

بررسی قابلیت جذب زیستی آلودگی نانوذرات نقره توسط دوکفه‌ای *Dreissena polymorpha* در دوره بلندمدت

- بهزاد طعنه*: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
- مرتضی یوسف‌زادی: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
- سیدعلی اکبر هدایتی: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- نرگس امرالهی: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۷

چکیده

در این مطالعه میزان جذب مستقیم آلودگی نانوذرات نقره توسط دوکفه‌ای *D. polymorpha* در دوره بلندمدت ۸ و ۱۶ روز بررسی گردید. تعداد مورد نیاز دوکفه‌ای *D. polymorpha* با دامنه طولی $2/53 \pm 0/8$ سانتی‌متر از محیط طبیعی استحصال گردید. نانوذرات با استفاده از دستگاه تراسونیک با ۴۰۰ دور دقیقه در استوک آب مقطر پخش شد. جهت یک فاز شدن آب مخازن با محلول نانوذره از دستگاه هموژنایزر با ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه استفاده شد و تیمارها با غلظت‌های ۲/۵، ۲۵ و ۵۰ ppm تهیه گردید. انباشت نانوذرات در توده بافتی دوکفه‌ای با دستگاه ICP ساده و نحوه توزیع نانوذرات در مخازن دوکفه‌ای با تست DLS سنجیده شد. نتایج مربوط به ICP نشان داد بیش‌ترین میزان انباشت نانوذرات در توده بافتی دوکفه‌ای‌ها در بالاترین غلظت مواجهه ($P < 0/05$) می‌باشد و کم‌ترین میزان جذب در پایین‌ترین غلظت مواجهه به‌صورت معنی‌داری ($P < 0/05$) نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. هم‌چنین نتایج تست DLS نشان داد که ذرات از لحاظ اندازه بین ۱۰۰-۱۰ نانومتر بوده‌اند که مویذ عدم ترسیب و هموژن بودن نانوذرات در مخازن حاوی دوکفه‌ای‌ها بوده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده دوکفه‌ای *D. polymorpha* به‌عنوان شاخصی بسیار مناسب جهت پایش اثرات نانو ذرات نقره در محیط‌های آبی پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: *Dreissena polymorpha*، جذب زیستی، نانوذرات نقره



