

## کاربرد انگشت نگاری عنصری در تفکیک جمعیتی و پایش زیستی ماهی سفید (*Rutilus kutum*) در جنوب دریای خزر

نیما پورنگ<sup>۱\*</sup>، فرخ پرافکنده حقیقی<sup>۱</sup>، حمیدرضا معظمی<sup>۲</sup>، داود آقا علی گل<sup>۲</sup>، پرگل قوام مصطفوی<sup>۳</sup>،  
مینو محمودیان<sup>۳</sup>

<sup>\*</sup>n\_pourang@yahoo.com

- ۱- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
- ۲- آزمایشگاه واندوگراف، پژوهشکده علوم هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، سازمان انرژی اتمی ایران، تهران، ایران
- ۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم و فنون دریایی

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۶

### چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی قابلیت استفاده از پنج بافت سخت (اتولیت، فلس، شاعع سخت باله، عدسی چشم و مهره های پشتی) ماهی سفید (*Rutilus kutum*) برای تفکیک جمعیت های مختلف این گونه و ارزیابی قابلیت پایش زیستی در حوزه جنوبی دریای خزر از طریق سنجش تغییرات میزان تجمع زیستی عناصر تعداد ۶۰ نمونه ماهی سفید از سه ایستگاه نمونه برداری در حوزه جنوبی دریای خزر (ایستگاههای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب در مجاورت مصب رودخانه های سفید رود، تجن و گرگانرود) گردآوری شد. همچنین در این پژوهش امکان استفاده از هر یک از پنج بافت مزبور به منظور استفاده به عنوان آرشیو زیستی عناصر و از سوی دیگر، تجمع عناصر در بافت های ماکول و مخاطرات احتمالی ناشی از مصرف آنها بررسی گردید. نمونه برداری ها در طی خرداد ۱۳۹۵ توسط تورهای پره ساحلی انجام شد. در مجموع میزان تجمع ۱۳ عنصر اصلی و فرعی در نمونه ها (پنج بافت سخت مذکور و دو بافت عضله و کبد) توسط روش های پیکسی و میکرو پیکسی بررسی شد. کمترین میزان تشابه بین بافت ها در مورد عدسی چشم (از نظر تجمع عناصر P، S و Zn) و کبد (از دیدگاه تجمع عناصر Cl و K) قابل تشخیص بود. هیچگونه همبستگی معنی داری بین عناصر و خصوصیات بیومتریک مشاهده نگردید. به نظر می رسد که تمام بافت های سخت، بجز عدسی چشم، ممکن است جایگزین های بالقوه ای برای پایش زیستی عناصر Ca, Fe, Cl, K, S باشند. با توجه به نتایج مربوط به تجمع Sr در اтолیت، می توان استنتاج نمود که نمونه هایی که از ایستگاه های ۲ و ۳ گردآوری شده اند، احتمالاً متعلق به یک جمعیت می باشند. استنتاج مشابهی نیز بر مبنای نتایج حاصل از تجمع K در فلس حاصل گردید. فلس ها ممکن است قابلیت استفاده به عنوان ساختار جایگزین اтолیت برای تفکیک جمعیت های *R. kutum* را داشته باشند. از میان ده عنصری که با بکارگیری روش پیکسی در بافت ماکول (عضله) قابل اندازه گیری بودند، تنها در مورد چهار عنصر Zn, Cu, Mn و Fe آستانه های مجاز در برخی استانداردهای بین المللی تعریف شده است که میانگین مقادیر اندازه گیری شده در این تحقیق در تمامی موارد در مقایسه با استانداردهای مزبور بسیار کمتر بود.

**کلمات کلیدی:** دریای خزر، ماهی سفید، تفکیک جمعیتی، پایش زیستی، پیکسی

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

اتولیت برای شناسایی جمعیت‌های ماهی استفاده شده است (Javor and Dorval, 2016). برخی از پژوهشگران بر این باورند که عناصر یا ترکیباتی که بر روی سطوح رشد اتوالیت‌ها جذب می‌شوند، بطور دائمی حفظ می‌شوند و به عنوان برچسب‌های طبیعی دائمی محسوب می‌شوند (Javor and Dorval, 2016). یکی از مهمترین معايیر استفاده از اتوالیت برای آنالیز شیمیایی این نکته است که ماهیان نمونه برداری شده باید پس از مرگ بررسی شوند (Clarke *et al.*, 2004) که این امر بویژه در شرایطی که بررسی گونه‌های کمیاب مد نظر می‌باشد، مطلوب نخواهد بود و علاوه بر این موجب کاهش ارزش بازاری گونه‌های با ارزش تجاری می‌گردد (Ramsay *et al.*, 2011). از سوی دیگر برخی محققین معتقدند که عدسی چشم ماهی‌ها نیز ممکن است برای تمایز جمعیتی مناسب باشد، زیرا عدسی چشم فاقد مکانیزم کارآمد برای حذف یون‌ها می‌باشد. استخوان‌ها، فلس‌ها و برخی از بافت‌های نرم، عوامل مختلفی از جمله ترکیب عناصر در محیط را در طی رشد معنکس می‌کنند، اما در بعضی گونه‌ها امکان بازجذب عناصر و وقوع فرآیند معدنی شدن مجدد<sup>۱</sup> در این بافت‌ها وجود دارد (Veubitt and Evans, 1999; Gillanders, 2001) پژوهش‌های متعددی محتوای عنصری اتوالیت‌ها برای تشخیص مهاجرت ماهی‌ها و تفکیک جمعیت‌های آنها استفاده شده است، اما تنها در تعداد نسبتاً محدودی از این پژوهش‌ها قابلیت استفاده از اتوالیت به منظور بررسی در معرض قرار گرفتن ماهی‌ها در قیال آلاینده‌ها مد نظر قرار گرفته شده است. امکان استفاده از اندام‌های سخت بدن ماهیان (بویژه اتوالیت) به عنوان ابزاری برای پایش زیستی<sup>۲</sup> آلاینده‌های حاصل از فعالیت‌های انسانی در اکوسیستم‌های آبی توسط Millon و Chenery (2004) و Elsdon (2001) و Gillanders (2004) و Gannon (2004) و Mohamed (2012) و Ranaldi (2008) و Sarmin (2008) و Herrera-Revales (2013) بررسی شده است. در چند دهه گذشته، شرایط زیستمحیطی دریای خزر بواسطه تأثیرات عوامل مختلف مانند فشارهای ناشی از عوامل انسانی، نوسانات سطح دریا و معرفی گونه‌های غیربومی به طور قابل توجهی تغییر کرده است (Pourang *et al.*, 2005; Fazli *et al.*, 2013). با توجه به پراکنش گسترده *R. kutum* در حوزه جنوبی دریای خزر (Afraei Bandanei *et al.*, 2010)، میزان نسبتاً بالایی از صید سالانه آن در منطقه Kohestan-Eskandari *et al.*, 2014) و با عنایت به قابلیت این گونه در

عنصر در بخش‌های مختلف برخی بافت‌های سخت بدن آبزیان می‌باشد و بر این اصل استوار است که منشأ برخی عناصر تجمعیافته در بافت‌های مزبور محیط پیرامون آنها می‌باشد و از این طریق می‌توان اطلاعاتی در مورد تاریخچه زندگی آنها (زادگاه (زادگاه و تغییرات وضعیت محیط زندگی در طول عمر) کسب نمود (Sorte *et al.*, 2013). عناصر به طور طبیعی از طریق مسیرهای تنفسی و غذایی به بدن آبزیان وارد شده و در ساختارهای آهکی آنها مانند فلس‌ها، اتوالیت و صدف جذب می‌شوند (Campana, 1999). ترکیب عنصری این ساختارها انعکاس دهنده شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط پیرامون آنها می‌باشد. چنانچه عناصر موجود در ساختارهای آهکی مزبور در یک الگوی زمانی پیوسته جذب شده باشند (در معرض بازجذب قرار نگرفته باشند)، ترکیب عناصر در بخش‌های مختلف این ساختارها می‌تواند نشانگر مناسبی برای انعکاس دائمی تغییرات شرایط محیطی در طول عمر آبزی مورد نظر محسوب گردد. به تعبیر دیگر در این شرایط ساختارهای سخت مورد نظر در آبزیان به عنوان پایشگر و کرونومتر زیستی قابل استفاده می‌باشند (Peterson *et al.*, 1983; Elsdon and Gillanders, 2004). از این قابلیت می‌توان برای شناخت بهتر محیط زیست پیرامون آبزیان در مقاطع زمانی مختلف استفاده نمود. در طی سال‌های اخیر، مطالعات مربوط به نحوه پراکنش جمعیت‌های ماهی‌ها و ارتباط بین آنها، به صورت فزاینده‌ای در ساماندهی پشتیبانی از مدیریت پایدار شیلاتی مورد توجه قرار گرفته است (Brickle *et al.*, 2016). اصولاً روش‌های مختلفی برای شناسایی جمعیت‌های ماهی‌ها و ردبایی مهاجرت آنها وجود دارد. اما تنها روش‌های محدودی می‌توانند معیارهای قابل اعتمادی را برای تشخیص جمعیت‌ها ارائه نمایند. اخیراً بسیاری از پژوهشگران بر استفاده از انگشت‌نگاری عنصری ساختارهای کلسیمی (مانند اتوالیت‌ها) به عنوان معیاری برای تشخیص جمعیت‌ها متمرکز شده اند (Gillanders, 2001; Seeley *et al.*, 2015). وقوع تغییرات طبیعی در غلظت عناصر موجود در ساختارهای زیستی (مانند مهره‌ها، اتوالیت، فلس‌ها و شعاع باله‌ها) موجب فراهم شدن برچسب‌های بیوژئوشیمیایی<sup>۳</sup> برای ماهی‌های مناطق مختلف جغرافیایی مختلف می‌گردد (Ramsay *et al.*, 2011). در مطالعات متعدد از ترکیب شیمیایی عناصر کمیاب موجود در

<sup>3</sup> Remineralization<sup>4</sup> Biomonitoring<sup>1</sup> Elemental fingerprinting<sup>2</sup> Biogeochemical tags

نمونه ها طی خرداد ۱۳۹۵ توسط تورهای پره ساحلی (از طریق تعاونی های پره استانی در استانهای گلستان، مازندران و گیلان) گردآوری گردیدند. از هر ایستگاه تعداد ۲۰ نمونه ماهی سفید (با سن تقریبی سه سال) گردآوری گردید. نمونه های مذبور بالا فاصله در داخل ظروف حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند.

