بررسی امکان معرفی آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز(SOD) و کاتالاز (CAT) به‌عنوان بیومارکر هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) در بارناکل‌های (*Balanus amphitrite*) منطقه بهرگان- خلیج فارس

مژگان امتیازجو [۱]،مجید زینلی [۲]، لیدا سلیمی[۳]، نیلوفر نیک بین[۴،*]

۱. استادیار بیولوژی دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
۲. استادیار شیمی، پژوهشکده صنعت نفت
۳. استادیار گروه آلودگی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
۴. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

مکان انجام تحقیق: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال و پژوهشکده صنعت نفت

***مسؤول مکاتبات:** نیلوفر نیک بین، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، صندوق پستی: ۱۴۱۷-۱۴۱۵۵، پست الکترونیکی: d-far86@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۸/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۰/۷

چکیده

آلودگی‌های محیط‌های دریایی نه تنها برحیات موجودات آبزی تاثیر می‌گذارد، بلکه تهدیدی جدی برای تمامی حیات موجود در کره زمین به‌شمار می‌آید. خلیج فارس به‌دلیل وجود صنعت پالایش نفت، تولیدات نفتی فراساحلی و بنادر دریایی، در معرض آلودگی نفتی قرار دارد. هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک (PAHs) سمی‌ترین ترکیبات در بین فرآورده‌های نفتی هستند. هیدروکربن‌ها و متابولیت‌هایشان پس از جذب توسط جانداران دریایی، تولید گونه‌های ROS را توسط چند مکانیسم افزایش می‌دهند که خود باعث ایجاد آسیب سلولی از طریق اکسیدکردن پروتئین، پراکسید شدن چربی و صدمه DNA می‌شوند. برای جلوگیری از چنین صدمه‌هایی، آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی برای حذف و برطرف‌نمودن تحریکات ROS فعال می‌شود و به موجود اجازه می‌دهد که استرس‌های اکسیداسیونی در محیط‌های آلوده را تحمل و بر آن‌ها غلبه کند. همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، نقشی اساسی در هموستازی سلول بازی می‌کنند. هدف از این مطالعه همانا بررسی اثر PAHs در تغییرات آنزیم CAT و SOD ، در بافت بارناکل‌ها بود. بدین منظور بارناکل‌ها از ۸ ایستگاه با درجات مختلف آلودگی جمع‌آوری شدند. برای اندازه‌گیری میزان PAHs در بافت بارناکل‌ها از GC.MS استفاده شد. همچنین از کیت سنجش آنزیم cayman برای اندازه‌گیری سطح آنزیم در بافت استفاده شد (superoxidase dismutase assay kit (catalog no.706002). از کیت سنجش آنزیم cayman ((catalase assay kit (catalog no. 707002)) برای اندازه‌گیری سطح آنزیم در بافت استفاده شد. پارامترهای محیطی در هر ایستگاه نیز مورد سنجش قرار گرفت. بالاترین میزان غلظت PAHs متعلق به سکوی نفتی سروش (۷۰/۳ ppb) و پایین‌ترین آن متعلق به ایستگاه دیلم (۷/۶ ppb) بود. بیشترین فعالیت ویژه SOD مربوط به سکوی نفتی نوروز قدیم (۵۱۲ U/ml/mg protein) با غلظت PAHs برابر با ۵۹/۱ ppb و پایین‌ترین آن در اسکله بهرگان (۴/۹۵ U/ml/mg protein) با غلظتPAHs برابر با ۱۲/۴ ppb بود. نتایج نشان دادند که همبستگی مثبتی بین SOD و غلظت PAHs کل تجمع یافته در بافت دیده وجود دارد (۰/۳=) بیشترین فعالیت ویژه کاتالاز در ایستگاه دیلم (۴۱/۹۲ U/ml/mg protein) و پایین‌ترین آن در سکوی نفتی نوروز قدیم (U/ml/mg protein ۱۱/۹۶) مشاهده شد. فعالیت ویژه کاتالاز در سکوی سروش برابر ۱۸/۷۱ U/ml/mg protein بوده است. نتایج نشان داد که همبستگی معنی‌دار مثبتی بین کاتالاز و غلظت PAHs کل تجمع یافته در بافت وجود ندارد (0.5 =). همچنین، مشخص شد که SOD می‌تواند بیومارکر PAHs در بارناکل‌های منطقه بهرگان محسوب گردد.

واژه‌های کلیدی: هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، بارناکل، خلیج‌فارس.

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

اثر فعالیت‌های انسانی بر محیط‌های دریایی از مشکلات همیشگی و روزافزون است. مواد شیمیایی PAHs به‌طور مداوم به آب‌های ساحلی وارد می‌شوند. این آلاینده‌ها توسط موجودات ساکن، جذب‌شده و سرانجام حیات آن‌ها را با خطر رو به رو می‌سازد. تشخیص اثرات زیر حد کشندگی چنین آلاینده‌هایی اغلب با مشکلاتی روبرو است. این مساله منجر به ارائه این نظریه می‌شود که ممکن است تغییرات در پارامترهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گونه‌های خاص موجودات زنده حساس، برای شناسایی و توصیف اثر آلاینده‌ها مفید باشد. به موجب این نظریه، مفهوم نشانگرهای زیستی توسعه یافته است(۱۲-۱۰).

معمولاً هنگامی که موجودات در معرض آلاینده‌ها قرار می‌گیرند، شروع به فعالیت‌هایی به منظور متابولیز و تصفیه مستقیم و به حداقل رساندن هر گونه آسیب‌های سلولی ناشی از آلاینده‌ها می‌نمایند. چنین مکانیزم‌های محافظت‌کننده‌ای اغلب شامل تغییرات فعالیت‌های آنزیمی است که می‌تواند به‌عنوان نشانگرهای زیستی در معرض آلاینده قرارگرفتن و یا اثرات ناشی از آن مورد توجه قرار گیرد (۱۳). مطالعات دانشمندان نشان می‌دهد که حضور، وضعیت و تعداد انواع گیاهان یا جانوران آبزی اطلاعات دقیقی را در باره سلامت یا آلودگی یک محیط آبی خاص فراهم می‌آورد (۱). یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های زیست محیطی، هیدروکربن‌های نفتی، به‌ویژه PAHs است که اثرات زیست محیطی آن به وضوح به اثبات رسیده است. PAHsبه دسته‌ای از مواد شیمیایی اطلاق می‌شود که دارای چند حلقه بنزنی به هم متصل شده‌اند. این مواد بر اثر سوخت ناقص مواد آلی و یا پیرولیز (تجزیه حرارتی) آن‌ها به وجود می‌آیند (۵) که به علت پتانسیل بالای سرطان‌زایی و ایجاد جهش‌های ژنی از اهمیت ویژه‌ای در مطالعات زیست محیطی برخوردارند. ترکیبات PAHs به سرعت جذب مواد معلق و موجود درآب دریا می‌شوند و نهایتاً درکف دریا ته نشین می‌شوند(۱۳).

تمایل آن‌ها به انحلال در آب، کم بوده و با افزایش وزن مولکولی، انحلال پذیری‌شان کمتر می‌شود. تمایل به جذب با جایگاه‌های فسفولیپیدی را دارند و توسط جانداران، جذب می‌شوند و در بافت چربی تجمع می‌یابند. گونه های بازفعال اکسیژن (ROS) در بدن موجودات زنده طی متابولیسم PAHs تولید می‌شوند (۱۲،۱۴). تولید بیشتر ROS منجر به استرس اکسیداتیو و امکان ایجاد آسیب‌هایی مانند جهش‌زایی، سرطان‌زایی، اکسیدشدن و تخریب پروتئین، تخریب کربوهیدرات‌ها و پراکسیدشدن چربی‌ها می‌گردد (۱۲،۱۸).

