

تعیین غلظت نیمه کشنده (LC₅₀ 96h) فلز سنگین کادمیوم در گونه ی جدید اویستر *Crassostrea sp.*

سیما سرمدیان*^۱، علیرضا صفاهیه^۱، حسین ذوالقرنین^۱، بیتا ارچنگی^۱، محمود هاشمی تبار^۲

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۲. دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

چکیده

کادمیوم پس از جیوه دومین فلز سمی در محیطهای دریایی محسوب می گردد. دوکفه ای ها و خصوصا اویسترها به دلیل دارا بودن نرخ فیلتراسیون بالا، عدم تحرک و نداشتن سیستم های تنظیمی مواد آلاینده بیواندیکاتور مناسبی برای ارزیابی فلزات سنگین در محیط می باشند. اویستر *Crassostrea sp.* یک گونه تازه شناسایی شده در منطقه بندر امام خمینی می باشد که به دلیل پراکنش وسیع، گونه مناسبی برای بررسی تست های سمیت می باشد که برای تعیین اثرات آلاینده ها در محیط مورد استفاده قرار می گیرند. هدف از انجام این مطالعه، مشخص نمودن محدوده کشندگی، تعیین غلظت نیمه کشنده (LC₅₀96h)، تعیین حداکثر غلظت مجاز (MATC) و تعیین حداقل غلظت موثر (LOEC) فلز کادمیوم بر این اویستر به عنوان یک بیواندیکاتور مناسب می باشد. تعداد ۲۵۰ اویستر با میانگین وزنی $0.76 \pm 0.5/3$ گرم از اسکله های واقع در بندر امام خمینی جمع آوری گردید. پس از یک هفته سازگاری در آزمایشگاه، تست سمیت حاد بر اساس دستورالعمل استاندارد O.E.C.D به مدت ۹۶ ساعت در غلظت های ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ صورت پذیرفت. در این پژوهش LC₅₀ 96h کادمیوم برای این اویستر ۱۵/۸ mg/l بدست آمد. همبستگی میان میزان LC₅₀ در زمان های ۲۴ الی ۹۶ ساعت معادله خطی $y = -0.4225x + 54.35$ را نتیجه داد. حداکثر غلظت مجاز پیشنهادی (MAC value) کادمیوم برای این اویستر یا غلظت غیر موثر (NOEC)، ۱/۵۸ mg/l می باشد. حداقل غلظت موثر (LOEC) این فلز نیز ۲/۹ mg/l تعیین گردید.

واژگان کلیدی: *Crassostrea sp.*، آلودگی، غلظت نیمه کشنده، فلزات سنگین، کادمیوم، اویستر

* نویسنده مسوول، پست الکترونیک: Sarmadiyansima@kmsu.ac.ir

۱. مقدمه

فلزات سنگین به عنوان آلاینده های مهم در محیط های آبی شناخته شده اند. این آلاینده ها هنگامی که در غلظتهای بالا در محیط باشند باعث آسیب های جبران ناپذیر متابولیکی، فیزیولوژیکی و ساختاری ارگانسیم های آبی می شوند. برخی فلزات سنگین در غلظت های بسیار پایین نیز برای بسیاری از ارگانسیم ها سمی هستند و کاربرد مفیدی در بدن موجودات ندارند. فلزاتی از قبیل: جیوه، کادمیوم و سرب از این گروه اند. کادمیوم پس از جیوه دومین فلز سمی در محیطهای دریایی محسوب می گردد (Timbrell, 1989). این فلز جزو فلزات غیر ضروری است که اثرات زیانباری بر سلامت آبزیان و انسان دارد. کادمیوم با اتصال به آنزیم ها سبب غیر فعال شدن آنها شده و یا جایگزین فلزات ضروری در ساختار بیومولکولها می گردد و با تغییر در ساختار آنها و اثر بر عملکردشان سبب اختلال در عملکردهای متابولیسمی بدن می شود (Steen et al., 2007). کادمیوم علاوه بر مرگ و میر در موجودات مواجهه شده می تواند باعث تغییرات خاص در سطوح بالاتر از جمله تغییر در دینامیک جمعیت و تغییر در تنوع زیستی در سطح درون گونه ای و بین گونه ای گردد (Zhou et al., 2004). حداکثر میزان مجاز آن در آب ۰/۰۰۳ میلی گرم در لیتر است (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱).

هدف از سنجش فلزات سنگین در آبزیان به عنوان بیواندیکاتور، توجه به تاثیرات آلودگیها بر ارگانسیم ها و سلامت اکوسیستم است. در میان آبزیان، دو کفه ایها به دلیل عدم تحرک، تغذیه پالوده خواری و نداشتن سیستمهای تنظیمی مواد آلاینده در خود، مناسبترین گونه های بیواندیکاتور تشخیص داده می شوند (Bocchetti et al., 2008). اویسترها دوکفه ای هایی هستند که به دلیل دارا بودن نرخ فیلتراسیون بالا، ظرفیت بالایی برای تجمع فلزات سنگین دارند. اویستر

با *Crassostrea* ارزش ترین نرمتن در جهان می باشد (FAO, 2004). گونه ای از این جنس *Crassostrea sp.* می باشد که به تازگی شناسایی شده و آرایش ژنی آن در سایت NCBI ثبت گردیده است. این گونه به دلیل پراکنش وسیع در منطقه بندر امام خمینی، گونه مناسبی برای بررسی تست های سمیت می باشد که برای تعیین اثرات آلاینده ها در محیط مورد استفاده قرار می گیرند.

