بررسی تغییرات فصلی آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز و فلزات سنگین سرب، کادمیوم و نیکل در صدف دوکفه‌ای مرواریدساز *Pinctada radiata*

الهه علی‌عسگری[۱]، علی ماشینچیان مرادی[۱*]، فریبرز احتشامی[۲]، شهلا جمیلی[۲]، محمد ربانی[۳]

۱- گروه زیست شناسی دریا، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- گروه شیمی دریا، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: ali2m@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۱۶

چکیده

ابزارهای گوناگونی جهت پایش میزان غلظت آلاینده‌ها بر اکوسیستم‌های آبی وجود دارد. این مطالعات امروزه بر مبنای پایش زیستی و بیومارکرها می‌باشد. هدف از این تحقیق اندازه‌گیری میزان غلظت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز (GST) به عنوان بیومارکرهای آلاینده فلزات سنگین در صدف دوکفه‌ای مروارید ساز محار (*Pinctada radiata*) در اکوسیستم‌های آبی بوده است. فلزات سنگین سرب، کادمیوم و نیکل در بافت نرم و رسوبات ایستگاه‌های مورد مطالعه در طی چهار فصل اندازه‌گیری گردید. نمونه‌ها به صورت فصلی در ایستگاه‌های لاوان، هندورابی و نخیلو (در شمال خلیج فارس) از بهار سال ۱۳۹۲ تا زمستان همان سال به روش غواصی در دو سایز کوچک (٤-۱ سانتی‌متری) و سایز بزرگ (٦-٤ سانتی‌متری) جمع‌آوری گردیدند و صدف آنها از بافت نرمشان جدا و به آزمایشگاه جهت آنالیز میزان فلزات سنگین و آنزیم‌های مورد مطالعه منتقل گردیدند. از روش استاندارد Moopam برای اندازه‌گیری میزان غلظت فلزات سنگین و برای آنالیز میزان غلظت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در نمونه‌های بافت صدف دوکفه‌ای از روش و همکاران (۱۹۷٤) استفاده گردید. میزان غظت آنالیز فلزات سنگین نیکل، کادمیوم و سرب در رسوبات در هر سه ایستگاه ۰/۱۲ ± ۱/٦، ۰/۰٤ ± ۰/٦۹ و ۰/۳۰ ± ٤/۱٦ قسمت در میلیون می‌باشد و میزان غظت آنالیز فلزات سنگین نیکل، کادمیوم و سرب در بافت نرم صدف محار در هر سه ایستگاه به ترتیب ۰/۱۲ ± ۰/۵۸، ۰/۰٤ ± ۱/۸٦ و ۰/۳۰ ± ۱/۹٤ قسمت در میلیون می‌باشد. نتایج نشان داد که غلظت فلز سرب در رسوبات ایستگاه دارای اختلاف معنادار می‌باشد و مقایسه نتایج با استاندارهای مرتبط و تحقیقات مشابه حاکی از آن است که غلظت آلاینده‌های فلزات سنگین در تمامی موارد بطور قابل ملاحظه‌ای کمتر از تمام استاندارها و مقادیر راهنما می‌باشد. تغییرات آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در هر دو پارامتر ایستگاه و فصل اختلاف معناداری را نشان داد. با افزایش دما در فصل گرم میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدان افزایش یافته که ممکن است بخاطر فراوانی غذا در محیط باشد. در تحقیق حاضر نیز میزان گلوتاتیون اس ترانسفراز به طور معنی‌داری در فصل گرم از فصل سرد بیشتر بود. با توجه به میزان کم آلاینده‌های فلزات سنگین در مناطق مورد مطالعه، و عدم مشاهده ارتباط قوی بین میزان آلاینده فلزات سنگین و میزان آنزیم مورد مطالعه در بافت صدف محار ، لذا می‌توان این طور برداشت کرد که موجود در وضعیت سالمی به سر می‌برد و میزان آنزیم‌ها در حد طبیعی می‌باشد.

کلمات کلیدی: صدف محار، خلیج فارس،آنزیم، فلزات سنگین، هندورابی، لاوان، نخیلو.

مقدمه

صدف‌های دوکفه‌ای از نظر تعداد گونه، دومین رده نرمتنان می‌باشند که دارای انتشار جغرافیایی زیادی در دریاها و دریاچه‌های آب شور و شیرین می باشند. این موجودات از بهترین شاخص‌های سنجش پایش

زیست محیطی در دریا به شمار رفته و فقدان برخی از آنها دلالت بر وجود آلودگی یا سایر شرایط غیرطبیعی زیست محیطی می‌کند. این آبزیان به دلیل ذخیره مواد سمی وارد شده به محیط زیست در بدن خود، کمک شایانی به پایش محققین جهت بررسی اثرات مواد آلاینده نفتی و شیمیایی می‌کنند. علاوه بر این، تنوع و پراکنش گونه‌های بومی و تغییرات کمی و کیفی و احیاناً وجود و یا عدم وجود گونه‌های غیر بومی می‌توانند در تفسیر شرایط آلودگی به طور موثری کمک نمایند (۵). بیومارکرها یا نشانگرهای زیستی در علوم مختلف از جمله پزشکی، بیولوژی سلولی، روانشناسی، ژنتیک، سم شناسی، اپیدمولوژی و محیط زیست، جایگاه مهمی پیدا کرده‌اند (۱) که می‌توان از آنها به عنوان بیان کننده تغییرات فیزیولوژیک، بیوشیمی و بافت شناختی حاصل از مواد شیمیایی و آلاینده‌های محیط زیست در موجودات نام برد (۲.

گونه صدف محار مرواریدساز (*Pinctada radiata*) به دلیل عدم تحرک، پراکنش جهانی، رفتار غذایی فیلتر فیدر و توانایی تجمع زیستی آلاینده‌ها گونه‌ای مناسب جهت تعیین سطح سلامت اکوسیستم‌های دریایی در سطح دنیا محسوب می‌گردد. افزایش میزان فلزات سنگین نظیر نیکل، سرب و کامیوم در خلیج فارس، رکن اصلی آلایندگی منطقه به شمار می‌آید (٤). برخی آلاینده‌های آلی و غیرآلی، سبب تنش‌های اکسایشی در ارگانیسم‌های آبزی می‌شوند. از این رو، شاخص‌های زیستی (بیواندیکاتورها) مانند برخی از گروه‌های دوکفه‌ای‌ها و ماهی‌ها جهت تعیین مناطق آلوده ابزار مفیدی هستند که از طریق آنها میتوان میزان مواد آلاینده وارد شده به محیط را مورد ارزیابی قرار داد (۸. از میان انواع منابع آلاینده، فلزات سنگین به دلیل اثرات سمی در محیط و ایجاد پدیده تجمع زیستی در آبزیان مختلف و در نتیجه تاثیر آنها در زنجیره غذایی آبزیان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۰). گرچه مقادیر جزئی از این فلزات در بسیاری از واکنش‌ها و فعالیت‌های بدن ضروری می باشند ولی بیشتر از حد مجاز آنها سبب عوارض جبران ناپذیری در جانداران می‌گردد. از این جهت، یکی از موارد مهم در صدور گواهی بهداشت مواد غذایی بررسی مقادیر فلزات می‌باشد (۱۹. بر این اساس در تحقیق حاضر به تعیین فصلی میزان فلزات سنگین نیکل، سرب و کادمیوم در صدف محار در جزایر هندورابی، لاوان و نخیلو و ارتباط آن با آنزیم‌گلوتاتیون اس ترانسفراز در صدف محار پرداخته شده است.

مواد و روش کار

تعیین ایستگاه‌های نمونه‌برداری: ایستگاه‌های لاوان، هندورابی و نخیلو برای نمونه‌برداری انتخاب گردید، نمونه‌برداری در چهار فصل بهار، تابستان، پاییز و زمستان سال ۱۳۹۲ به وسیله غواصی در سواحل هندورابی، لاوان و نخیلو انجام شد. با توجه به تحقیقاتی که صورت گرفته است می‌توان فرض کرد که تغییرات فصول، تغییرات در حجم غذای در دسترس و تغییرات فیزیولوژیکی بدن (طی فرآیند رشد و افزایش اندازه بدن) و همچنین توسعه اندام‌هایی چون گنادها سبب تغییراتی در سطح غلظت آلاینده‌ها و سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌گردد، لذا بر این اساس تغییرات فصل و چرخه زندگی جاندار باید مورد بررسی قرار گیرد. به همین سبب صدف مرواریدساز محار با بهره‌گیری از عملیات غواصی به روش SCUBA تا عمق حدود ۱۵ متری منطقه با استفاده از یک فروند قایق موتوری صورت گرفت. به منظور یافتن زیستگاه‌های صدف جهت بررسی اولیه، از مختصات جغرافیایی موجود زیستگاه‌ها در سال‌های گذشته استفاده شد. به کمک دستگاه GPS دستی نقاط مذکور یافت شده و بررسی گردید. از هر ایستگاه ۱۰ نمونه صدف با ۳ تکرار برای آنالیز فلزات سنگین و

آنزیم‌ها نمونه‌برداری گردید که در مجموع ۱۰ نمونه صدف * ۳ تکرار* ۳ ایستگاه* ٤ فصل*۲ سایز = ۷۲۰ نمونه جمع‌آوری گردید.