از آن جایی که آسیب‌های اکسایشی می‌توانند تهدیدکننده زندگی باشند، بدن، مکانیزم‌های دفاعی جهت مقابله در مقابل اکسیداسیون به‌کار گرفته است و کارآمدترین مسیر برای حذف رادیکال‌های سمی نامطلوب، آنزیم های آنتی اکسیدانی است (۱۹،۲۰).

تغییرات در فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی چون CAT وSOD به‌طور وسیعی برای بررسی امکان استفاده از آن‌ها به عنوان شاخص زیستی آلودگی ناشی از مواد آلی مورد مطالعه قرارگرفته است(۲۱). سوپراکسید دیسموتاز (SOD) آنزیمی است که تبدیل آنیون سوپراکسید را به اکسیژن مولکولی و پروکسید هیدروژن تسریع کرده و بنابراین، بخشی حیاتی را در مکانیزم سلولی و دفاع آنتی‌اکسیدانی تشکیل می‌دهد.

سه نوع SOD بر طبق محتوای فلزی آن‌ها مشخص شده است: مس/روی سیتوزولی، SOD منگنز میتوکندری و SOD خارج‌سلولی که SOD خارج‌سلولی در فضاهای میانی بافت‌ها و همچنین در مایعات خارج سلولی یافت می‌شود (۲،۳،۲۱). کاتالاز آنزیمی معمولی است که در سلول‌های موجودات هوازی و موجودات غیرهوازی اختیاری موجود است (۴). عملکرد آن شامل تجزیه پراکسیژن هیدروژن به آب و اکسیژن است. این آنزیم دارای فعالیت نسبتاً بالایی است. در بدن موجودات زنده هوازی و بی‌هوازی اختیاری دیده شده و فقط موجودات بی‌هوازی اختیاری فاقد آن هستند. بالاترین غلظت این آنزیم در کبد و کمترین آن در بافت پیوندی وجود دارد. در درجه اول یک آنزیم درون سلولی است، در

Archive of SID

www.SID.ir

پراکسی‌زوم‌ها متمرکز است، میتوکندری‌ها نیز واجد آن هستند (۴،۵،۱۹). تحریک آنزیم‌های آنتی-اکسیدان در پاسخ به تولید اکسی‌رادیکال‌های واسطه که توسط برخی آلاینده‌ها شدت می‌پذیرد، اغلب به عنوان نشانگر زیستی آلودگی‌های آلی در محیط‌های آبی مورد نظر بوده است (۱۷،۲۱). کف‌زیانی چون بارناکل‌ها اغلب به‌عنوان موجودات مورد استفاده و مفید حساس برای مطالعات آلودگی شیمیایی در محیط‌های آبی مورد توجه قرار گرفته‌اند. این موجودات، ساکن که دارای دامنه تحمل شوری بالایی هستند، فیلترکننده بوده و به فراوانی در خورها که بیشتر انسان‌ها در مجاورت آن واقع شده‌اند، یافت شده و دارای توانایی عمومی برای تجمع‌دادن زیستی آلاینده‌ها هستند (۲۲). خلیج‌فارس و دریای عمان، در محاصره کشورهای مختلف هستند و از همه مهم-تر در منطقه‌ای با ذخایر عظیم نفتی واقع شده‌اند که موجب آلودگی آب می‌شود به نحوی که موجودات زنده آبزی یا بیوسنوز این اکوسیستم و نیز ساکنان این مناطق را مورد تهدید قرار می‌دهند (۶). منطقه بهرگان در حاشیه خلیج فارس، درکنار بندر امام حسن از توابع استان بوشهر در حد فاصل بندر دیلم (۴۰ کیلومتری شمال غربی گناوه و ۲۸ کیلومتری بندر دیلم) واقع شده است. این منطقه دارای کوه‌های کم‌ارتفاع و تپه‌های ساحلی است. چهار میدان نفتی به نام‌های بهرگانسر، هندیجان، سروش و نوروز در این منطقه وجود دارد (۷،۸).

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

مناطق نمونه‌برداری شامل سکوهای نفتی نوروز قدیم، نوروز جدید، سروش و بهرگانسر و اسکله‌های دیلم، گناوه و بهرگان و خور ماهی‌گیری در بهرگان بوده است. انتخاب ایستگاه‌ها بر اساس سنجش بار آلودگی و حضور بارناکل‌ها صورت گرفت. مختصات جغرافیایی مناطق نمونه‌برداری در جدول ۱ آورده شده است. بارناکل‌ها با استفاده از قلم و چکش، از بستر، جدا و درون فویل‌های آلومینیومی بسته‌بندی شدند. نمونه‌ها درون یونولیت‌های حاوی یخ، جاسازی و به‌سرعت (با هلیکوپتر) به منطقه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان شروع آزمایش ها نگهداری شدند (۱۱،۲۲).

جدول ۱- مختصات جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه برداری شده در منطقه بهرگان – خلیج فارس.

شماره ایستگاه	نام	مختصات جغرافیایی
۱	سکوی نوروز جدید	´´ N۴۰´ ۲۸°۲۹ ´´ E۴۰´ ۲۳°۴۹
۲	سکوی نوروز قدیم	´´ N۱۰۰´ ۳۰°۲۹ ´´ E۲۰۰´ ۲۴°۴۹
۳	گناوه	´´ N۳۸´ ۲۸°۲۹ ´´ E۳۱´ ۲۳°۴۹
۴	اسکله بهرگان سر	´´ N۴۶´ ۴۶°۲۹ ´´ E۳۱´ ۲۳°۴۹
۵	خور ماهی گیری	´´ N۳۵´ ۴۹°۲۹ E۵۰ ۱۸' ۱۰"
۶	سکوی سروش	´´ N۷/۶۹´ ۱°۲۹ ´´ E۲۲/۱۵´ ۲۷ °۴۹
۷	دیلم	´´ N۱´ ۳°۳۰ ´´ E۳´ ۹°۵۰
۸	سکوی بهرگان سر	´´ N۲۳´ ۵۶°۳۰ ´´ E۵۸´ ۵۰°۴۹

Archive of SID

www.SID.ir

بارناکل‌های جمع‌آوری شده از روی کلید شناسایی An Updated Classification of the Recent Crustacea شناسایی گردیدند (۲۳). در هر ایستگاه، از آب دریا جهت سنجش پارامترهای فیزیکوشیمیایی نیز نمونه‌برداری گردید. نمونه‌ها در بطری‌های شیشه‌ای یک و نیم‌لیتری ریخته شدند. این ظروف قبلا" با اسید نیتریک غلیظ شسته و در آون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت قرارداده شدند. پس از نمونه‌برداری، شیشه‌ها درون یونولیت-های حاوی یخ قرار داده شدند تا به آزمایشگاه انتقال یابند (۲۴).