اولین مرحله برای تعیین اثرات آلاینده ها تست سمیت حاد است که می تواند با استفاده از باکتریها، بی مهرگان و ماهیها در راستای نشان دادن پتانسیل خطر پذیری این مواد شیمیایی انجام شود (OECD, 1993; Yilmaz, 2004). این تست ها شواهد مستقیمی برای پاسخ های بیولوژیک آبزیان به آلاینده ها ارائه می دهند. گونه های مختلف ارگانسیم ها حساسیت متفاوتی به مواد آلاینده دارند. به همین علت تهیه یک استاندارد مناسب برای حفاظت از گونه ها با توجه به آلاینده های محیطی مشکل است. تست تعیین غلظت نیمه کشندگی ۹۶ ساعته ($LC_{50} 96h$) برای سنجش قابلیت مستعد بودن و پتانسیل بقا جانوران در برابر مواد سمی از جمله فلزات سنگین انجام می شود. LC_{50} یک مفهوم آماری است که بیانگر غلظتی از آلاینده است که موجب مرگ و میر ۵۰٪ از جمعیت یک گونه می گردد. مرگ و میر و زنده ماندن در بازه زمانی مشخص از اساسی ترین مفاهیم تستهای کوتاه مدت یا حاد هستند (Elia et al., 2003). ارقام بالاتر LC_{50} نشان دهنده سمیت کمتر آلاینده می باشد. زیرا غلظت بیشتری برای تولید ۵۰٪ مرگ و میر در ارگانسیم ها مورد نیاز است. هدف از انجام این مطالعه، مشخص نمودن محدوده کشندگی، تعیین غلظت نیمه کشنده ($LC_{50} 96h$)، تعیین حداکثر غلظت مجاز 1^{MATC} و تعیین حداقل غلظت موثر 2^{LOEC} فلز کادمیوم بر اویستر *Crassostrea sp.* می باشد. تا با استفاده از آن،

بر روی اویستر *Crassostrea sp.* انجام شد. در انتهای آزمایش LC_{50} ۹۶ ساعت تعیین گردید. داده های حاصل با کمک نرم افزار SPSS و با استفاده از روش آماری Probit analysis با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. غلظت های کشندگی حد ۲۴ ساعت (LC_{50} 24h)، ۴۸ ساعت (LC_{50} 48h)، ۷۲ ساعت (LC_{50} 72h) و ۹۶ ساعت (LC_{50} 96h) کادمیوم بر اویستر *Crassostrea sp.*، مورد مطالعه قرار گرفت.

۳. نتایج

در طی تست تعیین محدوده کشندگی کادمیوم بر روی اویستر *Crassostrea sp.* در غلظت های صفر و ۲ میلی گرم بر لیتر، مرگ و میری مشاهده نشد ولی در غلظت ۳۲ میلی گرم بر لیتر، میزان تلفات ۱۰۰ درصد بود. پس از تعیین محدوده کشندگی کادمیوم، تست سمیت حد (LC_{50}) در ۵ غلظت مختلف (۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ mg/l) به همراه شاهد و در ۳ تکرار انجام گردید و نتایج مرگ و میر در طی زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه گیری شدند (جدول ۱). همانگونه که در این جدول مشاهده می شود در تیمار شاهد تلفاتی مشاهده نشد در حالی که در غلظت ۳۲ میلی گرم بر لیتر ۹۶ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر در غلظت های ۰، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی گرم بر لیتر پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۰، ۰، ۱، ۲، ۵ و ۷ به دست آمد. بر اساس این نتایج میزان غلظت کشنده (LC_{10-95}) کادمیوم بر اویستر *Crassostrea sp.* در طی زمان ۲۴ ساعت به دست آمد. غلظت کشنده ۲۴ ساعته (LC_{50}) 24h) با حدود اطمینان ۹۵ درصد ۴۴/۷ میلی گرم بر لیتر (حد پایینی برابر با ۳۳/۹ و حد بالایی برابر با ۷۵/۸) می باشد. سایر مقادیر LC_{10-95}) با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۲ آمده است.

مراحل بعدی مطالعات توکسیکولوژی در این گونه صورت پذیرد.

1-Maximum Allowable Toxicant Concentration 2- Lowest Observed Effect Concentration