سنجش فلزات سنگین در بافت نرم صدف محار: نمونه‌های تهیه شده به صورت مجزا در ظروف پلی اتیلن قرار داده‌شد و هر کدام بوسیله برچسب و ماژیک ضد آب علامت‌گذاری و تا زمان انتقال به آزمایشگاه در دمای کمتر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدتا تغییری در میزان آلاینده‌ها ایجاد نگردد (۳۲). قبل از کالبدشکافی و آماده‌سازی، نمونه‌های با آب مقطر شستشو داده‌شدند و دو سایز کوچک (۱-٤ سانتی‌متری) و سایز بزرگ (٤ الی ٦ سانتی‌متری) تقسیم‌بندی شده سپس بافت نرم جدا گردید، به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در داخل گرمخانه قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند، برای جذب رطوبی و رسیدن به وزن ثابت به دسیکاتور انتقال یافتند (۱۳. نمونه‌های هموژن شده در هاون چینی به طور کامل پودر گردیدند و مقدار ۱ گرم از نمونه خشک هموژن شده در داخل بشر ریخته شد و۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به نمونه‌ها اضافه گردید. به کلیه نمونه‌ها ۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه (H_2O_2) اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت نیم تا یک ساعت در دمای آزمایشگاه زیر هود قرار داده‌شدند تا عمل هضم صورت گیرد. از آنجایی که می‌بایست شرایط اسیدی برای همه نمونه‌ها یکسان باشد برای نمونه‌های کمتر از ۰/۵ گرم مقدار ۵ میلی‌لیتر اسید و ۱ میلی‌لیتر آب اکسیژنه اضافه شد (۲۲). محلول حاصله به ظرف تفلونی منتقل شده و به طور کامل با ورقه آلومینیومی پوشانده شد. پس از آن محلول بدست آمده را زیر هود روی هیتر در دمای ۹۰ درجه به مدت ۳ ساعت حرارت داده تا کاملاً در اسید حل شوند. از آنجائیکه برخی نمونه‌ها تشکیل رسوب داده‌اند سوسپانسیون حاصله را با استفاده از کاغذ صافی (واتمن ٤۲) صاف و محلول شفاف را به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده (در مورد نمونه‌هایی که از نظر وزنی خیلی پایین بودند که آنها به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسیدند) (١٤). جهت تعیین میزان فلزات سنگین سرب و کادمیوم از دستگاه جذب اتمی با کمک شعله مدل Perkin Elmer 4100 مجهز به سیستم کوره گرافیتی استفاده گردید (۱۲).

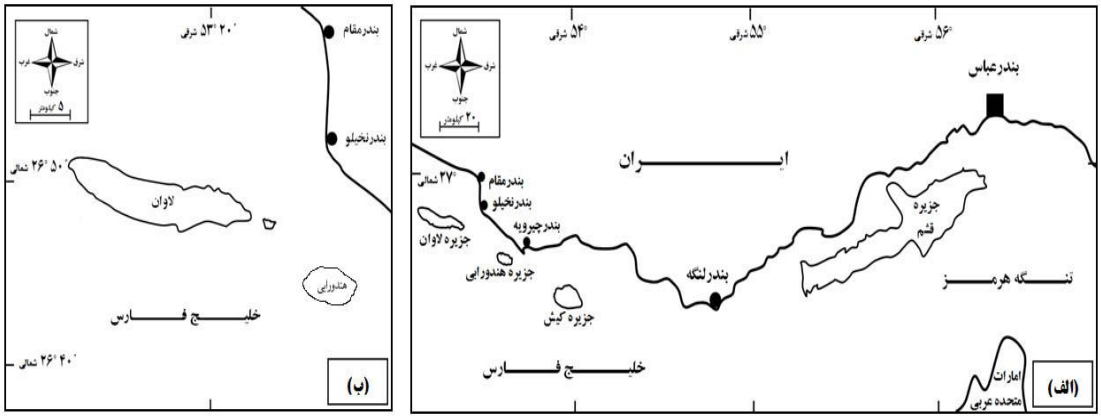
سنجش فلزات سنگین در رسوب: نمونه‌های رسوب با توجه به اینکه باید نشان‌دهنده محیط پیرامون صدف‌ها باشد تا حد امکان از رسوبات دانه‌ریز اطراف محل صید صدف‌ها تا شعاع ۱۰۰۰ متری جمع‌آوری گردید. حجم نمونه‌های صدف جمع‌آوری شده از ۳ ایستگاه با ۳ تکرار و چهار فصل بود که در هر تکرار حدود ۵۰۰ گرم نمونه رسوب برداشت گردید. رسوب‌های جمع‌آوری شده در دمای ۲۵- درجه سانتی گراد تا زمان آنالیز نمونه‌ها نگهداری گردیدند. در زمان آنالیز رسوب‌ها از الک ٦۳ میکرون عبور داده شد و سپس در هاون چینی به‌طور کامل پودر گردیدند و مقدار ۱ گرم از نمونه خشک هموژن شده در داخل بشر ریخته شد و ٤ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ و ۱۲ میلی لیتر اسید کلریدریک ۳۷٪ به یک گرم رسوب اضافه گردید و به مدت ٤-۵ ساعت در دمای ۹۰ درجه بر روی هیتر قرار گرفتند، پس از اتمام زمان لازم به هر یک از نمونه‌ها ٤ میلی لیتر پرکلریک اسید ۷۲٪ $HClO_4$ اضافه شد و بعد از تبخیر حدود ۳ میلی لیتر آن حرارت را قطع کرده و از آنجایی که برخی نمونه‌ها تشکیل رسوب داده‌اند سوسپانسیون حاصله را با استفاده ازکاغذ صافی صاف و محلول شفاف را به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده (در مورد نمونه‌هایی که از نظر وزنی خیلی پایین بودند که آنها به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسیدند) (٢٤، ۵۲). جهت تعیین میزان فلزات سنگین سرب، کادمیوم و نیکل از دستگاه جذب اتمی با کمک شعله مدل Sprctrophotometr AA: 200

مجهز به سیستم کوره گرافیتی استفاده گردید. محلول‌های استاندار سرب در غلظت‌های ۲،۵،۱۰/۵ و ۱۵و محلول استاندارد کادمیوم و نیکل نیز در غلظت‌های صفر، ۰/۲۵، ۱/۵ و ۲ تهیه گردید و محلول‌های استاندارد آماده شده در غلظت‌های مختلف برای رسم منحنی کالیبراسیون دستگاه جذب اتمی به آزمایشگاه تحویل داده شدند.

آماده سازی بافت نرم صدف محار برای اندازه‌گیری میزان آنزیم: میزان غلظت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز مربوط به ٦٠ نمونه (n=٦٠) بافت نرم صدف محار در هر فصل در **هر ایستگاه** و در دو سایز کوچک و بزرگ آنالیز گردید (۷۲۰ نمونه در یک سال). نمونه‌ها صید شده برای آنالیز در دمای ۸۰- سانتی‌گراد نگهداری گردید و در زمان آنالیز پس از ذوب شدن، نمونه‌های بافت نرم صدف توسط تیغه شیشه‌ای تمیز به قطعات ریز تبدیل گردیدند. سپس با اضافه کردن محلول بافر (pH ٦/٥، buffer phosphate saline) در سانتریفیوژ یخچالدار با دور ٥٠٠٠rpm در دمای ٤ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا زمانی که کاملا به صورت محلول در آید قرار گرفت. ماده شناور رویی جهت آنالیز در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

سنجش آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز: برای آنالیز میزان غلظت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در نمونه‌های بافت صدف دوکفه‌ای از روش توصیه شده توسط Habig و همکاران در سال ۱۹۷٤ (۲۷) و همچنین Rudneva و همکاران در سال ۲۰۱۰ (٤٥) استفاده گردید. محلول‌های استاندارد در غلظت‌های ۰-۱۰-۲۰-٤۰-۸۰ نانوگرم در میلی‌لیتر تهیه گردیدند. سپس مخلوط واکنش شامل ۵۰ میکرولیتر از محلول استاندارد، ۵۰ میکرولیتر از streptomycin-HRP، ٤۰ میکرولیتر از نمونه، ۱۰ میکرولیتر از GSTs، ۱۰ میکرولیتر از Metmyoglobin، ۵۰ میکرولیتر از streptavidin-HRP در پلیت‌های ۹٦ خانه تهیه گردید. روی پلیت را پوشانده به آرامی تکان داده و در دمای ۳۷ درجه به مدت ٦۰ دقیقه قرار داده شدند. کاور روی پلیت را برداشته محلول رویی را خالی کرده و با محلول شستشو ۵ بار شستشو داده تا اثری از محلول در آن باقی نماند سپس ۵۰ میکرولیتر chromogen solution A را به پلیت اضافه کرده، سپس۵۰ میکرولیتر دیگر از chromogen solution B به پلیت اضافه و به آرامی تکان داده و به مدت ۱۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ برای تغییر رنگ قرار داده شدند. در مرحله آخر ۵۰ میکرولیتر Stop Solution به آن اضافه کرده تا واکنش پایان پذیرد (تغییر رنگ از آبی به زرد اتفاق افتد). در طول موج ٤٥۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا (Model: BioTac El-x800) قرائت گردید. با توجه به معادله خط غلظت نمونه‌ها را محاسبه می‌کنیم.