سنجش غلظت PAHs تجمع یافته دربافت بارناکل‌ها

به دنبال جمع‌آوری بارناکل‌ها از منطقه و انتقال آن‌ها، نمونه‌ها از حالت یخزدگی بتدریج خارج و آماده استخراج گردیدند. استخراج هیدروکربن‌ها توسط نرمال هگزان و دی‌کلرومتان انجام شد. پس از پاک-سازی جهت جداسازی نمونه‌ها، هیدروکربن‌های نفتی و بافت از ستون سیلیکاژل و آلومینا استفاده گردید و در نهایت به دستگاه (GC.MS Agillant GC.MS مدل ۶۸۹۰ Single Kuadroploe) داده شد (۲۴).

بررسی سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت بارناکل‌ها

ابتدا بافت بارناکل از داخل پوسته آهکی آن جدا می‌شد. بافت‌های آماده شده، با بافر نمک سولفات pH= ۷/۴ شستشو داده شدند. هموژنایزر بافت در۱۰- ۵ میلی‌لیتر از ۲۰ mμ بافر HEPES سرد با pH=۷/۲ شامل EGTA mμ انجام شد. ۲۱۰ mμ مانیتول و۷۰ میلی‌مول ساکروز نیز برای هر گرم بافت استفاده گردید. سانتریفیوژ به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۵۰۰ x g صورت گرفت. سایر مراحل کار دقیقا" منطبق با روش مندرج در راهنمای سنجش آنزیمی کیت super oxide dismutase assay kit (catalog no. 706002) انجام گرفت و جذب نهایی در ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا مدل DG380 خوانده شد (۱۴،۱۵).

بررسی سطح آنزیم کاتالاز در بافت بارناکل‌ها

ابتدا بافت از پوسته آهکی خارج شد. پیش از تشریح، بافت با یک محلول نمک بافر شده فسفات با pH= ۷/۴ شستشو داده شد تا سلول‌های خونی قرمز و لخته‌های خون از بین بروند. به‌وسیله۱۰- ۵ میلی-لیتر از بافر سرد ۵۰mμ فسفات پتاسیم، pH=۷ شامل یک میلی‌مول EDTA روی یخ هموژنیزه شد. در ۱۰۰۰۰×g برای مدت ۱۵ دقیقه در۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. مواد شناور روی سطح برای سنجش، جمع‌آوری و روی یخ نگهداری شد. سایر مراحل کار دقیقاً منطبق با روش مندرج در راهنمای سنجش آنزیمی کیت Catalase assay kit (catalog no. 707002) انجام گرفت و جذب نهایی در۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا مدل DG380 خوانده شد.

سنجش پارامترهای فیزیکوشیمیایی

سنجش کلراید با روش تیتراسیون نیترات نقره (۲۵) و سنجش نیترات با روش احیا کادمیوم (۲۵) صورت گرفت. سنجش نیتریت با استفاده از معرف سولفونیلیک انجام شد و جذب نهایی در ۵۰۲ nm توسط دستگاه فوتومتر مدل DR 2800 خوانده شد (۲۵). در سنجش فسفات، معرف اسید آسکوربیک به کار برده شد و جذب در ۸۸۰nm با فوتومتر مدل DR 2800 اندازه‌گیری شد (۲۵). هدایت الکتریکی با دستگاه هدایت سنج، مدل (کد CON-01، مدل ND/Sension 156 , 51975-00) سنجیده شد (۲۵). دمای آب و هوا درحین نمونه‌برداری توسط دماسنج جیوه‌ای اندازه‌گیری و ثبت گردید (۲۵).

تحلیل آماری

برای تحلیل‌های آماری، از بسته نرم‌افزاری SPSS استفاده شد. بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌های در معرض آلودگی و شاهد با استفاده از آنالیزهای واریانس یک‌طرفه صورت گرفت (۱۱،۲۲)

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

طی آنالیز نمونه‌های مربوط به بافت بارناکل از نظر وجود هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک، مقدار و نوع آنها اندازه‌گیری شد. نتایج مربوط به غلظت PAHs اندازه‌گیری شده در بافت بارناکل‌ها در جدول۲ آورده شده است. همچنین نتایج مربوط به سنجش فعالیت و فعالیت ویژه CAT وSOD در بافت بارناکل‌ها در جدول ۳ آورده شده است. نتایج مربوط به سنجش پارامترهای محیطی، شامل هدایت الکتریکی، کلراید، نیتریت، نیترات، فسفات و دمای آب و هوا در جدول ۴ ارائه شده است.

جدول ۲- غلظت هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای موجود در بافت بارناکل‌های منطقه بهرگان- خلیج فارس بر حسب PAHS

	سکوی بهرکان	سروش	نوروز جدید	نوروز قدیم	دیلم (شاهد)*	گناوه	اسکله بهرکان	ماهیگیری
Naphthalene(N)	۳/۶	۵۳/۶	۳/۶	۴۶/۴	۰/۶	۲/۷	۴	۳۱/۲
1-Methyle Naphthalene	۰/۳	۲/۸	۰/۳	۲/۶	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۱/۸
1-Ethyl Naphthalene	۲	۱/۳	۵/۶	۱/۲	۰/۳	۰/۳	۱/۸	۰/۸
Acenaphthylene (Acl)	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
Acenaphthene (Acl)	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
Fluorene(F)	۰/۳	۰/۴	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
Phenanthrene(P)	۰/۳	۱/۵	۰/۳	۱/۵	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۹
Methyle Phenanthrene	۰/۳	۴	۳/۲	۰/۸	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
Anthracene(An)	۰/۳	۱	۰/۳	۱	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۶
Fluoranthene(Fl)	۰/۳	۰/۸	۰/۳	۰/۴	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۵
Pyrene(Py)	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
Benzo [a] Anthracene(BaA)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
Chrysene(C)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
Benzo [b] Fluoranthene (BbF)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
Benzo [k] Fluoranthene (BkF)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
Benzo [a] Pyrene(BaP)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
Indeno [1.2.3-cd] Pyrene(ID)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
Dibenzo [a.h] Anthracene(DA)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
Benzo [ghi] Perylene(BgP)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
کل PAH	۱۲/۳	۷۰/۳	۱۸/۸	۵۹/۱	۷/۶	۹/۷	۱۲/۴	۴۱/۳

تحلیل آماری نتایج

آزمون one- sample KOLMOGROV-SMIRNOV در مورد تمامی داده‌ها انجام شد و نتیجه نشان داد که داده‌ها همگی نرمال هستند و می‌توان از آزمون پارامتریک پیرسون جهت بررسی میزان همبستگی داده‌ها استفاده کرد. محاسبه نتایج به این شکل بود که sig اگر کوچک‌تر از ۰/۰۵ بود، پذیرفته می‌شد که همبستگی معنی‌داری بین عوامل وجود دارد و اگر بزرگ‌تر از ۰/۰۵ بود پذیرفته می‌شد که بین دو متغیر با اطمینان ۹۵ درصد همبستگی معنی‌داری وجود ندارد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- مقدار فعالیت و فعالت ویژه آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز دربافت بارناکل های منطقه بهرگان- خلیج فارس

نام ایستگاه	فعالیت ویژهSOD (U/ml/mg protein)	فعالیت ویژهCAT (U/ml/mg protein)	فعالیت SOD (U/ml)	فعالیتCAT (U/ml)
سکوی بهرکان	۱۱۵/۷	۳۱/۹۳	۱۹۹	۵۴/۹۱
سروش	۱۹۰	۱۸/۷۱	۴۵۵/۸۴	۴۴/۶۵
نوروز جدید	۱۱۷	۱۲/۲۴	۲۵۹/۲۶	۲۷/۰۱
نوروز قدیم	۵۱۲	۱۱/۹۶	۹۹۲/۲۹۰	۲۳/۱۹
دیلم	۴۲۷	۴۱/۹۲	۲۴۹	۲۴/۴۴
گناوه	۲۰۴/۵	۲۶/۸۸	۲۷۱/۵	۳۵/۶۷
اسکله بهرکان	۴/۹۵	۲۱/۹۰	۵/۱۹۸	۲۳/۰۰
خورماهیگیری	۷۹	۳۳/۴۷	۱۱۷	۵۱/۵۵

جدول ۴- پارامترهای فیزیکو شیمیایی آب در منطقه بهرگان – خلیج فارس.

