

تجمع زیستی فلزات سنگین مس، روی، آهن و منگنز در تخم ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از مرحله لقاح تا تخم‌گشایی

غلامرضا رفیعی^(۱)؛ علیرضا میرواقفی^(۲)؛ کامران رضائی توابع^(۳)؛ باقر مجازی امیری^(۴)

و حسین عبدالحی^(۵)

krtavabe@ut.ac.ir

۱، ۲ و ۴ - دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج صندوق پستی: ۴۱۱۱

۳ - ایستگاه پژوهشی مرکز تحقیقات بین‌المللی همزیستی با کویر دانشگاه تهران، سمنان صندوق پستی: ۳۵۱۴۵-۱۹۵

۵ - موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۱۶

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۷

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۶

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی میزان تجمع زیستی فلزات سنگین مس، روی، آهن و منگنز در تخم ماهی قزل‌آلی رنگین‌کمان، تعیین میزان جذب آنها توسط تخم از آب محیط تخم‌گشایی و مقایسه غلظت این فلزات در تخم با استانداردهای EPA انجام گردید. برای انجام این کار، در مرکز ماهی‌سرای نمرود فیروزکوه دو انکوباتور تخم ماهی قزل‌آلا با شرایط یکسان انتخاب گردید؛ در یکی از انکوباتورها حدود ۶۰۰۰۰ تخم لقاح یافته وارد و انکوباتور دیگر خالی و بدون تخم در نظر گرفته شد. سپس بصورت هفتگی از تخمهای داخل انکوباتور و آب ورودی و خروجی هر دو انکوباتور نمونه‌برداری انجام شد. نتایج بدست آمده نشان دادند که غلظت عناصر مورد مطالعه در آب خروجی نسبت به آب ورودی در انکوباتور فاقد تخم تفاوت معنی‌داری ندارند ($P > 0.05$). این مقایسه در انکوباتور حاوی تخم دارای تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) و غلظت عناصر کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده جذب این عناصر توسط تخم از آب محیط انکوباتور می‌باشد. غلظت دو عنصر روی و آهن در عصاره تخم در طول دوره تخم‌گشایی بطور پیوسته افزایش می‌یابد در حالیکه غلظت دو عنصر منگنز و مس تا هفته سوم افزایش و بعد از آن ثابت می‌شود که نشان‌دهنده غلظت آستانه این عناصر در تخم و مقاومت تخم در برابر تجمع زیستی این دو عنصر از این مرحله از دوره تخم‌گشایی می‌باشد. غلظت عناصر مورد مطالعه در بافت تخم در تمام مراحل کمتر از استانداردهای تعیین شده EPA برای بافتهای جانوری بود.

لغات کلیدی: ماهی قزل‌آلی رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss*، فلزات سنگین، تجمع زیستی، تخم

* نویسنده مسئول

مقدمه

میزان جذب و تجمع فلزات سنگین مس، روی، آهن و منگنز که بیشترین اهمیت را از نظر ایجاد سمیت مزمن و حاد در بحث اکوتاکسیکولوژی اکوسیستم‌های آبهای شیرین دارند، در تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از لقای تخم تا تخم‌گشایی آن بررسی می‌شود. اهمیت مطالعه غلظت فلزات سنگین در تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان علاوه بر بررسی میزان جذب این عناصر توسط تخم، از جنبه‌های دیگر نیز قابل بررسی است. یکی اینکه در محیط طبیعی تخم ماهی مورد تغذیه بسیاری از موجودات آبی و نیمه آبی قرار می‌گیرد که باعث تجمع این عناصر در بافتهای بدن آنها و حلقه‌های بعدی زنجیره غذایی می‌شود؛ دیگر اینکه عناصر تجمع یافته در بافت تخم در مراحل بعدی تکامل، در بدن لارو قرار می‌گیرد که کمبود این عناصر یا زیاد بودن آنها می‌تواند تأثیر منفی در کیفیت و بازماندگی لارو داشته باشد. برای این کار در مراحل مختلف دوره تخم‌گشایی، بافت تخم هضم و میزان عناصر مورد مطالعه اندازه‌گیری شده و همزمان تغییرات عناصر مورد نظر در آب خروجی از انکوباتور که از لابلای تخمها عبور کرده است نیز مورد بررسی قرار می‌گیرد تا میزان نیاز تخم به این چهار عنصر تعیین شود. با تعیین میزان نیاز تخم به این عناصر، مدیریت و کنترل غلظت آنها در آب ورودی به مرکز تکثیر امکان‌پذیر بوده و می‌توان اثرات منفی سمیت آنها را جهت تولید تخم و لارو با کیفیت مناسب به حداقل رسانید.