۲. مواد و روش ها

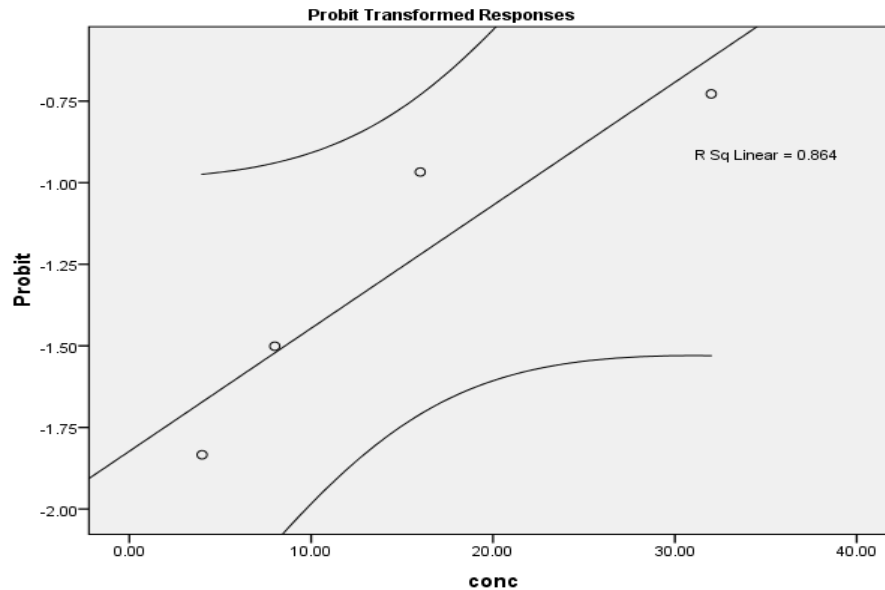
تست سمیت حد با جمع آوری ۲۵۰ اویستر *Crassostrea sp.* با میانگین وزنی $± ۰/۷۶$ ۵/۳ گرم از اسکله های بندر امام خمینی (ایستگاه های پاک تر شناسایی شده براساس مطالعات محیطی) در شمال غرب خلیج فارس در تاریخ آبان ۱۳۹۰ آغاز شد. اویسترها در یک تانک ۶۰ لیتر پر شده از آب دریا همراه با هوادهی به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه اویسترها پس از جداسازی توسط اسکالپل، در آکواریوم های ۲۰ لیتری شفاف حاوی آب دریا، جای گرفتند. نمونه ها به مدت یک هفته در آزمایشگاه سازگاری داده شدند. در طی این دوره، تغذیه با کمک فیتو پلانکتون کتیوسروس که در آزمایشگاه کشت داده می شد، انجام گردید و تانکها در طول آزمایش هوادهی می گردید. قبل از تست تعیین غلظت نیمه کشنده (LC_{50})، Range Finding Test جهت تعیین دامنه غلظت انجام گردید. غلظت های ۰، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ mg/l برای انجام آزمایش LC_{50} انتخاب شدند. جهت انجام تست LC_{50} اویسترها در آکواریوم های شفاف پلاستیکی با حجم ۲۰ لیتر که با آب دریا ۴۲ قسمت در هزار پر شده بود نگهداری شدند. در طول مدت آزمایش LC_{50} غذادهی قطع شد. برای این آزمایش ۶ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار آماده شد. در هر آکواریوم ۱۰ عدد اویستر قرار داده شد و برای مدت ۹۶ ساعت با غلظتهای مورد نظر مواجه گردیدند. طی دوره آزمایش دمای آب $± ۰/۵$ ۱۴ درجه سانتیگراد، شوری آب ۴۲ قسمت در هزار و رژیم نوری (فتوپریود) 12hD : 12hL برقرار گردید. این تست به روش Static renewal و بر اساس دستورالعمل استاندارد (TRC, 1984) O.E.C.D) به مدت ۹۶ ساعت

جدول ۱. میزان مرگ و میر *Crassostrea sp.* در تست سمیت حاد (LC₅₀ 96h) کادمیوم (N=30)

غلظت (mg/l)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
شاهد	۰	۰	۰	۰
۲	۰	۰	۰	۰
۴	۱	۳	۴	۵
۸	۲	۳	۶	۱۰
۱۶	۵	۶	۱۲	۱۷
۳۲	۷	۱۲	۲۴	۲۹

جدول ۲. غلظت کشنده (LC₁₀₋₉₅) کادمیوم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۲۴ ساعت

حدود اطمینان ۹۵٪		غلظت کشنده (mg/l)	LC
حد بالا	حد پایین		
۲۳/۹	۹/۱	۱۶/۶	LC ₁₀
۳۹/۵	۱۹/۸	۲۶/۳	LC ₂₀
۵۲/۸	۲۵/۵	۳۳/۲	LC ₃₀
۶۴/۶	۲۹/۹	۳۹/۱	LC ₄₀
۷۵/۸	۳۳/۹	۴۴/۷	LC ₅₀
۸۷/۱	۳۷/۸	۵۰/۲	LC ₆₀
۹۹/۲	۴۱/۸	۵۶/۲	LC ₇₀
۱۱۳/۵	۴۶/۶	۶۳/۱	LC ₈₀
۱۱۳/۴	۵۳/۰.۸	۷۲/۷	LC ₉₀
۱۴۹/۸	۵۸/۴	۸۰/۷	LC ₉₅



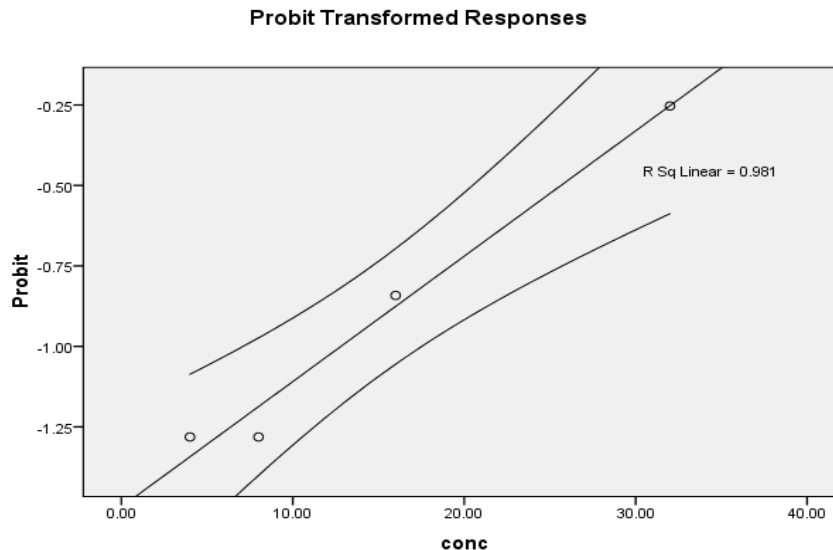
نمودار ۱. غلظت کشنده (LC₁₀₋₉₅) کادمیوم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۲۴ ساعت