نام ایستگاه	فعالیت ویژهSOD (U/ml/mg protein)	فعالیت ویژهCAT (U/ml/mg protein)	فعالیت SOD (U/ml)	فعالیتCAT (U/ml)
سکوی بهرکان	۱۱۵/۷	۳۱/۹۳	۱۹۹	۵۴/۹۱
سروش	۱۹۰	۱۸/۷۱	۴۵۵/۸۴	۴۴/۶۵
نوروز جدید	۱۱۷	۱۲/۲۴	۲۵۹/۲۶	۲۷/۰۱
نوروز قدیم	۵۱۲	۱۱/۹۶	۹۹۲/۲۹۰	۲۳/۱۹
دیلم	۴۲۷	۴۱/۹۲	۲۴۹	۲۴/۴۴
گناوه	۲۰۴/۵	۲۶/۸۸	۲۷۱/۵	۳۵/۶۷
اسکله بهرکان	۴/۹۵	۲۱/۹۰	۵/۱۹۸	۲۳/۰۰
خورماهیگیری	۷۹	۳۳/۴۷	۱۱۷	۵۱/۵۵

نتایج آماری نشان داد که ازبین PAHs ، نفتالین (sig=0 و P<۰/۰۵)، ۱- متیل نفتالین (sig=0 و P<۰/۰۵)،۱- اتیلن نفتالین (sig=0 و P<۰/۰۵)، فنانترن (Sig= ./ ۲۷ و P<۰/۰۵) ، متیل فنانترن (sig=0 و P<۰/۰۵) و فلورانتن (sig=0 و P<۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری بین میزان به دام افتادن این ترکیبات دربافت بارناکل‌های جمع‌آوری شده ۸ ایستگاه وجود دارد. در مورد Fluorene (Sig= ./۹۰۴و P>۰ /۰۵) و Anthracene (Sig= ./۳۶۷ و P>۰/۰۵) ، اختلاف معنی‌داری بین میزان به دام افتادن این ترکیبات دربافت بارناکل‌های جمع آوری شده ۸ ایستگاه، مشاهده نشد. درسایر موارد، مقدار، PAHsدر بافت بارناکل در کلیه ایستگاه ها برابر بوده است. در مورد PAHs کل به لحاظ این که sig=0 و

Archive of SID

www.SID.ir

۰/۰۵ >P است، می‌توان اظهار داشت که اختلاف معنی‌داری بین میزان به دام افتادن PAHs کل دربافت بارناکل‌های جمع آوری شده در ۸ ایستگاه وجود دارد (جدول ۵).

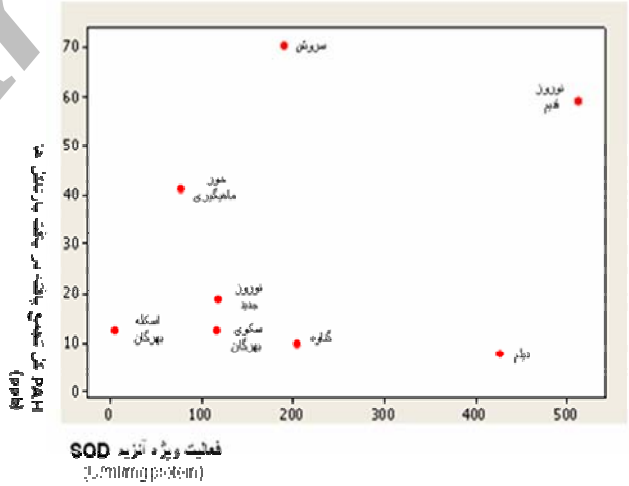
جدول۵- بررسی معنی‌داربودن تفاوت بین غلظت بافتی PAHs در ایستگاه‌های ۸ گانه در بررسی آماری با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12755.696	7	1822.242	1822.242	.000
Within Groups	16.000	16	1.000		
Total	12771.696	23			

بررسی معنی‌دار بودن تفاوت بین سطح فعالیت ویژه سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در ۸ ایستگاه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین سطح فعالیت ویژه این آنزیم‌ها در ایستگاه‌های ۸ گانه وجود دارد (P<۰/۰۵ و sig=0) . تفاوت معنی‌داری بین فعالیت آنزیم‌ها در بین ایستگاه‌های ۸ گانه دیده شد.

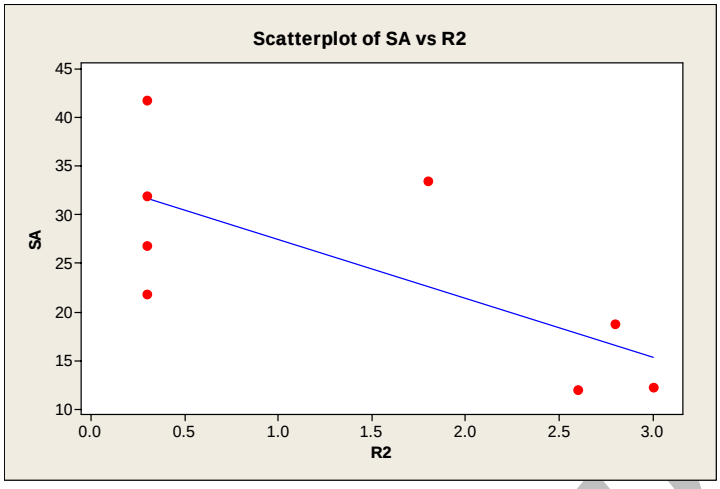
در خصوص همبستگی بین فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و ۱۹ ترکیب PAH سنجش شده، با افزایش یک واحد نفتالین، فعالیت ویژه آنزیم معادل ۲/۳۴ ، ۱- متیل نفتالین مقدار ۲۰/۹ ، فنانترن مقدار ۱۲۸ افزایش می‌یابد. با افزایش یک واحد اتیل نفتالین مقدار ۳۴/۸، فلورین ۱۸۲، متیل فنانترن مقدار۱۰/۲، آنتراسن مقدار۲۳۲، فلورانترن مقدار ۱۵ واحد کاهش می‌یابد. همان گونه که مشاهده می‌شود هیچ یک از موارد مذکور در دامنه معنی‌داری وجود ندارد. در بررسی همبستگی بین مقدار PAHs کل در بافت و سطح فعالیت ویژه سوپراکسید دیسموتاز ملاحظه شد که ضریب همبستگی برابر با ۰/۳ است؛ یعنی این دو همبستگی مثبت دارند (نمودار۱).

