

## بررسی تجمع زیستی و دفع فلز مس از بافت های سیاه ماهی (*Capoeta fusca*) قنات های شرق ایران

• علیرضا پورخباز (نویسنده مسئول)

عضو هیات علمی گروه محیط زیست دانشگاه بیرجند

• زهرا محسنی

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه محیط زیست دانشگاه بیرجند

تاریخ دریافت: آذر ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۱۳۹۱

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۵۶۱-۲۲۵۴۰۴۳

Email: apourkhabbaz@yahoo.com

### چکیده

آلودگی اکوسیستم های آبی با فلزات سنگین توجه جهانیان را بدلیل اثرات مضر آنها روی سلامتی انسان و سایر موجودات در محیط زیست بیشتر جلب کرده است. هدف از این تحقیق، تعیین میزان تجمع زیستی و دفع فلز مس، در بافت های آبشش، عضله و پوست سیاه ماهی (*Capoeta fusca*) می باشد. نمونه برداری ماهی از قنات های منطقه بیرجند در سال ۱۳۸۹ صورت گرفت. نمونه های ماهی (میانگین طول کل ۱۳/۵۴ سانتیمتر و وزن ۲۰/۴۵ گرم) پس از جمع آوری و سازگاری در محیط آزمایشگاه به مدت ۱۰ روز، در داخل آکواریوم های ۴۰ لیتری در سه تکرار برای گروه شاهد و دو گروه آزمون تحت غلظت مس ۰/۲۵ و ۰/۷۵ mg/L قرار گرفتند. بعد از اینکه نمونه ها در معرض ماده سمی قرار گرفتند، از هر آکواریوم آزمون و شاهد، دو سیاه ماهی در زمان های مختلف جمعی ۷، ۱۴ و ۲۱ و دفع ۱۰ روزه جهت آنالیز عنصر مس در بافت های ماهی، انتخاب شدند. نتایج نشان می دهد که بافت آبشش، یک اندام هدف برای جذب عنصر مس می باشد. غلظت مس در بافت های آبشش، عضله و پوست در دو غلظت کشندگی پایین به ترتیب ۲/۸۸، ۱/۲، ۱/۲ و بالا ۴/۸، ۱/۹، ۱/۹ می باشد. ترتیب میزان تجمع و دفع مس در بافت های سیاه ماهی به صورت آبشش < پوست < عضله است. نتیجه نهایی نشان داد که میزان دفع فلز مس بستگی به غلظت عنصر در اندام هدف، طول دوره دفع و اختلالات اندام پس از دوره انباشت دارد.

کلمات کلیدی: تجمع زیستی، دفع، سیاه ماهی، مس، قنات

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) 97 pp: 29-37

### The study of bioaccumulation and elimination of copper in blackfish (*Capoeta fusca*) organs from the east Qantas of Iran

By: Alireza Pourkhabbaz (Corresponding Author; Tel: +985612254043), Department of Environmental Science, Birjand University, Z. Mohseni, Msc Student of Birjand University.

Contamination of aquatic ecosystems with heavy metals has been receiving increased worldwide attention due to their harmful effects on human health and other organisms in the environment. The aim of this study is to elucidate the accumulation and elimination of copper metal on the gill, muscle and skin tissues of Black fish, *Capoeta fusca*. Sampling was carried out from Qantas of Birjand area in 2011. Fish samples acclimatize for 10 days to laboratory conditions in aquariums after collecting. The samples with the total length of 13.45cm and the weight of 20.45gr, were put in one control group and two treatment groups containing 0.25 and 0.75mg/L  $CuCl_2$  in 40-liter aquariums with three replicates. After specimens were exposed to the polluting substance, for each of the experiment and control group, two fish were sampled at 7, 14 and 21 accumulation and 10 elimination days. The Cu level on different organs of black fish (gill, muscle, skin) was found to be 2.88, 1.2, 2.1 for lower and 4.8, 1.9 and 1.9 for higher sub-lethal concentration, respectively. Thus, the gill is a target organ for copper accumulation, and it is also the critical organ for symptoms. The accumulation and elimination level of Cu was found to follow the order gill > skin > muscle. In conclusion, depuration process of Cu element depends on several conditions such as Cu concentration in the organ target, time of depuration, and the abnormalities of organ after accumulation process.

**Key words:** Bioaccumulation, Elimination, Black fish, Copper, Qant

#### مقدمه

مختلف متغیر می باشد و بافت عضله مقادیر کمتری از عناصر در مقایسه با سایر بافت ها در خود نگه میدارد (۲۱).

امروزه تحقیقات در خصوص جذب فلزات سنگین در موجودات دریایی به دلیل افزایش روز افزون این فلزات در اثر فعالیت های انسانی و نفوذ آن ها به محیط های آبی تشدید شده است. این سوال که چه مقدار از غلظت این فلزات به اکوسیستم آسیب وارد می نماید، مورد تحقیق محافل علمی است و در این موارد هر گونه افزایش بیش از غلظت های حد مجاز اثرات مخرب خود را داشته است. فلز مس با توجه به نقشی که در روندهای بیولوژیکی دارد به عنوان عنصر ضروری مورد توجه می باشد. این عنصر بر اساس غلظت های موجود در طبیعت می توانند نقش محرک یا بازدارنده را در روندهای بیولوژیکی ایفا نمایند (۶). فلزات سنگین از جمله عناصر ضروری واکنش های بیولوژیک می باشند و به صورت هموستاتیک (Homostatically) تنظیم می شوند. غلظت های این عناصر در بافت های یکسان از گونه های متفاوت ماهیان می تواند تغییرات زیادی داشته باشد. در محیط های غیرآلوده عناصر ضروری همواره مقادیر بیشتری را نسبت به عناصر غیرضروری در بافت موجودات آبی نشان می دهند (۳۱). به هر حال فلز سنگین مس از عناصر ضروری بدن ماهیان بوده که در غلظت های بالا اثر سمیت و کشندگی داشته و می تواند در بدن آن ها تجمع یابد (۲۵).