آنالیز آماری نمونه‌ها: تجزیه و تحلیل آماری داده با نرم افزار SPSS 18 انجام پذیرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از انجام آزمایش ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگراف- اسمیرنف بررسی شد. از تحلیل آماری آزمون MANOVA جهت تعیین وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها استفاده شد. جهت تعیین دقیق وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار ازپس آزمون Tukey استفاده شد. اختلاف بین میانگین داده در سطح معنای ۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تعیین وجود ارتباط خطی و میزان آن بین مقادیر تجمع زیستی فلزات سنگین در بافت نرم و رسوب در صدف و مقادیر تجمع زیستی فلزات سنگین در بافت نرم و غلظت آنزیم‌های مورد بررسی از همبستگی پیرسون استفاده گردید.



شکل ۱ – موقعیت جزیره هندورابی و لاوان در ناحیه غربی استان هرمزگان

جدول ۱– موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌های مورد مطالعه

ردیف	نام ایستگاه	طول و عرض جغرافیایی
۱	لاوان	E ۵۳° ۲۰´–N ۲۶°۴۷´
۲	هندورابی	E ۵۳° ۳۵´–N ۲۶°۴۰´
۳	نخیلو	E ۵۳° ۳۵´–N ۲۶°۵۰´

نتایج

بیشترین میزان غلظت سرب (۳/۰۷ ppm) مربوط به ایستگاه هندورابی در فصل تابستان در اندازه کوچک صدف محار می‌باشد و کمترین میزان آن (۱/۲۱ ppm) نیز مربوط به ایستگاه لاوان در فصل تابستان در اندازه کوچک صدف محار می‌باشد (جدول ۲). بیشترین میزان غلظت کادمیوم (۳/۴۲ ppm) مربوط به ایستگاه نخیلو در فصل زمستان در اندازه بزرگ صدف محار می‌باشد و کمترین میزان آن (۰/۶ ppm) نیز مربوط به ایستگاه نخیلو در فصل بهار در اندازه کوچک صدف محار می‌باشد (جدول ۲). بیشترین میزان غلظت نیکل (۰/۸ ppm) مربوط به ایستگاه نخیلو در فصل پاییز در اندازه بزرگ صدف محار می‌باشد و کمترین میزان آن (۰/۴۱ ppm) نیز مربوط به ایستگاه لاوان در فصل بهار در اندازه کوچک صدف محار می‌باشد (جدول ۲). با توجه به اینکه عملاً در خلیج فارس دو فصل گرم و سرد مشاهده می‌گردد لذا نتایج را بر حسب فصول گرم و سرد بیان می‌گردد که بیشتر قابل توصیف و درک باشد. غلظت فلز کادمیوم در بافت نرم صدف محار تنها در بین ایستگاه‌ها دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد که به‌طور میانگین غلظت آن در ایستگاه نخیلو نسبت به دو ایستگاه دیگر بالاتر می‌باشد و در ایستگاه لاوان به‌طور معنی‌داری از نخیلو کمتر می‌باشد. اندازه و فصل نیز هیچ تداخلی در میزان غلظت فلز کادمیوم ندارند (جدول ۳). غلظت فلز نیکل نیز تحت تاثیر ایستگاه نبوده اما فصل و اندازه به‌طور معنی‌داری غلظت آن را تحت تاثیر قرار داده است. بدین صورت که غلظت آن به‌طور معنی‌داری در فصل سرد نسبت به فصل گرم بیشتر می‌باشد و در اندازه بزرگ به‌طور معنی‌داری میزان بیشتری از فلز نیکل نسبت به اندازه کوچک دیده می‌شود. غلظت سرب تحت تاثیر ایستگاه بوده و اختلاف معنی‌داری بین ایستگاه‌ها دیده می‌شود اما به علت تداخل فصل و اندازه و همین طور تداخل سه عامل اندازه، ایستگاه و فصل به‌طور قطع نمی‌توان

گفت که غلظت میزان سرب در ایستگاه هندورابی همیشه از دو ایستگاه دیگر به‌طور معناداری بیشتر است چون همانطور که در جدول ۳ دیده می‌شود بیشترین میزان سرب در فصل گرم در ایستگاه هندورابی و در اندازه کوچک صدف محار دیده می‌شود و کمترین میزان آن نیز در همان فصل و همان اندازه در ایستگاه نخیلو است. به علت تداخلاتی که دیده می‌شود در ایستگاه هندورابی غلظت میزان سرب در اندازه کوچک فصل سرد به‌طور معنی‌داری کوچکتر از هندورابی اندازه کوچک فصل گرم می‌باشد. نمی‌توان گفت که لاوان همیشه کمترین میزان سرب را دارد برای مثال میزان سرب در فصل گرم در اندازه کوچک به‌طور معنی‌داری از میزان سرب در هندورابی در همان فصل و در همان اندازه بیشتر است. غلظت میزان سرب در فصل سرد در ایستگاه‌های هندورابی، لاوان به‌طور معنی‌داری کمتر از فصل گرم است و در ایستگاه نخیلو غلظت سرب در فصل سرد به‌طور معنی‌داری بیشتر از فصل گرم است. غلظت میزان نیکل در فصل سرد در ایستگاه‌های هندورابی، لاوان و نخیلو به‌طور معنی‌داری از فصل گرم بیشتر است. (جداول ٤ و ٥). بیشترین میزان آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در فصل گرم در ایستگاه هندورابی و در اندازه کوچک مشاهده شد و کمترین میزان آن نیز در فصل سرد در ایستگاه لاوان در اندازه کوچک مشاهده شد. جدول ٤ نشان می‌دهد که غلظت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در اندازه ۱ (٤-۱ سانتی‌متر) (٥/٠٤ ng/ml) بیشتر از غلظت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در اندازه بزرگ (٦-٤ سانتی‌متر) (٤/٥٤ ng/ml) می‌باشد. تغییرات آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز تقریبا مشابه یکدیگر در ایستگاه و فصل هر دو پارامتر اختلاف معناداری را بر روی میزان غلظت این آنزیم‌ها دارند (جدول ٥). بیشترین میزان آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در ایستگاه هندورابی و لاوان در فصل گرم در اندازه یک دیده شد و کمترین میزان آنها نیز در هندورابی اندازه کوچک فصل سرد دیده شد (شکل ۳).

جدول ۲- غلظت فلزات سنگین در بافت نرم صدف محار در فصول مختلف (میکروگرم بر گرم وزن خشک)