در خصوص همبستگی بین فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز و ۱۹ ترکیب PAH سنجش شده نیز فقط در یک مورد بین ۱- متیل نفتالین همبستگی معنی-داری به دست آمد. مدل رگرسیون در این خصوص SA = ۳۳/۵-۶/۰۶ R است. ملاحظه می‌شود که با افزایش ۱ واحد ۱- متیل نفتالین، فعالیت ویژه کاتالاز معادل ۶/۰۶ واحد کاهش می‌یابد. همچنین بر اساس سطح معنی‌داری ۰/۰۴۷ در جدول بالا، نتیجه می‌گیریم که مدل ارائه داده شده، الگوی مناسبی برای بررسی ارتباط بین این دو متغیر است (نمودار۲).



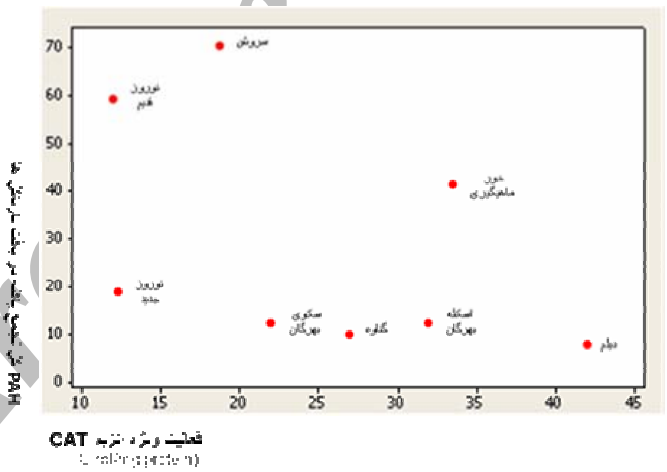
نمودار ۱- همبستگی بین فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و میزان کل هیدروکربن‌های پلی آروماتیک در بارناکل بهرگان- خلیج فارس

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار۲- همبستگی بین فعالیت ویزه آنزیم کاتالاز و ۱- متیل نفتالین در بارناکل بهرگان - خلیج فارس

در خصوص سایر ترکیبات، با افزایش ۱ واحد نفتالین، فعالیت ویزه کاتالاز معادل ۰/۱۹۹ ، ۱- اتیل نفتالین مقدار ۳/۵۶، فلورین مقدار۷۰، فنانترن مقدار۸/۳۹، متیل فنانترن مقدار ۴/۱۱ ، فلورانترن مقدار ۱۲/۱ کاهش می‌یابد. با افزایش ۱ واحد آنتراسن، فعالیت ویژه کاتالاز معادل ۱۵/۲ واحد افزایش می‌یابد. همان گونه که مشاهده می‌شود هیچ یک از موارد مذکور در دامنه معنی‌داری قرار ندارند. در بررسی همبستگی بین مقدار PAHs کل در بافت و سطح فعالیت ویزه کاتالاز، هیچ ارتباط معنی‌داری دیده نشد. مقدار محاسبه شده برابر۰/۵- بود (نمودار۳).



نمودار۳- همبستگی بین فعالیت ویزه آنزیم کاتالاز ومیزان کل هیدروکربن‌های پلی آروماتیک در بارناکل بهرگان – خلیج فارس

ضریب همبستگی بین فعالیت ویژه سوپراکسید دیسموتاز و کلراید ۰/۲۰۹، هدایت الکتریکی ۰/۵۰۹، نیتریت ۰/۴۱۲، نیترات ۰/۱۷۳، فسفات ۰/۵۸۱، دمای آب ۰/۹۷۲ است. ضریب همبستگی بین فعالیت ویژه کاتالاز و کلراید ۳۹۴/. ، هدایت الکتریکی ۲۷۵/. ، نیتریت ۴۱۸/. ، نیترات ۸۶۱/. ، فسفات ۷۹۱/. ، دمای آب ۵۹۲/. است. بنابراین، بین پارامترهای محیطی سنجش شده و فعالیت ویژه این آنزیم ها همبستگی معنی‌داری مشاهده نگردید.

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

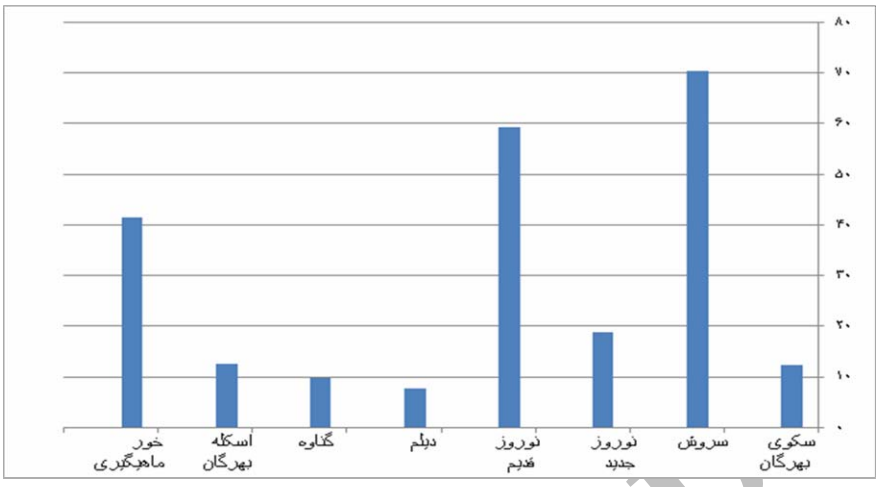
تحلیل مقدار PAHs در بافت بارناکل‌ها: میزان غلظت PAHs تراکم یافته در بافت بارناکل‌ها در ایستگاه های مختلف، در نمودار۴ آورده شده است. سکوی نفتی سروش به دلیل فعالیت زیاد و حجم بالای تولید و استخراج نفت، از بالاترین سطح آلودگی برخوردار است. سکوی نفتی نوروز قدیم نیز با وجود آسیب دیدگی شدید در زمان جنگ، هنوز فعال است. غلظت PAHs کل تجمع یافته در بافت بارناکل‌های جمع‌آوری شده از سکوی نفتی نوروز قدیم نیز زیاد بوده است (به دلیل فعال بودن و همچنین آسیب دیدگی در زمان جنگ). این ایستگاه بعد از سروش، آلوده‌ترین منطقه است. سکوی نوروز جدید، هم که از سکوهای فعال منطقه است، در فاصله کمی از سکوی نوروز قدیم واقع شده است (۱۰ کیلومتری). ایستگاه خور ماهی‌گیری ، علاوه به نزیک بودنش به مرکز مسکونی، در معرض رفت و آمد لنج‌های صیادی است. نزدیکی این ایستگاه به منطقه عملیات خشکی بهرگان، حضور تاسیسات ساحلی، مراکز صنعتی و مانند آن و فاضلاب‌های صنعتی و شهری از عوامل منابع آلودگی این منطقه-اند. در نتیجه، میزان غلظت PAHs کل تجمع یافته در بافت بارناکل‌های جمع‌آوری شده از این منطقه نیز بالاست. اسکله بهرگان تقریباً، دارای سطح آلودگی متوسطی است. علاوه بر تردد کشتی‌ها، نزدیکی آن به منطقه عملیاتی خشکی بهرگان، از عوامل ایجاد آلودگی در این ناحیه است. سکوی نفتی بهرکان سر به دلیل عدم فعالیت زیاد، دارای آلودگی کمتری است. مناطق ساحلی دیلم و گناوه به دلیل دور بودنشان از منابع اصلی آلاینده (منطقه عملیاتی بهرگان سر و سکوهای نفتی) دارای آلودگی نفتی کمتری هستند (جدول۲ و نمودار۴). در مورد انواع PAHs تجمع یافته در بافت بارناکل‌های جمع‌آوری شده از ایستگاه‌های مختلف، باید اشاره کرد که PAH های سبک تر(با وزن مولکولی کمتر) از تراکم بافتی بیشتری برخوردار بودند. در مطالعه حاضر، حجم PAHs سبک تر نفتالین و۱- متیل نفتالین و ۱- اتیل نفتالین در بافت، نسبت به سایر انواع PAHs ، در تمامی ایستگاه‌ها بالاتر بوده است. هرچه وزن مولکولی کمتر باشد، قابلیت انحلال درآب نیز بیشتر می‌شود، در نتیجه، قابلیت دسترسی زیستی بیشتر می‌شود. همچنین ورود و جذب این مواد به بدن موجود زنده و تجمعش درآن نیز بیشتر می‌شود. ترکیبات سنگین‌تر، بیشتر و سریع تر رسوب می‌کنند (۱،۹). از سایر عوامل موثر در نوع و میزان PAHs تراکم یافته در بافت بارناکل‌های جمع‌آوری شده از سایر ایستگاه‌ها می‌توان به این موارد اشاره نمود : ۱) منطقه‌ای که نمونه‌ها از آن جمع شدند؛ ۲) منبع آلاینده ؛ ۳) فاصله منطقه نمونه‌برداری شده از منبع آلاینده ؛ ۴) نوع آلاینده‌های موجود در محیط و قابلیت حلالیت و یا سرعت تجزیه‌پذیری درآب یا بافت. این عوامل، توسط سایر محققین نیز به عنوان عوامل موثر بیان شده‌اند (۱۲،۱۳،۲۶) Orbea و همکارانش در سال ۲۰۰۷ روی دو گونه از ماسل ها و اویسترها مطالعه کردند (۲۱).