در آب های داخلی ایران حدود ۱۸۵ گونه ماهی وجود دارد که به طور عمده متعلق به ۳ خانواده کبوتر ماهیان Cyprinidae، سگ ماهیان جویباری Balitoridae و Cobitidae می باشند. در این میان قنات های ایران دارای ۲۵ گونه ماهی هستند که ۴۰ درصد کل فون ماهیان فلات ایران را شامل می شوند (۱). از ماهیان مهم قنات های

توسعه صنایع و افزایش بی رویه جمعیت شهرها و روستاها و در پی آن توسعه مناطق کشاورزی و استفاده از کودها و سموم دفع آفات موجب گشته است تا مقادیر زیادی فاضلاب های صنعتی و شهری و همچنین پساب های کشاورزی که دارای ترکیبات شیمیایی مختلف خصوصاً عناصر سنگین هستند وارد اکوسیستم های آبی شوند (۳۲). آلاینده ها از جمله عناصر سنگین پس از ورود به اکوسیستم های آبی، در بافت ها و اندام های آبریان تجمع یافته و نهایتاً وارد زنجیره غذایی می گردند. انتقال فلزات سنگین به محیط های آبی این احتمال را بوجود می آورد که ماهی مقادیری از برخی فلزات سنگین را از طریق زنجیره غذایی یا از طریق آب از محیط جذب نماید و در مقادیر بالا سبب سمیت در آن شود (۱۰). اثرات سمی زمانی اتفاق می افتد که مقدار دفع و مکانیسم های سمیت زدایی نسبت به جذب در مرتبه پایین تری قرار داشته باشد. بدین ترتیب این عناصر سمی وقتی در اندام های ذخیره می شوند سبب تجمع زیستی می گردند (۲۲)، که می تواند منجر به واکنش های احیاء شده و با ایجاد رادیکال های آزاد سبب تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی شوند (۲۹). بنابراین برای بررسی تأثیر این عناصر بر موجودات زنده شاخص های گوناگونی وجود دارد که یکی از مهم ترین آنها تجمع و دفع زیستی است که در این تحقیق از فاز مس بر روی سیاه ماهی استفاده شده است. تحقیقات مختلفی در این زمینه در سایر کشورها انجام شده است. Murugan و همکاران (۲۰۰۸) تجمع زیستی عنصر روی را بر ماهی آب شیرین *Channa punctatus* مورد مطالعه قرار داد (۱۷). تحقیقات اثرات تجمعی فلزات، روی بافت های مختلف ماهی آب شیرین *Cirrhinus mrigala* نشان می دهد که غلظت عناصر در اندام های

تر آبخشش، عضله و پوست به طور جدا گانه وزن و داخل ارلن ۵۰ میلی لیتر گذاشته شد و سپس ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک به آن اضافه و مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند. در این مدت در ارلن ها با پارافیلیم بسته و در روز بعد ۵ میلی لیتر اسید پرکلریک به آن اضافه گردید و روی حمام شن در دمای ۲۰۰-۱۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴-۶ ساعت قرار داده شد تا مراحل هضم کامل و یک محلول شفاف به دست آید. بعد از انجام هضم کلیه نمونه ها، حجم آنها توسط آب مقطر فاقد یون به ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد. نمونه های رقیق شده با استفاده از فیلترهای نیتروسولولزی ۰/۴۵ میکرومتر فیلتر و در ظروفی که قبلاً استریل شده ریخته شدند. نمونه های هضم شده بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی با سیستم کوره گرافیت از شرکت PERKIN ELEMER مدل ۳۰۳۰ مورد اندازه گیری قرار گرفتند.

### آنالیز آماری

در این مطالعه داده ها به کمک نرم افزار آماری SPSS (۱۶) در سطوح آمار توصیفی و استنباطی تجزیه و تحلیل گشتند. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA One Way به منظور مقایسه میانگین های تجمعی فلز مس در بافت ها و در دوره های مختلف در هر غلظت استفاده شده است. آزمون T test جهت مقایسه دو غلظت عنصر مس در بافت های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است. از نرم افزار Excel جهت رسم نمودارها کمک گرفته شد. طبق رابطه زیر فاکتور تجمع زیستی (Bioaccumulation Factor) به عنوان ثبت غلظت فلز در بافت های ماهی بعد از ۲۱ روز دوره تجمعی به غلظت عنصر در آب محاسبه گردید (۲۰):

### نتایج

میزان LC<sub>50</sub> برای تعیین کشندگی فلز مس (CuCl<sub>2</sub>) بوسیله نرم افزار probit (۳/۱) تعیین گردید، که محاسبه میزان آن در زمان های مختلف با حد اطمینان ۹۵ درصد توسط روش EPA در جدول ۲ آورده شده است. غلظت های زیر کشندگی فلز مس بر اساس LC<sub>50</sub> ۹۶h محاسبه شدند.

میانگین های تجمع و دفع فلز مس در بافت های آبخشش، پوست و عضله سیاه ماهی (مورد آزمایش و شاهد) در دو غلظت زیر کشندگی بالا (۰/۷۵) و پایین (۰/۲۵) در جدول ۳ آورده شده است. غلظت مس در بافت های آبخشش، پوست و عضله ماهیان مورد آزمون در تمام دوره های زمانی نسبت به سیاه ماهیان شاهد به طور معنی داری (P < ۰/۰۵) افزایش نشان داد. این تجمع در بافت های مختلف سیاه ماهی (*Capoeta fusca*) نسبت به ماهیان شاهد تقریباً بین ۲/۵ تا ۴ برابر بوده است.

به طور معمول، بافت های مختلف، ظرفیت های متفاوتی در جذب و تجمع عناصر نشان می دهند. بیشترین تجمع مس در بافت آبخشش (۳/۷) (میکرو گرم بر گرم وزن تر  $\mu\text{g/g W.W}$ ) یافت گردید. در حالی که کمترین مقدار مربوط به بافت عضله در هر دو غلظت پایین و بالا به ترتیب با دامنه ( $\mu\text{g/g W.W}$ ) ۰/۶۸-۱/۸۹ بود. دامنه مقادیر تجمع مس در بافت های آبخشش و پوست سیاه ماهی به ترتیب از ۱/۳ تا ۴/۹ و ۰/۹ تا ۲/۰ در ۲۱ روز دوره انباشتگی فلز مس متغیر می باشند. نتایج نشان

منطقه شرق ایران، سیاه ماهی *Capoeta fusca* است (۱۸). این گونه نیمه اندمیک از نظر حفظ ذخایر ژنتیکی ماهیان ایران از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است (۱۱). از آنجا که آزمایش سمیت مس در سیاه ماهی انجام نشده است لذا تحقیق بر روی آن از اهمیت ویژه ای برخوردار است. جذب و دفع دو تا از مهم ترین فاکتور ها در متابولیسم و سمیت فلزات در ماهیان می باشند هر چند که بیشتر مطالعات روی جذب عناصر انجام شده است. هدف از مطالعه حاضر تعیین و مقایسه میزان تجمع زیستی و دفع فلز مس در بافت های آبخشش، عضله و پوست سیاه ماهی در غلظت های زیر کشندگی و طول دوره در معرض قرارگیری می باشد.