مقدمه

تجمع زیستی یک راه مستقیم جهت ارزیابی پروسه‌هایی است که دسترسی زیستی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، به طوری که دسترسی زیستی به صورت غلظت آلاینده‌های که یک موجود از مدیای محیطی از کل مسیرهای ممکن جذب شامل آب و غذا دریافت می‌کند، تعریف می‌گردد (Rainbow و Luoma، ۲۰۰۵). تاریخچه طولانی مطالعه اثرات زئوبیوتیک‌ها نشان داده است تشخیص و تنظیم مواجهه‌های محیط زیستی سموم بالقوه، نیازمند مطرح کردن دسترسی زیستی است. جذب فلزات سنگین در صدف *Anodonta cygnea* در تالاب انزلی مورد بررسی قرار گرفته است (بابایی سیاهگل، ۱۳۸۳). دوکفه‌ای‌ها دارای فرایندهای توسعه یافت‌های جهت درونی‌سازی سلولی ذرات با اندازه نانو و میکرو (به ترتیب اندوسیتوز و فاگوسیتوز) دارند که در عملکرد و وظایف فیزیولوژیکی آن‌ها نظیر هضم درون سلولی و ایمنی سلولی اهمیت فراوانی دارند (Golovanova و Frolova، ۲۰۰۵). دوکفه‌ای‌ها قادر به تجمع زیستی فلزات ضروری و غیر ضروری تا سطوح بالایی در بافت‌های خود هستند در موجودات فیلتر فیدر عمدتاً جذب فلزات از طریق آب صورت می‌گیرد (Barata و همکاران، ۲۰۰۲). دوکفه‌ای‌ها فلزات را در شرایطی جذب می‌کنند که غلظت محیطی آلاینده نسبتی از غلظت آلاینده موجود در جاندار باشد (van و Farris، ۲۰۰۵). بنابراین هدف از این تحقیق معرفی دوکفه‌ای *D. polymorpha* به عنوان جاذب آلاینده‌های نوظهور از قبیل نانوذرات و هم‌چنین مشخص کردن غلظت‌های مختلف مواجهه نانو ذرات اکسید نقره بر میزان جذب در این دوکفه‌ای می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برداشت نمونه‌های زنده دوکفه‌ای از محیط طبیعی: تعداد مورد نیاز دوکفه‌ای *D. polymorpha* از محیط طبیعی برداشت و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه دوکفه‌ای‌ها به مدت ۲ هفته جهت تطابق با شرایط در مخازن فایبرگلاس ۴۰ لیتری نگهداری شدند. جهت تأمین آب مورد استفاده در این مخازن، از آب کلرزدایی شده سیستم شهری استفاده می‌شود. دما و pH آب در طول دوره مطالعه ثابت نگه داشته شد. غذادهی در طول دوره تطابق با مخمر صورت گرفت. نمونه‌هایی از آب جهت بررسی سطوح نانوذرات در آب مخازن دوکفه‌ای‌ها برداشت شده و جهت آنالیزهای شیمیایی تثبیت گردید. **مواجهه آزمایشگاهی:** سطوح LC₅₀ نانوذرات نقره بر اساس مطالعات پیشین تعیین گردیده و سه غلظت جهت مواجهه دوکفه‌ای‌ها با نانوذرات نقره با توجه به مقادیر LC₅₀ آن‌ها انتخاب گردید. به منظور تهیه محلول‌های نانوذره از محصولات نانوذرات تجاری موجود استفاده شد. جهت تعیین پراکندگی اندازه‌های نانوذرات مورد نظر، نمونه‌هایی از محلول‌های تهیه شده با غلظت‌های انتخابی جهت آنالیز با

نانوتکنولوژی مواد را در مقیاس نانو (۱۰۰-۱ نانومتر) دست کاری نموده (Moore، ۲۰۰۶). ویژگی‌های جدید ذرات نانو به طور گسترده برای استفاده در زمینه پزشکی (Cosmetics، ۲۰۰۹؛ Barnett و همکاران، ۲۰۰۷)، انرژی‌های تجدیدپذیر (Wei و همکاران، ۲۰۰۸)، بازسازی زیستی (Tungittiplakorn و همکاران، ۲۰۰۴) و ابزارهای الکترونیکی (Kachynski و همکاران، ۲۰۰۸) استخراج شده است. در دهه‌های اخیر گروه‌های مختلف موجودات زنده به طور گسترده جهت بررسی وقوع آلودگی‌های شیمیایی در محیط‌های طبیعی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. دوکفه‌ای‌ها یکی از گروه‌های بسیار مهم در این رابطه به شمار می‌روند. این موجودات گروهی از نرم‌تنان می‌باشند که مطلوبیت بالایی جهت استفاده به عنوان شاخص‌های زیستی آلودگی در محیط‌های آبی دارند (Martins و همکاران، ۲۰۰۷). این گروه از نرم‌تنان به دلیل آن که از فراوانی بالایی در محیط‌های آبی شیرین، مصبی و دریایی برخوردارند، به عنوان یک موجود مدل مناسب در مطالعه اثرات بالقوه نانوذرات بر موجودات آبی مطرح شده‌اند. Wang و همکاران (۲۰۰۸) اولین بار پیشنهادی را مطرح نمود مبنی بر این که بی‌مهرگان تغذیه کننده از مواد معلق در آب، به خصوص نرم‌تنان دوکفه‌ای به عنوان گروه هدف منحصر به فرد برای مطالعات سم‌شناسی نانوذرات در نظر گرفته شوند، زیرا این موجودات با توجه به این که در تماس مستقیم با بخش‌های آلوده شده زیستگاه‌های آبی (رسوبات و آب) قرار دارند و می‌توانند سطوح بالایی از فلزات را در بافت‌های خود ذخیره سازند، شواهد مناسبی در رابطه با وقوع آلودگی‌های محیطی با مقیاس زمانی از طریق بررسی پاسخ‌های سلولی و فیزیولوژیکی فراهم می‌سازند (Andujar و همکاران، ۲۰۱۴). موردی از تجمع زیستی است که در آن غلظت ماده شیمیایی در موجود زنده در اثر جذب از طریق مواد مورد تغذیه افزایش می‌یابد و تغلیظ زیستی آن بخش از فرآیند جذب آلاینده را شامل می‌شود که آلاینده از محیط پیرامونی به صورت مستقیم از آب یا رسوبات جذب می‌شوند و به صورت انتقال آلاینده از فاز آبی به درون پیکر یک موجود قابل تعریف است و زمانی که نرخ جذب از نرخ دفع بالاتر باشد، رخ می‌دهد. نقش هر یک از مسیرهای جذب وابسته به رفتار تغذیه‌ای، چرخه زندگی، سایز بدن موجود و طول دوره مواجهه است (Gerhard، ۱۹۹۳). تجمع زیستی یک پروسه مهم جهت پی بردن به این موضوع است که چه زمانی خطر ناشی از ذرات نانو مورد ارزیابی قرار گیرد. ارزیابی خطر نیازمند مطرح کردن هر دو مبحث مواجهه و اثرات است، زیرا مواجهه و تجمع زیستی متعاقب حضور یک زئوبیوتیک همواره پیش‌نیاز سمیت است (بدین معنی که ماده شیمیایی باید قبل از این که باعث ایجاد سمیت شود، باید توسط موجود دریافت گردد). نانوذرات به طور غیرمعمول مستثنی از این تعمیم هستند.