Luce-Abbott در ۲۰۰۵ مطالعه‌ای برروی *Perna viridis* و *Ruditapes philippinarum* انجام دادند(۲). Bebianno و Barreira در ۲۰۰۹، بر روی *Ruditapes decussates* مطالعه‌ای را انجام دادند (۲۷).

در تمامی موارد مذکور، غلظت بافتی PAHs سبک‌تر، در مقایسه با غلظت بافتی PAHs سنگین‌تر، بالاتر بوده است. نتایج گزارش شده توسط این محققین، با نتایج بدست آمده درتحقیق حاضر مشابهت دارد.

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار۴- میزان غلظت PAHs تراکم یافته در بافت بارناکل‌ها در ایستگاه‌های مختلف.

تحلیل تغییرات سطح آنزیم‌های CAT و SOD و میزان PAHs بافت در بارناکل: بالاترین فعالیت ویژه SOD در نوروز قدیم مشاهده شد که ایستگاهی با میزان آلودگی بالا است. سپس دو ایستگاه دیلم وگناوه ، به ترتیب دارای بالاترین فعالیت هستند. به طور معمول، سطح فعالیت آنزیم در حضور ROS ها و آلاینده هایی نظیر PAH ها که خود عامل تولید ROS هستند بالا می‌رود. با توجه به پایین بودن غلظت PAHs در این مناطق، باید اشاره داشت که حضور سایر آلاینده های زیست محیطی در این مناطق می‌تواند یکی از عوامل موثر بر نتیجه به دست آمده باشد. مطالعات ثابت کرده است، فلزات سنگین می‌توانند در فعالیت اکسایشی شرکت کرده و درکاتالیز عمومی ROS نقش داشته باشند (۲۸،۲۹) این مناطق (دیلم و گناوه) با توجه به نزدیک بودنشان به مراکز مسکونی و وجود فعالیت‌های صیادی، از سایر انواع آلودگی رنج می‌برند. سطح فعالیت آنزیم‌ها با افزایش غلظت آلاینده‌ها افزایش می‌یابند، تا جایی که اثر سمی حجم بالای آلاینده‌ها سبب توقف و کاهش فعالیت شود (۲۲،۳۰).با تجمع آلاینده‌ها، بدن شروع به تجزیه و دفع آن و کاهش تراکم بافتی آن‌ها می‌کند، مگر این که جاندار در معرض مداوم و حجم زیادی از انواع آلاینده‌ها باشد که بعضاً اثر منفی بر سیستم دفاعی می‌گذارند. در چنین مواقعی، فعالیت آنتی اکسیدان‌ها می‌تواند روند کاهشی یابد(۲۲،۳۰). در مطالعه حاضر نیز میزان آلودگی در سروش، بیشتر از تمامی ایستگاه ها بود. بارناکل‌های این منطقه، به طور مداوم در معرض حجم بالایی از آلاینده‌ها قرار دارند. مطلب بیان شده خود دلیلی بر پایین بودن فعالیت SOD در این ایستگاه و در مقایسه با برخی ایستگاه‌هاست که دارای آلودگی پایین‌تر، اما سطح فعالیت آنزیمی بیشتری هستند. فعالیت ویژه SOD در خور ماهی-گیری بسیار پایین است. با توجه به حجم بالای آلودگی در این منطقه، حضور حجم زیادی از انواع آلاینده‌ها و اثر منفی آنها بر آنزیم SOD ، نوع آلاینده‌های موجود در منطقه و مدت زمان در معرض قرارگیری، از عوامل موثر در نتیجه به دست آمده اند. غلظت PAHs کل تراکم یافته در بافت بارناکل‌ها در ایستگاه سکوی بهرگان و اسکله بهرگان نسبتاً پایین است. سطح فعالیت آنزیمی کمتری نیز در این ایستگاه ها مشاهده شد. از جمله مطالعاتی که نتایج آنها با نتایج تحقیق حاضر مشابهت داشته و طی آن سطح فعالیت SOD افزایش یافته است، می‌توان به تحقیق Box و Porte اشاره کرد (۲۲،۳۱). به طورکل نوسانات زیادی درتغییرسطح فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز در ایستگاه‌ها وجود دارد. در مجموع، فعالیت ویژه کاتالاز، روندی معکوس را با آلودگی ازخود نشان

Archive of SID
www.SID.ir

داد. در ایستگاه‌های پاکیزه‌تر، سطح فعالیت آن بالا بود. بالاترین فعالیت ویژه CAT درایستگاه دیلم، پایین‌ترین آن در سروش، نوروز جدید و نوروز قدیم بود.

