

بررسی روند تجمع زیستی متیل جیوه در بافت‌های مختلف فیل ماهی (*Huso huso*)

احمد قرایی^۱، عباس اسماعیلی ساری^۲ و ولی ا... جعفری شموشکی^۳

^۱ مازندران، نور، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، گروه شیلات

^۲ مازندران، نور، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور، گروه محیط زیست

^۳ گرگان، اداره کل شیلات استان گلستان

تاریخ پذیرش: ۸۸/۱/۱۷ تاریخ دریافت: ۸۶/۱/۱۵

چکیده

این مطالعه از مرداد ماه تا آبان ماه سال ۱۳۸۵ در مرکز تکثیر ماهیان خاویاری شهید مرجانی استان گلستان به انجام رسید. در تحقیق حاضر جهت بررسی روند تجمع زیستی جیوه در اندامهای آبشش، کبد، روده، کلیه و بافت گوشت از بجه ماهیان 86 ± 4 گرمی در چهار گروه تیمار با جیره های غذایی مختلف از لحاظ غلظت متیل جیوه (۱- گروه شاهد با $0/04$ ، ۲- گروه غلظت پایین با $0/76$ ، ۳- گروه غلظت متوسط با $7/8$ ، ۴- گروه غلظت بالا با $16/22$ میلی گرم در کیلوگرم متیل جیوه) با چهار تکرار طی ۷۰ روز استفاده گردید. نتایج نشان داد که میزان تجمع جیوه در تمامی اندامهای مورد بررسی با غلظت متیل جیوه و زمان در معرض قرارگیری ارتباط مستقیم دارد و همچنین میزان تجمع جیوه در بافت کبد با همبستگی بیش از ۹۸ درصد بیشترین و روده با همبستگی ۷۲ درصد کمترین رابطه را با مدت زمان تیمار نشان دادند. تجزیه و تحلیل نهایی نشان داد که در فیل ماهی اندامهای شاخص، جهت بررسی آسودگی جیوه محیطی می تواند به ترتیب الیت کبد، بافت گوشت و کلیه باشد.

واژه های کلیدی: متیل جیوه، تجمع زیستی، فیل ماهی، دریای خزر

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۶۲۵۳۴۹۹-۱۲۲، پست الکترونیک: agharaei551@gmail.com

مقدمه

انسانی دارد. مراحل موجود در این چرخه بسیار ناشناخته باقی مانده است، ولی آنچه مسلم است به طور مشابه با چرخه اول در تشکیل جیوه آلى باکتریها فعالیت دارند. جیوه با دیواره های سلولی یا غشاء میکرووارگانیسمها باند می شود و اثرات زیان آور آن با تراکم سلولی و غلظت جیوه در سوبسترا ارتباط دارد. میزان LC_{50} ۹۶ ساعت آن برای ماهیان آب شیرین دامنه ای بین $33-400 \mu\text{g L}^{-1}$ میزان بیشتر است (۱۳).

pH محیط، دما، پتانسیل احیا، قلیائیت و غلظت کربن آلى محلول (DOC)، اکسیژن، سولفات و کلسیم از عواملی هستند که در میزان متیلاسیون جیوه و قابلیت دستری

ジイوه در آب قابلیت تبدیل به اشکال معدنی و آلی را داشته و از دیدگاه سم شناسی متیل جیوه اهمیت بسیار زیادی دارد. تبدیل آن به اشکال معدنی و آلی تحت تأثیر شرایط فیزیکوشیمیایی و زیست محیطی صورت می گیرد (۴). جیوه در حالت متیل جیوه (MeHg) از این حیث به مراتب بیش از جیوه معدنی (Hg^{+2} , Hg^0 , Hg^{+}) مورد توجه است (۸).

در مجموع دو چرخه متفاوت در انتقال و توزیع جیوه در محیط دخالت دارند. چرخه اول در مقیاس جهانی شامل گردش اتمسفری بخار عنصر جیوه از منابع روی زمین تا اقیانوسهاست. چرخه دوم در مقیاس محلی است و وابستگی زیادی به متیلاسیون جیوه معدنی حاصل از منابع

مهاجرت و تولید مثل ماهیان خاویاری می‌شوند (۳). به نظر می‌رسد آلدگی شیمیایی یکی از فاکتورهای قابل توجه اثر گذار بر روی جمعیت ماهیان خاویاری در دریای خزر است. اخیراً تحلیل رفتمن بافت ماهیچه و توسعه غیر طبیعی گنادهای ماهیان خاویاری در دریای خزر مورد توجه قرار گرفته است که به دلیل افزایش یافتن میزان آلدگی در این دریاست. بنابراین مطالعات بیشتر جهت آگاهی از اثرات سوء احتمالی مواد مضر بر روی ماهیان خاویاری به عنوان بخشی از برنامه‌های تجدید ذخائر جمعیتهای آنها مورد نیاز است.