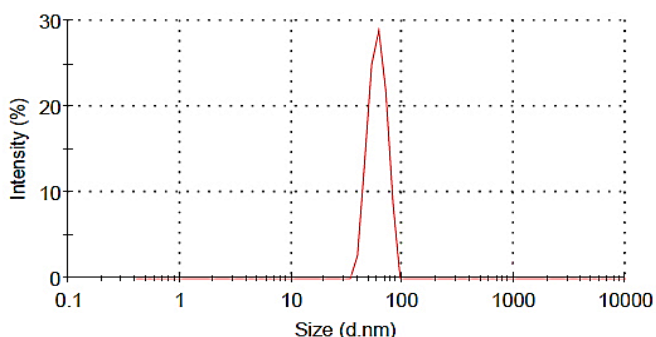
آمده به صورت وزن (میلی گرم/گرم) بیان گردید و فاکتور انباشتگی زیستی (BCF) نیز با استفاده از رابطه (Sleem و Moloukhia, ۲۰۱۱) محاسبه می‌گردد:

$BCF = \frac{\text{غلظت فلز در هر گرم آب}}{\text{غلظت فلز در هر گرم وزن تر جاندار}}$

آنالیزهای آماری: در این مطالعه جهت آنالیز از نرم افزار spss ورژن ۱۹ استفاده گردید، داده‌های برگرفته از شاهد و تیمار نانوذرات اکسیدنقره توسط آنالیز واریانس (ANOVA) نرم افزار spss ورژن ۱۹ مورد مقایسه قرار گرفتند. تفاوت معنی داری در آن، ($P > 0.05$) بود، سپس مقادیر میانگین با آزمون LSD مقایسه شد.

نتیجه

اندازه ذرات در نمونه محلول نانواکسیدنقره در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به شکل، ۹۵٪ حجمی ذرات در محلول کلوییدی دارای قطر ۸۵ نانومتر که این امر گواه بر نانو بودن اندازه ذرات به کار گرفته شده، می‌باشند. بر این اساس، نحوه پراکنش نانوذرات اکسید نقره در آب مخازن حاوی دوکفه‌ای‌ها یکسان بوده است و تمامی دوکفه‌ای‌ها به‌طور یکنواخت در مواجهه با نانوذرات اکسیدنقره قرار گرفته‌اند، در نتیجه نانو ذرات در کف مخازن ترسیب نکرده‌اند است.



