیب تجمع این فلزات به‌خصوص کادمیوم به‌تدریج کند شده است. Naimo و همکاران (۱۹۹۲) اظهار کردند که دوکفه‌ای در معرض قرار گرفته با آلاینده در غلظت خیلی بالا به مدت زیاد، دریاچه طولی کفه خود را بسته و فعالیت فیلترینگ را متوقف می‌نماید، که این واکنش به عنوان یک مکانیسم دفاعی عمومی در صدف‌ها، از ورود بیشتر آلاینده‌ها به بدن جلوگیری می‌نماید.

#### ۵. سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از سرکار خانم مهندس عیدی‌زاده به جهت تأمین فیتوپلانکتونهای کشت داده شده قدردانی نمایند. همچنین از زحمات بی‌دریغ خانم‌ها مهندس فرهاد و مهندس داراب‌پور در انجام آزمایش تست سمیت و از مساعدت سرکار خانم مهندس بابادی در سنجش فلز جیوه تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

#### منابع

- عظیمی، ع.، صفاهیه، ع.، داداللهی سهراب، ع.، ذوالقرنین، ح.، صفار، ب.، سواری، ا.، ۱۳۹۱. ارزیابی استفاده از متالوتیونین به‌عنوان نشانگر زیستی فلزات سنگین (جیوه، کادمیوم، سرب و مس) در دوکفه‌ای *Crassostrea gigas* در منطقه بندر امام خمینی (ره). مجله علمی پژوهشی اقیانوس‌شناسی، ۳ (۹): ۳۹-۲۷.
- Baudrimont, M.; Metivaud, J.; Maury-Brachet, R.; Ribeyre, F.; Boudou, A., 1997. Bioaccumulation and Metallothionein response in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) after experimental exposure to

بافت نرم صدف، ۴ برابر تجمع کادمیوم بود. Geret و همکاران (۲۰۰۲) دوکفه‌ای‌های *Mytilus edulis* و *Crassostrea gigas* را به‌مدت ۲۱ روز در معرض فلزات جیوه (۲۰ میکروگرم بر لیتر) و کادمیوم (۲۰۰ میکروگرم بر لیتر) قرار دادند و مشاهده نمودند که تجمع زیستی جیوه با وجود غلظت کمتر، هم در اویستر و هم در ماسل بیشتر از کادمیوم است. در مطالعه‌ای دیگر Blackmore و Wang (۲۰۰۴) با در معرض قرار دادن اویستر *Saccostrea cucullata* و حلزون *Thais clavigera* با کادمیوم، جیوه، متیل جیوه و روی، به این نتیجه رسیدند که اویسترها قابلیت جذب خیلی بیشتری برای جیوه و متیل جیوه در مقایسه با کادمیوم و روی نسبت به حلزون‌ها دارند. به همین ترتیب Paul-Pont و همکاران (۲۰۱۰) با در معرض قرار دادن صدف‌های *Cerastoderma edule* با فلزات جیوه (۱/۵ میکروگرم بر لیتر) و کادمیوم (۵ میکروگرم بر لیتر) به مدت ۷ روز و بررسی تجمع آن‌ها در بافت‌های مختلف مشاهده نمودند که تجمع زیستی فلز جیوه سریع‌تر و بیشتر از کادمیوم است.

نتایج این مطالعه نشان داد که تجمع زیستی جیوه و کادمیوم در بافت نرم صدف دوکفه‌ای، به دوز آزمایشی فلزات و مدت زمان در معرض گذاری بستگی دارد. به‌طوری‌که صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت‌های بالاتر فلزات (۷۵ میکروگرم بر لیتر جیوه و ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر کادمیوم) و در مدت زمان‌های طولانی‌تر، تجمع زیستی بیشتری نسبت به دوکفه‌ای‌هایی که در معرض غلظت کمتر (۱۵ میکروگرم بر لیتر جیوه و ۱۵ میکروگرم بر لیتر کادمیوم) و در مدت زمان‌های کوتاه‌تر قرار داشتند، نشان دادند. بنابراین بیشترین نرخ تجمع زیستی جیوه مربوط به دوکفه‌ای‌های در معرض قرار گرفته با غلظت ۷۵ میکروگرم بر لیتر جیوه به مدت ۱۴ روز و بیشترین نرخ تجمع زیستی کادمیوم در صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر کادمیوم به مدت ۱۴ روز مشاهده گردید.