### آماده سازی و آنالیز نمونه ها

در آزمایشگاه پس از بیومتری نمونه ها (اندازه گیری وزن و طول کل به ترتیب با استفاده از ترازو و تخته بیومتری واحد دقت  $\pm 1$  گرم و  $\pm 0.5$  سانتیمتر)، پنج بافت سخت (اتولیت، فلس، عدسی چشم، شاعع سخت باله پشتی، مهره پشتی) و دو بافت نرم (عضله و کبد) از هر نمونه به طریق ذیل تفکیک و نگهداری شد. کلیه وسایل مورد استفاده برای تشریح و تفکیک بافت های نمونه ها، قبل از استفاده به دقت با شوینده و آب لوله کشی شهری و سپس با آب مقطر شسته شدند و ظروف پلی اتیلنی مورد استفاده برای نگهداری بافت های تفکیک شده نیز قبیل از انتقال بافت ها به درون آنها، ابتدا با شوینده، سپس با اسید نیتریک ۱۰ درصد و نهایتاً با آب مقطر شسته شدند. نمونه برداری و خشک کردن بافت ها بر اساس منابع علمی معتبر (Gillanders, 2001; Wells *et al.*, 2003; Davies *et al.*, 2011; Al-Najjar *et al.*, 2012; Herrera-Reveles *et al.*, 2013) انجام شد. کلیه بافت های تفکیک شده پس از طی مراحل مذکور به ظروف پلی اتیلنی واحد برقسب مشخصات (کد محل نمونه برداری، بافت و شماره نمونه) انتقال یافتهند و تا قبیل از سنجش های آزمایشگاهی درون فریزر  $-18^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد) قرار داده شدند (Davies *et al.*, 2011). علاوه بر این به منظور مشخص نمودن ضربی تبدیل وزن خشک به وزن تر، حدود یک گرم از ۱۰ نمونه عضله ماهی از هر ایستگاه به طور تصادفی انتخاب و مانند آنچه در بالا ذکر گردید درون آون خشک شد و سپس ضربی تبدیل وزن خشک به تر معادل  $3/19$  محاسبه گردید. به منظور آنالیزهای دستگاهی با پیکسی<sup>2</sup>، نمونه ها به آزمایشگاه واندوگراف (مستقر در سازمان انرژی اتمی) منتقل شدند. در آنجا در ابتدا لایه ای یکنواخت و صاف از بافت های موردنظر تهیه گردید. این لایه ها بر روی نگهدارنده که با کپتون پوشیده شده چسبانده و خشک شدند و برای قرار گرفتن در شتاب دهنده آماده شدند. شایان ذکر است که در این روش باریکه پروتون با انرژی  $2\text{ MeV}$  حاصل از شتاب دهنده واندوگراف به نمونه موردن آنالیز که در خلا قرار دارد، برخورد می کند. سپس پرتو ایکس در یک آشکار ساز Si

(Naghipour *et al.*, 2016)، بنظر می رسد که دارای برخی مشخصات اصلی یک پایشگر زیستی مناسب برای اکوسیستم های آبی می باشد (قابلیت دسترسی زیستی)، ظرفیت تجمع زیستی، محدوده قابل اندازه گیری مواد شیمیایی، رفتار مهاجرتی، پراکنش مناسب، اندازه مناسب) (Zhou *et al.*, 2008; Ranaldi, 2011) اهداف اصلی این تحقیق شامل: بررسی قابلیت استفاده از پنج بافت سخت (اتولیت، فلس، شاعع سخت باله، عدسی چشم و مهره های پشتی) گونه مورد نظر به منظور تفکیک جمعیت های مختلف ماهی سفید، بررسی قابلیت بگارگیری هر یک از پنج بافت سخت مذبور به عنوان آرشیو زیستی<sup>1</sup> عناصر، بررسی قابلیت استفاده از هر یک از پنج بافت مذبور به منظور پایش زیستی تغییرات میزان تجمع عناصر، بررسی تجمع عناصر در بافت های ماکرل و مخاطرات احتمالی ناشی از مصرف آنها می باشد.

### مواد و روش ها

#### نمونه برداری

ماهی سفید با نام علمی *Rutilus* (Kamenesky, 1901) از جنس *Rutilus kutum* خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) و راسته کپور ماهی شکلان (Cypriniformes) است (فضلی و همکاران, ۱۳۹۱). نمونه برداری از سه ایستگاه نمونه برداری در حوزه جنوبی دریای خزر (ایستگاه های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب در نزدیک مصب رودخانه های سفید رود، تجن و گرگانرود) (شکل ۱) انجام شد.



شکل ۱: موقعیت تقریبی سه ایستگاه نمونه برداری در تحقیق کنونی.

Figure1: Locations of the three sampling sites in the present study.

<sup>2</sup> PIXE: Proton Induced X-ray Emission

طبیعی نبود از روش‌های مناسب تغییر شکل داده‌ها<sup>۱۲</sup> استفاده شد. به منظور مقایسه ایستگاههای نمونه برداری از نظر میزان تجمع هر یک از عناصر بافت‌های نرم و سخت از تعداد ۶۷ آنالیز واریانس یک طرفه<sup>۱۳</sup> استفاده شد و در صورت مشاهده اختلاف معنی‌دار، آزمون دانکن<sup>۱۴</sup> استفاده شد. علاوه بر این از ۷ آنالیز واریانس یک طرفه به منظور بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تجمع عناصر در هر بافت اجرا گردید. از دو آزمون غیرپارامتریک کروسکال-والیس<sup>۱۵</sup> و متعاقباً آزمون post hoc مربوطه (من-ویتنی<sup>۱۶</sup>) به منظور تشخیص اختلاف احتمالی بین ایستگاههای نمونه برداری از دیدگاه مشخصات بیومتریک استفاده شد. به منظور گروه بندی بافت‌ها از نقطه نظر تجمع هر عنصر در رسوبات از آنالیزهای خوش‌ای<sup>۱۷</sup> بر مبنای مقیاس اقلیدسی<sup>۱۸</sup> استفاده شد (Everitt *et al.*, 2011). کلیه آنالیزهای مذبور با استفاده از نسخه جدید بسته نرم افزاری SPSS (Version 23) انجام شد.

## نتایج

### مقایسه بین ایستگاهها

نتایج بکارگیری چند آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون های دانکن برای مقایسه ایستگاههای مختلف از نظر مقادیر هر عنصر در هر بافت در جدول ۱ ارائه شده است. بر اساس آزمون های آنالیزهای واریانس نتایج ذیل به تفکیک بافت قابل ذکر می‌باشد:

اعضله: ایستگاههای نمونه برداری از نظر تجمع عناصر K و Zn اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. کبد: از نظر مقادیر عناصر P, Cl و K اختلاف معنی‌داری بین ایستگاهها مشاهده گردید. اتوالت: از دیدگاه میزان Br, Ca و Sr اختلاف معنی‌دار بین ایستگاهها قابل تشخیص بود. شعاع سخت باله پشتی: از نظر تجمع هیچیک از عناصر اختلاف معنی‌داری بین ایستگاهها مشاهده نشد. فلس: در مورد عناصر K و Zn اختلاف معنی‌داری بین ایستگاهها مشاهده شد.

(Li) آشکار می‌شود. انرژی این پرتوها نوع عنصر و تعداد آنها (تعداد شمارش‌ها در یک قله) و فراوانی نسبی عنصر متناظر با آن قله در نمونه را نشان می‌دهد. به منظور بررسی صحت<sup>۱</sup> و دقیق<sup>۲</sup> نتایج از یک نمونه استاندارد<sup>۳</sup> با شش تکرار مربوط به بافت ماهی با کد MA-B-3/TM در شرایطی مشابه استفاده گردید. درصد بازیابی<sup>۴</sup> عناصر بین ۹۵ تا ۱۰۶ درصد و دقیق<sup>۵</sup> اندازه گیری‌ها بین ۴/۱ تا ۲/۳ درصد انحراف استاندارد نسبی اندازه گیری گردید. آنالیز کمی عناصر توسط نرم افزار Gupix انجام شد (پورنگ و همکاران ۱۳۹۴؛ Moosavi *et al.*, 2010). علاوه بر این از هر ایستگاه نمونه برداری دو نمونه ماهی انتخاب و پس از تفکیک بافت‌های سخت فوق الذکر، به منظور امکان آنالیز بافت‌ها توسط میکرو پیکسی<sup>۶</sup>، با توجه به بعد نسبتاً کم محفظه مربوطه (حدود ۱×۱ cm<sup>2</sup>) لازم بود که برخی نمونه‌ها به نحوی برش داده شوند که بر روی محفظه مذبور قابل نصب باشند. لذا بافت‌های عدسی چشم، مهره پشتی و شعاع سخت باله پشتی ابتدا با بهره گیری از اره و اجد تیغه دوار ویژه<sup>۷</sup> و در امتداد محور رشد برش داده شدند. سپس قطعه‌های برش داده شده بر اساس خطوط عرضی رشد، درون ظرف ویژه حاوی نوعی رزین<sup>۸</sup> قرار داده شدند. در مرحله بعد قطعه سخت شده درون رزین توسط اره با دقیق<sup>۹</sup> برش زیاد<sup>۱۰</sup> در لایه‌هایی به عرض حدود دو الی سه میلیمتر برش داده شد و به منظور اطمینان از مناسب بودن برش‌ها، خطوط رشد مربوط به هر یک از نمونه‌ها در زیر استریومیکروسکوپ بررسی گردید. نمونه‌های آماده شده جهت آنالیز با میکرو پیکسی به آزمایشگاه ذیربط در سازمان انرژی اتمی منتقل گردیدند (آقایلی گل و همکاران، ۱۳۸۶؛ نیکبخت و همکاران، ۱۳۹۴).