Dama´sio و همکارانش طی تحقیقی بیان کردند تولید بیش از حد آنیون سوپر اکسید $O_2^{\cdot -}$ که نتواند به H_2O_2 تبدیل شود، اثرمنفی بر فعالیت ویژه CAT دارد. حضور $O_2^{\cdot -}$ از فعالیت CAT جلوگیری می‌کند (۳۰). در مطالعه حاضر، بالاتر بودن فعالیت ویژه SOD در تمامی ایستگاه‌ها (غیراسکله بهرگان) ، نسبت به CAT که خود در حضور $O_2^{\cdot -}$ تحریک می‌شود، می‌تواند دلیلی بر نتیجه به دست آمده باشد. حضور سایر آلاینده‌های زیست محیطی که در تحریک کاتالاز نقش دارند نیز باید مد نظر قرارگیرد؛ به خصوص در ایستگاه دیلم، که با وجود پایین بودن غلظت PAHs تراکم یافته در بافت بارناکل های این ایستگاه، فعالیت ویژه هر ۲ آنزیم در آن بالا بوده است. ایستگاه نوروز قدیم که دارای بالاترین فعالیت ویژه SOD است، دارای پایین ترین فعالیت ویژه CATاست. در مورد سروش و نوروزجدید، شرایط تقریباً به همین صورت است. خور ماهی گیری بالاترین فعالیت ویژه CAT را بعد از دیلم دارد. حجم آلودگی در این ناحیه، نوع آلاینده ها و مدت زمان در معرض قرارگیری و پایین بودن فعالیت ویژه SOD در این ایستگاه ، از عوامل موثر در نتیجه به دست آمده-اند. اسکله بهرگان از آلودگی نسبتاً پایینی برخوردار است که خود عامل کم بودن فعالیت ویژه ۲ آنزیم در این ایستگاه است. lima و همکارانش نیز در تحقیق خود، همبستگی معنی‌داری بین فعالیت‌های CAT و هیدروکربن‌های نفتی، در آبشش ماسل‌های مورد بررسی شان پیدا نکردند (۱۲). در مطالعه‌ای که Dama´sio و همکارانش بر روی ماهی‌های جمع-آوری شده از مناطق آلوده انجام دادند، نتایج آزمایش‌ها کاهش سطح فعالیت آنزیم CAT را نشان دادند (۳۰). نتیجه این آزمایشات (کاهش از فعالیت کاتالاز و تحریک فعالیت SOD) مشابه نتیجه تحقیق حاضر است.

تحلیل روابط بین سطح آنزیم‌ها و پارامترهای فیزیکو شیمیایی آب:

دامنه تغییرات این پارامترها در ایستگاه های مختلف تا حدود زیادی نزدیک به هم بود. مقدار مواد مغذی اندازه‌گیره شده در ایستگاه‌ها بسیار پایین بود. آب مورد استفاده برای بررسی این پارامترها از لایه سطحی برداشت شد. غلظت مواد مغذی در لایه‌های سطحی، به علت مصرف توسط مصرف کنندگان، دارای کاهش نسبی است (۸). از سویی، هنگام نمونه‌برداری از منطقه، شکوفایی پلانکتونی در منطقه دیده شد. پلانکتون‌های شکوفایی یافته به مصرف سریع این مواد مغذی پرداخته و سبب کاهش مقدار این ترکیبات در آب می‌شوند. همبستگی معنی‌داری بین این فاکتورها و فعالیت آنزیم‌های مزبور دیده نشد. تغییرات دوره‌ای و سالانه نیز مورد توجه قرار دارند، چرا که همگام با این تغییرات، جاندار رشد می‌نماید.

چرخه فیزیولوژیک بدن، تغییر در سایز بدن، تغییر در مقدار بافت چربی بدن، رشد و توسعه اندام‌هایی چون گنادها و حساسیت بیشتر جاندار در برخی دوره‌های سنی، در یک سال، اثر عمده‌تری بر فعالیت آنزیم‌ها می‌گذارد تا تغییر خود پارامترهای محیطی (۱۲،۱۷،۳۲).

تحقیق حاضر، در یک فصل سال صورت گرفته و سعی شد بارناکل‌ها در اندازه‌های یکسان و سن یکسان جمع‌آوری گردند تا اثر موارد فوق کاهش یابد. از یک نشانگر زیستی مناسب و ایده ال انتظار می‌رود که کمترین تغییر را نسبت به پارامترهای زیست محیطی از خود نشان دهد و فقط بیشترین پاسخ را به در معرض قرارگرفتن آلاینده‌ها نشان دهد (۱۳). بارناکل‌ها نیز موجوداتی مقاوم به تغییرات دما و شوری هستند (۲۳). خود این مطلب می‌تواند اثر پذیری کم آن‌ها را نسبت به تغییرات پارامترهای زیست محیطی، آن هم در مقیاس‌های پایین نشان دهد. این امر آن‌ها را به موجوداتی مناسب برای استفاده در پایش‌های زیست محیطی تبدیل می‌کند و می‌تواند عاملی اثرگذار در نتیجه به دست آمده باشد. در برخی مطالعات بیان شده فعالیت کاتالاز تابع تغییرات فصلی است و در فصل سرد کاهش

Archive of SID

www.SID.ir

می‌یابد (۳۲،۳۳). این می‌تواند عاملی دیگر برای پایین بودن فعالیت ویژه CAT، نسبت به فعالیت ویژه SOD، در ایستگاه‌های مورد بررسی باشد. نتایج به دست آمده نشان دهنده حضور و گسترش درون بافتی رادیکال‌های آزاد است (PAH ها خود یکی از عوامل تولید آن‌ها هستند). بررسی آماری نشان داد همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت ویژه SOD و غلظت PAHs کل تراکم یافته در بافت بارناکل‌ها وجود دارد.

SOD ، اصلی ترین نقش را در دفاع‌های آنتی-اکسیدانی بازی می‌کند (۲۷). فعالیت SOD در بیشتر موارد به عنوان یک نشانگر زیستی خوب آلودگی مورد توجه است. این آنزیم در مدت زمان کوتاهی نسبت به استرس‌های محیطی پاسخ می‌دهد (۲۲). در تحقیق حاضر، میزان آلودگی موجود در منطقه مورد بررسی، سبب تحریک این آنزیم شده است. نتایج تحقیق نشان داد که همبستگی معنی‌دار مثبتی بین سطح فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز و PAHهای تجمع یافته در بارناکل‌های منطقه بهرگان، به دلیل حجم بالای آلودگی در منطقه، وجود ندارد. نمی‌توان از این آنزیم به عنوان بیومارکری برای آلودگی PAHs در بارناکل‌های این منطقه استفاده نمود. بر اساس نتایج به دست آمده، SOD می‌تواند به عنوان بیومارکر خوبی برای آلودگی PAHs ، در بارناکل‌های منطقه بهرگان باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی واجرایی شرکت نفت فلات قاره انجام شده است. بدین وسیله از همکاری و پشتیبانی حوزه پژوهش و توسعه شرکت نفت فلات قاره، پرسنل محترم منطقه بهرگان، به ویژه ریاست محترم مرکز، HSE و آزمایشگاه همچنین پژوهشکده صنعت نفت و آزمایشگاه آرین فن آزما، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

۱. اسماعیل ساری ،ع. ۱۳۸۱، آلاینده ها بهداشت و استاندارد در محیط زیست. انتشارات نقش ۳۵۲- ۳۶۳ ، ۵۸۹- ۵۹۲.

۲. دهقان، ع.، ۱۳۸۵، بررسی فیتوشیمیایی: اثرات آنتی اکسیدان و ضد سرطان عصاره و برخی از ترکیبات خالص شده گیاه *Feruia Szovitsiena D.C.* بر روی چند رده از سلول های سرطانی انسان ، پایان نامه دکتری بیوشیمی دانشگاه تهران IBB

۳. خاوری نژاد، س.، ۱۳۸۵، اثر داروی آوریا مایسین بر زنجیره تنفسی و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در باکتری سالمونلا تیفی موریوم، پایان نامه کارشناسی ارشد بیوشیمی بیوشیمی دانشگاه تهران ، IBB

۴. سلیمانی، ه.، ۱۳۷۶ ، سنیتیک مهار آنزیم کاتالاز خالص شده از کبد خوکچه هندی با کلرید جیوه و فعال سازی مجرد آن در شرایط In vitro ، پایان نامه کارشناسی ارشد بیوفیزیک دانشگاه تهران، IBB

۵. قادری مرزی ، م.، ۱۳۷۶، بررسی سینتیکی غیرفعال شدن انتحاری کاتالاز توسط آب اکسیژنه تاثیرعوامل فیزیکوشیمیایی بر آن و مقایسه یک سیستم انتحاری دوسوبسترایی. پایان نامه دکترا بیوشیمی دانشگاه تهران

۶. کردوانی،پ. ۱۳۷۴، اکوسیستم های آبی ایران (خلیج فارس و دریای عمان)، نشر قومس.