بررسی روند تجمع زیستی جیوه و کادمیوم در بافت نرم صدف‌ها در طی ۱۴ روز در معرض گذاری آزمایشگاهی نشان داد که تجمع فلزات در صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت پایین تر فلزات (۱۵ میکروگرم بر لیتر جیوه و ۱۵ میکروگرم بر لیتر کادمیوم)، تا پایان در معرض‌گذاری (روز چهاردهم) با روندی تقریباً یکنواخت افزایش یافته است. در حالی که میزان تجمع زیستی در صدف‌های در معرض قرار گرفته با غلظت‌های بالاتر این فلزات (۷۵ میکروگرم بر لیتر جیوه و ۱۵۰ میکروگرم

- aspect Spatiotemporal variation of some metal. *Veterinari Medicina*, 52: 457-463.
- Geret, F.; Jouan, A.; Turpin, V.; Bebianno, M.J.; Cosson, R.P., 2002a. Influence of metal exposure on metallothionein synthesis and lipid peroxidation in two bivalve mollusks: the oyster (*Crassostrea* sp.) and the mussel (*Mytilus edulis*). *Aquatic Living Resources*, 15: 61-66.
- Hedge, L.H.; Knott, N.A.; Johnston, E.L., 2009. Dredging related metal bioaccumulation in oysters. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 832-840.
- Laws, E.A., 2000. *Aquatic Pollution, an Introductory Text*, third ed. John Wiley and Sons, Inc., 639 pp.
- Liu, J.H.; Kueh, C.S.W., 2005. Biomonitoring of heavy metals and trace organics using the intertidal mussel *Perna viridis* in Hong Kong coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 51: 857-875.
- Lockhart, W.L.; Stern, G.A.; Low, G.; Hendzel, M.; Boila, G.; Roach, P.; Evans, M.S.; Billeck, B.N.; DeLaronde, J.; Friesen, S.; Kidd, K.; Atkins, S.; Muir, D.C.; Stoddart, M.; Stephens, G.; Stephenson, S.; Harbicht, S.; Snowshoe, N.; Grey, B.; Thompson, S.; DeGraff, N., 2005. A history of total mercury in edible muscle of fish from lakes in northern Canada. *Science of the Total Environment*, 351-352, 427-463.
- Maanan, M., 2008. Heavy metal concentrations in marine mollusks from the Moroccan coastal region. *Environmental Pollution*, 153: 176-183.
- MOOPAM (Manual of Oceanographic Observations and Pollutant Analyses Methods), 1999. ROPME, Kuwait.
- Moraga, D.; Meistertzheim, A.L.; Tanguy-Royer, S.; Boutet, I.; Tanguy, A.; Donval, A., 2005. Stress response in  $Cu^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  exposed oysters (*Crassostrea* sp.): An immunohistochemical approach. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 141: 151-156.
- Naimo, T.J.; Atchison, G.J.; Holland-Bartels, L.E., 1992. Cadmium and inorganic Mercury. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16: 2096 - 2105.
- Beliaeff, B.; O'Connor, T.P.; Claisse, D., 1998. Comparison of chemical concentrations in mussels and oysters from the United States and France. *Environmental Monitoring and Assessment*, 49: 87-95.
- Blackmore, G., 1999. Temporal and spatial biomonitoring of heavy metals in Hong Kong coastal waters using *Tetraclita squamosa*. *Environmental Pollution*, 106: 273-283.
- Blackmore, G.; Wang, W-X., 2004. The transfer of cadmium, mercury, methylmercury, and zinc in an intertidal rocky shore food chain. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 307: 91-110.
- Boutet, I.; Tanguy, A.; Auffret, M.; Riso, R.; Moraga, D., 2002. Immunochemical quantification of metallothioneins in marine mollusks: characterization of a metal exposure bioindicator. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21: 1009-1014.
- Campbell, L.M.; Norstrom, R.J.; Hobson, K.A.; Muir, D.C.; Backus, S.; Fisk, A.T., 2005. Mercury and other trace elements in a pelagic Arctic marine food web (North Water Polynya, Baffin Bay). *Science of the Total Environment*, 351-352, 247-263.
- Eisler, R., 2006. *Mercury hazard to living organism*. Taylor and Francis Group. Boca Raton, CRC press. 312 p.
- EPA, 1994. *Water quality standards handbook*. Environmental Protection Agency. Second edition. 27p.
- Frery, N.; Nessmann, C.; Girard, F.; Lafond, J.; Moreau, T.; Blot, P.; Lellouch, J.; Huel, G., 1993. Environmental exposure to cadmium and human birthweight. *Toxicology*, 79: 109-118.
- Gavrilovic, A.; Srebocan, F.; Gotal, P.; Peterniec, Z.; Prevendar, A.; Matasin, Z., 2007. Heavy metals concentrations in oysters from the Mali Ston Bay, south-eastern Adriatic, Croatia - potential safety hazard