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور بررسی طبیعی بودن<sup>۹</sup> توزیع داده‌ها از آزمون شاپایرو-ولیک<sup>۱۰</sup> و جهت بررسی همگن بودن داده‌ها از آزمون لون<sup>۱۱</sup> استفاده شد. در مواردی که توزیع داده‌ها

<sup>1</sup> Accuracy

<sup>2</sup> Precision

<sup>3</sup> CRM: Certified Reference Material

<sup>4</sup> Recovery

<sup>5</sup> μ-PIXE

<sup>6</sup> Rotating diamond cutting blade

<sup>7</sup> Polyester Casting Resin

<sup>8</sup> low speed diamond saw

<sup>9</sup> Normality

<sup>10</sup> Shapiro-Wilk

<sup>11</sup> Levene

<sup>12</sup> Transformation

<sup>13</sup> One-way analyses of variance (ANOVA)

<sup>14</sup> Duncan's new multiple range test

<sup>15</sup> Kruskal-Wallis

<sup>16</sup> Mann-Whitney U

<sup>17</sup> Cluster analysis

<sup>18</sup> Euclidean distance

## تأثیر سطوح مختلف آستاگزانتین مصنوعی و جلبکی بر...

جدول ۱: نتایج ۶۷ آنالیز واریانس یک طرفه به منظور بررسی این فرضیه صفر که هیچ اختلاف معنی داری میان ایستگاههای نمونه برداری از دیدگاه تجمع هر یک از عناصر در بافت ها وجود ندارد. درجه آزادی (df) در تمامی موارد برابر ۲ بود. در مواردی که اختلاف معنی داری مشاهده گردید، مقادیر  $p$  به صورت پررنگ (bold) مشخص شده است (بر مبنای آزمون دانکن،  $p \leq 0.05$ ). ایستگاههای نمونه برداری (S1, S2, S3) که در زیر آنها خط کشیده شده است فاقد اختلاف معنی دار می باشند.

Table 1: Results of 67 one-way ANOVAs testing the null hypothesis that there were no significant differences among the sampling sites from level of each element in the selected tissues point of view. The degree of freedom (df) in all cases was 2. In cases where the significant differences were detected, p values are shown in bold (based on Duncan's new multiple range test,  $p \leq 0.05$ ). The sampling sites, which are underlined with a common line indicate mean values are not significantly different.

بافت		عناصر											
		Br	Sr	Zn	Fe	Cu	Mn	Ca	K	M	Cl	S	P
کبد	F-ratio												
	p-value												
	Duncan												
	F-ratio												
	p-value												
	Duncan												
عفله	F-ratio												
	p-value												
	Duncan												
	F-ratio												
	p-value												
	Duncan												
فلس	F												
	p-value												
	Duncan												
	F-ratio												
	p-value												
	Duncan												
مهره پشتی	F-ratio												
	p-value												
	Duncan												
	F-ratio												
	p-value												
	Duncan												
شعاع سخت باله	F-ratio												
	p-value												
	F-ratio												
	p-value												
	F-ratio												
	p-value												
اتولیت	F-ratio												
	p-value												
	Duncan												
	F-ratio												
	p-value												
	Duncan												
عدسی چشم	F-ratio												
	p-value												
	Duncan												

اختلاف معنی داری از دیدگاه تجمع عناصر مشاهده گردید. با عنایت به نتایج آزمون های دانکن، ترتیب تجمع عناصر در هر بافت به قرار ذیل است:

کبد: K>S>Cl>P>Ca>Fe, Na>Sr, Mn, Cu, Zn, Mg  
عضله: K>S>Cl, Ca, P>Na> Mn, Cu, Zn, Fe  
Ca > P > S: Ca> Sr> S, Cl> Br, K, Fe  
S > Cl > K: K, Cl, Mg, Sr, Zn, Na, Fe  
Ca > S, P> Cl, Mg, K, Na, Sr: Ca, P, Na, Fe  
Ca > Mg > P, S, K > Cl, Sr >: Zn, Fe, Mn  
با توجه به نتایج مندرج در جدول مزبور، در تمامی بافتهای سخت، بجز عدسی چشم، Ca نسبت به سایر عناصر به بیشترین میزان تجمع را داشته است در صورتی که Fe در زمرة عناصری بوده است که کمترین میزان تجمع را آشکار ساخته است. بطور کلی الگوی تجمع عناصر در عدسی چشم نسبت به سایر بافتهای سخت نرم مورد بررسی، تا حدود زیادی متمایز بود. ترتیب تجمع عناصر در دو بافت نرم مورد بررسی، تا حدود زیادی مشابه بود، اما Sr در بافت عضله قابل تشخیص نبود. عناصر تشخیص بودند اما عنصر Br تنها در اتوالیت قابل اندازه گیری شد.

### تفاوت میان بافتهای

در شکل ۲ نتایج مربوط به دندروگرام های آنالیز های خوش ای ۷ بافت مورد بررسی در این تحقیق ارائه شده است. کمترین میزان تشابه در مورد عدسی چشم (دندروگرام های مربوط به (K و Fe) و کبد (دندروگرام های مربوط به (Zn و S، P، Cl، Ca، Fe، Sr) در تمامی بافتهای بررسی شده، قابل تشخیص است. در حالی که در مورد Ca و Sr، اتوالیت حداقل فاصله را آشکار ساخت. با در نظر گرفتن این شکل مشخص می گردد که چنانچه خطوط عمود فرضی در فواصل کمتر از ۵، خطوط افقی را قطع نمایند، تمامی بافتهای سخت، بجز عدسی چشم، در یک گروه قرار می گیرند. از سوی دیگر در مورد دندروگرام مربوط به عنصر K، بافتهای نرم و سخت در قالب دو گروه کاملاً مجزا قابل طبقه بندی می باشند.

### تجمع عناصر در لایه های رشد بافتهای سخت

توزیع عنصری عناصر مختلف در نمونه ای از یک بافت سخت بررسی شده در این تحقیق (نتایج آنالیز با روش میکرو پیکسی) در شکل ۳ نشان داده شده است. متعاقب آنالیز با روش مزبور در هیچیک از بافتهای سخت بررسی شده، تغییرات تجمع عناصر در راستای الگوهای خطوط رشد سالانه، قابل تشخیص نمی باشد.

مهره پشتی: بین ایستگاههای نمونه برداری از نظر Mg، P و S اختلاف معنی داری مشاهده شد. عدسی چشم: ایستگاههای نمونه برداری از نظر تجمع عناصر S و Cl اختلاف معنی داری را آشکار ساختند.

بر اساس آزمون های مقایسه میانگین ها (دانکن) نتایج زیر قابل تبیین است:

- بین ایستگاههای ۱ و ۲ از نظر مقادیر Zn در بافتهای عضله، فلس و مهره پشتی؛ از نقطه نظر مقادیر K در بافتهای عضله، کبد و مهره پشتی و از نظر مقادیر Na در عضله و عدسی چشم و مقادیر S و Cl در عدسی چشم اختلاف معنی داری مشاهده نشد.
  - بین ایستگاههای ۲ و ۳ از نظر مقادیر K در فلس؛ از نقطه نظر مقادیر Ca و Sr در اتوالیت و از دیدگاه مقادیر P در کبد اختلاف معنی داری قابل تشخیص نبود.
  - بین ایستگاههای ۱ و ۳ از نظر مقادیر Br در اتوالیت اختلاف معنی داری تشخیص داده نشد.
- از سوی دیگر بین ایستگاههای ۲ و ۳ از نظر مشخصات بیومتریک نمونه ها اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (جدول ۲).

جدول ۲: نتایج ۲ آزمون کروسکال والیس به منظور آزمون این فرضیه صفر که هیچ اختلاف معنی داری میان ایستگاههای نمونه برداری از نظر مشخصات بیومتریک وجود ندارد. مقادیر میانگین و انحراف معیار (درومن پرانتزها) نیز ارائه گردیده است. ایستگاههایی که با حروف لاتین مشابه مشخص گردیده اند، فاقد اختلاف معنی دار می باشند (بر مبنای آزمون من ویتنی،  $p \leq 0.05$ ). درجه آزادی df = ۲

Table 2: Results of 2 Kruskal-Wallis tests to evaluate the null hypothesis that there exist no significant differences among the sampling sites from the biological characteristics of the fish point of view. Mean and standard deviation (in parentheses) of the biological characteristics are also presented. The sampling sites which have a common letter are not significantly different from one another (based on Mann-Whitney U tests,  $p \leq 0.05$ ). df: Degrees of Freedom.