در تحقیق حاضر میزان تبادل جیوه آلى بین اندامهای مختلف ماهی از قبیل کلیه، کبد، آبشش، گوشت و روده در بچه فیل ماهی (*Huso huso*) در طی یک دوره ۷۰ روزه و مدل حرکتی آن مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها

در ابتدا تعداد ۴۰۰ قطعه بچه فیل ماهی جوان با میانگین وزن 4 ± 86 گرم از استخرهای خاکی به ونیروهای (حوضچه‌ها) فایبر گلاس منتقل شدند. بچه ماهیان به طور کاملاً تصادفی در ۱۶ عدد حوضچه (چهار تیمار و چهار تکرار) و به تعداد ۲۵ قطعه در هر حوضچه تقسیم شدند. برای بررسی و اطمینان از سلامت بچه ماهیان از لحاظ ظاهری و پاتولوژیکی و همچنین سازگاری آنها با محیط جدید، به مدت یکماه با غذای شاهد (پلتهای غذایی حاوی ۳۹/۴ درصد پروتئین، ۱۷/۹۳ درصد چربی، ۵ درصد فیبر، ۹/۱۷ درصد خاکستر و با انرژی خام ($MJ\ Kg^{-1}$) ۱۸/۴۶) تغذیه شدند. سعی شد تا کلیه عوامل و شرایط محیطی واحد های آزمایشی در طول دوره یکسان نگه داشته شود به طوری که جریان آبی معادل ۲ لیتر در دقیقه به ازای هر حوضچه با درجه حرارت 25 ± 2 درجه سانتی گراد برقرار شد. اکسیژن دهی مناسب با استفاده از سنگ هوا و پمپ هوا در تمامی حوضچه‌ها مهیا شد و در هر هفته سه بار میزان اکسیژن محلول (معادل $6-7\ ppm$) اندازه گیری و

جانداران به متیل جیوه مؤثرند (۲، ۵ و ۶). متیل جیوه به شدت متحرک، بسیار پایدار بوده و می‌تواند به راحتی از غشاء‌های بدن موجودات زنده عبور نماید (۵). این تحرک زیاد، جذب و نفوذ سریع متیل جیوه از بافت‌های حساس به ویژه غشای لپیدی نورونها را فراهم می‌کند (۱۲). متیل جیوه پس از عبور از غشای سلولی ترجیحاً به مولکولهای حاوی گروه -SH- از قبیل پروتئینها و آمینو اسیدها متصل شده و سپس می‌تواند در فاز آبی سلول جابه جا شود (۱۴).

در مورد جذب جیوه به اشکال مختلف در اندامهای مختلف رفتارهای متفاوتی با توجه به سن موجود زنده، فراوانی غذا و سایر متغیرهای رژیم غذایی وجود دارد. تحقیقات نشان می‌دهد که بخار عنصر جیوه به سرعت از طریق آبششها (۵۰-۱۰۰ درصد) جذب می‌شود ولی جذب جیوه مایع از طریق لوله گوارش کمتر از ۱ درصد است. در مقابل جذب متیل جیوه از طریق لوله گوارش (۱۰۰ درصد) و آبشش به سرعت صورت می‌گیرد (۹).

دریای خزر بزرگترین بدن آبی قاره‌ای در جهان است که توسط کشورهای روسیه، قراقستان، ترکمنستان، ایران و آذربایجان احاطه شده است (۸). گونه‌های تجاری ماهیان خاویاری شامل فیل ماهی (*Huso huso*), تاسماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) و ماهی ازون برون (*A. stellatus*) که در منطقه شمالی دریای خزر و رودخانه (A. persicus) ولگا زندگی می‌کنند و تاسماهی ایرانی (A. persicus) بومی منطقه جنوبی دریای خزر است. میزان صید ماهیان خاویاری در دریای آзов و خزر که ۹۰ درصد از ذخائر جهانی را در خود جای داده اند در طی سالهای ۱۹۸۵-۱۹۷۰ حدوداً ۲۴۰۰۰-۲۵۰۰۰ تن در هر سال بوده است که در سال ۱۹۹۹ به کمتر از ۲۰۰۰ تن رسید. این کاهش صید نتیجه صید بی رویه و تخریب محیط زیست آنها به دلیل احداث سدها در عرض رودخانه‌ها و آلدگی آب و رسوبات به واسطه آلاینده‌هایی است که باعث اختلال در