- Barbo, E.S.; Santos, E.O.; Bentes, M.H.S., 2000. Evaluation of total mercury concentrations in fish consumed in the municipality of Itaituba, Tapajos River Basin, Para, Brazil. *The Science of the Total Environment*, 261: 1- 8.
- Serafim, A.; Bebianno, M.J., 2010. Effect of a polymetallic mixture on metal accumulation and metallothionein response in the clam *Ruditapes decussates*. *Aquatic Toxicology*, 99: 370–378.
- Shi, J.; Liang, L.; Jiang, G.; Jin, X., 2005. The speciation and bioavailability of mercury in sediments of Haihe River, China. *Environment International*, 31: 357–365.
- Silva, C.A.R.; Smith, B.D.; Rainbow, P.S., 2006. Comparative biomonitors of coastal trace metal contamination tropical south America (N. Brazil). *Marine Environmental Research*, 61: 439-455.
- Yap, C. K.; Ismail, A.; Tan, S. G.; Omar, H., 2002. Correlations between speciation of Cd, Cu, Pb and Zn in sediment and their concentrations in total soft tissue of green-lipped mussel *Perna viridis* from the west coast of Peninsular Malaysia. *Environment International*, 28: 117–128.
- Sublethal effects of cadmium on physiological responses in the pocketbook mussel, *Lampsilis ventricosa*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11: 1013–1021.
- Nordberg, G.F., 2004. Cadmium and health in the 21st century – historical remarks and trends for the future. *Biometals*, 17: 485–489.
- Park, J.S.; Kim, H.G., 1978. Bioassays on marine organisms: acute toxicity test of Mercury, Cadmium and Copper to arkshell *Anadara broughtonii* from Jin-Dong bay, and to oyster *Crassostrea* sp. from Kwang-Do bay south coast of Korea. *Oceanological society of Korea*, 13: 35- 43.
- Paul-Pont, I.; Gonzalez, P.; Baudrimont, M.; Nili, H.; de Montaudouin, X., 2010. Short-term metallothionein inductions in the edible cockle *Cerastoderma edule* after cadmium or mercury exposure: Discrepancy between mRNA and protein responses. *Aquatic Toxicology*, 97: 260–267.
- Rainbow, P.S., 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31: 183-192.
- Santos, L.S.N.; Muller, R.C.S.; Sarkis, J.E.S.; Alves, C.N.;