	پارامتر	$\chi^2$	df	p-value	ایستگاههای نمونه برداری		
					۱	۲	۳
وزن (گرم)	۱۳/۳۱۷	۲	.۰۰۱		a	b	b
طول کل (سانتیمتر)	۱۵/۷۵۴	۲	<.۰۰۱		a	b	b

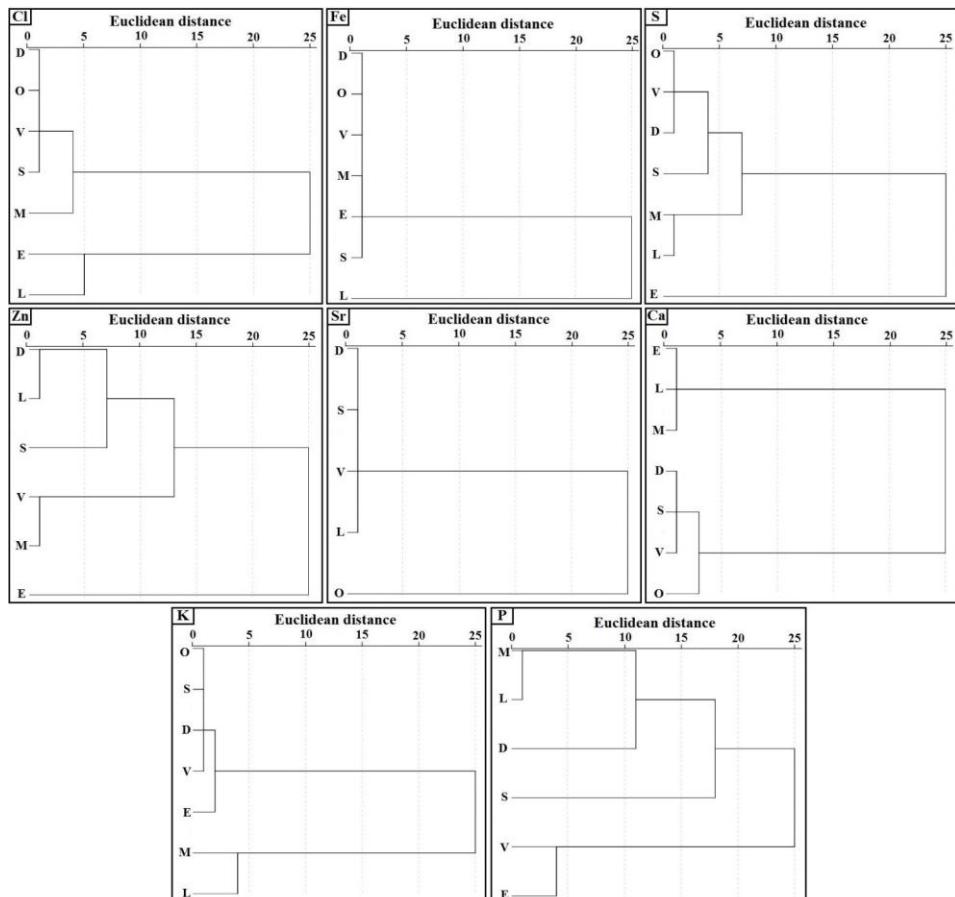
### ترتیب تجمع عناصر در بافتهای سخت

با توجه به نتایج آزمون های آنالیز واریانس یک طرفه (جدول ۳)، در مورد تمامی بافتهای بررسی شده در این تحقیق

## تأثیر سطوح مختلف آستاگزانتنی مصنوعی و جلبکی بر...

جدول ۳: نتایج ۷ آنالیز واریانس بک طرفه به منظور بررسی این فرضیه صفر که هیچ اختلاف معنی داری میان عناصر از دیدگاه میزان تجمع هر یک از عناصر در بافت ها وجود ندارد. عناصری که باحروف لاتین مشابه مشخص گردیده اند، قادر اختلاف معنی دار می باشند (بر مبنای آزمون دانکن ، $p < 0.05$ ). مقادیر میانگین و انحراف معیار (درون پرانترها) نیز ارائه گردیده است (بر حسب درصد وزن خشک). Table 3: Results of 7 one-way ANOVAs testing the null hypothesis that there were no significant differences among concentrations of each of the selected elements in the tissues. Elements which have a common letter are not significantly different from one another (Duncan's new multiple range test,  $p < 0.05$ ). Mean and standard deviation (in parentheses) of the elements concentrations (percent, dry weight) are also presented.

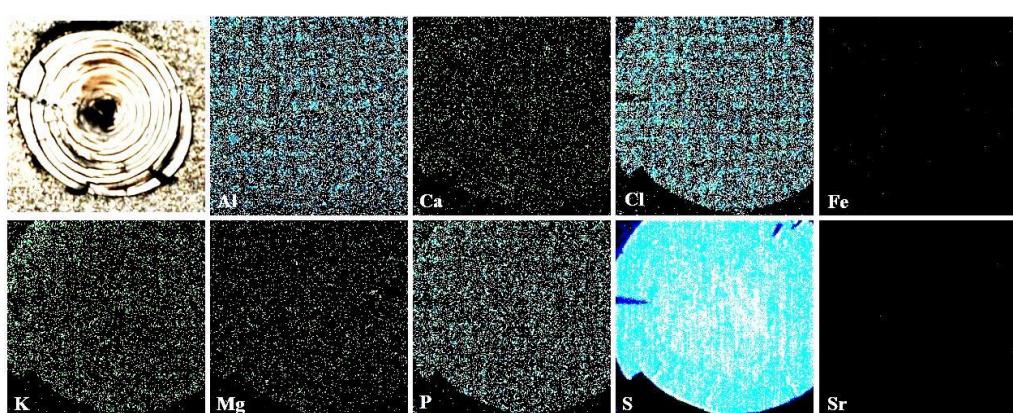
عناصر						
بافت	F-ratio	df	p-value	D	S	Mg
کبد						
فليس						
عدسی						
شعاع						
سخت باله						
أتولیت						
عدهله						
مهره بشتی						
بای						
Br				a	۰.۲۱±۰.۰۱	
Na	b	۰.۹/۰.۸±۰.۱۹	b	۰.۱۵۴±۰.۰۱۹	۰.۱۳±۰.۰۱	
Sr	a	۰.۱/۰.۰۲±۰.۰۰۷	c	۰.۱۵۷±۰.۰۱۷	۰.۱۳±۰.۰۱	
Zn	a	۰.۸/۰.۰۲±۰.۰۰۷	a	۰.۱۰۰±۰.۰۰۴	۰.۱۰۰±۰.۰۰۷	
Fe	b	۰.۱۶۵±۰.۰۱۹	a	۰.۱۰۰±۰.۰۰۷	۰.۱۰۰±۰.۰۰۷	
Mn	a	۰.۱/۰.۰۲±۰.۰۰۷	a	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	
Cu	a	۰.۱۱۰±۰.۰۰۷	a	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	
Ca	c	۰.۱۳۰±۰.۰۰۷	c	۰.۱۰۰±۰.۰۰۷	۰.۱۰۰±۰.۰۰۷	
K	g	۰.۱۴۰±۰.۰۰۷	e	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	
Mg	a	۰.۱۷۰±۰.۰۰۷	a	۰.۱۰۰±۰.۰۰۷	۰.۱۰۰±۰.۰۰۷	
Cl	e	۰.۱۷۰±۰.۰۰۷	c	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	
S	f	۰.۱۷۰±۰.۰۰۷	d	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	
D	d	۰.۱۷۰±۰.۰۰۷	b	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	۰.۰۸۰±۰.۰۰۷	
کبد						
فليس						
عدسی						
شعاع						
سخت باله						
أتولیت						
عدهله						
مهره بشتی						
بای						



شکل ۲: دندروگرام های آنالیز خوشه ای سلسه مراتبی (بر مبنای فاصله اقلیدسی) برای گروه بندی بافت های مختلف (M: عضله، L:

کبد، O: اوتولیت، V: مهره پشتی، D: شعاع سخت باله پشتی، S: فلس، E: عدسی چشم) ماهی سفید از دیدگاه میزان تجمع عناصر.

Figure 2: The dendrograms for hierarchical cluster analysis (Euclidean distance) of the selected tissues (M: Muscle, L: Liver, O: Otolith, V: Vertebrae bone, D: Dorsal fin, S: Scale, E: Eye lens) of kutum based on concentration of the elements.



شکل ۳: توزیع عناصر مختلف در یک نمونه عدسی چشم آنالیز شده ماهی سفید با میکروپیکسی.

Figure 3: Micro-PIXE elemental distributionmaps of a cross section sample of the kutum eye lens.

## بحث

## تفاوت‌های میان ایستگاهها

از فشارهای ناشی از فعالیت‌های انسانی (مانند لایروبی، ورود فاضلاب و پساب‌های خانگی، کشاورزی و صنعتی) می‌باشد و همچنین تحت تاثیر رژیم‌های حرارتی، هیدرودینامیکی، زمین‌شناختی، نرخ هوازدگی و جریان رودخانه متفاوت می‌باشند (Chang *et al.*, 2008; Cuveliers *et al.*, 2010). در عین حال، باید این نکته را مد نظر قرار داد که غلظت یک عنصر در محیط الاما نشانده‌نده قابلیت دسترسی عنصر مذبور برای جذب در اتوالیت یا سایر بافت‌های سخت نیست. به طور کلی، یون‌های محلولی که قادر لیگاندها می‌باشند، تنها گونه شیمیایی هستند که قابلیت جذب توسط برانشی‌ها را دارند (Campana, 1999, 2005). تاکنون طرح پایشی جامعی در رابطه با اندازه گیری غلظت و تغییرات عناصر بررسی شده در این تحقیق در آب و رسوبات سه رودخانه مذکور اجرا نشده است. از این‌رو در حال حاضر نمی‌توان در مورد مقایسه میزان تجمع عناصر مذبور در بافت‌های سخت با مقادیر آنها در آب و رسوبات منطقه مطالعاتی اظهار نظر نمود. در میان محدود مطالعات مرتبط انجام شده در منطقه، می‌توان به تحقیق انجام شده توسط Agah و همکاران (۲۰۱۱) اشاره نمود که بر اساس نتایج حاصله میزان تجمع عنصر Mg در رسوبات نزدیک مصب رودخانه تجن بطور معنی داری بیشتر از میزان این عنصر در رسوبات مجاور مصب گرانزورد بود (به ترتیب ۱۴۳۳۲ و ۱۲۷۵۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک) که با نتایج تحقیق کنونی در مورد مهره پشتی تطابق دارد (جدول ۱). از سوی دیگر، تجمع بیشتر S در عدسی چشم نمونه‌های گردآوری شده از ایستگاه ۲ در مقایسه با ایستگاه ۳، نیز با نتایج Agah و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد زیرا در تحقیق آنها نیز مقادیر بالاتری از این عنصر در رسوبات مجاور ایستگاه ۲ نسبت به ایستگاه ۳ اندازه گیری گردید (به ترتیب ۵۱۰۰ و ۳۶۲۵ میکروگرم بر گرم وزن خشک). علاوه بر این، با توجه به نتایج تحقیق انجام شده توسط Karbassi و Saeedi (۲۰۰۶)، میزان Zn در رسوبات مجاور مصب رودخانه گرانزورد بیشتر از رسوبات نزدیکی مصب رودخانه تجن بود (به ترتیب ۱۱۷ و ۸۳ میکروگرم بر گرم وزن خشک). به همین ترتیب، میانگین مقادیر تجمع Zn در فلس و عضله نمونه‌های گردآوری شده از ایستگاه ۳ به طور معنی داری بیشتر از ایستگاه ۲ بود.