مواد و روش کار

اجرای این تحقیق در زمستان سال ۱۳۸۴ در مرکز ماهی‌سرای نمرود واقع در ۱۱۰ کیلومتر ۱۱۰ جاده فیروزکوه در شمال شرق شهرستان تهران در بخش نمرود از توابع شهرستان فیروزکوه انجام شد. در این مطالعه جهت تخم‌کشی از مولدین سه ساله استفاده شد؛ بطوریکه تعداد ۲۵ عدد ماهی مولد ماده آماده تخم‌کشی بطور تصادفی از ۸ استخر نگهداری مولدین ماده و هم‌زمان ۱۰ عدد ماهی مولد نر آماده اسپرم‌گیری از ۴ استخر نگهداری مولدین نر برای تکثیر انتخاب شدند. عملیات لقاح بصورت خشک انجام شد و تخمهای لقاح یافته پس از نمونه‌برداری اولیه وارد انکوباتور مورد مطالعه شدند. واحد تحقیق شامل یک انکوباتور کالیفرنایی بود که چهار سینی در آن قرار داشت و در هر سینی حدود ۱۵۰۰۰ تخم لقاح یافته (حدود ۶۰۰۰۰ تخم لقاح یافته در چهار سینی انکوباتور)

بسیاری از عناصر در محیطهای آبی از اجزاء بوم‌سازگان محسوب می‌گردند. بطوریکه برخی از آنها در بقاء موجودات زنده آبی نقش مهمی را ایفا می‌کنند. با این وجود چنانچه میزان این عناصر بدلائل گوناگون از حد معینی فراتر رود، حیات آبیان را به خطر می‌اندازد (امینی رنجبر، ۱۳۷۳). فلزات سنگین از جمله این عناصر هستند که به مرور زمان در بافتهای بدن موجودات زنده تجمع زیستی می‌کنند (صادقی‌راد، ۱۳۷۵؛ Ross et al., 2006). تجمع زیستی این عناصر در بافت بدن موجودات زنده و بالا رفتن غلظت آنها از حد مجاز، باعث بروز اثرات زیستی مزمن و حاد در بدن موجود می‌شود (Kimmo et al., 2004). ثبات و پایداری فلزات سنگین در بدن این موجودات و انتقال آنها به حلقه‌های بعدی زنجیره غذایی در حیات موجودات آبی بسیار حائز اهمیت می‌باشد (امینی رنجبر، ۱۳۷۳). تخم و جنین ماهیان بعنوان یک واحد زیستی زنده در محیط آبی همواره در معرض این عناصر هستند. به رغم اینکه در طول دوره تخم‌گشایی، جنین از مواد ذخیره کیسه زرده تغذیه می‌کند، اما مطالعات نشان داده است که برخی از فلزات سنگین مانند آهن (Hirao & Yamada, 1984) مس (Buckley, 1994) و روی (Alquezar et al., 2004) بصورت کوانزیم در متابولیسم تخم و تکامل جنین نقش دارند که تخم ماهی آنها را از طریق کانالهای یونی پوسته تخم (Depeche & Billard, 1994) از آب محیط اطراف بعنوان مواد معدنی جذب می‌کند. بنابراین فلزات سنگین به رغم ماهیت سمی که دارند به میزان بسیار کم برای متابولیسم تخم ضروری و بر کیفیت تخم (Billard & Jensen, 1996) و درصد تخم‌گشایی (Poxton, 1991) تأثیرگذار هستند. بطوریکه امروزه می‌توان غلظت این عناصر در آب ورودی به مراکز تکثیر را بعنوان یکی از عوامل پیراسنجه‌های کیفی آب در نظر گرفت. در طبیعت دوره تخم‌گشایی آزاد ماهیان در آبهای با کیفیت بالا و مناسب سپری می‌شود (Huet, 1996). اما در مراکز تکثیر مصنوعی این ماهیان، کیفیت آب تحت تأثیر تراکم بالای تخم تغییر می‌کند. از آنجائیکه شرایط محیطی آب در دوره تخم‌گشایی بر کیفیت آن تأثیرگذار است (Poxton, 1991). بنابراین تأمین آب با کیفیت مناسب برای تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دوره تخم‌گشایی و شناخت دقیق نیاز تخم به مواد معدنی و یونی موجود در آب و تغییرات میزان این مواد در طول این دوره در توده تخم لازم و ضروری است. در این تحقیق

بعنوان قارچ‌کش در مراکز تکثیر استفاده می‌شود در محل ورودی انکوباتور و سپس تعیین زمان رسیدن این ماده رنگی به محل خروجی آن، میانگین مدت زمان عبور آب از طول انکوباتور محاسبه شد که در انکوباتور مورد مطالعه ۴۲ ثانیه بود. سپس از هر محل نمونه‌برداری حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر آب در ظروف پلاستیکی نمونه‌برداری شد؛ به هر ظرف حاوی نمونه ۲ تا ۳ قطره اتیل الکل اضافه شد تا علاوه بر تثبیت نمونه‌ها از فعالیت میکروارگانیسمها نیز جلوگیری شود. اندازه‌گیری تغییرات عناصر مورد مطالعه در نمونه‌های آب گرفته شده نیز بوسیله دستگاه ICP انجام شد. در هر نمونه‌برداری، غلظت هر عنصر در آب ورودی انکوباتور از آب خروجی انکوباتور کم شد تا مقدار جذب عنصر توسط تخم بدست آید (جدول ۲).