فلزات سنگین		سرب (Pb)				کادمیوم (Cd)				نیکل (Ni)			
		اندازه ۱		اندازه۲		اندازه ۱		اندازه۲		اندازه ۱		اندازه۲	
فصل	ایستگاه	میانگین	SD	میانگین	SD	میانگین	SD	میانگین	SD	میانگین	SD	میانگین	SD
بهار	هندورابی	۲/۰۷	۰/۳	۱/۷۵	۰/٦۲	۲/۰	۰/۱۸	۱/٦۷	۰/۲	۰/٤۷	۰/۱٦	۰/٥۱	۰/۱٦
	نخیلو	۱/۲۲	۰/۱۸	۲/۰۱	۰/٥٤	۰/٦	۰/۱٤	۰/۸٦	۰/۰٤	۰/٤۷	۰/۰۲	۰/٦٤	۰/۲۲
	لاوان	۳/۰۸	۰/۱	۱/۷٥	۰/۷۲	۱/٦	۰/۰٦	۲/٥	۰/۰٦	۰/٤۱	۰/۰۲	۰/٥٦	۰/۱٤
تابستان	هندورابی	۳/۰۷	۰/۳۲	۲/۰	۰/٦	۲/۰	۰/۰٦	۲/٦۷	۰/۲٦	۰/٥٥	۰/۰٤	۰/٥۳	۰/۲٤
	نخیلو	۱/۲۳	۰/۰٤	۱/۸۳	۰/٥٦	٤/٤	۰/۱٤	۳/۲٤	۰/٤٦	۰/٥۷	۰/۰۲	۰/٦٦	۰/۱٦
	لاوان	۱/۲۱	۰/۲٦	۱/۸۳	۰/٥٤	۱/۱۹	۰/۱۲	۱/٦٦	۰/٥۲	۰/٤٦	۰/۰۲	۰/٦۲	۰/۱٦
پاییز	هندورابی	۱/۷۲	۰/۰۸	۲/٦۸	۰/٦۰	۰/۹٦	۰/۰٦	۱/۸۲	۰/۱۸	۰/٥٥	۰/۰٤	۰/۷	۰/۱٤
	نخیلو	۱/۷٤	۰/۱۰	۱/۸۳	۰/٦۸	۱/۰۳	۰/۱۸	۱/٥۱	۰/٥٦	۰/٤۲	۰/۰٤	۰/۸	۰/۱۲
	لاوان	۱/۲۳	۰/۱۰	۲/۰٥	۰/٥۲	۰/٦۱	۰/۰٦	۱/٥۹	۰/۱۸	۰/٤۸	۰/۰٤	۰/٦۷	۰/۲
زمستان	هندورابی	۱/۸۱	۰/۰٦	۲/۱۸	۰/۲٤	۱/۳۱	۰/۰٤	۱/٥٦	۰/۲۲	۰/٦٦	۰/۰۲	۰/۷٦	۰/۱۳
	نخیلو	۲/٦٤	۰/۳۸	۲/۳۸	۰/۰۲	۲/٦٦	۰/۳۲	۳/٤۲	۰/۱٤	۰/٦۱	۰/۱۰	۰/۷۲	۰/۲۲
	لاوان	۱/۷٤	۰/۱٤	۱/۸۸	۰/٥۸	۱/٦۲	۰/۱٤	۲/۰۹	۰/۰۲	۰/٥۷	۰/۰٤	۰/٦۸	۰/۱۸

جدول ۳ – میانگین ± انحراف معیار غلظت فلزات سنگین، در بافت نرم صدف محار ایستگاه‌ها در دو فصل گرم و سرد بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک و تحلیل آماری آزمون Manova

		فلز سنگین / بافت	سرب	کادمیوم	نیکل
فصل گرم	اندازه۱	هندورابی	^{c}۰/۳۲ ±۲/۵۷	۰/۱۲±۲/۰۱	۰/۱۰۲±۰/۵۱
		نخیلو	^{a}۰/۱۱±۱/۲۲	۰/۱۵±۲/۵	۰/۰۳۲±۰/۵۲
		لاوان	^{abc}۰/۱۸±۲/۱٤	۰/۰۸±۱/۳۹	۰/۰۲۸±۰/٤۳
	اندازه۲	هندورابی	^{ab}۰/٦±۱/۸۷	۰/۲۲±۲/۱۷	۰/۲۰±۰/۵۲
		نخیلو	^{abc}۰/۵٦±۱/۹۲	۰/۲٦±۲/۰۵	۰/۲۰±۰/٦۵
		لاوان	^{ab}۰/٦۲±۱/۷۹	۰/۳۰±۲/۰۸	۰/۱٦±۰/۵۹
فصل سرد	اندازه۱	هندورابی	^{ab}۰/۰۷±۱/۷٦	۰/۰٦٦±۱/۱۳	۰/۰۳٦±۰/٦۰
		نخیلو	^{abc}۰/۲٤ ± ۲/۱۹	۰/۲٦±۱/۸٤	۰/۰۷۲±۰/۵۱
		لاوان	^{ab}۰/۱۲±۱/٤۸	۰/۱۱±۱/۱۱	۰/۰۲۲±۰/۵۲
	اندازه۲	هندورابی	^{bc}۰/٤±۲/٤۳	۰/۲۰±۱/٦۹	۰/۱٤±۰/۷۳
		نخیلو	^{abc}۰/٤٦±۲/۱۰	۰/۳٦±۱/٤٦	۰/۱۷±۰/۷٦
		لاوان	^{abc}۰/۵٤±۱/۹٦	۱/۸٤±۰/۱۱	۰/۱۹±۰/٦۷
میانگین ایستگاه					
		هندورابی	۰/۵۲±۲/۱۵	^{ab}۰/۱۵±۱/۷۵	۰/۱۲±۰/۵۹
		نخیلو	۰/۳٤±۱/۸۵	^{b}۰/۲٤±۲/۲۵	۰/۱۲±۰/٦۱
		لاوان	۰/۳۸±۱/۸٤	۰/۱۵±۱/٦۰	۰/۱±۰/۵۵
تحلیل آماری		ابستگاه	*	*	ns
		فصل	ns	ns	**
		اندازه	ns	ns	***
		فصل* اندازه	*	ns	ns
		اندازه* ایستگاه	ns	ns	ns
		ایستگاه * فصل	*	ns	ns
		فصل* ایستگاه * اندازه	**	ns	ns

ns: عدم تفاوت معنی‌دار، *: p<۰/۰۵ ، **: p<۰/۰۱ و ***: p< ۰/۰۰۱. حروف a، b و c: وجود اختلاف معنی دار

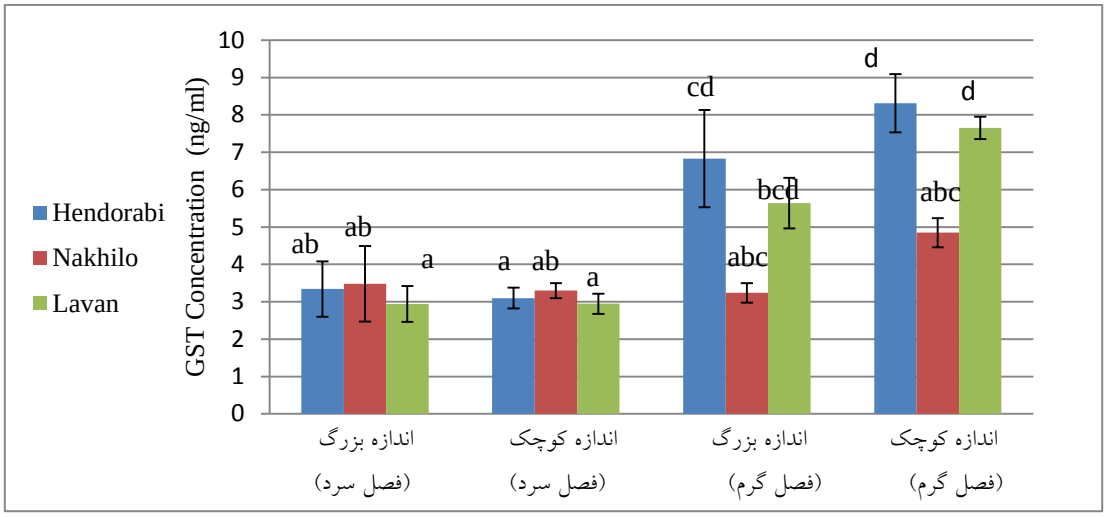
جدول ٤- غلظت آنزیم GST در بافت نرم صدف محار در فصول مختلف بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر

فصل	ایستگاه	اندازه ۱		اندازه۲	
		میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
بهار	هندورابی	۷/۷۳	۰/۷۵	٦/۵	۲/٦۸
	نخیلو	۵/٦	۰/٤۳	۵/۱	۰/۳
	لاوان	۸/۲	۰/۲٦	٦/۳	۱/۹۸
تابستان	هندورابی	۸/۹	۰/۸۱	۷/۲	۲/۰٦
	نخیلو	٤/۱	۰/۳٦	٤/۲	۰/۱۱
	لاوان	۷/۱	۰/۳۵	۵/٦	۰/٦۵
پاییز	هندورابی	۳/٤	۰/۳٦	۳/۲۳	۰/۲۳
	نخیلو	۳/۹	۰/۲	۳/٦	۰/۲٦
	لاوان	۳/٤	۰/۳۲	۳/۰٦	۰/٤۵
زمستان	هندورابی	۲/۸	۰/۲	۳/٤٦	۱/۲۵
	نخیلو	۲/۷	۰/۲۰	۳/۳٦	۱/۷٦
	لاوان	۲/۵	۰/۲۳	۲/۸۳	۰/۵۱

جدول ۵- غلظت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در بافت نرم صدف محار در فصل گرم و سرد و در اندازه‌های کوچک و بزرگ بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر و تحلیل آماری تست Manova