کادمیوم کلراید با حدود اطمینان ۹۵ درصد ۳۵/۱ میلی گرم بر لیتر (حد پایینی برابر با ۲۸/۱ و حد بالایی برابر با ۴۹/۵)، می باشد که میزان LC₅₀ 48h نسبت به میزان LC₅₀ 24h کاهش داشته است. سایر مقادیر LC (LC₁₀₋₉₅) با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۳ آمده است.

پس از گذشت ۴۸ ساعت در تیمار شاهد هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشد. میزان مرگ و میر پس از ۴۸ ساعت در غلظت های ۰، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۰، ۰، ۳، ۳، ۶ و ۱۲ به دست آمد. بر این اساس میزان غلظت کشنده ۴۸ ساعته (LC₅₀ 48h)

جدول ۳. غلظت کشنده (LC₁₀₋₉₅) کادمیوم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۴۸ ساعت

حدود اطمینان ۹۵٪		غلظت کشنده (mg/l)	LC
حد بالا	حد پایین		
۱۵/۵	۳/۷	۱۰/۶	LC ₁₀
۲۵/۱	۱۴/۱	۱۹/۰۴	LC ₂₀
۳۳/۸	۱۹/۹	۲۵/۱	LC ₃₀
۴۱/۷	۲۴/۳	۳۰/۲	LC ₄₀
۴۹/۵	۲۸/۱	۳۵/۱	LC ₅₀
۵۷/۳	۳۱/۸	۳۹/۹	LC ₆₀
۶۵/۸	۳۵/۷	۴۵/۱	LC ₇₀
۷۵/۸	۴۰/۲	۵۱/۱	LC ₈₀
۸۹/۷	۴۶/۳	۵۹/۶	LC ₉₀
۱۰۱/۲	۵۱/۴	۶۶/۵	LC ₉₅



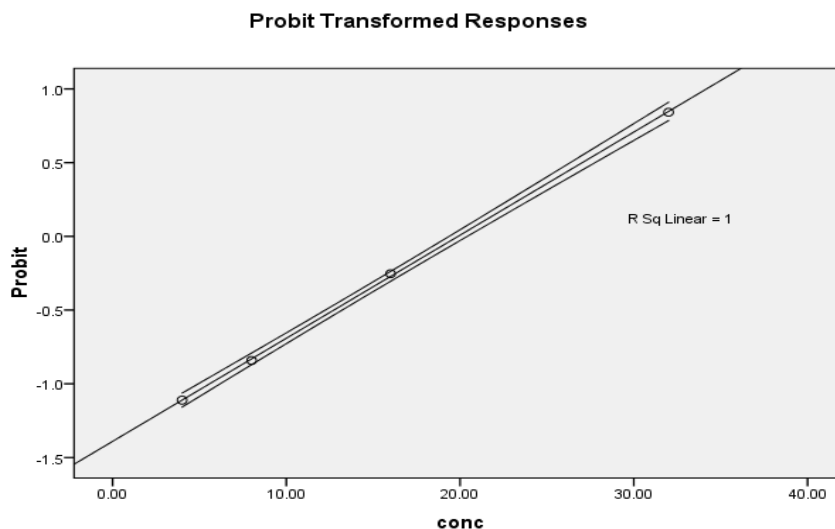
نمودار ۲. غلظت کشنده ($LC_{10.95}$) کادمیوم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۴۸ ساعت

بالایی برابر با ۲۴/۴، ۲۰/۴ میلی گرم بر لیتر می باشد. همانگونه که ملاحظه می گردد کلیه غلظت های کشنده در مدت زمان ۷۲ ساعت نسبت به ۲۴ و ۴۸ ساعت کاهش واضحی را نشان می دهد. سایر مقادیر $LC_{10.95}$ با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۴ آمده است.