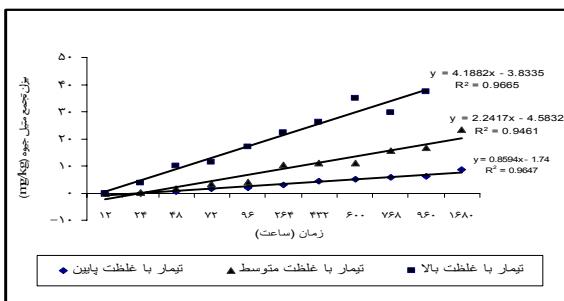
نمونه‌ها پس از خشک شدن در انکوباتور در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد توسط هاون چینی پودر شده و میزان Mercury Analyzer LECO جیوه آنها با استفاده از دستگاه AMA254 با دقت ۹۸-۱۰۵ درصد در سه تکرار به ازای هر نمونه اندازه گیری گردید.

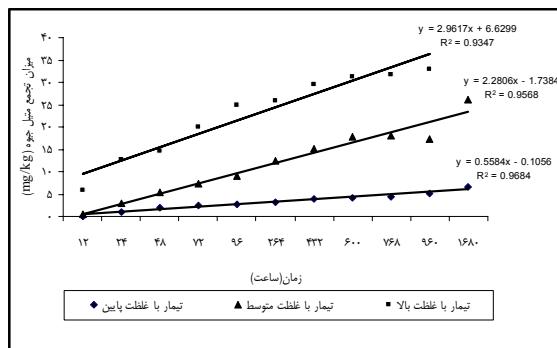
پس از جمع آوری داده‌های خام، در ابتدا آزمون نرمالیتی به وسیله آزمون کولموگروف-اسمیرنوف در نرم افزار SPSS ویرایش دهم بررسی شد و سپس با استفاده از برنامه Excel عملیات رگرسیون خطی بین متغیرهای مربوطه برآورد گردید.

نتایج

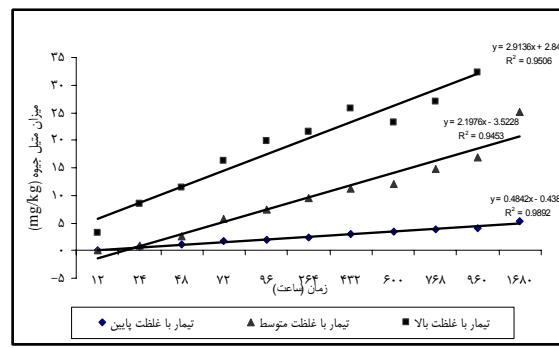
پس از ۴۲ روز از زمان شروع تیمار همه بچه فیل ماهیان گروه تیمار با غلظت بالا از بین رفتند و بعد از این مدت بررسی داده‌ها با سایر گروهها انجام گردید. بچه ماهیان تلف شده هیچگونه علائم ظاهری بیماری نداشتند و پس از کالبد شکافی مشخص شد که مجرای روده این ماهیان مسدود و حالت گوشته پیدا کرده است.

بررسی میزان جیوه تجمع یافته در بافت گوشت بچه فیل ماهیان طی ۷۰ روز در گروههای تیماری مختلف همبستگی بالایی ($R^2 = 0.95-0.97$) را نسبت به مدت زمان درمعرض قرار گیری جیره‌های حاوی متیل جیوه نشان داد (نمودار ۱).