در این تحقیق نرمال بودن داده با آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه میانگین و تعیین اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های غلظت فلزات مورد مطالعه در مراحل مختلف، از قبل از ورود تخم به انکوباتور تا تخم‌گشایی (۶ مرحله) با آزمون دانکن (سطح اعتماد ۵ درصد) و آنالیز تجزیه واریانس یک طرفه انجام گردید. جهت مقایسه میانگین غلظت عناصر بین ورودی و خروجی آب در هر انکوباتور از آزمون T-test استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SPSS-12 و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2003 انجام گردید.

نتایج

اندازه‌گیری تغییرات پیراسنج‌های محیطی و غلظت فلزات سنگین مورد مطالعه در آب ورودی به مرکز تکثیر در طول دوره تحقیق همواره ثابت و تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$) (جدول ۱). نتایج تجزیه و تحلیل غلظت عناصر مورد مطالعه در بافت تخم در مراحل مختلف دوره تخم‌گشایی در نمودارهای ۱ تا ۴ نشان داده شده است. داده‌های بدست آمده نشان دادند که غلظت دو عنصر روی و آهن در عصاره تخم در طول دوره تخم‌گشایی بطور پیوسته افزایش می‌یابد (نمودار ۱ و ۲) در حالیکه غلظت دو عنصر منگنز و مس تا هفته سوم افزایش و بعد از آن ثابت می‌شود (نمودارهای ۳ و ۴) که نشاندهنده غلظت آستانه جذب این عناصر در تخم و مقاومت تخم در برابر تجمع زیستی این دو عنصر از این مرحله از دوره تخم‌گشایی می‌باشد. در این تحقیق در کنار تغییرات عناصر مورد مطالعه در عصاره تخم هضم شده، غلظت عناصر در آب ورودی و خروجی به هر دو انکوباتور نیز

وارد شدند. در تمام مدت طول تحقیق اقدامات مدیریتی نظیر جداسازی تخم‌های لقاح نیافته، تنظیم آب ورودی به انکوباتور و اندازه‌گیری تغییرات پیراسنج‌های محیطی آب انکوباتور (درجه حرارت، میزان اکسیژن محلول در آب و pH) بصورت روزانه با استفاده از دستگاه دیجیتالی مدل Multiline- F/SET-3 انجام گرفت. برای کم کردن خطا و احتمال فعالیت میکروارگانیسمها در داخل انکوباتور اصلی حاوی تخم، یک انکوباتور با همان شرایط انکوباتور اصلی و در کنار هم ولی فاقد تخم، بعنوان انکوباتور شاهد در نظر گرفته شد. دبی آب ورودی به هر دو انکوباتور از یک منبع آبی و برابر ۴ لیتر در دقیقه برای هر سینی (Stickney, 1991) و ۱۶ لیتر در دقیقه برای چهار تا سینی انکوباتور تنظیم شد.

برای نمونه‌برداری از تخم، ابتدا قبل از وارد کردن تخمها به آب انکوباتور بعنوان شاهد از تخمها نمونه‌برداری انجام شد. سپس بعد از قرار دادن تخمها به داخل انکوباتور در هر مرحله نمونه‌برداری (هر هفته) حدود ۱۰۰ عدد تخم از قسمتهای مختلف انکوباتور نمونه‌برداری شدند. تخمهای نمونه‌برداری شده در قوطی‌های پلاستیکی به آزمایشگاه انتقال و تا زمان انجام عملیات آزمایشگاهی در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

یک گرم از هر نمونه تخم با ترازوی دیجیتالی توزین و در دستگاه آون مدل FO-538 در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد به مدت ۶ ساعت قرار داده شد (Mader *et al.*, 1997) تا نمونه تخم خشک شود. سپس نمونه‌های تخم خشک شده به مدت ۶ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد در دستگاه کوره مدل A-FI قرار داده شد تا مواد آلی نمونه‌های تخم تبدیل به مواد معدنی شود. بعد از این مرحله خاکستر بدست آمده با روش دو اسید هضم و عصاره بدست آمده از کاغذ صافی (کاغذ واتمن شماره ۱) عبور داده شد تا محلول کاملاً صاف شود. این محلول با استفاده از آب مقطر دو بار تقطیر به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده شد (Tripathi, 1989). سپس اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین مورد مطالعه در محلول بدست آمده بوسیله دستگاه ICP مدل GBC-XL ساخت آلمان در آزمایشگاه آب و خاک دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام گردید.