چ) به طور کلی، اندازه بدن در زمرة عواملی است که تاثیر آن بر میزان تجمع عناصر در بدن موجودات زنده به خوبی شناخته شده است (Pourang *et al.*, 2014). همانطوریکه ذکر شد، طول و وزن نمونه‌های گردآوری شده از ایستگاه ۱ به طور معنی داری بیشتر از ایستگاه‌های ۲ و ۳ بود (گرچه تمام نمونه‌ها به گروه سنی مشابهی تعلق داشتند) (جدول ۲). به همین

در تفسیر تفاوت‌های مشاهده شده بین ایستگاه‌های نمونه برداری (جدول ۱)، باید موارد زیر را مد نظر قرار داد:

الف) به طور کلی، تجمع عناصر در اتوالیت و سایر ساختارهای سخت بدن ماهی‌ها، ناشی از فرآیندهایی پیچیده است که هنوز به طور کامل شناسایی نشده‌اند. اما می‌دانیم که عوامل متعدد زیستی (مانند منابع غذایی، سرعت متابولیسم، جنسیت، فعالیت تولید مثلی، استرس، تفاوت‌های ژنتیکی میان جمعیت‌ها) و غیرزیستی (مانند pH، پتانسیل رداکس<sup>۱</sup>، قلیائیت، شوری، درجه حرارت، دوره هیدرولوژیکی<sup>۲</sup>) ممکن است قادر به کنترل میزان تجمع و پراکنش عناصر در این بافت‌ها باشند. علاوه بر این، برخی از محققان در مورد هم افزایی<sup>۳</sup> یا هم کاستی<sup>۴</sup> این عوامل گزارش‌هایی را منتشر کرده‌اند؛ (Swan *et al.*, 2003; Swan *et al.*, 2006; Cuveliers *et al.*, 2010; Ren *et al.*, 2012; Tanner, 2012; Kerr and Campana, 2014; Aschenbrenner *et al.*, 2016)

از سوی دیگر، نتایج منتشر شده مربوط به تحقیقات مشابه در رابطه با بافت‌های نرم بسیار بیشتر از بافت‌های سخت است. با این وجود، بر بنای پیشینه (Wagner and Boman, 2003; Witeska and Jezierska, 2003; Cogun and Kargin, 2004; Jezierska and Witeska, 2006) در میان عوامل متعددی که بر تجمع عناصر اصلی و کمیاب در بافت نرم ماهی‌ها تاثیر می‌گذارند، بیشتر آنها مشابه موارد فوق الذکر می‌باشند. علاوه بر این، این نکته نیز باید مورد توجه قرار گیرد که تفکیک و توزیع عناصر در فازهای مختلف از جمله ستون آب، رسوب و آب موجود در خلل و فرج ذرات رسوبی<sup>۵</sup> بر قابلیت دسترسی زیستی<sup>۶</sup> فلزات در یک اکوسیستم آبی تاثیر می‌گذارد. در هر فاز، قابلیت دسترسی زیستی به وسیله چندین ویژگی فیزیکی، شیمیایی و زیستی تعیین می‌شود (Pourang *et al.*, 2005).

ب) ایستگاه‌های نمونه برداری در مجاورت مصب سه رودخانه که به عنوان مکان‌های تخم ریزی طبیعی ماهی سفید شناخته شده‌اند، انتخاب شده‌اند. اصولاً مصب‌ها دارای قابلیت دریافت انواع مواد شیمیایی از آبهای ساحلی و دریایی و همچنین آب شیرین رودخانه می‌باشند و غالباً در معرض طیف گسترده‌ای

<sup>1</sup> Redox potential<sup>2</sup> Hydrological period<sup>3</sup> Synergism<sup>4</sup> Antagonism<sup>5</sup> Pour water<sup>6</sup> Bioavailability

که بر اساس نتایج مطالعه کنونی، فلز ها و شعاع باله را می‌توان به عنوان جایگزین های بالقوه غیر کشنده برای سایر ساختارهای سخت مطرح نمود. با این وجود، با عنایت به اینکه جذب برخی عناصر از طریق فیزیولوژی بدن ماهی ها قابل تنظیم است (Campana *et al.*, 2000; Geffen *et al.*, 2003)، لذا مشخص نیست که میزان تجمع همه عناصر مذکور فوق در این بافت ها منعکس کننده تغییرات آنها در محیط باشد. از سوی دیگر بر اساس نتایج ارائه شده در شکل مذبور به نظر می‌رسد در مورد عناصر Cl, Fe و Ca فلز ها و شعاع باله را می‌توان به عنوان جایگزین های بالقوه غیر کشنده برای اتولیت به منظور تفکیک جمعیت های ماهی سفید مطرح نمود. Gillanders, 2001; Wells *et al.*, 2003; Phelps *et al.*, 2012; Kerr and Campana, 2014 نیز به نتایج مشابهی در مورد گونه های دیگر ماهی دست یافته‌اند.

#### توجیه ترتیب تجمع عناصر در بافت‌ها

به طور کلی در تفسیر نتایج ارائه شده در بخش مربوط به ترتیب تجمع عناصر در بافت ها، باید به این نکته توجه داشت که بر اساس نظرات برخی از محققین (Beone *et al.*, 2011) سه عامل بر وزیرگی های عناصر در بدن موجودات زنده تأثیر می‌گذارد: (الف) تفاوت در میل ترکیبی عناصر، (ب) تفاوت در غلظت های درون سلولی عناصر (مثلاً وجود سیستم های خاص جذب یا جریان) و (پ) ترجیحات هندسه کوئوریدیناسیون<sup>۱</sup> عناصر مختلف. الگوی تجمع عناصر در اتولیت در این تحقیق بطور کلی با نتایج گزارش شده توسط محققان دیگر (Houston, 2015; Lai *et al.*, 2015; Cuveliers *et al.*, 2010; Gao *et al.*, 2006) نتایج تحقیقات مشابه مربوط به سایر بافت های سخت بسیار محدود است. مکانیسم های جایگزینی و ترکیب عناصر در ماتریس های اتولیت تحت تاثیر شرایط زیستی و غیر زیستی (مانند شوری و سرعت رشد ماهی) است (Bickford *et al.*, 2003). مکانیسم هایی که ورود عناصر به اتولیت ماهی ها را تنظیم می‌کنند، هنوز به طور کامل شناسایی نشده اند (Aschenbrenner *et al.*, 2016). عدسی چشم ماهی ها، برخلاف دیگر بافت های سخت بدن آنها، دارای ساختاری غیر آهکی است (Chittaro *et al.*, 2006; Tzadik *et al.*, 2017) در این بافت قابل پیش‌بینی بود. عناصر از طریق آب پیرامون و غذا به فلسها

صورت میانگین مقادیر Sr در اتولیت نمونه های ایستگاه ۱ بطور معنی داری بیشتر از دو ایستگاه دیگر بود. بر اساس نتایج تحقیق انجام شده توسط Geffen و همکاران (۲۰۰۳) مقادیر بالاتر عناصر در اتولیت نمونه های ماهی بزرگتر ممکن است در نتیجه سوخت و ساز سریعتر و نرخ رشد بالاتر و لذا افزایش میزان در معرض قرارگیری عناصر باشد که در نهایت در اتولیت تجمع می‌یابند. بالعکس، میانگین مقادیر P در کبد نمونه های گردآوری شده از ایستگاه ۱ به طور معنی داری کمتر از دو ایستگاه دیگر بود. وجود روابط منفی بین میزان تجمع عناصر (بویژه فلزات سنگین)، در بافت ها (از جمله کبد) و اندازه بدن ماهی ها توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است (Nussey *et al.*, 2000; Cai, 2012). یک توضیح برای روابط منفی مشاهده شده بین غلظت این عنصر و اندازه بدن ماهی در این مطالعه ممکن است تفاوت در فعالیت های متابولیک بین ماهی های کوچکتر و بزرگتر باشد. بطور کلی تجمع یک عنصر در بدن یک موجود زنده نتیجه تفاوت بین عملکرد کلیه فرآیندهای مربوط به بین جذب و دفع عنصر مورد نظر در بدن است (Canli and Atli, 2003).