در تیمار شاهد پس از مدت زمان ۷۲ ساعت هیچ تلفاتی مشاهده نشد در حالی که در غلظت ۳۲ میلی گرم بر لیتر ۸۰ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر در غلظت های ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۰، ۰، ۴، ۶، ۱۲ و ۲۴ به دست آمد. میزان غلظت کشنده ۷۲ ساعته (LC_{50} 72h) کادمیوم با حدود اطمینان ۹۵ درصد (حد پایینی برابر با ۱۷/۴ و حد

جدول ۴. غلظت کشنده ($LC_{10.95}$) کادمیوم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۷۲ ساعت

حدود اطمینان ۹۵٪		غلظت کشنده (mg/l)	LC
حد بالا	حد پایین		
۸/۴	۱/۱	۵/۳	LC_{10}
۱۳/۳	۷/۳	۱۰/۵	LC_{20}
۱۷/۲	۱۱/۴	۱۴/۲	LC_{30}
۲۰/۸	۱۴/۶	۱۷/۴	LC_{40}
۲۴/۴	۱۷/۴	۲۰/۴	LC_{50}
۲۸/۱	۲۰/۰.۸	۲۳/۳	LC_{60}
۳۲/۱	۲۲/۸	۲۶/۵	LC_{70}
۳۷/۰.۳	۲۵/۹	۳۰/۲	LC_{80}
۴۳/۸	۳۰/۲	۳۵/۴	LC_{90}
۴۹/۴	۳۳/۷	۳۹/۷	LC_{95}



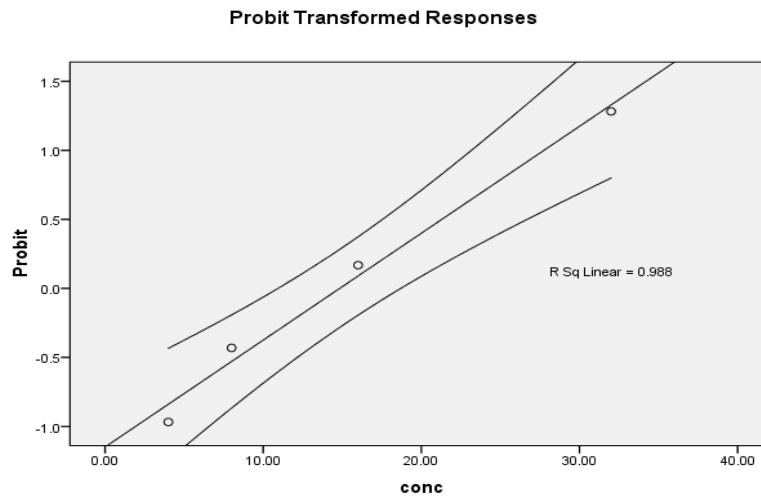
نمودار ۳. غلظت کشنده (LC_{10-95}) کادمیوم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۷۲ ساعت

در غلظت های ۰، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی گرم بر لیتر میزان مرگ و میر پس از ۹۶ ساعت به ترتیب ۰، ۰، ۵، ۱۰، ۱۷ و ۲۹ به دست آمد و در تیمار شاهد هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشد. میزان غلظت کشنده ۹۶ ساعته

(LC_{50} 96h) کادمیوم با حدود اطمینان ۹۵ درصد (حد پایینی برابر با ۱۰/۷ و حد بالایی برابر با ۲۵/۱)، ۱۵/۸ میلی گرم بر لیتر می باشد. سایر مقادیر LC_{10-95} با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۵ آمده است.

جدول ۵. غلظت کشنده (LC_{10-95}) کادمیوم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۹۶ ساعت

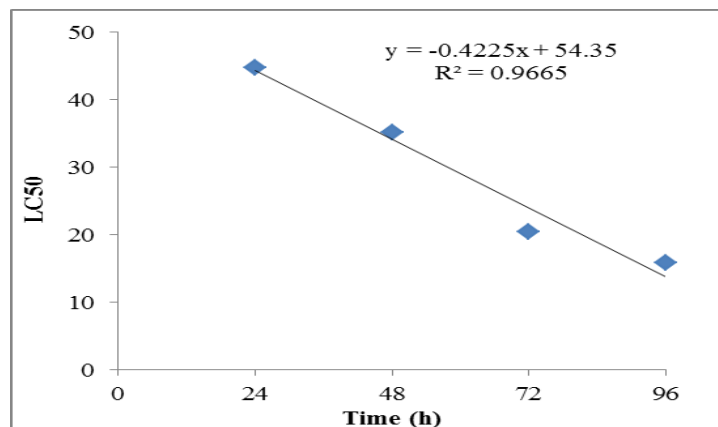
حدود اطمینان ۹۵٪		غلظت کشنده (mg/l)	LC
حد بالا	حد پایین		
۸/۲	-۸/۹	۲/۹	LC_{10}
۱۲/۵	-۰/۶	۷/۴	LC_{20}
۱۶/۵	۴/۳	۱۰/۵	LC_{30}
۲۰/۶	۷/۹	۱۳/۳	LC_{40}
۲۵/۱	۱۰/۷	۱۵/۸	LC_{50}
۲۹/۹	۱۳/۱	۱۸/۳	LC_{60}
۳۵/۳	۱۵/۴	۲۱/۱	LC_{70}
۴۱/۹	۱۷/۹	۲۴/۲	LC_{80}
۵۱/۲	۲۱/۱	۲۸/۷	LC_{90}
۵۹/۰۵	۲۳/۷	۳۲/۳	LC_{95}



نمودار ۴. غلظت کشنده (LC_{10-95}) کادمیوم با حدود اطمینان ۹۵٪ در طی زمان ۹۶ ساعت

همبستگی بین میزان LC_{50} در زمان های ۲۴ الی ۹۶ ساعت معادله خط $y = -0.4225x + 54.35$ به دست آمد و میزان همبستگی ۹۵ درصد به دست آمد. با توجه به همبستگی بالا بین میزان LC_{50} و زمان می توان از این معادله برای پیش بینی LC_{50} در زمان های مختلف استفاده کرد.