شکل ۱: توزیع اندازه‌های نانوذرات اکسیدنقره در آب مخازن حاوی دوکفه‌ای‌ها

با توجه به شکل ۲: دوکفه‌ای *D. polymorpha* توانایی جذب نانوذرات اکسید نقره را داشته به طوری که در هر سه تیمار فرآیند جذب اتفاق افتاده اما بالاترین نرخ جذب در تیمار سوم مشاهده گردید. میزان غلظت مواجهه در این تیمار از سایر تیمارها بیش تر بوده و به مرور زمان از روند صعودی جذب نانو ذرات در تیمار سوم اندکی کاهش مشاهده گردید که ممکن است ناشی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی دوکفه‌ای نسبت به آلاینده بوده باشد. با توجه به شکل ۲ دوکفه‌ای *D. polymorpha* قادر به جذب آلاینده نانوذره اکسید نقره بوده است. به طوری که در تیمار دوم و سوم روند جذب در سطح بالایی رخ داده است که نشان دهنده توانایی بالای این دوکفه‌ای در غلظت‌های متفاوت از نانوذرات است.

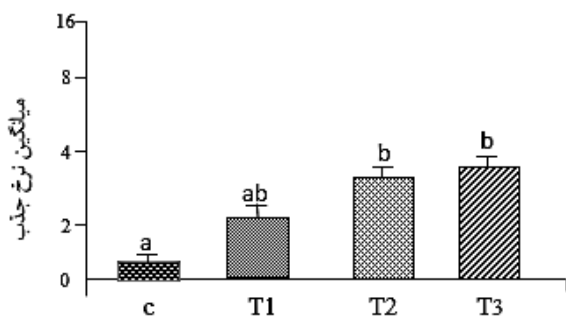
دستگاه DLS برداشت شده و پراکندگی اندازه‌های آن‌ها تعیین گردید. همچنین نانوذرات پیش از به کارگیری با استفاده از دستگاه التراسوند به صورت همگن در آمده بودند. در طول دوره مواجهه آب مخازن حاوی دوکفه‌ای در تناوب‌های ۴۸ ساعتی تعویض گردید تا نانوذرات ترسیب یافته از محیط خارج و آب حاوی ذرات محلول مورد استفاده قرار گیرد. پس از اتمام دوره تطابق دوکفه‌ای‌ها با شرایط آزمایشگاهی، مواجهه دوکفه‌ای‌ها با غلظت‌های انتخابی از نانوذرات در طول زمان‌های ۸ و ۱۶ روز پس از مواجهه از دوکفه‌های مواجهه یافته نمونه برداری به عمل آمده و توده بافتی مورد نظر از آن‌ها استخراج شد. در هر بار نمونه برداری در هر یک از سطوح مواجهه سه تکرار در نظر گرفته شد. در هر یک از زمان‌های نمونه برداری، از آب موجود در مخازن نیز نمونه برداشت گردید تا سطوح نانوذرات در آن‌ها اندازه گیری شود.

تعیین سطوح تجمع زیستی: نمونه‌های دوکفه‌ای برداشت شده جهت به دست آوردن وزن تر توزین شدند. سپس، پوسته‌های آن‌ها جدا شده و توده بافتی برداشت گردید. به منظور به دست آوردن نمونه‌های خشک، توده‌های بافتی به مدت ۴۸ ساعت در دمای $75^{\circ}C$ در آون قرار داده می‌شوند. عصاره‌گیری از نمونه‌های بافتی خشک براساس پروتکل Anderson و Fukunaga (۲۰۱۱) انجام گردید. سطوح نانوذرات در عصاره‌های به دست آمده با استفاده از دستگاه (ICPMS (VG Plasma Quad 3-VG Elemental, Winsford, Cheshire, UK) تعیین شد.