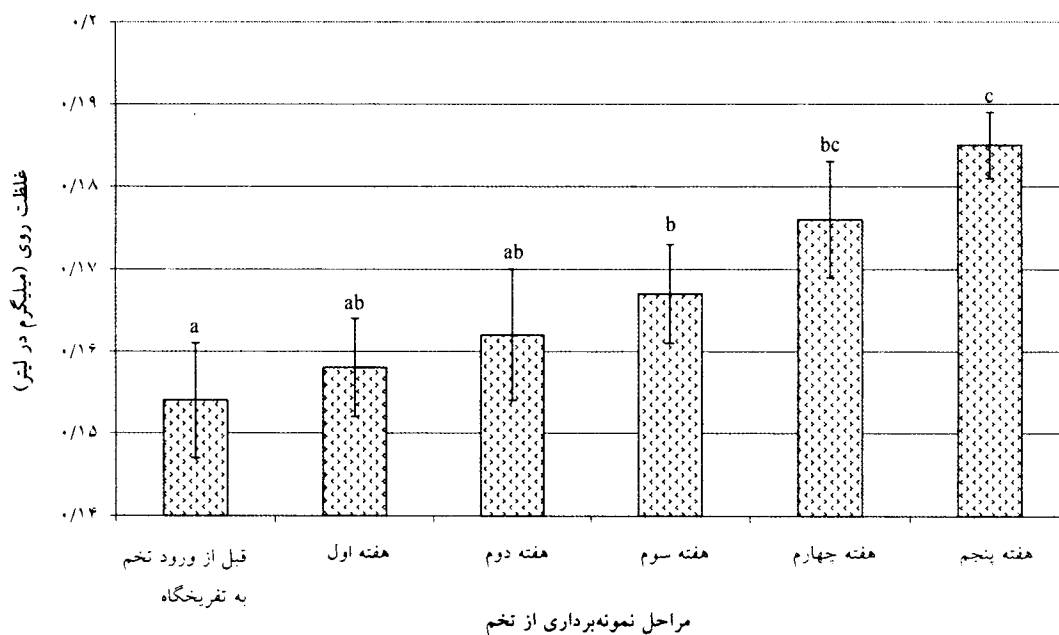
در انجام این تحقیق برای اطمینان از اینکه آب نمونه‌برداری شده از خروجی انکوباتور همان آب نمونه‌برداری شده از ورودی آن می‌باشد، با اضافه کردن ماده رنگی مالاشیت گرین که

داشته ($P < 0.05$) و میزان آنها کاهش یافته است که نشاندهنده جذب آنها توسط تخم‌ها می‌باشد؛ میزان این کاهش غلظت در طول دوره تخم‌گذاری در جدول ۲ آمده است.

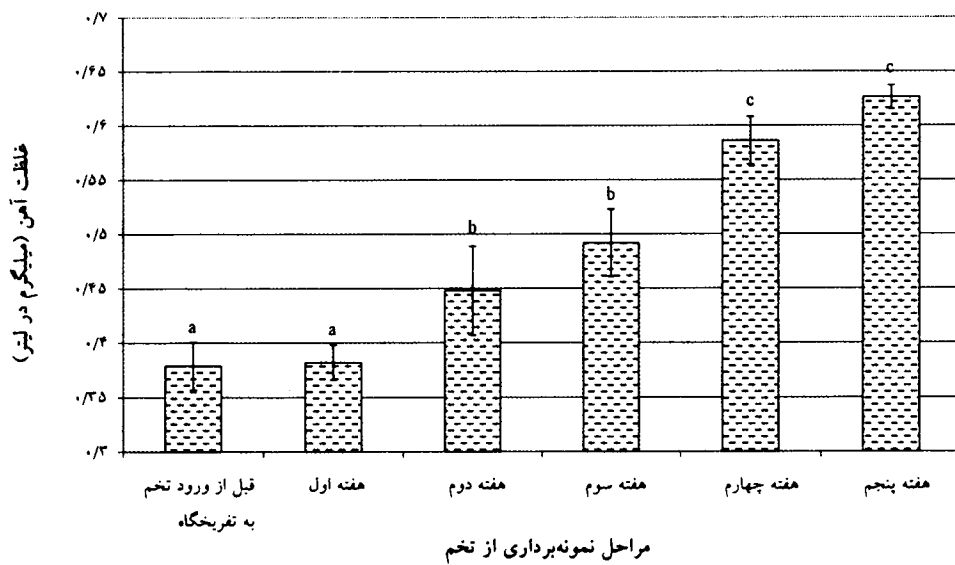
بررسی شد. نتایج بدست آمده نشان دادند که غلظت عناصر در آب ورودی و خروجی انکوباتور فاقد تخم تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($P > 0.05$) اما در انکوباتور حاوی تخم غلظت این عناصر در آب خروجی نسبت به آب ورودی تفاوت معنی‌دار

جدول ۱: میانگین پیراسنجه‌های محیطی و غلظت عناصر مورد مطالعه در آب ورودی به مرکز تکثیر در طول تحقیق