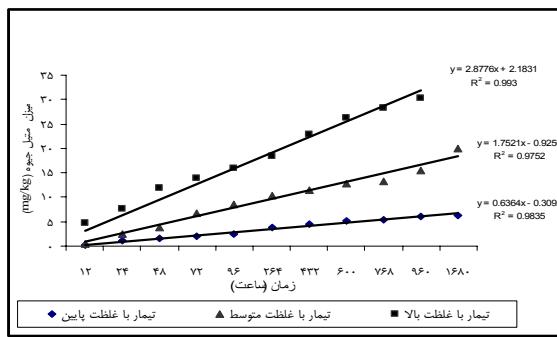




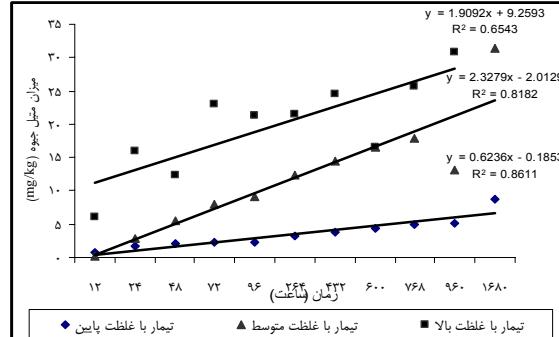
نمودار ۴ - رابطه بین میزان تجمع جیوه در بافت کلیه بچه فیل ماهیان و مدت زمان در معرض قرارگیری با متیل جیوه. (جیره غذایی با غلظت بالا حاوی ۱۶، غلظت متوسط حاوی ۸ و غلظت پایین حاوی ۰/۸ میلی گرم جیوه در کیلوگرم بود).



نمودار ۲ - رابطه بین میزان تجمع جیوه در بافت آبشش بچه فیل ماهیان و مدت زمان در معرض قرارگیری با متیل جیوه. (جیره غذایی با غلظت بالا حاوی ۱۶، غلظت متوسط حاوی ۸ و غلظت پایین حاوی ۰/۸ میلی گرم جیوه در کیلوگرم بود).



نمودار ۵ - رابطه بین میزان تجمع جیوه در بافت کبد بچه فیل ماهیان و مدت زمان در معرض قرارگیری با متیل جیوه. (جیره غذایی با غلظت بالا حاوی ۱۶، غلظت متوسط حاوی ۸ و غلظت پایین حاوی ۰/۸ میلی گرم جیوه در کیلوگرم بود).



نمودار ۳ - رابطه بین میزان تجمع جیوه در بافت روده بچه فیل ماهیان و مدت زمان در معرض قرارگیری با متیل جیوه. (جیره غذایی با غلظت بالا حاوی ۱۶، غلظت متوسط حاوی ۸ و غلظت پایین حاوی ۰/۸ میلی گرم جیوه در کیلوگرم بود).

همچنین همبستگی بالایی ($R^2 = 0/95-0/99$) بین میزان جیوه موجود در نمونه های آبشش با مدت زمان در معرض قرارگیری وجود داشت (نمودار ۲). ولی این همبستگی در بافت های روده کمتر بود ($R^2 = 0/65-0/86$). (نمودار ۳).

بحث

در کل دوره آزمایش (۷۰ روز) هیچگونه مرگ و میر معنی داری در گروههای تحت تیمار به استثنای گروه تیمار با غلظت بالا رخ نداد. تمامی بچه ماهیان گروه تیمار با غلظت بالا در روز ۴۲ از بین رفتند و تغییر رنگ نقره ای روشن در آنها کاملاً مشهود بود. عدم تمایل به گرفتن غذا و

ارتباط تجمع جیوه در نمونه های بافت کلیه بچه فیل ماهیان نیز همبستگی بالایی ($R^2 = 0/93-0/96$) را نسبت به زمان در معرض قرارگیری با جیره های حاوی متیل جیوه نشان داد (نمودار ۴). میزان تجمع جیوه در بافت کبد بیشترین همبستگی ($R^2 = 0/98-0/99$) با مدت زمان در معرض قرارگیری با جیره های حاوی متیل جیوه نشان داد (نمودار ۵).

میزان آن در آب پس از ۴ ساعت است. براساس این شواهد احتمال انتقال جیوه از طریق آبشش در مقایسه با انتقال آن از طریق غذا ناچیز و قابل اغماض می‌باشد. تجمع زیستی در حقیقت ترکیبی از فرآیندهای انباشتگی و تغییظ است. نتایج نشان داد که نرخ تجمع زیستی به میزان زیادی با غلظت متیل جیوه موجود در غذا بستگی دارد. در بین بافت‌های مورد بررسی، بافت روده دارای کمترین میزان همبستگی بین میزان جیوه تجمع یافته و زمان تیمار با جیره‌های حاوی متیل جیوه در تمامی گروهها از خود نشان داد که این مورد می‌تواند به دلیل انتقال مداوم جیوه از این اندام به داخل خون و همچنین میزان جیوه موجود در این بافت با حجم غذای داخل روده و زمان بلع غذا توسط بچه ماهیان باشد.