روش فیکس کردن نمونه‌های آب و آنالیز آن‌ها: در هر بار نمونه‌گیری از آب، مقدار ۲۰ سی‌سی از توده آبی درون مخازن برداشت شده و با کاغذ صافی واتمن صاف گردید. ظروف حامل نمونه‌های آب قبل از وارد کردن نمونه آب به آن‌ها، ۱۲ ساعت در محلول HCl ($pH > 2$) نگه داشته شدند. به منظور تثبیت نمونه‌های آب جهت آنالیز ذرات نانو، از HNO_3 با $pH > 2$ به عنوان تثبیت کننده استفاده شد و ظروف حاوی این نمونه را تا زمان آنالیز آن‌ها با دستگاه ICP در دمای کم‌تر از $4^{\circ}C$ درجه سانتی‌گراد و در محیط تاریک نگه‌داشته شدند (Marcovecchio, ۲۰۰۷).

محاسبه فاکتور انباشتگی زیستی (BCF): نمونه‌های صدف برداشت شده را طبق روش ذکر شده در بخش‌های قبل برای به دست آوردن وزن خشک در آون قرار گرفتند. توده خشک بافتی در نیتریک اسید ۷۵٪ برای مدت ۲۴ ساعت هضم شده و سپس، به مدت ۳۰ دقیقه جهت تبخیر نیتریک اسید حرارت داده شدند. توده خشک به دست آمده را مجدداً در نیتریک اسید ۰/۵٪ به حالت تعلیق در آورده شد و در دمای $4^{\circ}C$ درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری مقدار فلز ننگه داشته شدند (Dimitriadis و Raftopoulou, ۲۰۱۱). محلول‌های هضم شده به دست آمده با استفاده از Flame Atomic Absorption Spectrophotometer AA-300 (puls) آنالیز گردیدند داده‌های به دست

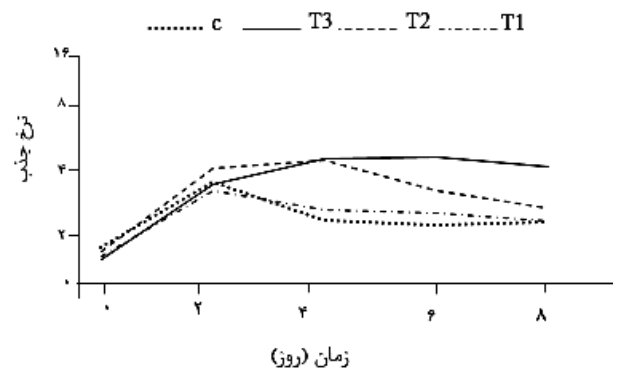
نانواکسید نقره بوده به صورت معنی‌داری ($P > 0.05$) بیش‌تر از سایر غلظت‌ها مشاهده شد و در روز شانزدهم نیز جذب نانوذرات توسط دوکفه‌ای اتفاق افتاده است و بیش‌ترین میزان جذب در تیمارهای دوم و سوم دیده شد و با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان که دوکفه‌ای مورد مطالعه قابلیت جذب آلاینده‌های نانو ذره‌ای را نیز دارد و در طول زمان از قدرت جذب این آلاینده توسط بایو جاذب اندکی کاهش یافته که ممکن است ناشی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی موجود باشد. هم‌چنین نتایج تست DLS مویذ این امر بوده است که نحوه پخش شدن ذرات نانو در مخازن حاوی دوکفه‌ای‌ها هم‌وزن بوده در نتیجه مواجهه دوکفه‌ای‌ها با نانوذرات در مخازن یکسان بوده است.