### مواد و روش ها

نمونه های سیاه ماهی از قنات منطقه اشکفتو در ۱۵ کیلومتری شمال شرقی شهر بیرجند در سال ۱۳۸۹ تهیه گردیدند. نمونه گیری توسط تور گوشگیر انجام شد. نمونه ها پس از جمع آوری به آزمایشگاه منتقل و در داخل آکواریوم ها به مدت ۱۰ روز قرار گرفتند تا با شرایط آکواریوم سازگار شوند. فلز استفاده شده در این تحقیق از نمک مس (CuCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O-Analar grade, Merck, Germany) بدست آمد. آزمایشات اولیه جهت تعیین ماکزیمم غلظت زیر کشندگی و مینیمم غلظت کشندگی مس انجام گردید. سپس LC<sub>50</sub> ماهیان، با استفاده از نرم افزار probit (۳/۱) تعیین گردید. ماهیان مورد آزمایش در معرض فلز مس با غلظت های زیر کشندگی بالا (۱/۷۰ mg/L) و پایین (۰/۲۵ mg/L) از LC<sub>50</sub> قرار داده شدند (۲۱). ماهیان به ۷ گروه تقسیم شده که اولین گروه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. اختلاف معنی داری بین ماهیان شاهد با گروه های تحت آزمایش از نظر اندازه وجود نداشت. غلظت زیر کشندگی سم در آکواریوم ها در ۳ تکرار، در ۳ دوره تجمعی ۷ روزه (۲۱ روز دوره تجمع) تزریق گردید. تعداد ماهیان در هر آکواریوم آزمایشی و کنترلی ۱۴ ماهی بودند. شرایط آکواریوم در طول دوره با هوادهی مستمر کنترل شد. پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب از قبیل اکسیژن محلول (mg/L)، سختی کل (Ca<sup>+۲</sup>, Mg<sup>+۲</sup>) (بر حسب CaCO<sub>3</sub>)، منیزیم (mg/L)، نترات (mg/L)، دما (درجه سانتی گراد)، امونیاک (mg/L) و pH با استفاده از دستگاه فتومتر مدل ۸۰۰۰، ساخت کمپانی Palintest انگلستان و Multi Parameter Analyzer (Consort: C ۵۳۴ T & Istek: pdc۸۱۵) (SD) ۰/۳۶(۰/۲۲)، ۵۹/۹(۵/۶)، ۲۵۵/۶(۳۰/۷)، ۶/۲(۰/۰۶)، ۸/۱۳(۰/۳۱)، ۰/۱۱۶(۰/۱۱)، ۱۹/۵۴(۱/۰۵) بعد از پایان دوره جذب ماهیان باقیمانده در یک دوره دفع ۱۰ روزه در آب فاقد عنصر مس قرار گرفتند. بافت های مختلف آبخشش، عضله و پوست نمونه های مورد آزمایش و شاهد جهت انجام آزمایشات از بدن ماهیان جدا و در ارلن نگهداری شدند. قبل از تشریح اندام ها، زیست سنجی گونه ها شامل اندازه گیری طول کل، طول چنگالی و طول استاندارد با استفاده از خط کش با دقت ۱ میلی متر و توزین نمونه ها با استفاده از ترازوی الکترونیکی با دقت ۰/۰۱ گرم انجام گرفت (جدول ۱). جهت انجام هضم شیمیایی ابتدا تمامی ظروف مورد نیاز به مدت یک شب در محلول اسید نیتریک قرار داده شد تا کاملاً استریل گردند. سپس این ظروف چندین بار با آب مقطر شسته شده و خشک شدند. میزان ۲ گرم از نمونه های

جدول ۱- مشخصات زیست سنجی نمونه های سیاه ماهی

متغیر	میانگین $\pm$ انحراف معیار	حداقل	حداکثر
طول کل (cm)	۱۳/۵۴ $\pm$ ۱/۴۹	۱۱/۷۵	۱۵/۲۸
طول چنگالی (cm)	۱۲/۷۷ $\pm$ ۱/۴۰	۱۱/۰۳	۱۴/۴۳
طول استاندارد (cm)	۱۱/۴۱ $\pm$ ۱/۰۱	۹/۸۲	۱۲/۸۷
وزن (g)	۲۰/۴۵ $\pm$ ۵/۹۴	۱۳/۱۱	۲۸/۹۷

جدول ۲- برآورد غلظت کشندگی (LC<sub>50</sub>) مس با حد اطمینان ۹۵ درصد (حد پایین و بالا) با روش EPA

ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	آب
(۱۰/۴ - ۲۰/۱) ۱۳/۴	(۶/۴ - ۱۰/۹) ۸/۱	(۵/۰ - ۸/۱) ۶/۳	(۲/۳ - ۱۴/۹) ۵/۴	

جدول ۳- غلظت مس در بافت های سیاه ماهی در دو غلظت زیر کشندگی پایین و بالای مس در دوره جذب و دفع (میانگین  $\pm$  انحراف از معیار)