		ایستگاه	**غلظت آنزیم GST** (میانگین ± انحراف عیار)
فصل گرم	اندازه۱	هندورابی	۸/۳۱ ± ۰/۷۸ [d]
		نخیلو	٤/۸۵ ± ۰/۳۹ [abc]
		لاوان	۷/٦۵ ± ۰/۳۰ [d]
	اندازه۲	هندورابی	٦/۸۵ ± ۲/۳۷ [cd]
		نخیلو	٤/٦۵ ± ۰/۲ [abc]
		لاوان	۵/۹۵ ± ۱/۳۱ [bcd]
فصل سرد	اندازه۱	هندورابی	۳/۱ ± ۰/۲۸ [a]
		نخیلو	۳/۳ ± ۰/۲ [ab]
		لاوان	۲/۹۵ ± ۰/۲۷ [a]
	اندازه۲	هندورابی	۳/۳٤ ± ۰/۷٤ [ab]
		نخیلو	۳/٤۸ ± ۱/۰۱ [ab]
		لاوان	۲/۹٤ ± ۰/٤۸ [a]
تحلیل آماری	ایستگاه		**
	فصل		***
	اندازه		ns
	فصل * اندازه		*
	ایستگاه *اندازه		ns
	ایستگاه * فصل		***
	فصل * ایستگاه * اندازه		ns

ns:: عدم تفاوت معنی‌دار، *: p<۰/۰۵ ، **: p<۰/۰۱ و ***: p< ۰/۰۰۱. حروف a، b و c: وجود اختلاف معنی دار



شکل ۳- مقایسه تغییرات فصلی غلظت آنزیم‌های GST در بافت نرم صدف محار در ایستگاه‌های هندورابی، لاوان و نخیلو در فصل گرم و سرد (اندازه‌کوچک و بزرگ) بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر

بحث

غلظت فلز سرب در ایستگاه‌ها دارای اختلاف معنادار می‌باشد که غلظت سرب در لاوان نسبت به دو ایستگاه دیگر به‌طور معناداری بیشتر میباشد. با توجه به اینکه در این تحقیق از رسوبات ریز (کمتر از ٦٣ میکرون) نسبت به کل رسوبات استفاده شده است و این نسبت در هر سه ایستگاه تقریبا برابر است (۱۲/۳ درصد در لاوان، ۱۲/۹ درصد در هندورابی و ۱۲/٤ درصد در نخیلو) لذا عدم مشاهده اختلاف معنی‌دار بین تجمع عناصر مورد بررسیدر این ایستگاه‌ها قابل توجیه هست و از سوی دیگر با توجه به نزدیک بودن نسبی موقعیت سه ایستگاه نمونه‌برداری، مشترک بودن منابع انتشار عناصر مورد نظر در محدوده ایستگاه‌ها، مورد انتظار است و بیشتر بودن میزان تجمع عناصر در ایستگاه لاوان را می‌توان به دلیل وجود کانون‌های آلاینده بیشتر در این ایستگاه ارتباط داد. این امر می‌تواند به دلیل تردد نفتکش‌ها، قایق‌ها و شناورها باشد که با سوختیگری و حجم قابل توجهی از پساب حاوی مواد روغنی و نفت را وارد آب می‌کنند که می‌تواند دلیل مناسبی برای افزایش فلزات سنگین در این ایستگاه باشد (٦، ۹).

رسوبات بستر عمده‌ترین بخش پذیرنده و در واقع ذخیرگاه آلاینده‌های مختلف مخصوصاً عناصر سنگین در اکوسیستم‌های آبی می‌باشند (۷). یکی دیگر از دلایل بالا بودن غلظت فلز سرب در رسوب ممکن است فاضلاب‌های خانگی و پساب‌های صنعتی باشد. برخی فعالیت‌های صنعتی مانند استخراج معادن، احتراق ذغال سنگ و دفع زباله و فرآیند تولید فولاد موجب افزایش قابل ملاحظه میزان برخی از فلزات سنگین در اکوسیستم‌های دریایی می‌گردد (۱۹).

نیکل به عنوان شاخص آلاینده نفتی مطرح است مقادیر کم آن در رسوبات احتمالاً بدلیل آلودگی نسبتا کم هیدروکربن‌های نفتی در این منطقه است و البته میزان انتشار از طریق منابع طبیعی نیز محدود بوده است (۲۳). هندورابی کمترین میزان آلاینده‌های فلزات سنگین را در خود جای داده است که جزیره هندورابی به علت جریان‌های متعدد آبی که در اطرافش وجود دارد با تمام نقل و انتقالات نقتی که در آن حوزه صورت میگیرد به‌طور نسبی در مقایسه با سایر جزایر منطقه از آلود گی کمتری برخوردار میباشد

اما هر چه از اطراف جزیره دورتر شده و به ساحل نزدیکتر می شویم میزان آلودگی نیز بیشتر می‌گردد (۳. جزیرهٔ لاوان دومین جزیره نفتی بزرگ در سواحل ایرانی خلیج فارس است که به علت ذخیره سازی و تولید نفت خام همچنین، آب توازن کشتی‌ها در معرض آلودگی زیست محیطی قرار دارد .در نقطهٔ مقابل، هندورابی از ذخایر نفتی و در نتیجه فعالیت‌های حمل و نقل نفتی و آب توازن کشتی‌ها به دور است بنابراین، احتمالا زیست دریایی در جزیرهٔ هندورابی نسبت به جزیرهٔ لاوان از استرس زیست محیطی کمتری برخوردار است (۱۱).

مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق با استانداردهای مرتبط و همچنین سایر تحقیقات مشابه در سطح منطقه‌ای و بین‌المللی حاکی از آن است که در تمامی موارد بطور قابل ملاحظه‌ای کمتر از تمام استانداردها و مقادیر راهنمای مرتبط می‌باشد. همچنین در مقایسه با سایر تحقیقات در جهان نیز نتایج کنونی کمتر از نتایج سایر تحقیقات بوده است که کمتر بودن این نتایج نیز تا حدودی به علت دانه‌درشت بودن رسوبات نمونه‌برداری شده از منطقه مطالعاتی بوده است که بواسطه زیستگاه‌های غالبا شنی و صخره‌ای دوکفه‌ای‌ها انتخاب شده، می‌باشد. زیرا اصولا ذرات رسوبی دانه ریزتر دارای نسبت سطح به حجم بیشتری نسبت به ذرات دانه درشت‌تر می‌باشند و از این رو قابلیت تجمع مقادیر بیشتری از فلزات سنگین را دارند (۳۳). غلظت فلز کادمیوم در بافت نرم صدف محار تنها در بین ایستگاه‌ها دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد که به‌طور میانگین غلظت آن در ایستگاه نخیلو نسبت به دو ایستگاه دیگر بالاتر می‌باشد و در ایستگاه لاوان به‌طور معنی‌داری از نخیلو کمتر می‌باشد. اندازه و فصل هیچ مداخله‌ای در میزان غلظت فلز کادمیوم ندارند. غلظت فلز نیکل نیز تحت تاثیر ایستگاه نبوده اما فصل و اندازه به‌طور معنی‌داری غلظت آن را تحت تاثیر قرار داده است. بدین صورت که غلظت آن در فصل سرد نسبت به فصل گرم بیشتر می‌باشد. و در اندازه بزرگ میزان بیشتری از فلز نیکل نسبت به اندازه کوچک دیده می‌شود. غلظت سرب تحت تاثیر ایستگاه بوده و اختلاف معنی‌داری بین ایستگاه‌ها دیده می‌شود اما به علت تداخل فصل و اندازه و همین طور تداخل سه عامل اندازه، ایستگاه و فصل به‌طور قطع نمی‌توان گفت که غلظت میزان سرب در ایستگاه هندورابی همیشه از دو ایستگاه دیگر به‌طور معناداری بیشتر است به علت تداخلاتی که دیده می‌شود در ایستگاه هندورابی غلظت میزان سرب در اندازه کوچک فصل سرد به‌طور معنی‌داری کمتر از هندورابی اندازه کوچک فصل گرم می‌باشد. نمی‌توان گفت که لاوان همیشه کمترین میزان سرب را دارد برای مثال میزان سرب در فصل گرم در اندازه کوچک به‌طور معنی‌داری از میزان سرب در هندورابی در همان فصل و در همان اندازه بیشتر است. کمترین میزان غلظت سرب در فصل گرم و در اندازه کوچک در ایستگاه نخیلو است اما به‌طور معنی‌داری با میزان غلظت این آلاینده در فصل گرم در اندازه بزرگ و در فصل سرد در هر دو اندازه کوچکتر می‌باشد.