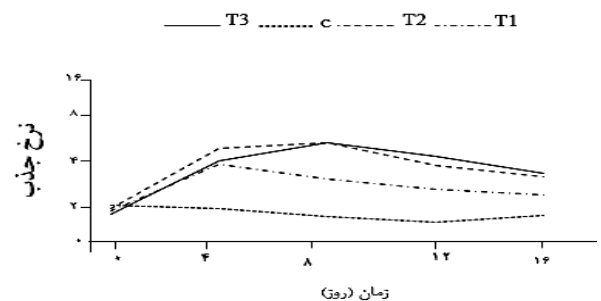
شکل ۵: میانگین جذب نانوذرات اکسید نقره توسط دوکفه‌ای *D. polymorpha* در دوره جذب ۱۶ روزی

بحث

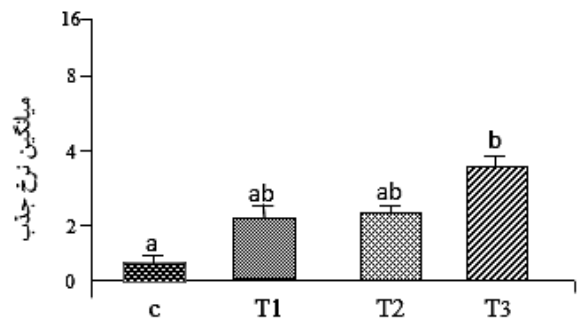
مطالعه حاضر نشان داد در تیمارهای اول تا سوم جذب نانوذرات توسط *D. polymorpha* اتفاق افتاده است به طوری که با گذشت زمان این میزان جذب افزایش یافته که بیش‌ترین آن برابر با $4.0 \pm 0.56/12$ میکروگرم بر لیتر که در بالاترین غلظت‌ها مواجهه از نانوذرات ۲۵ و ۵۰ ppm مشاهده شد. هم‌چنین کم‌ترین میزان جذب برابر با 2.11 ± 1.04 میکروگرم بر لیتر در بالاترین غلظت مواجهه نانوذرات، ۰/۲۵ ppm مشاهده شد. در گذر زمان روند جذب در ابتدا سریع و افزایشی بوده با توجه به تجمع نانوذرات در اندام‌ها توانایی موجود در جذب نانوذرات به مرور کاهش پیدا کرده که این کاهش ناشی از پاسخ فیزیولوژیکی موجود و یا حتی تخریب و نکروز بافتی بوده باشد. مطالعات فراوانی در رابطه با تجمع زیستی فلزات سنگین در نرم‌تنان و دوکفه‌ای‌ها انجام گرفته است و نشان داده است که این موجودات قابلیت تجمع مقادیر زیادی از فلزات سنگین را دارند (Anderson و Fukunaga, ۲۰۱۱). در مطالعه حاضر، نتایج به دست آمده نشان داد که با افزایش مدت زمان مواجهه با نانوذرات، میزان جذب در دوکفه‌ای‌ها روند کاهشی داشته که با مطالعه (Abel, ۱۹۷۶) هم‌سو بوده است. Shi و



شکل ۲: میزان جذب نانوذرات اکسید نقره در دوکفه‌ای *D. polymorpha* را در دوره ۸ روزه نشان می‌دهد



شکل ۳: میزان جذب نانوذرات اکسید نقره در دوکفه‌ای *D. polymorpha* را در دوره ۱۶ روزه نشان می‌دهد



شکل ۴: میانگین جذب نانوذرات اکسید نقره توسط دوکفه‌ای *D. polymorpha* در دوره جذب ۸ روزی

در تیمارهای اول تا سوم جذب نانوذرات توسط همه تیمارهای دوکفه‌ای اتفاق افتاده است به طوری که با گذشت زمان میزان جذب افزایش یافته است. در هر سه تیمار روند جذب افزایش بوده اما بیش‌ترین میزان جذب 4.0 ± 0.12 میکروگرم بر لیتر در بالاترین غلظت از نانوذرات مشاهده شد و کم‌ترین میزان جذب نیز در کم‌ترین غلظت اتفاق افتاده است. در روز هشتم بین تیمار اول و دوم اختلافی مشاهده نشد اما بین تیمارهای اول و دوم با تیمار سوم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد به طوری کلی میزان جذب نانوذرات در غلظت‌های که به صورت ۵۰ ppm