اندام	۷ روز	۱۴ روز	۲۱ روز	۳۱ روز
شاهد				
آبشش	۱/۰۴۳ $\pm$ ۰/۱۰	۰/۹۷۳ $\pm$ ۰/۱۵	۱/۱۴۳ $\pm$ ۰/۱۷	۰/۹۷۳ $\pm$ ۰/۲۲
عضله	۰/۴۶۳ $\pm$ ۰/۲۱	۰/۵۴۳ $\pm$ ۰/۱۰	۰/۹۵۶ $\pm$ ۰/۱۶	۰/۷۸۰ $\pm$ ۰/۱۳
پوست	۰/۵۴۰ $\pm$ ۰/۱۵	۰/۵۹۰ $\pm$ ۰/۵۰	۱/۰۷۰ $\pm$ ۰/۱۰	۱/۰۸۶ $\pm$ ۰/۲
۰/۲۵ mg/L				
آبشش a	۱/۸۴۸ $\pm$ ۰/۴۴	۲/۷۷۲ $\pm$ ۰/۷	۲/۸۸۴ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۴۲۰ $\pm$ ۰/۲۳
عضله b	۰/۶۸۲ $\pm$ ۰/۳۱	۱/۱۷۱ $\pm$ ۰/۳۶	۱/۲۰۸ $\pm$ ۰/۳۹	۰/۳۷۰ $\pm$ ۰/۵۱
پوست ab	۰/۸۷۵ $\pm$ ۰/۰۸	۲/۰۵۲ $\pm$ ۰/۱۴۸	۲/۰۶۵ $\pm$ ۰/۴۱	۰/۱۵۰ $\pm$ ۰/۵۶
۰/۷۵ mg/L				
آبشش a	۱/۲۷۴ $\pm$ ۰/۴۵	۲/۱۸۰ $\pm$ ۰/۶۵	۴/۸۵۷ $\pm$ ۰/۸۵	۰/۷۴۰ $\pm$ ۰/۳۱
عضله b	۰/۴۲۳ $\pm$ ۰/۰۵	۰/۹۱۱ $\pm$ ۰/۱۵	۱/۸۹۸ $\pm$ ۰/۵۳	۰/۳۶۰ $\pm$ ۰/۴۳
پوست b	۱/۱۰۳ $\pm$ ۰/۹۸	۱/۱۴۴ $\pm$ ۰/۱۲	۱/۸۹۶ $\pm$ ۰/۲۵	۰/۲۶۰ $\pm$ ۰/۳۹

حروف متفاوت بالای بافت ها نشان دهنده اختلاف معنی دار ( $p < 0.05$ ) می باشد.

در بافت های یکسان از گونه های متفاوت می تواند تغییرات زیادی داشته باشد (۳۱). فلز مس می تواند در محل هایی ذخیره شود و یا به بافت های دیگر نیز انتقال داده شود (۴).

نتایج آماری حاصل از تحقیقات به عمل آمده این مطلب را مشخص می کند که میانگین غلظت فلزات سنگین در بافت های مختلف ماهی با یکدیگر متفاوت هستند (۱۹،۱۵،۳). تفاوت غلظت فلزات سنگین در بافت های گوناگون ماهیان می تواند ناشی از متغیر بودن توان فلزات سنگین در زمینه غلبه بر پیوندهای فلزی پروتئین ها نظیر متالوتیونین ها باشد. همچنین تفاوت نیازهای اکولوژیک و فعالیت های متابولیک بافت ها ماهیان می تواند به عنوان عامل مهم دیگری تلقی شود (۱۶،۸). مطالعه حاضر نشان داد تجمع و دفع فلز در بافت های سیاه ماهی وابسته به غلظت مس و مدت زمان در معرض قرار گیری آن می باشد. Shuhaimi-Othman و همکاران و Reddy و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی ماهی Prawn نتایج مشابهی را از فلز مس بدست آوردند (۲۶،۲۴).

آبشش ها به عنوان اندام های هدف مداوم در معرض محیط خارجی قرار داشته که تمایل زیادی در تجمع و جذب فلزات محیط مانند مس را نسبت به سایر بافت ها در سطح و درون اندام دارند (۲۴،۱۵)، همچنان که در بسیاری از انواع گونه های مختلف ماهیان در نقاط مختلف گزارش شده است (۲۷،۹). در این مطالعه بیشترین غلظت عنصر مس در هر دو غلظت زیر کشندگی همراه با افزایش زمان تماس، بافت آبشش و بعد بافت های پوست و عضله یافت گردید. البته آنالیز نمودار خطی آشکار کرد که در بافت های مختلف  $R = 0/9$  آبشش، عضله و پوست  $R = 0/5$  (پوست) در غلظت زیر کشندگی  $0/75$  ppm فقط اختلاف معنی داری با زمان وجود دارد ( $P$ -value =  $0/01$ ). این نتایج با گزارشاتی که توسط (Karthikeyan و Palaniappan، ۲۰۰۹) بر روی ماهی *Cirrhinus mrigala* داشته مطابقت دارد (۲۱). بنابراین افزایش تجمع فلز در بافت های مختلف در دوره معرض قرار گیری ماهی نسبت به جذب این فلز توسط ماهی ارتباط دارد. نتایج مشابه برای عناصر روی، سرب و کادمیوم توسط (Van Hattum و همکاران ۱۹۹۳) نیز گزارش شده است (۲۸).

در غلظت های بالاتر عنصر مس، نرخ جذب ( $k_1$ ) در بافت آبشش مانند غلظت های پایین تر این عنصر بود (جدول ۴). غلظت بالای مس در بافت آبشش می تواند بدلیل سطح تماس زیاد و مبادلات مستقیم بافت با محیط آبی و آسیب آن باشد (۲۱،۱۷)، علاوه بر این یک مکان مهم برای ورود فلزات که سبب تشدید زخم ها و صدمه به بافت می شوند نیز است (۳۰). به عبارت دیگر سلول های اپیتلیال برونشیا آبشش سبب مبادلات فلزات با محیط خارج گردیده که نسبت جذب را افزایش می دهند (۷). همچنین غلظت بالای مس در بافت آبشش در دوره انباشتگی می تواند بدلیل ترکیب عنصر با مخاط بافت باشد که قبل از زیست سنجی جهت آزمایش، امکان حذف آن بدلیل وجود لاملای آبشش، نمی باشد (۲۷). بدین ترتیب غلظت های بالای فلزات مانند مس را در اندام آبشش می توان مشاهده نمود. البته در مقایسه با گزارش Pelgroum و همکاران در ۱۹۹۵ که میزان جذب فلز مس در بافت آبشش در ماهی تیلپیا بعد از ۶ روز در معرض قرار گیری مس،  $200 \mu g/l$  اندازه گیری نمود اختلاف