در موارد ایستگاه-فصل و فصل-ایستگاه-اندازه تعامل پارامترهای مختلف بر میزان تجمع فلز سرب تاثیرگذار است. با توجه به نزدیک بودن موقعیت نسبی ایستگاه‌های نمونه‌برداری، تفاوت قابل-ملاحظه‌ای بین منابع آلاینده و همچنین شرایط محیطی سه ایستگاه مشاهده نگردید اما برای مواردی که در بالا اشاره شد می‌توان عوامل ذیل را در آنها موثر دانست:

۱- تفاوت در قابلیت زیستی برخی عناصر در ایستگاه‌های نمونه‌برداری (احتمالا ناشی از تغییرات مقطعی در برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب یا رسوبات می‌باشد.) اصولا در اکوسیستم‌های آبی میزان

پراکنش فلزات در میان فازهای مختلف (شامل ستون آب، رسوبات و آب میان ذرات رسوبی) بر میزان دسترسی زیستی فلزات موثر است. در هر یک از فازهای مزبور، میزان دسترسی زیستی بواسطه فاکتورهای مختلف فیزیکی، شیمیایی و زیستی مشخص می‌گردد (۳۶).

۲- تفاوت احتمالی در مکانیسم جذب عنصر مورد نظر (در بافت مورد نظر) در ایستگاه‌های نمونه‌برداری: مکانیسم‌های مختلفی برای جذب عناصر در اویسترهای وجود دارد که به واسطه تغییر در شرایط فیزیولوژیکی، عوامل محیطی و یا حتی وضعیت جنسی این جانوران تغییر می‌کند (۲۹، ۳۶).

۳- وجود منابع نقطه‌ای تولید کننده کانون آلاینده‌ها

تغییرات فصلی سرب در نشان می‌دهد که غلظت میزان سرب در فصل سرد در ایستگاه‌های هندورابی، لاوان در هر دو اندازه کمتر از فصل گرم است و در ایستگاه نخیلو در اندازه کوچک غلظت سرب در فصل سرد بیشتر از فصل گرم است.

تغییرات فصلی نیکل نیز نشان می‌دهد که غلظت میزان نیکل در هر دو اندازه در فصل سرد در ایستگاه‌های هندورابی، لاوان و نخیلو از فصل گرم بیشتر است.

اما تغییرات فصلی کادمیوم نشان می‌دهد که غلظت میزان کادمیوم در هر دو اندازه در ایستگاه هندورابی، لاوان در فصل گرم بیشتر از غلظت آنها در فصل سرد می‌باشد و غلظت میزان کادمیوم در اندازه بزرگ در ایستگاه نخیلو در فصل سرد بیشتر از فصل گرم است.

به‌طور کلی در نیکل اندازه بزرگ نسبت به اندازه کوچک میزان بیشتری از فلزات سنگین را در بافت خود ذخیره کرده است. با بزرگ شدن ابعاد بدن دوکفه‌ای‌ها: ۱- کاهش نسبت سطح یه حجم و ۲- در آبزیان بزرگتر (مسن‌تر) کاهش فعالیت‌های متابولیک (سوخت و ساز) دیده می‌شود که هر دو عامل مزبور منجر به کاهش میزان جذب فلزات با افزایش ابعاد بدن آبزیان می‌گردد. البته نتایج تحقیقات مختلف حاکی از آن است که بویژه در دوکفه‌ای‌ها مکانیسم‌های متنوعی در این رابطه دخیل می‌باشند که بسته به نوع گونه و نوع فلز ممکن است منجر به کاهش یا افزایش و یا عدم تغییر میزان تجمع فلزات با افزایش ابعاد بدن گردد (۳۱).

البته طبق تحقیق Hédouin در سال ۲۰۰۶ از آنجایی که ارتباط معنی‌داری بین اندازه بدن و تجمع فلزات معمولاً، در دوکفه‌ای‌ها وجود دارد و صدف‌ها با اندازه‌های مختلف با توجه به نیازهای متابولیکی بدن و نسبت سطح به حجم میزان متفاوتی از فلزات را انباشته می کنند (۳۱).

مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق با استاندارهای مرتبط و همچنین سایر تحقیقات مشابه در سطح منطقه‌ای و بین‌المللی در جدول شماره آورده شده است که نتایج حاکی از آن است که در تمامی موارد بطور قابل ملاحظه‌ای کمتر از تمام استانداردها و مقادیر راهنمای مرتبط می‌باشد. و همچنین در مقایسه با سایر تحقیقات در جهان نیز نتایج کنونی کمتر از نتایج سایر تحقیقات بوده است که کمتر بودن این نتایج نیز با توجه به اینکه نیکل یکی از شاخص‌های آلودگی نفتی می‌باشد لذا احتمال انتشار آلاینده‌های نفتی در منطقه مطالعاتی نسبتا اندک است.

در مطالعه حاضر از آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز به عنوان بیومارکر آلاینده‌های فلزات سنگین (سرب، کادمیوم و نیکل) در گونه صدف محار در ایستگاه‌های لاوان، هندورابی و نخیلو استفاده گردید. استفاده از چند بیومارکر برای نظارت بر کیفیت محیط زیست و سلامت موجودات زنده ساکن اکوسیستم آلوده در طول سال‌های اخیر نسبت به استفاده از تنها یک بیومارکر که ممکن است وضعیت سلامت یک گونه را به خوبی نشان ندهد، افزایش چشمگیری داشته است (۵۰).

در تحقیقی که لیما (۲۰۰۷) بر روی صدف *Mytilus gallopravincialis* انجام داد مشخص گردید که تغییرات فصول، تغییرات در حجم غذای در دسترس و تغییرات فیزیولوژیک بدن موجود (طی فرایند رشد و افزایش سایز بدن) و همچنین توسعه اندام‌هایی چون گنادها سبب تغییراتی در سطح غلظت آلاینده‌ها و سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود (۳٤). بر این اساس باید بررسی تغییرات فصل و چرخه زندگی جاندار مورد توجه قرار گیرد، برخی جانداران در بعضی سنین، حساسترند (٤۰).

عدم تعادل در تولید و حذف (ROS) می‌تواند منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو گردد و تجمع فلزات سنگین معمولا باعث افزایش میزان (ROS) می‌گردد، در نتیجه باعث عدم تعادل در این چرخه می‌گردد (۵۱). سیستم‌های آنزیم آنتی‌اکسیدان به عنوان عوامل محافظ در برابر اثرات مخرب اکسی رادیکال‌ها وسایر (ROS)ها، به سلول‌های از طریق از بین بردن آنها و پایین آوردن سطح (ROS) کمک می‌کند (۳۷،۲٦). بنابراین اندازه‌گیری آنزیم‌های مختلف که در سیستم دفاع سلولی به عنوان بیومارکرهای استرس اکسیداتیو درگیر هستند، می‌تواند اثرات آلودگی را نشان دهد (۲۱، ۳۵). تغییرات فصلی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به سن، چرخه تولیدمثل، در دسترس بودن میزان غذا و دمای آب مرتبط است (۲۸، ٤٦).

بیشترین میزان آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در ایستگاه هندورابی و لاوان در فصل گرم دیده شد و کمترین میزان آنها نیز به صورت مشترک در هندورابی در فصل سرد می‌باشد. با افزایش دما در فصل گرم میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش یافته، با افزایش دما و فراوانی غذا در محیط ممکن است میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش یابد (۳۹).

غلظت بیشتر آنزیم‌ها ممکن است نشان دهنده این باشد که میزان بیشتری از آنزیم برای از بین بردن ROSها فعالیت می‌کند تا گونه در وضعیت سالم‌تری قرار گیرد (۲۰، ٤۲). عدم مشاهده اختلاف معنی‌دار بین فصول بیشتر به علت تغییرات کم دما و میزان شوری در منطقه در بین فصول می‌باشد (۵۵) در مقایسه با مطالعاتی مانند دریای مدیترانه که این تغییر را محسوس‌تر مشاهده کرده‌اند (۳۹).

در کل بیومارکرها به شدت تحت تاثیر دما و شوری هستند (۱۸، ۳۸) که تحقیق حاضر نیز بیانگر همین موضوع بود و میزان گلوتاتیون اس ترانسفراز به‌طور معنی‌داری در فصل گرم از فصل سرد بیشتر بود.

Regoliدر سال ۱۹۹۸ نیز نتایج مشابهی بدست آورد که میزان آنزیم‌هایGST glyoxalase I، glyoxalase IIو GPx در صدف *Mytilus galloprovincialis* در فصل گرم افزایش می‌یابد (٤۳).

Viarengo نیز در سال ۱۹۹۱ نتایج مشابهی ارائه داد که کاهش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در زمستان و افزایش آن در تابستان را به فعالیت‌های متابولیکی بدن نسبت داد که بیشتر به علت دوره رسیدگی جنسی تکامل گنادها و تخم‌ریزی آنها می‌باشد (۵۳).