تاثیر کادمیوم بر روی مرگ و میر اویسترها در زمان های مختلف متفاوت بوده به طوری که مرگ و میر با افزایش زمان کاهش می یابد. میزان LC_{50} کادمیوم بر اویستر نشان می دهد که این فلز در یک محدوده کم بر اویسترها تأثیر گذار می باشد و در نمودار Probit این موضوع نشان داده شده است (نمودار ۵). با ایجاد

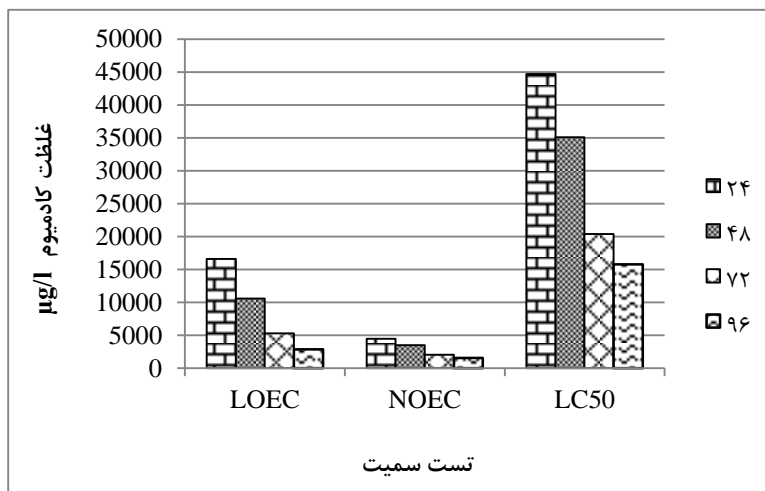


نمودار ۵. نمودار همبستگی بین زمان در معرض قرار گیری با غلظت های کشنده حاد کادمیوم

کشندگی حاد LC_{50} معادله خط برابر با $y = -0.4225x + 54.35$ بدست می آید. از آنجا که میزان R^2

با ایجاد همبستگی بین زمان های در معرض قرار گیری ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت با کادمیوم و غلظت نیمه

در این معادله بالا و برابر با ۹۶ درصد است می توان با این معادله میزان LC_{50} را در طی زمان های مختلف به حداکثر غلظت قابل قبول کادمیوم^۱ (MATC value) در این اویستر براساس TRC (۱۹۸۴) $1580 \mu\text{g/l}$ محاسبه گردید. نتایج بررسی غلظت غیر موثر^۲ (NOEC) و حداقل غلظت موثر^۳ (LOEC) و مقایسه آنها با LC_{50} در نمودار ۶ دیده می شود.



نمودار ۶. مقایسه نتایج تستهای مختلف کادمیوم در *Crassostrea sp.*

محیط طبیعی با توجه به شرایط مختلف تغییر می کند. فاکتورهای موثر بر سطح کادمیوم را می توان به دو گروه فاکتورهای درونی (ویژگیهای افراد گونه) و فاکتورهای بیرونی (ویژگیهای آب) تقسیم کرد. فاکتورهای درونی شامل نوع گونه، زیستگاه، فراوانی غذایی، میزان متابولیسم، سن، نرخ رشد، سایز، توده بدنی و رژیم غذایی است. فاکتورهای بیرونی نیز شامل pH، دما و شوری می باشد. سمیت کادمیوم با سختی آب نیز تغییر می کند. این سمیت برای ارگانسیم های دریایی پایین تر از ارگانسیم های آب شیرین است چرا که آب دریا به دلیل یونهای فراوان با یونهای آزاد کادمیوم ترکیب شده و با ایجاد کمپلکس، سمیت آن را کاهش می دهد.

جهت انجام تست سمیت تا جایی که ممکن است تمامی پارامترهای آزمایشگاهی ثابت نگه داشته می شود تا تاثیر این فاکتورها به حداقل برسد. بسیاری از گونه

۴. بحث و نتیجه گیری

دوکفه ای *Crassostrea sp.* در منطقه بندر امام خمینی از پراکنش وسیعی برخوردار است و به نظر می رسد که با وجود آلاینده های فراوان در این منطقه به خوبی توانسته با محیط سازگار شده و در سواحل و پایه اسکله ها به وفور یافت شود (سرمیدان، ۱۳۹۳). مطالعه اثرات فلزات سنگین بر دو کفه ای ها به عنوان ارگانسیم های ساکن در منطقه از این جهت حایز اهمیت است که می تواند ما را در ارزیابی سلامت اکوسیستم و تخمین دقیق آلودگی یاری دهد.