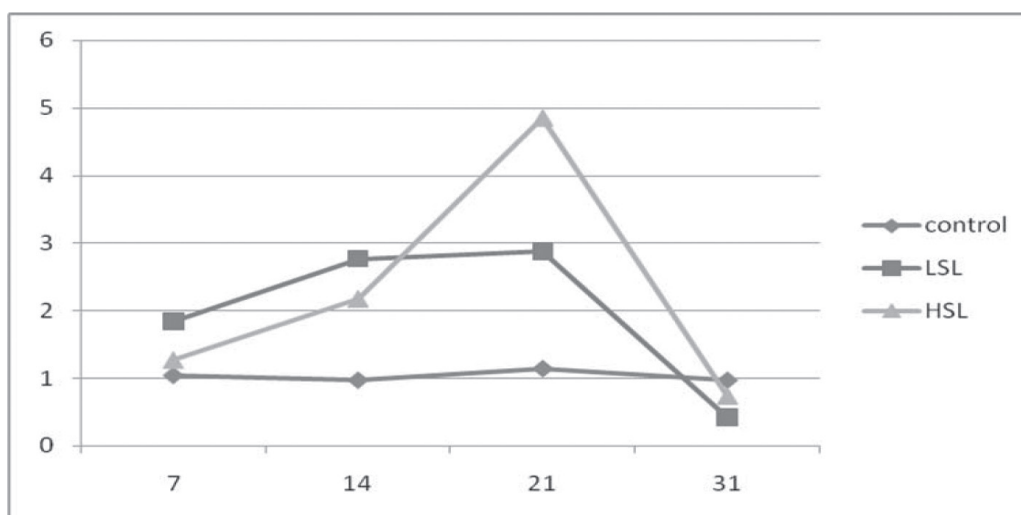
می دهد که با افزایش زمان در معرض قرار گیری ماهی به نمک مس محلول میزان تجمع فلز مس در بافت های آن افزایش می یابد. همچنین با افزایش غلظت مس امکان افزایش عنصر مس در بافت ها به ویژه آبشش در سه مرحله زمان های تجمعی به طور معنی داری وجود دارد. اما در بافت های ماهیچه و پوست این اختلاف معنی داری در دو مرحله زمانی (۲۱، ۱۴) یافت نگردید ( $p > 0/05$ ).

روند افزایش میزان مس در بافت های سیاه ماهی طی دوره جذب به ترتیب آبشش < پوست < عضله برای غلظت های زیر کشندگی پایین و بالا می باشد. همچنان که اشاره گردید میزان جذب فلز مس در بافت های مختلف، در دو غلظت متفاوت است. آبشش بیشترین تجمع فلز مس را در هر دو غلظت زیر کشندگی ( $1/20$  و  $1/7$ ) نسبت به سایر بافت ها نشان می دهد. به عبارتی مقدار فلز مس در بافت آبشش  $2/5$  و  $1/5$  برابر به ترتیب بیشتر از در غلظت  $0/25 \text{ mg/L}$  بافت آبشش اختلاف معناداری با بافت عضله دارد ولی با پوست اختلاف معناداری ندارد. در حالی که در غلظت  $0/75$  بافت آبشش با بافت عضله و پوست اختلاف معنادار دارد ( $p < 0/05$ ). اما بافت پوست با عضله اختلاف معناداری در سطح ۹۵ درصد ندارد. در نمودار های ۱، ۲ و ۳ نشان می دهند که در همه بافت ها تجمع فلز مس در ۲۱ روز دوره تجمعی در غلظت های زیر کشندگی  $1/70$  و  $1/20$  افزایش داشته است. در هر سه بافت آبشش، پوست و عضله در غلظت پایین زیر کشندگی ( $0/25 \text{ ppm}$ ) از روز ۱۴ به بعد تا روز ۲۱ میزان جذب عنصر تقریباً حالت ثابت داشته است. معادله رگرسیون خطی نیز نشان داد که ارتباطی بین زمان در معرض قرار گیری مس و افزایش عنصر در بافت ها در غلظت زیر کشندگی پایین معنی دار ( $p > 0/05$ ) نمی باشد ( $R = 0/4$  آبشش،  $R = 0/5$  عضله و  $R = 0/7$  پوست). همچنین مقایسه بین مقادیر تجمعی (دوره ۲۱ روزه) و دفع عنصر در پایان روز ۳۱ در جداول و شکل های مربوطه آورده شده است. در فرایند پالایش کارایی فرایند دفع در بافت های مختلف روند نزولی سریع در هر دو غلظت زیر کشندگی ( $0/25$ ،  $0/75$ ) داشته و به صورت عضله (۸۹ درصد) < آبشش (۸۵ درصد) < (۷۵ درصد) پوست می باشد.

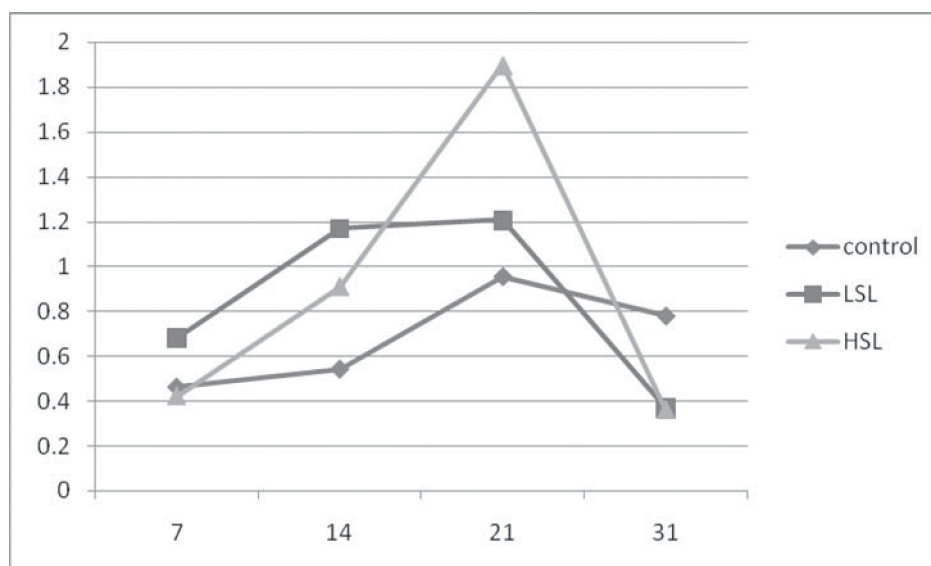
به منظور دریافت اطلاعات تجمع زیستی غلظت مس در بافت های سیاه ماهی، شاخص تجمع زیستی BAF، نرخ جذب ( $k_1$ ) و نرخ دفع ( $k_2$ ) در دو غلظت  $0/25$  و  $0/75 \text{ mg/L}$  محاسبه (۱۲) و در جدول ۴ گزارش شده است. نرخ دفع در سیاه ماهی تحت شرایط هر دو غلظت مس کوچک می باشد ( $0/02 - 0/008$ ). علاوه بر این در جدول ۴ می توان فهمید که بالاترین سطح مس در آبشش با شاخص انباشتگی زیستی به ترتیب برابر  $6/5$  و  $11/5$  برای دو غلظت زیر کشندگی پایین و بالا می باشد همچنین شاخص انباشتگی زیستی برای بافت های عضله و پوست مانند آبشش در غلظت بالا نسبت به غلظت پایین فلز مس سیر نزولی داشته که به ترتیب برابر  $2/4$ ،  $5/8$  و  $2/8$ ،  $5/2$  می باشد.