نتایجی که از این تحقیق حاصل شد توسط چند محقق دیگر در گونه‌های متفاوت نیز تایید شده است (۳۵). Filho در سال ۲۰۰۱ تغییرات فصلی در میزان آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز را در گونه *Perna perna* گزارش کرد (۲۵). در حالی که در گونه (*Mytilus galloprovincialis*) هیچ تغییرات فصلی را گزارش نکرده‌اند (۱٦، ٤۳).

در تغییرات فصلی آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز نیز بین دو فصل اختلاف معنی‌داری گزارش گردید. که در فصل گرم میزان آن بیشتر بود این افزایش می‌تواند به دلیل چرخه تولیدمثلی و افزایش رشد گونه، دما میزان اکسیژن محلول آب میزان آلاینده‌ها و pH آب باشد (٤۸). القای فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس

ترانسفراز به عنوان یک بیومارکر آلودگی شناخته شده است (۳۰). افزایش غلظت بیومارکرهای مختلف در فصل گرم با مطالعه Barreira در سال ۲۰۰۶ نیز مطابقت دارد (۱۵). زمانی که که دوکفه‌ای‌ها در معرض آلودگی با فلزات سنگین قرار می‌گیرند قادر هستند سیستم آنتی‌اکسیدان خود را به منظور از بین بردن ROSها فعال نمایند که شامل افزایش فعالیت آنزیم‌ها می‌گردد (۵۷). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تحت کنترل تغییرات فصلی هستند (٤۷). اولین عامل مرتبط با فصل افزایش دما و به دنبال آن افزایش مصرف اکسیژن و افزایش تولید ROS بوده و عامل دوم ویژگی‌های متابولیکی بدن و چرخه تولیدمثلی صدف می‌باشد (۱۷).

فلزات سنگین سمومی قوی هستند که در بدن موجودات زنده تجمع می‌یابند و با افزایش تشکیل ROS می‌تواند باعث آسیب به پروتئین، DNA، لیپید (٤۳)، مهار آنزیم، اختلال علامت دهنده‌های سلولی، اختلال در هموستازی کلسیم و تغییرات در تنظیم گردند (٤۹).

در این مطالعه بین میزان غلظت گلوتاتیون اس ترانسفراز در بافت نرم صدف محار و غلظت فلز نیکل در بافت نرم همبستگی متوسط و معکوسی دیده‌شد (R= -۰/٤۰). ارتباط مشابهی در گونه *Mytilus galloprovincialis* مشاهده شد (۱۷). ممکن است پاسخ استرس اکسیداتیو بیشتر به عوامل محیطی مرتبط باشد تا در معرض قرار گرفتن با فلزات سنگین و نتایج متناقضی برای ROS یافت شد که ارتباط معناداری بین پارامترهای زیست محیطی داشت (٥٤). متابولیسم دوکفه‌ای‌ها با تغییر فصل در پاسخ به پارامترهای غیرزنده مانند شوری، دما، میزان اکسیژن ... و ویژگی‌های بیوتیک مانند در دسترس بودن مواد غذایی و چرخه تولیدمثل تغییر می‌کند (۳۵، ٥٦).

نتیجه‌گیری

اکوسیستم‌های آبی تحت فشار ورود آلاینده‌هایی هستند که از منابع متعددی به آنها وارد می‌شوند. دست یافتن به روش‌هایی آسانتر و کم‌هزینه‌تر جهت پایش زیستی محیط و اندازه‌گیری میزان مواد آلاینده‌ای که وارد محیط می‌شود مانند فلزات سنگین و توانایی تجمع در بدن موجودات زنده و مکانیسم عمل آنها در موجوداتی که به عنوان بیومارکر از آنها استفاده می‌گردد، از اهداف اصلی این قبیل مطالعات است. دوکفه‌ای‌ها به خاطر برخی فاکتورهایی که دارند مانند پراکنش جغرافیایی وسیع، فراوانی، ریزه خوار بودن، توانایی تحمل بالا نسبت به تغییرات محیطی، جمعیت ثابت، اندازه مناسب، سازگار بودن با شرایط جدید، توانایی مطالعه در فیلد و محیط آزمایشگاهی گونه مناسبی برای اینگونه مطالعات است. به‌طور کل میزان فلز سنگینی که در بافت نرم صدف دوکفه‌ای و رسوبات منطقه مورد مطالعه اندازه‌گیری گردید نسبت به استاندارهای مرتبط به‌طور قابل ملاحظه‌ای کمتر بود و از سوی دیگر با سایر مطالعات انجام شده نیز در اکثر موارد قابل مقایسه بود. با توجه به آلوده نبودن موجود و محیط مورد بررسی لذا تغییرات دیده‌شده در میزان غلظت آنزیم‌ها در ایستگاه و فصول مختلف را نمی‌توان به میزان آلاینده ارتباط داد و تحقیق صورت گرفته همبستگی معنی‌دار ضعیفی بین میزان فلزات سنگین در بافت و آنزیم‌ها پیدا کرد.

منابع

۱. اسماعیلی تاجیک، ف.، ۱۳۸۸. بررسی سطوح آنزیم‌های ضداکسیداسیون در بارناکل به عنوان شاخص زیستی آلودگی فلزات سنگین (Ni، V، Cd) در خلیج فارس- جزیره خارک. پایان نامه کارشناسی ارشد مدیریت محیط زیست، دانشکده محیط زیست و انرژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.

۲. امتیازجو، م.، ۱۳۷۹. بررسی تنوع زیستی و پتانسیل تولید مواد زیستی فعال از سیانوباکتری‌های خلیج فارس. پایان نامه دکتری بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران.

۳. بهبهانی، ا.ح.، ۱۳۷٤. مقادیر روند تغییرات هفت فلز سنگین در دو گونه دوکفه‌ای غالب خوراکی و مرواریدساز به روش طیف سنجی. پایان نامه کارشناسی ارشد شیمی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شمال، ۱۸۰ صفحه.

٤. جهانشاهی، ف.، ۱۳۸۸. بررسی سطوح آنزیم‌های ضداکسیداسیون در بارناکل به عنوان شاخص زیستی آلودگی هیدروکربن‌های در خلیج فارس - جزیره خارک، (TPH) نفتی. پایان نامه کارشناسی ارشد مدیریت محیط زیست، دانشکده محیط زیست و انرژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.

۵. حسین‌زاده صحافی، ه.، دقوقی، ب.، رامشی، ح. ۱۳۷۹. اطلس نرمتنان خلیج فارس، موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۲٤۸ صفحه.

٦. حیدری چهارلنگ، ب.، ریاحی بختیاری، ع.، یاوری، و.، ۱۳۹۰. بررسی غلظت فلزات سنگین (Cu، Cd، Zn، و Pb) در رسوبات سطحی سواحل بندر لنگه. پنجمین همایش تخصصی مهندسی محیط زیست، دانشگاه تهران، تهران.

۷. دبیری، م.، ۱۳۷۹. آلودگی محیط زیست آب، خاک، هوا، صوت. انتشارات اتحاد، ٤۰۰ صفحه.

۸. ذوالقدری قره بلاغ، ص.، ۱۳۸۲. اثرات فلزات سنگین بر روی آبزیان. پایان نامه کارشناسی، دانشکده علوم و فنون دریایی.

۹. صفاهیه، ع.، عبداله‌پور منیخ، ف.، سواری، ا.، ۱۳۹۱. غلظت فلزات سنگین در رسوب و ماهی شبه شوریده (*Johnius belangerii*) صید شده از خور موسی در استان خوزستان. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، سال ششم، شماره ۱، صفحات ۸-۱.

۱۰. مرتضوی، ش.، اسماعیل ساری، ع.، ریاحی بختیاری، ع.، ۱۳۸٤. تعیین نسبت نیکل و وانادیوم ناشی از آلودگی‌های نفتی در صدف خوراکی و مرواریدساز در حاشیه سواحل استان هرمزگان، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۵۸، شماره ۱، صفحات ۱۷۲-۱۵۹.

۱۱. رجایی، م.، پورباقر، ه.، فرحمند، ح.، صدیق مرتضوی، م.، افلاکی، ف.، حسینی، س.، ایگدری، س.، ۱۳۹۲. تجمع روی، منیزیم، آهن و مس در بافت‌های نرم صدف مرواریدساز محار (*Pinctada radiata*) در جزایر هندورابی و لاوان، خلیج فارس، نشریه شیلات، دوره ٦٦، شماره ۳، صفحات ۳۰۵- ۲۹۷.

12. Ahmad A.K., Shuhaimi-Othman M., 2010. Heavy metal concentration in sediments and fishes from Lake Chini, Pahang, Malaysia. *Journal of Biological Sciences*, 10(2): 93-100.