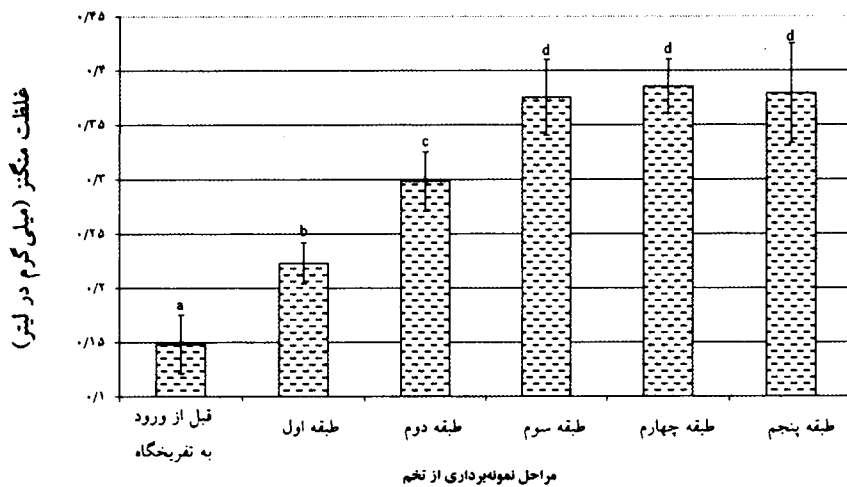
| میانگین | پیراسنجه‌های محیطی و فلزات سنگین مورد مطالعه |
|----------------------------------|--|
| 10.2 ± 1.3 درجه سانتیگراد | درجه حرارت (T) |
| 7.10 ± 0.30 میلی‌گرم در لیتر | اکسیژن محلول (DO) |
| 7.4 ± 0.2 | اسیدیته (pH) |
| 0.53 ± 0.17 میلی‌گرم در لیتر | آهن (Fe) |
| 0.88 ± 0.21 میلی‌گرم در لیتر | منگنز (Mn) |
| 1.02 ± 0.28 میلی‌گرم در لیتر | روی (Zn) |
| 0.67 ± 0.22 میلی‌گرم در لیتر | مس (Cu) |



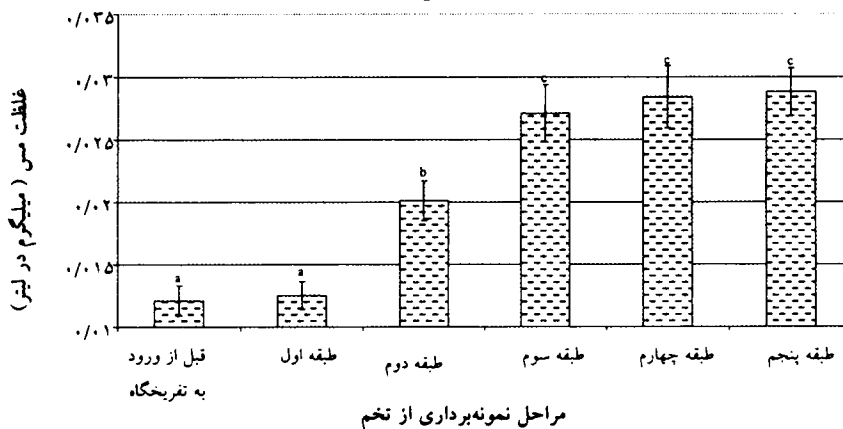
نمودار ۱: تغییرات غلظت روی در عصاره یک گرم تخم هضم شده در طول دوره تخم‌گذاری (حروف لاتین متفاوت نشاندهنده تفاوت معنی‌دار با سطح اعتماد ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد).



نمودار ۲: تغییرات غلظت آهن در عصاره یک گرم تخم هضم شده در طول دوره تخم‌گذاری (حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با سطح اعتماد ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد).



نمودار ۳: تغییرات غلظت منگنز در عصاره یک گرم تخم هضم شده در طول دوره تخم‌گذاری (حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با سطح اعتماد ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد).



نمودار ۴: تغییرات غلظت مس در عصاره یک گرم تخم هضم شده در طول دوره تخم‌گذاری (حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با سطح اعتماد ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد).

جدول ۲: تغییرات عناصر مورد مطالعه در آب خروجی انکوباتور اصلی بر حسب میلی گرم در لیتر *

| هفته اول | مس (Cu) | منگنز (Mn) | آهن (Fe) | روی (Zn) |
|------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| هفته اول | ۰/۰۰۶۶±۰/۰۰۱۴ ^a | ۰/۰۲±۰/۰۰۴ ^{ab} | ۰/۰۰۴±۰/۰۰۱ ^a | ۰/۰۲۶±۰/۰۰۲۴ ^{b**} |
| هفته دوم | ۰/۰۱۵۷±۰/۰۰۲۷ ^b | ۰/۰۲۴±۰/۰۰۳ ^{ab} | ۰/۰۰۵±۰/۰۰۲ ^a | ۰/۰۰۹±۰/۰۰۱۵ ^a |
| هفته سوم | ۰/۰۰۴۶±۰/۰۰۱۶ ^a | ۰/۰۳۷±۰/۰۰۵ ^b | ۰/۰۰۷±۰/۰۰۲ ^a | ۰/۰۰۸۱±۰/۰۰۱۹ ^a |
| هفته چهارم | ۰/۰۱۶۲±۰/۰۰۳۳ ^b | ۰/۰۱۱±۰/۰۰۲ ^a | ۰/۰۲۱±۰/۰۰۴ ^b | ۰/۰۰۶±۰/۰۰۱۴ ^a |
| هفته پنجم | ۰/۰۰۴۵±۰/۰۰۰۵ ^a | ۰/۰۳±۰/۰۰۰۸ ^{ab} | ۰/۰۷۶±۰/۰۰۰۹ ^c | ۰/۰۰۴۵±۰/۰۰۰۹ ^a |