### بحث

فلز مس بر اساس مقادیرش در فرایند های زیستی به عنوان محرک یا بازدارنده ایفای نقش می کند. این فلز از جمله عناصر ضروری در واکنش های زیستی بوده و تجمع بالای آن می تواند بر روی سلامتی انسان مانند کنترل هومو استاتیک اثر گذارد (۲۳). غلظت این عنصر حتی



نمودار ۱- مقایسه انباشتگی و دفع مس (۰/۲۵، ۰/۷۵ mg/L) از آبشش سیاه ماهی مورد آزمون با نمونه شاهد



نمودار ۲- مقایسه انباشتگی و دفع مس (۰/۲۵، ۰/۷۵ mg/L) از عضله سیاه ماهی مورد آزمون با نمونه شاهد

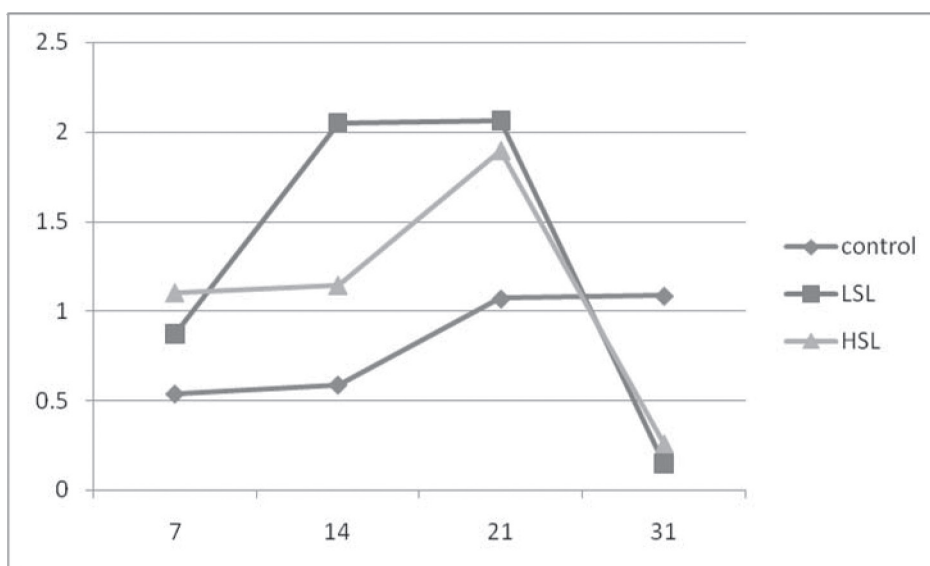
زیادی برای پیوند با کلسیم دارند نیز باشد (۲۱). اگر چه پذیرفته شده است که اندام ماهیچه ماهیان به عنوان یک بافت تجمعی فلزات محسوب نمی گردد، اما مقدار حداقلی که در این اندام انباشته می شود به سختی آب بستگی دارد (۱۶). به هر حال جذب مس در بافت عضله سیاه ماهیان مورد آزمایش در مقایسه با نمونه های شاهد به طور معنی داری ( $p < 0.05$ ) بالاتر می باشد. شاخص تجمع زیستی (BAF) فلز مس در بافت های مختلف با افزایش غلظت مس در آب، کاهش نشان داد. به عبارتی بافت های آبشش، عضله و پوست سیاه ماهی در غلظت کم به ترتیب ۱/۵، ۴/۸ و ۸/۲ مرتبه و در غلظت بالا فقط ۶/۵، ۲/۵ و ۲/۵ مرتبه در آخرین روز تجمع (۲۱) بالاتر در مقایسه با مس موجود در آب بوده است. مقادیر پایین شاخص زیستی در غلظت بالای زیر کشندگی مس ( $BAF=2/5$ ) ممکن

معنا دار بالایی با سیاه ماهی دارد (۲۲). در پایان روز ۲۱ دوره تجمعی، پوست و عضله انباشتگی کمتری نسبت به آبشش داشتند.

Agah و همکاران (۲۰۰۹)؛ Canli و Kalay (۲۰۰۰)؛ Wong و همکاران (۲۰۰۰)؛ Houserova و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند بافت پوست تجمع کمتری در مقایسه سایر بافت ها مانند آبشش و کبد دارد (۳۳، ۱۵، ۱۴، ۲).

تجمع پایین تر عنصر مس در بافت های ماهیچه و پوست نسبت به آبشش به دلیل فعالیت های کم متابولیکی این اندام ها تفسیر می شود چرا که بیشتر فلزات، ارگان هدف خود را بر اساس میزان فعالیت های متابولیکی انتخاب می کنند (۳۳). مقادیر کم فلز موجود در عضلات همچنین ممکن است در نتیجه غنای پروتئین های انقباضی، که تمایل





نمودار ۳- مقایسه انباشتگی و دفع مس (۰/۷۵ mg/L ، ۰/۲۵) از پوست سیاه ماهی مورد آزمون با نمونه شاهد

دیگر در پایان این دوره میانگین درصد دفع در هر دو غلظت زیر کشندگی، سریع و بالای ۷۵ درصد در بافت های مختلف بود که در مقایسه با میزان مس در اندام های نمونه های شاهد حدود ۲ تا ۳ مرتبه پایین تر نشان دادند، که این ممکن است به دلیل عکس العمل شدید سیاه ماهی مورد آزمایش در دفع ماده اضافی بدن به طور ناگهانی در یک دوره کوتاه جهت کنترل نیازات فیزیولوژیکی باشد. در کل می توان بیان نمود که میزان دفع فلز مس در بافت های مختلف بستگی به غلظت عنصر در اندام هدف، طول دوره دفع و اختلالات اندام پس از روند انباشت دارد (۲۳). مطالعات انجام شده روی ماهیان در نقاط جهان سطوح مختلفی از دفع عناصر از بافت ها را نشان می دهد (۱۷، ۱۵).

### نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد تجمع در بافت های سیاه ماهی وابسته به غلظت فلز و مدت زمان در معرض قرارگیری می باشد. بدین ترتیب مقدار عنصر مس در بافت های سیاه ماهی با افزایش غلظت و زمان در معرض قرارگیری افزایش سریع می یابد. غلظت این عنصر در بافت آبشش در مقایسه با سایر بافت های سیاه ماهی حداکثر را نشان داد. محاسبه مقادیر نرخ جذب ( $K_1$ ) و دفع ( $K_2$ ) در تحقیق حاضر نشان می دهد که میزان جذب عنصر مس در بافت های مختلف و در غلظت های متغیر همیشه بالاتر از دفع بوده است هر چند که با انتقال ماهیان به آب تمیز و عاری از عنصر مس میزان دفع شیب شدیدی را نشان داد. به طور کلی میزان دفع فلز مس بستگی به غلظت عنصر در اندام هدف، طول دوره دفع و اختلالات اندام پس از روند انباشت دارد. در نهایت این تحقیق نشان می دهد که در صورت آلودگی آب ها به آلاینده هایی مانند فلزات سنگین، علاوه بر احتمال تجمع زیستی در بافت های مختلف، امکان شناسایی منابع آلاینده ناشی از فعالیت های انسانی نیز وجود دارد.

است بدلیل ترشح موکوس و عملکرد فیزیولوژیکی اندام ها باشد (۲۱، ۱۳). مطالعات مشابهی در ماهی خاکستری در تماس با غلظت های متفاوت فلز مس بوسیله Alikhan و Zia در سال ۱۹۸۹ و عنصر کروم در ماهی *Cirrhinus mrigala* (Palaniappan و Karthikeyan، ۲۰۰۹) گزارش شده است (۲۱، ۵).

فاکتورهای زیادی مانند دما، سختی، سایر فلزات و pH در دفع نیز مانند جذب فلزات به وسیله بافت ها نقش اساسی دارند. بافت آبشش و پوست در دوره دفع میزان بیشتری از فلز مس را از بافت ها دفع نمودند، زیرا که هر دو اندام در معرض مستقیم با محیط تمیز اطرافشان بوده و بدین ترتیب سریع تر عمل دفع را نشان می دهند (۱۹). دلیل دیگر دفع ۸۹ درصد مس از اندام سطحی بدن (پوست)، به دلیل عدم نفوذ عنصر مس به درون سلول ها و پیوند با گروه های سولفیدی بوده است. بنابراین مقدار زیادی از فلز مس موجود در سطح پوست در دوره پالایش پاک می گردد. نتایج این مطالعه نشان می دهد که مقدار زیادی از فلز مس در سطح بافت آبشش جذب شده است چرا که بیشترین میزان فلز جذب شده در مدت ۱۰ روز دفع گردیدند (۸۵ درصد). این نتیجه احتمالاً دلالت بر آن دارد که فلز مس نیمه عمر بیولوژیکی کوتاهی در بافت آبشش دارد که یا به صورت به محیط بر می گردد و یا به سایر بافت ها انتقال می یابد (۱۵).

هر چند که میزان دفع در بافت عضله در غلظت پایین زیر کشندگی، کم است ولی در غلظت بالا (۰/۷۵)، قابل مقایسه (۸۱ درصد) با سایر بافت ها نیز می باشد. به طور کلی، بافت های مورد آزمایش در سیاه ماهی هر چند انباشتگی عنصر مس را در پایان دوره ۲۱ روز به میزان قابل توجهی افزایش نشان دادند، اما بدلیل طول دوره پالایش (۱۰ روز) در محیط عاری از سم، میزان بالایی از دفع در بافت ها یافت گردید (۲۳) که به دلیل دفع مواد باقیمانده غنی از فلز از بدن نیز می باشد. به عبارت

جدول ۴- درصد دفع، شاخص انباشتگی زیستی (BAF) نرخ جذب (K1) و نرخ دفع (K2) در بافت های انتخابی سیاه ماهی در غلظت های زیر کشندگی (میانگین ± انحراف از معیار)

اندام	درصد دفع	BAF	(1-h)K1	(1-h)K2
۰/۲۵ ppm				
آبشش	۸۵/۴۳	۱۱/۵	۰/۱۲±۰/۰۰۱۰	۰/۰۱۰±۰/۰۰۰۹
عضله	۶۹/۳۷	۴/۸	۰/۰۱±۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۳±۰/۰۰۲۱
پوست	۹۲/۵۱	۸/۲	۰/۰۷±۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۸±۰/۰۰۲۳
۰/۷۵ ppm				
آبشش	۸۴/۷۶	۶/۵	۰/۱۲±۰/۰۰۱۰	۰/۰۲۰±۰/۰۰۰۵۴
عضله	۸۱/۰۳	۲/۵	۰/۰۲±۰/۰۰۱۰	۰/۰۰۶±۰/۰۰۱۷
پوست	۸۶/۲۹	۲/۵	۰/۰۲±۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۸±۰/۰۰۱۵

### سیاسگزاری

نویسندگان از گروه محیط زیست دانشگاه بیرجند به دلیل فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی سیاسگزاری می نمایند.