13. APHA, AWWA, WEF, 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. American Public Health Association. Washington D.C., USA.

14. ASTM (American Society for Testing and Materials), 1994. Annual book of ASTM standards. Philadelphia, USA. 124(2): 195-202.

15. Barreira L.A., Mudge S.M., Bebianno M.J., 2007. Oxidative stress in the clam *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) in relation to polycyclic aromatic hydrocarbon body burden. *Environment and Toxicology*, 22: 203–221.

16. Bocchetti R., Regoli F., 2006. Seasonal variability of oxidative biomarkers, lysosomal parameters, metallothioneins and peroxisomal enzymes in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* from Adriatic Sea. *Chemosphere*, 65: 913-921.

17. Borković S.S., Šaponjić J.S., Pavlović S.Z., Blagojević D.P., Milošević S.M., 2005. The activity of antioxidant defence enzymes in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Adriatic

Sea. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 141C: 366-374

18. Cailleaud K., Maillet G., Budzinski H., Souissi S., Forget-Leray J., 2007. Effects of salinity and temperature on the expression of enzymatic biomarkers in *Eurytemora affinis* (Calanoida, Copepoda. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 147A: 841-849.

19. Clark R.B., 2001. Marine Pollution. 5th Edition, Oxford University Press, 237 pp.

20. Cossu C., Doyotte A., Babut M., Exinger A., Vasseur P., 2000. Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, unio tumidus, in response to different contamination profiles of aquatic sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 45: 106-121

21. Di Giulio R.T., Hinton D.E., 2008. The Toxicology of Fishes. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis, pp: 319-884.

22. Eboh L. Mepba H.D., Ekp M.B., 2006. Heavy metal contaminants and processing effects on the composition, storage stability and fatty acid profiles of five common commercially available fish species in Oron Local Government, Nigeria. *Journal of Food Chemistry*, 97(3): 490-497.

23. El-Moselhy K.M., Yassien M.H., 2005. Accumulation patterns on heavy metals in venus clams, *Paphia undulate* (Born, 1780) and *Gafrarium pectinatum* (Linnaeus, 1758), from Lake Timsah, Suez Canal, Egypt. *Egyptian Journal of aquatic Research*, 31:1.

24. El-Rjoob A.O., Massadeh A.M., Omari M.N., 2008. Evaluation of Pb, Cu, Zn, Cd, Ni and Fe levels in *Rosmarinus officinalis* labaiatae medicinal plant and soils in selected zones in Jordan. *Environmental Monitoring and Assessment*, 140: 61-68.

25. Filho D.W., Tribess T., Gaspari C., Claudio F.D., Torres M.A., Magalhaes A.R.M., 2001. Seasonal changes in antioxidant defenses of the digestive gland of the brown mussel *Perna perna*. *Aquaculture*, 203: 149-158.

26. Geret F., Serafim A., Barreira L., Bebianno M.J., 2002. Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam *Ruditapes decussatus*. *Biomarkers*, 7:242-256

27. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B., 1974. Glutathione-S-transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological chemistry*, 249: 7130-7139.

28. Hagger J.A., Lowe D., Dissanayake A., Jones M.B., Galloway T.S., 2010. The influence of seasonality on biomarker responses in *Mytilus edulis*. *Ecotoxicology*, 19: 953-962.

29. Hamed M.A., Emara A.M., 2006. Marine molluscs as biomonitors for heavy metal levels in the Gulf of Suez, Red Sea. *Journal of Marine Systems*, 60: 220-234.

30. Hayes J.D., Pulford D.J., 1995. The glutathione-S-transferase family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprevention and drug resistance. *Critical Review of Biochemistry and Molecular Biology*, 30: 445-600.

31. Hédouin L., Metian M., Teyssié J.L., Fowler S.W., Fichez R., Warnau M., 2006. Allometric relationships in the bioconcentration of heavy metals by the edible tropical clam *Gafrarium tumidum*. *Science of the Total Environment*, 366: 154-163.

32. Krogh M., Scanes P., 1996. Organochlorine compound and trace metal contaminants in fish near Sydney,s Ocean out full. *Marin Pollution Bulletin*, 33(7-12):213-235

33. Kureishy T.W., 1993. Concentration of heavy metals in marine organisms around Qatar before and after the Gulf war oil spill. *Marine Pollution Bulletin*, 27: 183-186.

34. 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.

35. Livingstone DR., 1993. Contaminant stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 42: 656-666.

36. Luoma, S.N., 1989. Can we determine the biological availability of sediment-bound trace metals? *Hydrobiologia*, 176/177: 379-396.

37. Manduzio H., Monsinjon T., Galap C., Leboulenger F., Rocher B., 2004. Seasonal variations in antioxidant defences in blue mussels *Mytilus edulis* collected from a polluted area: major contributions in gills of an inducible isoform of Cu/Zn- superoxide dismutase and of glutathione S-transferase. *Aquatic Toxicology*, 70: 83-93

38. Menezes S., Soares A.M.V.M., Guilhermino L., Peck M.R., 2006. Biomarker responses of the estuarine brown shrimp *Crangon crangon* L. to non-toxic stressors: temperature, salinity and handling stress effects. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 335: 114-122.

39. Nahrgang J., Camus, L., Gonzalez P., Jönsson M., Hop H., 2010. Biomarker responses in polar cod (*Boreogadus saida*) exposed to dietary crude oil. *Aquatic Toxicology*, 96(1): 77-83.

40. Reid D.J., Maefarlane 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

41. Regoli F., Orlando, E., Mauri M., Nigro, M. and Cognetti, G.A., 1991. Heavy metal accumulation and calcium content in the bivalve *Donacilla cornea*. *Marine Ecology Progress Series*, 74: 219-224.

42. Regoli F., Principato G., 1995. Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus alloprovincialis*, exposed to metals in different field and laboratory conditions: implications for a proper use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 31: 143-164

43. Regoli F., Frenzilli G., Bocchetti R., Annarumma F., Scarcelli V., Fattorini D., Nigro M., 2004. Time-course variations of oxyradical metabolism, DNA integrity and ysosomal stability in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, during a field translocation experiment. *Aquatic Toxicology*, 68: 167-178.

44. Rodriguez-Ariza A, Peinado J, Pueyo, Lopez-Barea J., 1993. Biochemical indicators of oxidative stress in fish from polluted littoral areas. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50(12), 2568-2573,

45. Rudneva I.I., Zavyalov A.V., Skuratovskaya E.N., 2010. The role of molecular systems in protective reactions of fish infected by parasites. //Ryb.gosp-vo Ukraini. 1: 2-6.

46. Santovito G., Piccinni E., Cassini A., Irato P., Albergoni V., 2005. Antioxidant responses of the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, to environmental variability of dissolved oxygen. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 140: 321-329.

47. Sheehan D., Power A., 1999. Effects of seasonality on xenobiotic and antioxidant defence mechanism of bivalve molluscs. *Comparative Biochemistry and Physiology*, C123, 193-199.

48. Sifi K., Amira A., Soltani N., 2013. Oxidative stress and biochemical composition in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *Advances in Environmental Biology*, 7(4): 595-604.

49. Stohs S.J., Bagchi D., 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal

54. Vlahogianni T., Dassenakis M., Scoullos M.J. and Valavanidis A., 2007. Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece. *Marine Pollution Bulletin*, 54: 1361-1371.

55. Wexels Riser C., Reigstad M., Wassmann P., 2010. Zooplankton-mediated carbon export: a seasonal study in a northern Norwegian fjord. *Marine Biological Research*, 6(5): 461-471.

56. Widdows J., 1978. Combined effects of body size, food concentration and season on the physiology of *Mytilus edulis*. *Journal of the Marine Biological Associations*, 58: 109-124.

57. Won E.J., Kim R.O., Rhee J.S., Park G.S., Lee J., Shin K.H., Lee Y.M., Lee J.S., 2011. Response of glutathione S-transferase (GST) genes to cadmium exposure in the marine pollution indicator worm, *Perinereis nuntia*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 154: 82-92.

ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 18: 321-336

50. Tlili N., Khaldi A., Triki S., Munné-Bosch S., 2010. Phenolic compounds and vitamin antioxidants of caper (*Capparis spinosa*. *Plant Foods Human Nutrition*, 65: 260-265.

51. Torres M.A., Dangl J.L., Jones J.D., 2002. *Arabidopsis* gp91^{phox} homologues *AtrbohD* and *AtrbohF* are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States, 99(1): 517-522.

52. Tüzen M., 2003. Determination of heavy metals in fish samples of the MidDam Lake Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 80: 119-123.

53. Viarengo A, Canesi L, Pertica M, Livingstone DR., 1991. Seasonal variations in the antioxidant defence systems and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 100C: 187-190.