۲. بابایی سیاهگل، ه. ۱۳۸۳. بررسی جذب فلزات سنگین در صدف آنودونت (*Anodonta cygnea*) در تالاب بین‌المللی انزلی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته شیمی دریا. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال.
۳. Abel, P.D., 1976. Effects of some pollutants on the filtration rate of *Mytilus*. Marine pollution bulletin. Vol. 7, pp: 228-231
۴. Andujar, P.; Simon-Deckers, A.; Galateau-Sallé, F.; Fayard, B.; Beaune, G.; Clin, B. and Lanone, S., 2014. Role of metal oxide nanoparticles in histopathological changes observed in the lung of welders. Particle and Fiber Toxicology. Vol. 11, No. 1, pp: 1-13.
۵. Barnett, B.P.; Arepally, A.; Karmarkar, P.V.; Qian, D.; Gilson, W. D.; Walczak, P. and Bulte, M., 2007. Magnetic resonance guided, real time targeted delivery and imaging of magnetocapsules immunoprotecting pancreatic islet cells. Nature medicine. Vol. 13, No. 8, pp: 986-991.
۶. Cashike, J.A. and Ward, J.V., 1995. Nitrate (NO₃-N) toxicity to aquatic life: a proposal of safe concentrations for two species of Nearctic freshwater invertebrates. Chemosphere. Vol. 31, pp: 3211-3216.
۷. Fukunaga, A. and Anderson, M.J., 2011. Bioaccumulation of copper, lead, zinc by the bivalve *Macomona liliana* and *Austrovenus stutchburyi*. Journal of experimental marine biology and ecology. Vol. 396, pp: 244-252.
۸. Gerhard, A., 1993. Review of impact of heavy metals on stream invertebrates with special emphasis on acid conditions. Water, air, and soil pollution. Vol. 66, No. 3, pp: 289-314.
۹. Golovanova, I.L. and Frolova, T.V., 2005. Influence of copper, zinc and cadmium upon carbohydrase activities in aquatic invertebrates. Biologica Vnutrennih Vod. Vol. 4, pp: 73-83.
۱۰. Hakanson, L., 1984. Metals in fish and sediment from the river kolbacksan water system, Sweden. Archive for hydrobiology. Vol. 101, pp: 373-400.
۱۱. Kachynski, A.V.; Kuzmin, A.N.; Nyk, M.; Roy, I. and Prasad, P.N., 2008. Zinc oxide nanocrystals for nonresonant nonlinear optical microscopy in biology and medicine. The Journal of Physical Chemistry. Vol. 112, No. 29, pp: 10721-10724.
۱۲. Luoma, S.N.; Tyler, C.R.; Fabrega, L.; Galloway, T.S. and Lead, J.R., 2011. Silver nanoparticles. Behavior and effects in the aquatic environment. Environment international. Vol. 37, No. 2, pp: 517-531.