#### تشابه میان بافت ها

هفت بافت انتخاب شده در تحقیق کنونی از دیدگاه ترکیب و عملکرد آنها تا حدود زیادی متفاوت می‌باشند. اتولیت ها عمدتاً از کربنات کلسیم تشکیل شده اند، در حالیکه فلز ها، مهره ها و شعاع بال ها عمدتاً متشکل از سفالات کلسیم هستند و عدسی چشم تا حدود زیادی از آب و ساختارهای پروتئینی تشکیل شده است (Tzadik *et al.*, 2017). ترکیب بافت های نرم مورد بررسی تا حدودی متفاوت است. عضله ماهی، متشکل از آب (عمدتاً)، پروتئین و چربی و مقادیر بسیار اندکی (حدود ۱ الی ۲ درصد) کربوهیدرات، اسیدهای نوکلئیک و نمک های معدنی می‌باشند (Martínez Musoles *et al.*, 2016). کبد ماهی ها حاوی پروتئین، آب و چربی است (NIIR, 2004). بنابراین، ممکن است در بافت های مختلف میل ترکیبی یون ها متفاوت باشد و از اینرو ترکیب عنصری متفاوت در بافت های مختلف قابل توجیه است. از سوی دیگر، در تفسیر تفاوت های مشاهده شده بین بافت ها، باید مسیرهای متابولیک، مسیرهای جذب یون ها و احتمال وقوع باز جذب و فرآیند معدنی شدن مجدد در نظر گرفته شود (Campana, 1999; Gillanders, 2001). بر اساس نتایج ارائه شده در شکل ۳، به نظر می‌رسد که تمام بافت های سخت، به جز عدسی چشم، ممکن است جایگزین های بالقوه ای برای پایش زیستی عناصر Ca, Cl, Fe, K و S در حوزه جنوبی دریای خزر باشند. شایان توجه است

<sup>۱</sup> Coordination geometry

اکثر تحقیقات انجام شده در این خصوص از روش LA-ICP-MS استفاده شده است. لذا، لازم است در تحقیقات آتی حتی الامکان بکارگیری روش هایی با قابلیت تفکیک بالاتر مد نظر قرار گیرد.

#### مقایسه با استانداردها

از میان عناصری که با بکارگیری روش پیکسی در بافت ماقول (عضله) قابل اندازه گیری بودند (شامل Zn, Cu, Mn, Fe, Na, S, P, Cl و Ca, K) تنها در مورد چهار عنصر Zn, Fe, Cu, Mn آستانه های مجاز در برخی استانداردهای بین المللی تعريف شده است که در جدول ۴ مندرج می باشند. با عنایت به اینکه استانداردهای مندرج در جدول مذبور بر اساس وزن تر ارائه شده است، اما محاسبات انجام شده در این تحقیق بر اساس وزن خشک می باشد، لذا لازم است قبل از مقایسه مقادیر محاسبه شده با استانداردها، از ضریب تبدیل وزن خشک به تر که در بخش مواد و روش ها ارائه شده است (۳/۱۹) استفاده نمود. با در نظر گرفتن ضریب تبدیل فوق الذکر میزان تجمع عناصر Zn, Cu و Fe در بافت عضله نمونه های بررسی شده در این تحقیق به ترتیب برابر ۰/۲۶، ۰/۱۷ و ۰/۵۰ و ۰/۰۹ خواهد بود که در تمامی موارد در مقایسه با استانداردهای درج شده در جدول ۴ بسیار کمتر می باشد. از اینرو بنظر می رسد مصرف کنندگان این ماهی از نظر تجمع چهار عنصر مذبور در بدن در معرض تهدید سلامتی نیستند.

وارد می شوند. مسیر ورود عناصر به فلس به نوع عنصر بستگی دارد. فلس ها فاقد ثبات متابولیک می باشند و ممکن است در شرایط استرس و همچنین مطالبات غذایی بالای ماهی، برخی از عناصر را بازجذب نمایند (Gillanders, 2001; Ramsay *et al.*, 2011; Kerr and Campana, 2014) که نحوه ورود عناصر به شعاع باله ماهی ها تقریبا مشابه با مهره ها باشد. با این وجود، عدم امکان ارائه استدلال مناسب در مورد تفاوت ترکیب عنصری اولیت ها و شعاع باله ها، حاکی از فقدان شناخت کافی ما از مسیرهای متابولیک، مسیرهای جذب یون ها و توانایی های متفاوت بافت ها در جذب عناصر می باشد (Davies *et al.*, 2011; Tzadik *et al.*, 2017). گلوب تجمع عناصر در عضله *R. kutum* تا حد زیادی مشابه با موارد گزارش شده توسط Pirestani و همکاران (۲۰۰۹) بود. Goutte و همکاران (۲۰۱۵) روندهای نسبتا مشابهی را در مورد کبد شش گونه ماهی قطب جنوب گزارش نمودند.

تجمع عناصر در لایه های رشد بافت های سخت همانگونه که قبلا ذکر گردید، به منظور بررسی قابلیت استفاده از هر یک از پنج بافت های سخت انتخاب شده در این تحقیق به عنوان آرشیو زیستی عناصر از روش میکرو پیکسی استفاده گردید. همانگونه که از شکل ۳ قابل استنتاج است، قابلیت تشخیص روش مذبور برای تفکیک عناصر بر مبنای خطوط رشد کافی نیست. برخی محققین با استفاده از روش های مختلف تغییرات میزان تجمع برخی عناصر را در ارتباط با گلوب رشد برخی گونه های ماهی گزارش نموده اند (Davies *et al.*, 2011; Campbell *et al.*, 2015; Luque *et al.*, 2016) در

جدول ۴: حداقل غلظت های مجاز عناصر (بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر) در آبزیان برای استفاده انسان بر اساس استانداردهای بین المللی مختلف.

**Table 4: The maximum allowable concentrations of elements (in microgram per gram wet weight) in aquatic organisms for human consumption based on different international standards.**

استاندارد	Cu	Zn	Mn	Fe	منبع
FAO <sup>1</sup> /WHO <sup>2</sup>	۳۰	۱۰۰	۱	۱۰۰	FAO/WHO, 1989; Yin <i>et al.</i> , 2012
NHMRC <sup>3</sup>	۱۰	۱۵۰			Maher, 1986; Darmono & Denton, 1990
MAFF <sup>4</sup>	۲۰	۵۰			Collings <i>et al.</i> , 1996; Anan <i>et al.</i> , 2005
Malaysian Food Regulations	۳۰	۱۰۰			Sarmani <i>et al.</i> , 1993

<sup>1</sup> Food and Agriculture Organization, <sup>2</sup> World Health Organization, <sup>3</sup> Ministry of Agriculture Fisheries and Food (UK), <sup>4</sup>Australian National Health and Medical Research Council

## منابع

- waters of the Caspian Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 51: 882-888. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2005.06.038.
- Aschenbrenner, A., Ferreira, B. P. and Rooker, J. R., 2016.** Spatial and temporal variability in the otolith chemistry of the Brazilian snapper *Lutjanus alexandrei* from estuarine and coastal environments. *Journal of Fish Biology*, 89(1), 753-769. DOI: 10.1111/jfb.13003.
- Bickford, N.A., Hannigan, R.E. and Bogdevich, O.P., 2003.** Environmental life histories of freshwater fish using otolith microchemistry. The Sixth International Symposium on Environmental Contamination in Central and Eastern Europe and the Commonwealth of Independent States, , Prague, Czech Republic, 1-4 September 2003.
- Brickle, P., Schuchert, P.C., Arkhipkin, A.I., Reid, M.R. and Randhawa, H.S., 2016.** Otolith trace elemental analyses of South American Austral Hake, *Merluccius australis* (Hutton, 1872) indicates complex salinity structuring on their spawning/larval grounds. *PLoS One*, 11 (1), e0145479. DOI: 10.1371/journal.pone.0145479.
- Cai, S., Ni, Z., Li, Y., Shen, Z., Xiong, Z., Zhang, Y. and Zhou, Y., 2012.** Metals in the tissues of two fish species from the rare and endemic fish nature reserve in the upper reaches of the Yangtze River, China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88, 922–927. DOI: 10.1007/s00128-012-0564
- Campana, S.E., 1999.** Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series*, 188, 263–297. DOI: 10.3354/meps188263.
- Campana, S.E., Chouinard, G.A., Hanson, J.M., Frechet and A., Brattey, J., 2000.** Otolith elemental fingerprints as biological tracers of fish stocks. *Fisheries Research*, 46, 343-357.
- آقاعالی گل، د.، اولیائی، پ.، باقی زاده، ع.، شکوهی، ف.، کاکویی، ا.ر.، موحد، ب.، فرمهینی فراهانی، م. ، مرادی، م. و لامعی رشتی، م.، ۱۳۸۶. آنالیز عنصری نمونه های مختلف با استفاده از میکروسکوپ روبشی پروتون و بررسی توزیع عناصر در آنها. *مجله علوم و فنون هسته ای*، ۱۰: ۴۰-۴۶.
- پورنگ، ن.، قنبری باغستانی، ف.، لامعی رشتی، م.، مرتضوی، م. ص.، کمالی، ع. و وارسته، ط. ۱۳۹۴ بررسی قابلیت استفاده از یک گونه دو کفه ای به منظور پایش زیستی عناصر در خلیج فارس با بکارگیری یک روش آنالیز غیرتخریبی. *مجله علمی شیلات ایران*, ۲۴ (۴): ۸۵-۶۵.
- فضلی، ح. ، دریانبرد، غ.ر. ، پورغلام، ر.، عبدالملکی، ش.، بندانی ، ع. ، پورغلامی، ا. و صفوی، س. ا. ۱۳۹۱ بررسی کیفی وضعیت ذخایر ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum* Kamensky, 1901) در دریای خزر طی سالهای ۱۳۷۰-۱۳۹۰. *مجله علمی شیلات ایران*, ۲۱ (۲): ۵۳-۶۴.
- نیکبخت، ط..، کاکویی، ا.ر.. لامعی رشتی، م. و صداقتی بورخانی، م.، ۱۳۹۴ مشخصه یابی سنگ لاجورد با استفاده از روشهای مکمل آبیبل و میکروپیکسی. *محله پژوهش فیزیک ایران*.، ۱۵ (۱): ۹-۱۷.
- Afraei Bandpei, M.A., Mashhor, M., Abdolmaleki, S. and El-Sayed, A.M., 2010.** Population dynamics of Caspian Kutum, *Rutilus frisii kutum* (Cyprinidae) in southern Caspian Sea, Iran. *Cybium*, 34(3): 285-292.
- Agah, H., Hashtroodi, M. and Baeyens, W., 2011.** Trace metals analysis in the sediments of the southern Caspian Sea. *Journal of the Persian Gulf*, 2 (6): 1-12.
- Al-Najjar,T., Khalaf, N., Alawi, M. and Disi, A., 2012.** *Levels of trace metals in two fish species (Caesio varilineata and Caesio lunaris)* of the family Caesionidae from the Gulf of Aqaba, Red Sea. *Fresenius Environmental Bulletin*, 21(5): 1152-1157.
- Anan, Y., Kunito, T., Tanabe, S., Mitrofanov, I. and Aubrey, D., 2005.** Trace element accumulation in fishes collected from coastal