* مقادیر جدول بصورت انحراف معیار تعیین‌کننده بیان شده است.

** حروف انگلیسی متفاوت در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میزان تغییرات در آب خروجی انکوباتور اصلی در مراحل مختلف دوره تخم‌گذاری با سطح اعتماد ۵ درصد می‌باشد.

بحث

مطالعات انجام شده در مورد فلزات سنگین و عملکرد آنها در بافتهای مختلف جانوری عمدتاً تجمع زیستی آنها را در بافتهای هدف، نشان داده است. در این تحقیق علاوه بر مطالعه تجمع زیستی فلزات سنگین مورد مطالعه در بافت تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، میزان جذب این فلزات از آب انکوباتور نیز بررسی شده است. فلزات سنگین در محیط آب تحت تأثیر سختی، شوری، قلیائیت و غلظت سایر عناصر آب رفتار بیوشیمیایی خاصی از خود نشان می‌دهند (Johnson, 1988). چون جذب فلزات سنگین توسط تخم ماهی در محیط آب بصورت یونی و از طریق کانالهای یونی غشاء پلاسمایی صورت می‌گیرد، رقابت یونی بخصوص در یونهای دارای بار الکتریکی مشابه برای جذب شدن توسط تخم ماهی در بین این فلزات وجود دارد (Rogres & Richards, 2003). همانطور که در نتایج بیان شده است در طول تحقیق حاضر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب ورودی به مرکز تکثیر همواره ثابت و تغییرات معنی‌داری را نشان ندادند ($P > 0.05$) (جدول ۱). بنابراین می‌توان تأثیر این عوامل بر تغییر رفتار بیوشیمیایی فلزات مورد مطالعه را در طول تحقیق ثابت در نظر گرفت. در مورد تأثیر زیستی فلزات سنگین بر بافتهای موجودات زنده، محققین مختلف نظرات متفاوتی بیان کرده‌اند؛ برخی عقیده دارند که این فلزات به مقدار جزئی برای متابولیسم بافت ضروری هستند (Marrison et al., 1985); Alquezar et al., 2006 در حالیکه برخی دیگر بیان کرده‌اند که

این فلزات با هر غلظتی برای بافتهای جانوری سمی می‌باشند (Kimmo et al., 2004; Wing et al., 2004). برخی محققین نیز اعتقاد دارند که فلزات سنگین در بافتهای مختلف بدن موجودات زنده تجمع می‌کنند اما وقتی غلظت آنها به حد آستانه رسید بافت جانوری در برابر تجمع بیشتر این فلزات تا حد توان مقاومت می‌کند (Rogres & Richards, 2003). نتایج این تحقیق بطور واضح تجمع زیستی عناصر مورد مطالعه را در بافت تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طول دوره تخم‌گذاری نشان می‌دهد (نمودارهای ۱ تا ۴). نتایج نشان دادند که غلظت دو عنصر روی و آهن در طول دوره تخم‌گذاری بطور پیوسته افزایش می‌یابد (نمودار ۱ و ۲) در حالیکه غلظت دو عنصر منگنز و مس از هفته سوم به بعد ثابت و تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند (نمودارهای ۳ و ۴). به نظر می‌رسد فرضیه غلظت حد آستانه (Rogres & Richards, 2003) در این تحقیق در مورد تجمع زیستی فلزات منگنز و مس در تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان صادق می‌باشد اما تأیید قطعی آن نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. مطالعات نشان داده است که جذب فلزات منگنز و مس توسط تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (Leeuwen et al., 1985) و تخم سگ ماهی (*Scyliorhinus canicula*) (Ross et al., 2006) تحت تأثیر سختی آب می‌باشد ولی در این تحقیق با ثابت بودن سختی آب انکوباتور، این دو فلز رفتار مشابهی را نشان ندادند و تفاوت غلظت منگنز بین مراحل قبل از ورود تخم به انکوباتور و هفته اول معنی‌دار بود ($P < 0.05$) (نمودار ۳) ولی این مقایسه در فلز مس