نتایج این مطالعه به وضوح ارتباط مستقیم و خطی بین افزایش میزان جیوه را با زمان تحت تیمار (درعرض قرار گیری) و غلظت متیل جیوه موجود در غذا نشان داد. همچنین علاوه بر نتایج برخی از محققین که نشان داده اند بیش از ۹۵ درصد جیوه جذب شده در بافت گوشتی تجمع می‌یابد (۱ و ۷). نتایج بررسی حاضر نشان داد که بافت کبد (با همبستگی بیش از ۹۸ درصد بین میزان تجمع جیوه با میزان غلظت جیوه در غذا) هم می‌تواند مشابه بافت گوشت به عنوان اندام شاخص جهت بررسی آلودگی جیوه در ماهیان باشد. کبد هم به عنوان یک اندام پالایش کننده خون و هم به عنوان اندام تولید کننده برخی آنزیمهای که از جنس پروتئین هستند، عمل می‌کند و جیوه میل زیادی به پیوند برقرار کردن با آنها را دارد و در نهایت به دلیل بالا بودن میزان متابولیسم در این اندام میزان تجمع جیوه در آن معادل یا حتی بالاتر از بافت گوشت می‌باشد.

نتایج حاصل از این آزمایش و تأثیرات سوء بر روی بچه فیل ماهیان در غلظت متوسط متیل جیوه (معادل با آلودگی جیوه در دریای خزر) نشان می‌دهد که در طولانی مدت برای جلوگیری از این اثرات و حفظ نسل آنها باید اقدام

همچنین بی حالی و کم تحرکی نیز در بچه ماهیان این گروه مشاهده شد. در حالی که برخی از محققین تیرگی رنگ پوست را بعد از تیمار با متیل جیوه در قول آلا ذکر کرده اند (۱۰، ۱۱ و ۱۴) و برخی به نقره‌ای شدن پوست ماهی اشاره نموده اند (۹). البته گونه‌ها، غلطتها و حتی دوره زمانی تیمار در آزمایشات آنها در مقایسه با آزمایش حاضر متفاوت بودند.

جدول ۱ - میزان همبستگی بین تجمع غلظت متیل جیوه در بافت‌های مختلف با میزان آن در جیره‌های غذایی

بافت	معادله خط رگرسیون	ضریب همبستگی (R^2)
گوشت	$-15/6 \times 12/3y =$	۰/۹۳
آبشش	$11/4 + x 9/35y =$	۰/۹۷
روده	$-10/22 \times 8/5y =$	۰/۹۶
کلیه	$-13/1 \times 10/68y =$	۰/۹۶
کبد	$-10/3 \times 9/2y =$	۰/۹۶

برای آگاهی از انتقال متیل جیوه از طریق آب به آبشش ماهیان تحت تیمار با جیره غذایی با غلظت بالا، نمونه‌های آب جهت بررسی میزان جیوه محلول در آب پس از ۱۰ دقیقه، ۲ و ۴ ساعت به ترتیب $9/8$ ، $4/69$ و $2/16$ نانوگرم در لیتر به دست آمد. Choi و همکاران (۱۹۹۸) ثابت کردند که اضافه شدن کربن آلی محلول در آبی که در عرض متابولی جیوه قرار دارد، جذب متیل جیوه از طریق آبشش را تا ۸۰ درصد کاهش می‌دهد و احتمالاً این به دلیل ایجاد کمپلکس متیل جیوه با کربن آلی (اسید هومیک) است. در آزمایش حاضر نیز کمپلکس‌های مشابه با توجه به مواد پروتئینی موجود در غذا تشکیل شده و احتمالاً به همین دلیل میزان جیوه حل شده موجود در نمونه‌های آب بسیار پایین تر از میزان آن در غذاست. میزان جیوه در جیره غذایی با غلظت بالای متیل جیوه تقریباً بیش از هفت برابر

جیوه به دریای خزر اتخاذ کرد.