- Campana, S.E., 2005.** Otolith elemental composition as a natural marker of fish stocks. In: Cardin, S.X., Friedland, K.D. and Waldman, J.R. Stock identification methods. Academic Press, New York. pp. 227-245.
- Campbell, L.A., Bottom, D.L., Volk, E.C. and Fleming, I.A., 2015.** Correspondence between scale morphometrics and scale and otolith chemistry for interpreting juvenile salmon life histories. Transactions of the American Fisheries Society, 144, 55–67. DOI: 10.1080/00028487.2014.963253 .
- 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. Environmental Pollution, 121, 129–136. DOI: 10.1016/S0269-7491(02)00194-X.
- Chang, M.Y., Tzeng, W.N., Wang, C.H., You, C.F., 2008.** Differences in otolith elemental composition of the larval *Rhinogobius giurinus* (Perciformes, Gobiidae) among estuaries of Taiwan: implications for larval dispersal and connectance among metapopulation. Zoological Studies, 47(6), 676-684.
- Chittaro, P.M., Usseglio, P., Fryer, B.J. and Sale, P.F., 2006.** Spatial variation in otolith chemistry of *Lutjanus apodus* at Turneffe Atoll, Belize. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 67, 673-680. DOI: 10.1016/j.ecss.2005.12.014.
- Clarke, A.D., Telmer, K. and Shrimpton, J.M., 2004.** Population structure and habitat use by Arctic grayling (*Thymallus arcticus*) in tributaries of the Williston Reservoir using natural elemental signatures. Peace/Williston Fish and Wildlife Compensation Program Report No. 300, 61P.
- Cogun, H.Y. and Kargin, F., 2004.** Effects of pH on the mortality and accumulation of copper in tissues of *Oreochromis niloticus*. Chemosphere, 55, 277–282. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2003.10.007.
- Collings, S.E., Johnson, M.S. and Leah, R.T., 1996.** Metal contamination of angler – caught fish from the Mersey Estuary. Marine Environmental Research, 41(3), 281-297. DOI: 10.1016/0141-1136(95)00020-8.
- Cuveliers, E.L., Geffen, A.J., Guelinckx, J., Raeymaekers, J.A.M., Skadal, J., Volckaert, F.A.M. and Maes, G.E., 2010.** Microchemical variation in juvenile *Solea solea* otoliths as a powerful tool for studying connectivity in the North Sea. Marine Ecology Progress Series, 401, 211–220. DOI: 10.3354/meps08439.
- Darmono, D. and Denton, G.R.W., 1990.** Heavy metal concentrations in the banana prawn, *Penaeus merguiensis*, and leader prawn, *P. monodon*, in the Townsville Region of Australia. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 44, 479-486. DOI: 10.1007/BF01701233.
- Davies, C.A., Brophy, D., Jeffries, T. and Gosling, E., 2011.** Trace elements in the otoliths and dorsal spines of albacore tuna (*Thunnus alalunga*, Bonnaterre, 1788): An assessment of the effectiveness of cleaning procedures at removing postmortem contamination. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 396, 162-170. DOI: 10.1016/j.jembe.2010.10.016.
- Elsdon, T.S. and Gillanders, B.M., 2004.** Fish otolith chemistry influenced by exposure to multiple environmental variables. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 313 (2), 269-284.
- Everitt, B.S., Landau, S., Leese, M. and Stahl, D., 2011.** Cluster analysis. (5<sup>th</sup> ed). Chichester, UK, Wiley, 330P.
- FAO/WHO, 1989.** National Research Council Recommended Dietary Allowances (10<sup>th</sup> ed). National Academy Press. Washington, DC. USA, 302P.

- Fazli, H., Daryanabard, G.R., Abdolmaleki, S. and Bandani, G.A., 2013.** Stock management implication of Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum* Kamensky, 1901) in Iranian waters of the Caspian Sea. *Ecopersia*, 1 (2), 179-190.
- Gao, Y., Feng, Q., Ren, D., Qiao, L. and Li, L., 2010.** The relationship between trace elements in fish otoliths of wild carp and hydrochemical conditions. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36, 91–100. DOI: 10.1007/s10695-008-9294-2.
- Geffen, A.J., Jarvis, K., Thorpe, J.P., Leah, R.T. and Nash, R.D.M., 2003.** Spatial differences in the trace element concentrations of Irish Sea plaice *Pleuronectes platessa* and whiting *Merlangius merlangus* otoliths. *Journal of Sea Research*, 50, 245– 254. DOI: 10.1016/j.seares.2003.06.001
- Gillanders, B.M., 2001.** Trace metals in four structures of fish and their use for estimates of stock structure. *Fishery Bulletin*, 99(3), 410-419.
- Goutte, A., Cherel, Y., Churlaud, C., Ponthus, J.P., Massé, G. and Bustamante, P., 2015.** Trace elements in Antarctic fish species and the influence of foraging habitats and dietary habits on mercury levels. *Science of the Total Environment*, 538, 743–749. DOI: 10.1016/j.scitotenv.
- Herrera-Reveles, A.T., Lemus, M., Marín, B. and Prin, J. L. 2013.** Trace metal incorporation in otoliths of a territorial coral reef fish (*Abudefduf saxatilis*) as an environmental monitoring tool. *E3S Web of Conferences*, 1, 34007.
- Houston, B.C., 2015.** Comparison of otolith-based growth rates and microchemistry in red drum before, during, and after the Deepwater Horizon oil spill. M.Sc. Thesis, College of Marine Science, University of South Florida, USA.
- Javor, B.J. and Dorval, E., 2016.** Stability of trace elements in otoliths of juvenile Pacific sardine *Sardinops sagax*. *CalCOFI Reports*, 57, 109-123.
- Jeziorska, B. and Witeska, M., 2006.** The metal uptake and accumulation in fish living in polluted waters, In: Twardowska, I.; Allen, H.E.; Hagblom, M.M. and Stefaniak, S. (eds.). *Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation*. Springer, pp. 3–23. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-4728-2\\_6](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-4728-2_6).
- Kerr, L.A. and Campana, S.E., 2014.** Chemical composition of fish hard parts as a natural marker of fish stocks. In: Cadrian, S. X., Kerr, L. A. and Mariani, S. (ed). *Stock identification methods*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, CA. pp 205-234.
- Kohestan-Eskandari, S., Anvarifar, H., Mousavi-Sabet, H., Yousefi, M. and Khanzade, M., 2014.** A morphology-based hypothesis for homeward migration success and population differentiation in the anadromous kutum *Rutilus kutum* (Pisces: Cyprinidae) along the southern Caspian Sea, Iran. *Folia Zoologica*, 63 (3), 151–160. DOI: [doi.org/10.25225/fozo.v63.i3.a2.2014](https://doi.org/10.25225/fozo.v63.i3.a2.2014).
- Lai, J., Zhao, L., Fan, Y., Qu, X., Liu, D., Guo, Z., Wang, Y., Liu, Q. and Chen, Y., 2015.** Using whole body elemental fingerprint analysis to distinguish different populations of *Coilia nasus* in a large river basin. *Biochemical Systematics and Ecology*, 60, 249-257.
- Luque, P.L., Zhang, S., Rooker, J.R., Bidegain, G. and Rodríguez-Marí, E., 2016.** Dorsal fin spines as a non-invasive alternative calcified structure for microelemental studies in Atlantic bluefin tuna. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 486, 127–133. DOI: 10.1016/j.jembe.2016.09.016 .
- Maher, W. A., 1986.** Trace metal concentrations in marine organisms from St. Vincent Gulf, south