مقایسه غلظت عناصر مورد مطالعه بین مراحل قبل از ورود تخم به آب انکوباتور و هفته اول فقط در مورد منگنز تفاوت معنی‌دار نشان داد ($P < 0.05$) که نشان‌دهنده تأثیر آب انکوباتور بر جذب این عنصر نسبت به سایر عناصر دیگر مانند مس می‌باشد. نتایج نشان داد که غلظت عناصر مورد مطالعه در بافت تخم در تمام مراحل کمتر از استانداردهای تعیین شده EPA برای بافتهای جانوری بود.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس جاذبی‌زاده و پرسنل محترم مرکز ماهی‌سرای نمرود فیروزکوه جهت راهنمایی‌های ارزنده‌شان در اجرای طرح و از آقای مهندس نظرزاده و آقای مهندس اسداللهی کارشناسان آزمایشگاه منابع طبیعی دانشگاه تهران جهت همکاری در اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از معاونت محترم پژوهشی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران جهت تأمین منابع مالی طرح تشکر و قدردانی بعمل می‌آید.

منابع

امینی رنجبر، غ.، ۱۳۷۳. بررسی میزان تجمع فلزات سنگین (Cd, Pb, Cu, Zn) در رسوبات سطحی تالاب انزلی. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۲، پاییز ۱۳۷۳، صفحات ۵ تا ۲۶.

صادقی‌راد، م.، ۱۳۷۵. بررسی و تعیین میزان فلزات سنگین در چند گونه از ماهیان خوراکی تالاب انزلی، مجله علمی شیلات ایران، شماره ۴، زمستان ۱۳۷۵، صفحات ۱ تا ۱۶.

Alquezar, R. ; Markich, S.J. and Booth, D.J. , 2004.

Effects of metals on condition and reproductive output of the smooth toadfish in Sydney estuaries, South-Eastern Australia. Environmental Pollution, Vol. 23, pp.1-7.

تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$) (نمودار ۴). احتمالاً در این تحقیق دلیل این امر غلظت بالای سختی کلسیم آب ($41/21 \pm 2/73$) میلی‌گرم بر لیتر) نسبت به سختی منیزیم آب ($4/06 \pm 0/28$) میلی‌گرم بر لیتر) ورودی به مرکز می‌باشد؛ زیرا کلسیم آب در یک مکانیسم رقابتی جذب یون دو ظرفیتی مس را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Rogres & Richards, 2003).

برخی محققین بیان کرده‌اند که ممکن است فعالیت میکروارگانیسمها در جذب یا دفع فلزات سنگین در آب انکوباتور تأثیرگذار باشد (Miller & Mickay, 1980; Wing et al., 2004). به همین دلیل در این تحقیق یک انکوباتور با شرایط مشابه انکوباتور مورد مطالعه و در کنار هم ولی بدون تخم جهت کنترل فعالیت میکروارگانیسمها در نظر گرفته شد. نتایج بررسی تغییرات عناصر مورد مطالعه در آب خروجی انکوباتور فاقد تخم تفاوت معنی‌داری با آب ورودی آن نشان نداد ($P > 0.05$) اما این مقایسه در انکوباتور حاوی تخم در تمام مراحل نمونه‌برداری برای عناصر مورد مطالعه معنی‌دار ($P < 0.05$) و غلظت عناصر کاهش یافته است که این میزان کاهش مربوط به جذب این عناصر توسط تخمهای درون انکوباتور می‌باشد (جدول ۲). در حقیقت نتایج این بخش تأییدکننده نتایج بخش اول می‌باشد یعنی افزایش غلظت عناصر مورد مطالعه در بافت تخم در طول دوره تخم‌گشایی مربوط به جذب آنها از آب انکوباتور توسط تخم می‌باشد.

نتایج این تحقیق نشان دادند که غلظت عناصر مورد مطالعه در عصاره وزن خشک تخم ثابت نبوده و با یک روند افزایشی میزان آنها در طول دوره تخم‌گشایی تغییر می‌کند (نمودارهای ۱ تا ۴). تنها منبع ممکن برای جذب این عناصر، آب انکوباتور می‌باشد؛ بر این اساس جدول ۲ میزان جذب آنها از آب محیط انکوباتور را در طول دوره تخم‌گشایی نشان می‌دهد. مقایسه میانگین غلظت عناصر مورد مطالعه در آب خروجی انکوباتور فاقد تخم نسبت به آب ورودی آن تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$) اما این مقایسه در آب خروجی انکوباتور اصلی حاوی تخم نشان داد تغییرات غلظت عناصر نسبت به ورودی آن در تمام مراحل نمونه‌برداری معنی‌دار ($P < 0.05$) و کاهش یافته است که نشان‌دهنده جذب این عناصر توسط تخم می‌باشد.