Wang (۲۰۰۴) نشان دادند که مواجهه با فلز سنگین مس کاهش معنی‌داری را در نرخ فیلتراسیون دوکفه‌ای‌ها به همراه دارد که این امر منجر به کاهش میزان جذب شده است که با مطالعه حاضر هم‌سو است. مطالعات Cashike و همکاران (۱۹۸۷) بر روی روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus* و کلادوسر *Daphnia magna* در معرض سطوح تحت‌کشنده متیل پارازیون برای تعیین اثرات آن بر نرخ فیلتراسیون و بلعیدن قرار گرفتند که کاهش چشمگیری در میزان جذب در هر دو ژنوتیپ مشاهده شد که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. Hamerlad و همکاران (۱۹۹۰) گزارش دادند که مرگ و میر *Anodonta cygnea* در مواجهه با Cd برای مدت ۵ روز بالا بوده که با مطالعه حاضر مغایر بوده است. Viarengo و همکاران (۱۹۸۱) تفاوت‌های معنی‌داری در انباشتگی Cu بین بافت‌های مختلف در *M. edulis* گزارش کرده‌اند به طوری که بیش‌ترین غلظت‌ها در آبشش‌ها و غده گوارشی دیده شده است که نشان‌دهنده نقش عمده این بافت‌ها در جذب Cu است که با تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. آذرباد (۱۳۸۹) جهت بررسی میزان جذب فلزات سنگین در کوتاه مدت و استرس‌های آن‌ها بر میزان فعالیت‌های فیلتراسیونی اویستر *Saccostrea cucullata* مقادیر جذب را مورد مطالعه قرار داد و نتایج او نشان‌دهنده کاهش نرخ جذب در پاسخ به حضور فلزات سنگین در محیط بود که نتایج این مطالعه با مطالعه حاضر هم‌خوانی داشته است. Moezzi و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که مواجهه کوتاه مدت دوکفه‌ای *Anodonta cygnea* با ذرات فلزی کروم و مس باعث تجمع این ذرات فلزی در اندام‌های آبشش، هپاتوپانکراس و جبه شده است که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در مجموع می‌توان بیان نمود که دوکفه‌ای *D. polymorpha* گونه‌ای مناسب جهت مطالعات پایش زیستی وقوع آلودگی‌های ناشی از ذرات فلزی و به‌طور خاص ذرات فلزی مورد بررسی در این مطالعه (نانوذره اکسید نقره) می‌باشد. سطح عوارض مورد بررسی (تجمع زیستی)، شاخص مناسبی برای پایش آلودگی‌ها و هم‌چنین مطالعات مربوط به روابط اکوفیزیولوژیک این گونه و نیز موجودات مشابه با نانوذرات در محیط‌های آبی هستند. از طرف دیگر این گونه به‌عنوان گونه مناسب جهت حذف ذرات فلزی (نانو ذرات و فلزات سنگین.....) در سیستم‌های تصفیه پساب‌ها یا محیط‌های آبی طبیعی آلوده شده پیشنهاد می‌گردد.

منابع

۱. آذرباد، ح.، ۱۳۸۹. مطالعه صحرایی جذب فلزات سنگین توسط صدف *Saccostrea cucullata* (مطالعه موردی: جنگل‌های مانگرو لافت). پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات. دانشگاه تهران.

۱۳. **Martins, J.; Oliva, T.L. and Vasconcelos, V., 2007.** Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as alert systems in aquatic toxicology. *Environ Int.* Vol. 33, No. 3, pp: 414-425.
۱۴. **Moezzi, F.; Javanshir, A.; Eagderi, S.; Pourbagher, H. and Sallaki, M., 2013.** Evaluation of bivalve clearance (CR) as a physiological indicator of heavy metal toxicity in freshwater mussel, *Anodonta cygnea* (Linea, 1876). *Scientific journal of animal sciences.* Vol. 2, No. 4, pp: 89-94.
۱۵. **Moore, M.N., 2006.** Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment. *Environment International.* Vol. 32, No. 8, pp: 967-976.
۱۶. **Shi, D. and Wang, W.X., 2004.** Modification of trace metal accumulation in the green mussel *Perna viridis* by exposure to Ag, Cu and Zn. *Environmental pollution.* Vol. 132, pp: 265-277.
۱۷. **Viarengo, A.; Zinicchi, G.; Moore, M.N. and Orunesu, M., 1981.** Accumulation and detoxification of copper by the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam: a study of the subcellular distribution in the digestive gland cells. *Aquatic toxicology.* Vol. 1, pp: 147-157.
۱۸. **Wei, H. and Wang, E., 2008.** Fe₃O₄ magnetic nanoparticles as peroxidase mimetics and their applications in H₂O₂ and glucose detection. *Analytical chemistry.* Vol. 80, No. 6, pp: 2250-2254.