اثرات سمی کادمیوم عموماً از واکنش های فلز به تنهایی یا به صورت ترکیب نتیجه می شود. این واکنش ها در نتیجه فرآیندهای آنزیمی و متابولیکی تغییر می کند. سمیت کادمیوم در آب توسط یونهای آزاد کادمیوم سنجش می گردد. اما آنچه اهمیت دارد، میزان دسترسی زیستی این فلز می باشد. سطح کادمیوم در

پیشنهادی (MAC value) این اویستر براساس TRC (۱۹۸۴) (LC50 96h تقسیم بر عدد ۱۰) که به عبارتی غلظت غیر موثر (NOEC)^۱ نیز خوانده می شود، برای کادمیوم ۱/۵۸ mg/l می باشد. همچنین حداقل غلظت موثر (LOEC)^۲ این فلز که به آن LC10 96h اطلاق می شود ۲/۹ mg/l تعیین گردید (Finney; 1990). Kim & Park در سال ۱۹۷۸ رقم LC50 96h کادمیوم برای اویستر *Crassostrea gigas* که گونه ی مشابه با گونه ی مطالعه شده است را ۱۹/۵ mg/l بدست آوردند. همچنین Calabres در ۱۹۷۳ برای گونه *Crassostrea virginica* این رقم را ۳/۸ mg/l گزارش داد. Eisler (۱۹۷۱) نیز رقم LC50 96h کادمیوم را برای *Mytilus edulis* ۲۵ mg/l و برای *Mya arenaria* ۲/۲ mg/l بدست آورد. برای مقایسه گونه های مذکور با اویستر *Crassostrea sp.* می توان اظهار داشت که حساسیت در برابر فلز سمی کادمیوم در نرم تن *Mya arenaria* < *Crassostrea virginica* < *Crassostrea sp.* < *Crassostrea gigas* < *Mytilus edulis* می باشد. که نشان می دهد حساسیت گونه مذکور از *Crassostrea virginica* کمتر و از *Crassostrea gigas* بیشتر می باشد (جدول ۶).

های آبی دامنه وسیعی از LC₅₀ را برای کادمیوم نشان می دهند. سمیت حاد کوتاه مدت ۱ میکروگرم در لیتر در آب شیرین قابل مقایسه با ۲۰-۱۰ میکروگرم در لیتر در آب دریا یافت شده است. Crompton در سال ۲۰۰۷ عنوان کرد سمیت حاد به گونه وابسته است بنابراین تعیین ارگانسیم هایی که به کادمیوم حساس ترند، مشکل است. این خصوصاً مربوط به اثر تغییرپذیری شرایط آزمایش روی داده های LC₅₀ است. ارقام LC₅₀ برای بی مهرگان آب شیرین از ۰/۰۰۳ تا بیش از ۰/۵ mg/l متغیر است (Crompton, 2007). در بی مهرگان آب شیرین یون کلسیم بر سمیت کادمیوم تاثیر می گذارد. در میان بی مهرگان مصبی (آب لب شور) سخت پوستان حساسترین ارگانسیم ها نسبت به سمیت کادمیوم به نظر می رسند. پس از سخت پوستان، نرم تنان و پلی کیتها از حساسیت بالایی برخوردارند. اما به طور کلی جلبک ها و سخت پوستان حساسترین گونه ها در آب شیرین و آبهای دریایی اند (Crompton, 2007).

در این پژوهش رقم LC50 96h کادمیوم برای اویستر *Crassostrea sp.* ۱۵/۸ mg/l بدست آمد. می توان بر این اساس نتیجه گرفت که حداکثر غلظت مجاز

جدول ۶. مقایسه LC₅₀ کادمیوم در گونه *Crassostrea sp.* با نرم تنان دیگر

فلز سنگین	گونه	زمان (ساعت)	LC ₅₀ (mg/l)	رفرنس
Cd	<i>Crassostrea sp.</i>	۹۶	۱۵/۸	مطالعه حاضر
Cd	<i>Crassostrea gigas</i>	۹۶	۱۹/۵	Park & Kim (1978)
Cd	<i>Mytilus edulis</i>	۹۶	۱/۶۲	Ahsannullah (1976)
Cd	<i>Mytilus edulis</i>	۹۶	۲۵	Eisler (1971)
Cd	<i>Cardium edule</i>	۹۶	۲	Portman & Wilson (1971)
Cd	<i>Mya arenaria</i>	۹۶	۲/۲	Eisler (1971)
Cd	<i>Crassostrea virginica</i>	۴۸	۳/۸۰	Calabres (1973)

mussels, *Mytilus galloprovincialis*, from the Adriatic Sea. Mar. Environ. Res. 66: 24-26.

Calabrese, A., Collier, R. S., Nelson, D. A. and MacInnes, J. R. 1973. The toxicity of heavy metals to embryos of American oyster *Crassostrea virginica*. Mar. Biol. 18: 162-166.

Di Giulio, R.T. and Hinton, D.E., 2008. The Toxicology of Fishes. Taylor & Francis Group, 1101p.

Eisler, R. 1971. Cadmium poisoning in *Fundulus heteroclitus* (Pisces: Cyprinodontidae) and other marine organisms. J. Fish. Res. Bd. Can. 28: 1225-1234.

Elia, A.C., Galarini, R., Taticchi, M.I., Dorr, A.J. and Mantilacci, L. 2003. Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. Eco. Environ. Saf. 55: 162-167.

FAO. 2004. Annuaire de Statistiques des Peches 2002. production de l'Aquaculture, vol. 94/2. Statistiques No. 181 et Peches No. 67, Rome, P: 206.

Finney, D. 1990. Probit Analysis Cambridge University Press, Cambridge, Great Britain, P: 222.

Freudenthael, J. and Grove, P.A. 2007. Analysis of Invertebrates. In: Crompton, T. R. Toxicants in Aqueous Ecosystems: A Guide for the Analytical and Environmental Chemist. Springer, Berlin Heidelberg, Germany, pp: 103-148.

OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). 1993. OECD Guidelines for testing of chemicals. OECD Paris, Paris, French, P: 236.