- Australia. Water, Air and Soil Pollution, 29, 77-84. DOI:10.1007/BF00149330.
- Martínez Musoles, M., Alvarez Perez, J., Pessatti, M., Loyola Twardowsky Bova, M., 2016.** Why are Brazilian deep-demersal fish resources valuable? An analysis of the size of edible flesh and its chemical composition. Latin American Journal of Aquatic Research, 44(5), 947-956. DOI:10.3856/vol44-issue5-fulltext-7.
- Milton, D. A. and Chinery, S.R. , 2001.** Sources and uptake of trace metals in otoliths of juvenile brramundi (*Lates calcarifer*). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 264 (1), 47-65. DOI: 0.1111/j.1095-8649.2004.00393.x.
- Moosavi, K., Vatankhah, S., Salimi, J. and Moradi, M., 2010.** A proton induced X-ray emission (PIXE) analysis of concentration of trace elements in varicose veins. Iranian Journal of Radiation Research, 8(2), 117 – 121.
- Naghipour, D., Shaabaninezhad, Z. and Amouei, A., 2016.** Evaluation of heavy metal concentrations in *Rutilus frisii kutum* on the southern coast of the Caspian Sea (northern Iran). Environmental Health Engineering and Management Journal, 3(2), 55–59.DOI: 10.15171/ehemj.2016.01.
- NIIR, 2004.** Handbook of fisheries and aquaculture technology. National Institute of Industrial Research (NIIR), Asia Pacific Business Press Inc. 750P.
- Nussey, G., Van Vuren, J.H.J. and du Preez, H.H., 2000.** Bioaccumulation of chromium, manganese, nickel and lead in the tissues of themogel, *Labeo umbratus* (Cyprinidae), from Witbank Dam, Mpumalanga. Water SA, 26(2), 269–284.
- Peterson, C.H., Duncan, P.B., Summerson, H.C. and Safrit, G.W., 1983.** A mark-recapture test of annual periodicity of internal growth band deposition in shells of hard clams, *Mercenaria mercenaria*, from a population along the Southeastern United States. Fishery Bulletin, 81, 765–779.
- Phelps, Q.E., Whitledge, G.W., Tripp, S.J., Smith, K.T., Garvey, J.E., Herzog, D.P., Ostendorf, D.E., Ridings, J.W., Crites, J.W., Hrabik, R.A., Doyle, W.J., Hill, T.D., Trudel, M., 2012.** Identifying river of origin for age-0 *Scaphirhynchus* sturgeons in the Missouri and Mississippi rivers using fin ray microchemistry. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 69 (5), 930-941. DOI: 10.1139/f2012-038.
- Pirestani, S., Ali Sahari, M., Barzegar, M. and Seyfabadi, S.J., 2009.** Chemical compositions and minerals of some commercially important fish species from the South Caspian Sea. International Food Research Journal, 16, 39-44.
- Pourang, N., Tanabe, S., Rezvani, S. and Dennis, J.H., 2005.** Trace elements accumulation in edible tissues of five sturgeon species from the Caspian Sea. Environmental Monitoring and Assessment, 100, 89–108. DOI: 10.1007/s10661-005-7054-7.
- Pourang, N., Richardson, C.A., Chinery, S.R.N. and Nasrollahzadeh, H., 2014.** Assessment of trace elements in the shell layers and soft tissues of the pearl oyster *Pinctada radiata* using multivariate analyses: a potential proxy for temporal and spatial variations of trace elements. Environmental Monitoring and Assessment. 186(4), 2465-2485. DOI: 10.1007/s10661-013-3553-0.
- Ramsay, A.L., Milner, N.J., Hughes, R.N. and McCarthy, I.D., 2011.** Comparison of the performance of scale and otolith microchemistry as fisheries research tools in a small upland catchment. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 68, 823-833. DOI: 10.1139/f2011-027.

- Ranaldi, M. and Gagnon, M. M., 2008.** Trace metal incorporation in otoliths of black bream (*Acanthopagrus butcheri* Munro), an indicator of exposure to metal contamination. *Water, Air and Soil Pollution*, 194 (1-4), 31-43. DOI: 10.1007/s11270-008-9696-x.
- Ranaldi, M.M., 2011.** Trace metal analysis of fish otoliths used as a biomonitoring tool. Curtin University. Department of Environment and Agriculture, 114P.
- Ren, D., Gao, Y. and Feng, Q., 2012.** Enrichment of Pb, Hg and Cr in cultured carp otolith. *African Journal of Biotechnology*, 11(8), 1939-1947. DOI: 10.5897/AJB11.3108.
- Saeedi, M. and Karbassi, A.R., 2006.** Heavy metal pollution and speciation in sediments of southern part of the Caspian Sea. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9, 735-740. DOI: 10.3923/pjbs.2006.735.740.
- Sarimin, A. and Mohamed, C.A.R., 2012.** Elements content in otolith as pollution indicator for cultured sea bass (*Lates calcarifer*) of Malaysia. *Journal of Environmental Protection*, 3, 1689-1703. DOI: 10.4236/jep.2012.312184.
- Sarmani, S., Wood, A. K., Hamzah, Z. and Majid, A. A., 1993.** Analysis of toxic trace elements in sea food samples by neutron activation. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 169(1), 255-258. DOI: 10.1007/BF02046800.
- Seeley, M., Miller, N. and Walther, B., 2015.** High resolution profiles of elements in Atlantic tarpon (*Megalops atlanticus*) scales obtained via cross-sectioning and laser ablation ICP-MS: a literature survey and novel approach for scale analyses. *Environmental Biology of Fishes*, 98, 2223-2238. DOI: 10.1007/s10641-015-0443-z.
- Sorte, C.J.B., Etter, R.J., Spackman, R., Boyle, E.E. and Hannigan, R.E., 2013.** Elemental fingerprinting of mussel shells to predict population sources and redistribution potential in the Gulf of Maine. *PLoS ONE*, 8(11), e8086. DOI: 10.1371/journal.pone.0080868.
- Swan, S.C., Gordon, J.D.M., Morales-Nin, B., Shimmield, T., Sawyer, T., Geffen, A.G., 2003.** Otolith microchemistry of *Nezumia aequalis* (Pisces: Macrouridae) from widely different habitats in the Atlantic and Mediterranean. *Marine Biological Association of the United Kingdom*, 83, 883-886.
- Swan, S. C., Geffen, A. J., Morales-Nin, B., Gordon, J. D. M., Shimmield, T., Sawyer, T. and Massuti, E., 2006.** Otolith chemistry: an aid to stock separation of *Helicolenus dactylopterus* (bluemouth) and *Merluccius merluccius* (European hake) in the Northeast Atlantic and Mediterranean. *ICES Journal of Marine Science*, 63, 504-513. DOI: 10.1016/j.icesjms.2005.08.012.
- Tanner, S.E., 2012.** Connectivity among estuarine and coastal fish populations using otolith geochemistry. Ph.D. Thesis. Departamento de Biologia Animal, University of Lisboa, Portugal, 179P.
- Tzadik, O.E., Curtis, J.S., Granneman, J.E., Kurth, B.N., Pusack, T.J., Wallace, A.A., Hollander, D.J., Peebles, E.B. and Stallings, C.D., 2017.** Chemical archives in fishes beyond otoliths: A review on the use of other body parts as chronological recorders of microchemical constituents for expanding interpretations of environmental, ecological, and life-history changes. *Limnology and Oceanography: Methods*, 15, 238-263. DOI: 10.1002/lom3.10153.
- Veinott, G.I. and Evans, R.D., 1999.** An examination of elemental stability in the fin ray of the white sturgeon with laser ablation sampling-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (LAS-ICP-MS). *Transactions of*

the American Fisheries Society, 128, 352-361.  
DOI: 10.1577/1548-8659(1999)128.

**Wagner, W. and Boman, J., 2003.** Biomonitoring of trace elements in muscle and liver tissue of freshwater fish. *Spectrochimica Acta Part B*, 58, 2215–2226. DOI: 10.1016/j.sab.2003.05.003.

**Wells, B.K., Rieman, B.E., Clayton, J.L., Horan, D.L. and Jones, C.M., 2003.** Relationships between water, otolith, and scale chemistries of westslope cutthroat trout from the Coeur d'Alene River, Idaho: The potential application of hard-part chemistry to describe movements in freshwater. *Transactions of the American Fisheries Society*, 132, 409–424. DOI: 10.1577/1548-8659(2003)132<0409:RBWOAS>2.0.CO;2.

**Witeska, M. and Jezierska, B., 2003.** The effects of environmental factors on metal toxicity to fish (Review). *Fresenius Environmental Bulletin*, 12, 824-9.

**Yin, S.A., Ismail, A. and Zulkifli, S.Z., 2012.** Heavy metals uptake by Asian swamp eel, *Monopterus albus* from paddy fields of Kelantan, Peninsular Malaysia: Preliminary study. *Tropical Life Sciences Research*, 23(2), 27–38.

**Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J. and Jiang, G., 2008.** Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*, 606: 135–150. DOI: 10.1016/j.aca.2007.11.018.

**Applications of elemental fingerprinting for population discrimination and biomonitoring potential assessment of *Rutilus kutum* from the Southern Caspian Sea**

Pourang N.<sup>1\*</sup>; Parafkandeh Haghghi F.<sup>1</sup>; Moazami H.R.<sup>2</sup>; Agha Aligol D.<sup>2</sup>; Ghavam Mostafavi P.<sup>3</sup>; Mahmoudian M.<sup>3</sup>

\*n\_pourang@yahoo.com

1-Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

2-Van de Graaff Laboratory, Nuclear Science Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Tehran, Iran.

3-Department of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

### **Abstract**

In this research, the potential use of five hard parts (otolith, scale, eye lens, dorsal spine, vertebral bone) of *Rutilus kutum* for populations discrimination and biomonitoring as well as their usability as biological archive in the southern Caspian Sea was investigated. Two soft tissues (muscle and liver) were also analyzed for assessment of the possible risk of consumption and use as biomonitoring tool, respectively. A total of 60 specimens were collected using beach seine from three sampling sites (adjacent to the estuaries of the rivers Sefidrud, Tajan and Grorganrud, respectively) in the Southern Caspian Sea in May 2016. In total, the levels of 13 major and trace elements in the samples (the seven soft and hard tissues) was measured using PIXE (Proton Induced X-ray Emission) and  $\mu$ -PIXE methods. Minor similarities among the tissues were observed in the case of eye lens (for P, S and Zn) and liver (for Cl, Fe and K). There were no significant relationships between the elements and biological characteristics (weight, total length and standard length). Based on the results, it seems that all the studied hard parts, except for eye lens, may offer alternatives for biomonitoring of Ca, Cl, Fe, K and S in the southern Caspian Sea. Considering Sr level in otolith, no significant differences could be found between the sampling sites 2 and 3. So it can be concluded that the specimens collected from the two sites are probably from the same population. Similar results were also obtained based on the results concerning K accumulation in scale. It can be concluded that scales may provide an alternative structure to otolith for stock discrimination of *R. kutum* in the southern Caspian Sea. Among the 10 elements that were detectable in the muscle using the PIXE method, only in the case of four of them (i.e. Zn, Cu, Fe and Mn) maximum allowable concentrations for human consumption have been defined, which in all the cases the mean concentrations in the present study were far below the recommended limits.

**Keywords:** Caspian Sea, Kutum, Population discrimination, Biomonitoring, *PIXE*

---

\*Corresponding author