### منابع مورد استفاده

- ۱- عبدلی، ا.، (۱۳۷۸) ماهیان آبهای داخلی ایران، انتشارات موزه طبیعت و حیات وحش ایران، ۳۷۷ ص.
- 2- Agah, H., Leermakers, M., Elskens, M., Fatemi, M.R., Baeyens, W. (2009) Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf. *Environ Monit Assess.* 157:499–514.
- 3- Al-Yousuf, M. H., El-Shahawi, M. S., Al-Ghais, S. M. (2000) Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrimus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *Sci Total Environ.* 256, 87-94.
- 4- Aaseth, J. and Norseth, T. (1986) Copper. In: Handbook on the Toxicology of Metals, 2nd. Ed. eds. L. Friberg, G.F. Nordberg and V.B. Vouk, eds, Elsevier Amsterdam. 11:233-254.
- 5- Alikhan, M A., Zia, S. (1989) Nickel uptake and regulation in copper-tolerant decapods, *Cambarus bartoni* (Fabricius) (Decapods, Crustacea). *B Environ Contam Tox.* 42: 94–102.
- 6- Anderson, D.M. and Morel, F.M. (1978) Copper sensitivity of *Gonyaulax tamarensis*. *Limnol Oceanogr.* 23: 283-295.
- 7- Ay, O., Kalay, M., Tamer, L., and Canli, M. (1999) Copper and Lead accumulation in tissues of a freshwater fish *Tilapia zillii* and its effects on the bronchial Na, K ATPase activity. *B Environ Contam Tox.* 62:160-168.
- 8- Canli, M. and Atli, G. (2003) The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ Pollut.* 121: 129-136.
- 9- Canpolat, Ö., & Çalta, M. (2003) Heavy metals in some tissues and organs of *Capoeta capoeta umbla* (Heckel 1843) fish species in relation to body size, age, sex and seasons. *Fresen Environ B.* 12: 961–966.
- 10- Chale F. (2002) Trace metal concentrations in water, sediments and fish tissue from lake Tanganyika. *Sci Total Environ.* 299: 115-121.
- 11- Coad, B.W. (1998) Systematic biodiversity in the freshwater fishes of Iran. *Italian Journal of Zoology.* 65: 101-108.
- 12- Darryl, W. (1986) Bioconcentration of lipophilic compounds by some aquatic organisms. *Ecotox Environl Safe.* 11: 184–197.
- 13- Graney, R L, Chery, D. S., Cairns, J. (1984) The influence of substrate, pH, diet and temperature upon cadmium accumulation in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) in laboratory artificial



- The 3rd WEPA International Forum on Water Environmental Governance in Asia, Putrajaya, Malaysia, 23-24 October.
- 24-Reddy, R, Pillai, B.R., Adhikari, S. (2006) Bioaccumulation of Copper in postlarvae and juveniles of freshwater prawn exposed to sub-lethal levels of copper sulfate. *Aquaculture*. 252: 356-360.
- 25-Santos, M., Da Chuna, N. and Bianchini, A. (1999) Effects of Copper and Zinc on growth, feeding and oxygen consumption of *Farfantepenaeus paulensis* postlarvae (Decapoda, Penaeidae). *J Exp Mar Biol Ecol*. 247:233-242.
- 26-Shuhaimi-Othman, M., Ahmad Abbas, S.S., Mazati, M. (2006) Bioaccumulation and Elimination of Copper and Lead by freshwater Prawn. *J Biol sci*. 6: 717-722.
- 27-Tekin-Ozan, S. and Kir, I. (2007) Seasonal variations of heavy metals in som organs of carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) from Beysehir Lake(Turkey). *Environ Monit Assess*.138:201-206.
- 28-Van Hattum, B., Korthals, G., Van Straalen, N., Govers, H., Joosse, E. (1993) Accumulation patterns of trace metals in freshwater isopods in sediment bioassays – Influence of substrate characteristics, temperature and pH. *Water Res*. 27: 669–684.
- 29-Varanka, Z., Rojik, I., Varanka, I., Nemcsók, J. & Ábrahám, M. (2001) Biochemical and morphological changes in carp (*Cyprinus carpio* L.) liver following exposure to copper sulfate and tannic acid. *Comp Biochem Physiol C*. 128:467-478.
- 30-Vinodhini, R., Narayanan, M. (2008a) Bioaccumulation of heavy metals in organs of freshwater fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *Inter J Environ Sci Technol*. 5:179-182.
- 31- Wagemann, R. & Muir, D. (1984) Concentration of heavy metals and organochlorines in marine mammals of northern waters overview and evaluation. *Can. Tech. Rep. Fish. Aq.Sci*. No 1279.
- 32- Wicker, A. and Gantt, L. (1994) *Contaminant assessment of fish Rangia clams and sediments in the lower Pamlico River*, North Carolina, U.S Fish and Wildlife service Ecological services.
- 33- Wong, C.K., Wong, P.P.K., and Chu, L.M. (2000) Heavy metal concentrations in marine fishes collected from fish culture sites in Hong Kong. *Arch Environ Contam Toxicol*. 40:60-69.
- streams. *Water Res*. 18: 833–842.
- 14-Houserova, P., Kuban, V., Spurny, P., and Habarta, P. (2006) Determination of total mercury and mercury species in fish and aquatic ecosystems of Moravian rivers. *Vet Medical*. 3:101\_110.
- 15-Kalay, M., and Canli, M. (2000) Elimination of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) metals from tissues of a freshwater fish *Tilapia zillii*. *Turk J Zool*. 24: 429-436.
- 16-Karthikeyan, S., Palaniappan, P. R., and Sabhanayakam, S. (2007) Influence of pH and water hardness upon nickel accumulation in edible fish *Cirrhinus mirigala*. *J Environ Biol*. 28:489-92.
- 17-Murugan, S., Karuppasamy, R., Poongodi, K., Puvaneswari, S. (2008) Bioaccumulation Pattern of Zinc in Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch.) After Chronic Exposure. *Turk J Fish Aquat Sci*.8: 55-59
- 18-Nikolski, A.M. (1897) *Reptiles, amphibians, and fishes collected by N. A. Zarudny in eastern Persia*. Zoology Academy Imperial Sciences Stain Petersburg. 306-348.
- 19-Oliveira-Filho, E.C., Muniz, D.H.F., and Ferreira, M.F.N. (2010) Cesar Koppe Grisolia evaluation of acute toxicity, cytotoxicity and genotoxicity of a nickel mining waste to *Oreochromis niloticus*. *B Environ Contam Tox*. 85:467-471.
- 20-Otitoloju, A. Elegba, O., Osibona, A. (2009) Biological responses in edible crab, *Callinectes amnicola* that could serve as markers of heavy metals pollution. *J Environ Sci*. 29:37-46.
- 21-Palaniappan, P. and Karthikeyan, S. (2009) Bioaccumulation and depuration of chromium in the selected organs and whole body tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala* individually and in binary solutions with nickel. *J Environ Sci*. 21:229-236.
- 22-Pelgrom, S., Lamers, L., Lock, R., Balm, P. & Wendelaar Bonga, S. (1995) Integrated physiological response of tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to sublethal copper exposure. *Aquat Tox*. 32:303-320.
- 23-Rahmawati, S, Salami, I. R. S., Oktaviatun, (2008) *Copper and Lead Depuration in Nila Fish (Oreochromis niloticus L.)* ,