Park, J.S. and Kim, H. G. 1978. Bioassays on marine organisms acute toxicity test of mercury, cadmium, and copper to ark shell. J. Oce. Soc. Kor. 13: 35-43.

Portmann, J.E. and Wilson, K.W. 1971. The toxicity of 140 substances to brown shrimp and other marine animals. Fisheries Laboratory Burnham-on-Crouch, Essex.

Scoullas, M. J. 2001. Key human and environmental risks associated with mercury, cadmium and lead: (Eco) toxicology of heavy metals. In: Scoullas, M. J. (eds) Vonkeman, G. H., Thornton, I. and Makuch, Z. Mercury, Cadmium, Lead : handbook for sustainable heavy metals policy and regulation. Kluwer

براساس داده های سمیت کادمیوم برای ارگانسیم های آب شیرین و دریایی که در سال ۱۹۸۷ توسط Kranjnc و همکاران ارائه شد، کل غلظت کادمیوم در آب شیرین باید کمتر از پایین ترین حد احتمالی نگه داشته شود و در هیچ حالتی نباید از $0.1 \mu\text{g/l}$ تجاوز کند (برگرفته از Scoullas, et al, 2001). به نظر می رسد این عدد برای حفاظت زیست محیطی اکوسیستم آب شیرین از خطرات کادمیوم، براساس نزدیکترین بزرگ نمایی قابل توجه است.

در نهایت می توان گفت میزان LC_{50} کادمیوم برای اویستر مورد مطالعه در محدوده مقادیر تعیین شده در سایر مطالعات قرار دارد و این اویستر نسبت به اکثر گونه های مشابه دارای LC_{50} بالاتری می باشد و از مقاومت نسبی بالاتری در برابر سمیت کادمیوم برخوردار است. در نتیجه می تواند به عنوان یک مدل توکسیکولوژیک مناسب مورد توجه باشد (Di Giulio and Hinton, 2008).

منابع

اسماعیلی ساری، ع. ۱۳۸۱. آلاینده ها، بهداشت و استاندارد در محیط زیست، انتشارات نقش مهر، صفحه ۷۶۷.

سرمدیان سیما، ۱۳۹۳. بررسی بیان ژن متالوتیونین به عنوان بیومارکر مواجهه با کادمیوم در صدف *Crassostrea sp.* پایان نامه دکترای تخصصی. دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر. ۱۱۰ص.

Ahsanullah, M. 1976. Acute toxicity of Cadmium and Zinc to seven invertebrate species from Western port, Victoria. J. Mar. Fre. Res. 27: 187-196.

Bocchetti, R., Lamberti, C.V., Pisanelli, B., Razzetti, E.M., Maggi, C., Catalano, B., Sesta, G., Martuccio, G., Gabellini, M. and Regoli, F. 2008. Seasonal variations of exposure biomarkers, oxidative stress responses and cell damage in the clams, *Tapes philippinarum*, and

- T.R.C. 1984. OECD Guidelines for testing of chemicals (2). (Effects on Biotic Systems). OECD Paris, Paris, French, P: 39.
- Yilmaz, M., Gul, A. and Karakose, E. 2004. Investigation of acute toxicity and the effect of Cadmium Chloride ($CdCl_2.H_2O$) metal salt on behavior of guppy (*Paecilia reticulata*). Chemo. 56: 375-380.
- Zhou, Q.X., Kong, F.X. and Zhu, L. 2004. Ecotoxicology. Beijing: Science Press, New York, USA, P: 489.
- Academic, Dordrecht, Netherlands, 31, pp: 349-352.
- Steen, R. E., Campenhout, K., Bervoets, L., Reijnders, H., and Blust, R. 2007. Subcellular distribution of Cd in the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex*, implications for trophic availability and toxicity. Environ. Pollut. 148:166-175.
- Timbrell, J.A. 1989. Introduction to Toxicology. Taylor & Francis, London, UK, P: 155.

Detection of Cadmium Acute Toxicity in oyster, *Crassostrea sp.*

Abstract

Heavy metals in high concentrations in the environment, is caused serious damage in metabolic, physiologic and structural organisms. Cadmium as the second most toxic metal in marine environments is considered. Bivalvia especially oysters are Suitable bioindicators due to its high filtration rates, immobility and lack of regulatory systems for removing of heavy metals. *Crassostrea sp.* is new species has wide distribution in Bandar Emam Khomeini. This species is the best for using toxicity testing to determine the effects of heavy metal pollutants in the environment. The aim this study is determination of Medium Lethal Concentration (LC₅₀96h), Maximum Allowable Toxicant Concentration (MATC) and Lowest Observed Effect Concentration (LOEC) of Cadmium in *Crassostrea sp.* oyster. Fifty oysters (5.3±0.76 gr) were collected from Bandar Emam Khomaini and transported to laboratory. After Acclimatization (for 7 days), the 96-h LC₅₀ tests were conducted (static Method) according to standard instruction O.E.C.D. The 96 h LC₅₀, NOEC and LOEC were 15.8, 1.58 and 2.9 mg/l respectively. The LC₅₀ correlation whit in 24 h and 96 h were showed Linear equation $y=-0.4225x+54.35$.

Keywords : *Crassostrea sp.*, oyster, Cadmium, Lc₅₀, Acute test, Heavy metal