۷. جاوید،ا.ج.، ۱۳۸۷، شناسایی و اندازه گیری آلاینده های آلی نفت (BTEX , PAHs) و فلزات سنگین (Ni , V, Hg) در هوا ، آب ، رسوبات و موجودات زنده در مناطق چهارگانه عملیاتی، امور پژوهش و توسعه شرکت ملی نفت ایران، شرکت نفت فلات قاره ایران.

۸. مشعل خزر دریا، ۱۳۸۱، پروژه طرح مطالعات محیط زیست مناطق عملیاتی سیری، لاوان، بهرگان و خارک (فاز۱) ،

Archive of SID
www.SID.ir

شـرکت نفـت فـلات قـاره ایـران ، مـدیریت مهندسی و ساختمان

۹. اسـماعیلی، ل.، ۱۳۸۰. بررسـی آلـودگی نفتـی PAHs در بافـت هـای چـرب فـک دریای خزر و تعیین شاخص های آن نیکل و وانادیم. پایان نامه کارشناسی ارشد آلودگی و حفاظت محیط زیست، دانشگاه آزاد واحـد تهران شمال دانشکده علوم و فنون دریایی.

10. Niyogi, S., Biswas, S., Sarker, S., Datta, A. G., 2001. Seaonal variation of antioxidant and biotransformation enzymes in barnacle, Balanus balanoides, and their relation with polyaromatic hydrocarbons. Marine Environmental research 25: 13-26.
11. Luca-Abbott, S. B., Richardson, B. J., Mcclellaw, K. E., Zheng, G. J., Mrtin, M., Lam, P. K. S., 2005. Field validation of antioxidant enzyme biomarkers in mussels perna riridis and clams Ruditapes philippinarrum transplanted in Hong Kong coastal waters. Marine Pollution Bulletin 51: 694-707
12. Lima, I., Moreira, S. M., 2007. Biochemical responses of the marine mussel Mytilus galloprovincialis to petrochemical environmental contamination along the North-Western cost of Portugal. Chemosphere 66: 1230-1242.
13. Cheung, C. C. C., Zheng, G. S., Lig, A. M. Y., Richardson, B. J., Lam, P. K. S., 2001. Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, perna riridis. Aquatic Toxicology 52: 189-203.
14. Catalase Assay Kit, Catalog No 707002.
15. SUPEROXIDE DISMUTASE ASSY KIT, Catalog No 706002
16. Neff, J.M., 1979. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aquatic Environment: Source, Fates, and Biological Effects, Applied Science London.
17. Niyogi, S., Biswas, S., Sarker, S., Atta, A. G., 2001. Antioxidant enzymes in brackish water oyster, Saccostrea cucullata as potential biomarkers of polyaromatic hydrocarbon pollution in Hooghly Estuary (India): seasonality and its consequences. The Science of the Total Environment. 281: 237-246
18. Reid, D. J., MacFarlane, G. R., 2003. Potential biomarkers of crude oil exposure in the gastropod mollusc, Austrocochlea poecata: Laboratory and manipulative field studies. Environmental pollution 12: 147-155.
19. Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. Method. Enzymol. 105, 121-130.
20. Demeler, B., Behlke, J., Ristau, O., 2000. Methods in Enzymology 321: 38-66, 318: 438-446. 01
21. Orbea, A., Cajaraville M. P., 2007. Peroxisome proliferation and antioxidant enzymes in transplanted mussels of four basque estuaries with different levels of polycyclic aromatic hydrocarbon and polychlorinated biphenyl pollution. Environ Toxicol Chem 25: 1616-1626.
22. Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A., Deuderi, S., 2007. Assessment of environmental pollution at Blearic Islands applying oxidative stress biomarkers in mussel Mytilus galloprovincialis. Comparative Biochemistry and physiology part c 146: 531-539.
23. Joel, W., George E., (2001). An Updated Classification of the Recent Crustacea. Natural History Museum of Los Angeles County
24. MOOPAN, Manual of oceano graphic observations and analyses methods. Kuwait, 1999. p: I19-22, III 21-28, III 97, V20, V 38-45, VI 20-21, VI 35-36
25. Franson, M. A. H., 1995. Standard method: For the examination of water and wastewater. Washington. American Public Health Association. Xxxiv, varias paginaciones. Edición; 19 a ed.
26. Yu-qiong, W. U., Chong-gang, W., Yun, G., 2007. Antioxidant responses to benzo[a] pyrene, tributyltin and their mixture in the spleen of Sebasticus marmoratus. Journal of Environmental Sciences 19: 1129-1135
27. Bebianno, M. J., Barreira, L. A., 2009. Polycyclic aromatic hydrocarbons concentrations and biomarker responses in the clam Ruditapes decussates transplanted in the RIA Formosa lagoon. Ecotoxicology and Environmental Safety
28. Regoli, F., Humme, H., Amiard-Triquet, C., Larroux, C., Sukhotin, A., 1998. Trace Metals and Variations of Antioxidant Enzymes in Arctic Bivalve

Archive of SID
www.SID.ir

Populations, Arch. Environ. Contam. Toxicol. 35: 594–601.
29. Giessing, A. M. B., and Mayer, L. M., 2004. Oxidative coupling during gut passage in marine deposit-feeding invertebrates. Anders, M. B., Giessing1 and Lawrence M., Mayer, The American Society of Limnology and Oceanography, Inc. Darling Marine Center, University of Maine, Walpole, Maine 04. p:573
30. Dama´sio, J. B., Barata, C., Munne´, A., Ginebreda, A., Guasch, H., Sabater, S., Caixach, J., Porte, C., 2007. Comparing the response of biochemical indicators (biomarkers) and biological indices to diagnose the ecological impact of an oil spillage in a Mediterranean river (NE Catalunya, Spain) . Chemosphere 66: 1206–1216
31. Porte, C., Sole, M., Albaiges, J., Living stone, D. R., 1991. Responses of mixed-function oxygen and antioxidase enzyme system of Mytilus sp. to organic pollution. Comp. Biochem. Phys. C 100: 183-186
32. Slavica, S., Borkovic´, a., Jelena, S. S., aponjic´, a., Sladjan, Z., Pavlovic´, a., Duxko, P., Blagojevic´, a., Slavixa, M., Miloxevic´, a., Tijana, B., Kovaevic´, a., Ratko, M., Radojiic´, b., Mihajlo, B., Spasic´, a., Radoslav, V., Z., ikic´, c., Zorica, S., Saiic´, a., 2005. The activity of antioxidant defence enzymes in the mussel Mytilus galloprovincialis from the Adriatic Sea Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 141: 366 – 374
33. Frouin, H., Pellerin, J., Fournier, M., Pelletier, E., Richard, P., Pichaud, N., Rouleau, C., Garnerot, F., 2007. Physiological effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on soft-shell clam Mya arenaria. Aquatic Toxicology 82: 120–134.

Archive of SID

www.SID.ir