به ذخیره سازی مصنوعی این ماهیان در آبهای داخلی کشور نمود و همچنین راهکارهایی برای کاهش ورود

منابع

- 1- Bloom, N.S. 1992. On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissue. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49, 1010–1017.
- 2- Benes, P. and Havlik, B. 1979. Speciation of mercury in natural waters. In: Nriagu, J.O. (Ed.), *The Biogeochemistry of Mercury in the Environment*. Elsevier, North Holland, Amsterdam.
- 3- Billard, R., Lecointre, G., 2001. Biology and conservation of sturgeon and paddle fish. *Rev. in fish Biol. and Fish.* 10:355-392.
- 4- Boudou, A., Delnomdedieu, M., Georgescauld, D., Ribeyre, F. & Saouter, E. 1991. Fundamental roles of biological barriers in mercury accumulation and transfer in freshwater ecosystems. *Water Air Soil Pollut.* 56, 807–821.
- 5- Carty, A.J. & Malone, S.F. 1979. The chemistry of mercury in biological systems. In: Nriagu, J.O. (Ed.), *The Biogeochemistry of Mercury in the Environment*, Elsevier-North Holland, Amsterdam, pp. 433–479.
- 6- Choi, M.H., Cech Jr., J.J. and Lagunas-Solar, M.C. 1998. Bioavailability of methylmercury to Sacramento blackfish (*Orthodon microlepidotus*): dissolved organic carbon (DOC) effects. *Environ. Toxicol. Chem.* 17, 695–701.
- 7- Grieb, T.M., Driscoll, C., Gloss, S., Schofield, C., Bowie, G. and Porcella, D. 1990. Factors affecting mercury accumulation in fish in the Upper Michigan Peninsula. *Environ. Toxicol. Chem.* 9, 919–930.
- 8- Heath, A.C. , 1995. Water pollution and fish physiology, 2nd Edition lewis, Boca raton, FL. pp.425-463.
- 9- Houck, A. and Cech, J.J. 2004. Effects of dietary methylmercury on juvenile Sacramento blackfish bioenergetics. *Aquatic Toxicology.* 69, 107-123.
- 10- Matida, Y.H., Kumara, S., Saiga, Y., Nose, T., Yokote, M. & Kawatsu, H. 1971. Toxicity of mercury compounds to aquatic organisms and accumulation of the compounds by the organisms. *Bull. Freshwater Fish. Lab. (Tokyo)* 21, 197–227.
- 11- Rodgers, D.W. and Beamish, F.W.H. 1982. Dynamics of dietary methylmercury in rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Aquat. Toxicol.* 2, 271–290. Ruohohtula, M., Miettinen, J.K. 1975. Retention and excretion of 203Hg-Labelled methylmercury in rainbow trout. *Oikos.* 26, 385–390.
- 12- Wiener, J.G. and Spry, D.J. 1996. Toxicological significance of mercury in freshwater fish. In: Redmon-Norwood A.W. (Ed.), *Environmental Contaminants in Wildlife, Interpreting Tissue Concentrations*, CRC/Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 297.
- 13- World Health Organization (WHO), 1989. *Mercury-Environmental aspects*. WHO, Geneva, Switzerland.
- 14- Wobeser, G. 1975. Acute toxicity of methyl mercury chloride to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fry and fingerlings. *J. Fish. Res. Board Can.* 32, 2005–2013.

Bioaccumulation trends of Methylmercury (MeHg) in different tissues of Beluga (*Huso huso* Brandt, 1869)

Gharaei A.¹, Esmaili-Sari A.², and Jafari-shamoshaki V.³

¹Fisheries Dept., Faculty of Natural Resource and Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, I.R. of IRAN

² Environment Dept., Faculty of Natural Resource and Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, I.R. of IRAN

³ Golestan Fisheries Organization, Gorgan, I.R. of IRAN

Abstract

This study carried out in the Shahid Marjani sturgeon reproduction center from July to October 2006. MeHg bioaccumulation trends were measured in gill, liver, intestine, kidney and muscle tissues of the Beluga. The groups of Beluga juveniles were exposed to four dietary containing different concentration of MeHg during 70 days. The treatments were: 1- Control group (0.04 mg/kg) 2- Low dose group (0.76 mg/kg) 3- Medium dose group (7.8 mg/kg) 4- High dose group (16.22 mg/kg). The results indicated that bioaccumulation levels in all tissues were correlated positively with MeHg concentration in food and exposure duration. MeHg concentration in liver with 98% correlation was the highest and with 72% correlation in intestine had the least relationship with treatment duration. Final analysis showed that liver, muscle and kidney of Beluga can be considered as the index tissues for investigation of Hg bioaccumulation.

Keywords: Methylmercury (MeHg), Bioaccumulation, *Huso huso*, Caspian Sea.