- Billard, R. and Jensen, C. , 1996.** Predictions for salmonid egg development. *Aquaculture Engineering*, Vol. 70, pp.1-5.
- Buckley, J.M. , 1994.** A cupric ion-copper bioaccumulation relationship in Coho salmon exposed to copper-containing treated sewage. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Vol. 78, pp.105-110.
- Depeche, J. and Billard, R. , 1994.** Embryology in Fish a Review, Society France Ichthyology, Paris, France. 123P.
- Hirao, S. and Yamada, J. , 1984.** Relation between biochemical constituents of rainbow trout eggs and hatching rate. *Fish Science Journal*, Vol. 21, pp.240-243.
- Huet, M. , 1996.** Text Book of Fish Culture. Fishing News Books, 2nd edition, Oxford. 437P.
- Johnson, L. , 1988.** The effects of combinations of heavy metals, hypoxia and salinity on ion regulation in *Crangon crangon* and *Careinus maenus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Vol. 91, pp.459-463.
- Kimmo, A.M. ; Pentinen, O.P. and Jussi, V.K. , 2004.** Pentachlorophenol bioaccumulation and effect on heat production on Salmon eggs at different stages of development. *Aquatic Toxicology*, Vol. 68, pp.75-85.
- Leeuwen, C.V. ; Griffioen, P.S. and Vergouw, W.A. , 1985.** Differences in susceptibility of early life stages of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to environmental pollutants. *Aquatic Toxicology*, Vol. 7, pp.59-78.
- Mader, P. ; Szakova, J. and Miholva, D. , 1997.** Classical dry ashing of biological and agricultural materials. Part 2, losses of analyses due to their retention in an insoluble residue. *Analisis*, Academic Press, pp.121-129.
- Marrison, P.F. ; Leatherland, J.F. and Sonstegard, R.A. , 1985.** Proximate composition and organochlorine and heavy metal contamination of eggs from Lake Ontario Coho salmon in relation to egg survival. *Aquatic Toxicology*, Vol. 6, pp.73-86.
- Miller, T.G. and Mickay, W.C. , 1980.** The effect of hardness, alkalinity and pH of test water on the toxicity of copper to Rainbow trout. *Water Research*, Vol. 14, pp.129-133.
- Poxton, M.G. , 1991.** Incubation of salmon eggs and rearing of alevins: Natural temperature fluctuations and their influence on hatchery requirement. *Aquaculture Engineering*, Vol. 1, pp.31-35.
- Rogres, J.T. and Richards, J.G. , 2003.** Ion regulatory disruption as the acute toxic mechanism for dead in rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, Vol. 64, pp.215-234.
- Ross, A.J. ; Warnau, M. ; Oberhansli, F. and Teyssie, J.L. , 2006.** Bioaccumulation of heavy metals and radionuclides from seawater by encased embryos of the spotted dog fish *Scyliorhinus canicula*. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 52, pp.1278-1286.
- Stickney, R. , 1991.** Culture of salmonid fishes. 2nd edition. CRC Press, New York, U.S.A. 177P.

Tripathi, R.D. , 1989. Methods of analysis. Wiley Eastern Limited, New Delhi, Academic Press, 244P.

Wing, H.L. ; Chan, P.C. and Chan, M.K. , 2004. Metal uptake in zebra fish embryo-larvae exposed to metal-contaminated sediments. Marine Environmental Research, Vol. 58, pp.829-832.

**The study of heavy metals Copper, Zinc, Iron and Manganese
bioaccumulation in the eggs of rainbow trout
(*Oncorhynchus mykiss*) during incubation period**

Rafiee Gh. R.⁽¹⁾ ; Mirvaghefi A.R.⁽²⁾ ; Rezaei Tavabe K.^{(3)*} ;

Mojazi Amiri B.⁽⁴⁾ and Abdolhai H.⁽⁵⁾

krtavabe@ut.ac.ir

1, 2 & 4- Natural Resources Faculty of Tehran University, P.O.Box: 4111 Karaj, Iran

3 – Research Center of Living with Desert, Tehran University, P.O.Box: 35145-195 Semnan, Iran

5- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

Received: March 2007

Accepted: December 2008

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, Heavy metal, Bioaccumulation, Eggs

Abstract

The aims of the present study were to examine bioaccumulation of heavy metals copper, zinc, iron and manganese in rainbow trout eggs at different stages of incubation period and to compare the results with those of the EPA standards. The research was carried out at Firoozkooch Namroud Rainbow Trout Hatchery Center. For this purpose, two incubators with the same condition as experimental units were selected, one of them was the experimental incubator with approximately 60000 eggs and the other one had no eggs as the control. Sampling of eggs and water during incubation period was conducted weekly. The results showed significant differences ($P < 0.05$) and decrease in the concentration of the studied elements in the discharge water of the experimental incubator compared to the input water but this comparison did not show any significant differences ($P > 0.05$) in the control incubator. This indicates that eggs have absorbed these elements from incubation water and then showed increasing trend for Zn and Fe elements concentration in dry weight egg extract during incubation stages but increasing trend in Mn and Cu elements went on until the third stage. The results indicate that threshold concentrations for Mn and Cu in egg cause egg resistance against more absorption of these elements. Also, the results showed that at all sampling stages, concentration of the studied elements was lower than EPA standards for animal textures.

* Corresponding author