آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، به عنوان نشانگر زیستی فلزات سنگین (نیکل، وانادیوم و کبالت) در منطقه بهرگان

شوکا فصل‌بهار [۱]، مژگان امتیازجو [*۲]، مسعود منوری [۳]، پیمان اقتصادی عراقی [۴]، بهاره شهابی [۵]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد آلودگی های محیط زیست، دانشکده محیط زیست و انرژی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
۲. استادیار بیولوژی دریا عضو هیات علمی دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال دانشگاه آزاد اسلامی،تهران
۳. استادیار بیولوژی دریا عضو هیات علمی دانشکده محیط زیست و انرژی، واحد تهران شمال دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
۴. استادیار بیولوژی دریا موسسه ملی اقیانوس شناسی،تهران
۵. کارشناس محیط زیست و حفاظت صنعتی، شرکت نفت فلات قاره ایران

مکان انجام تحقیق: میدان نفتی بهرگان- خلیج فارس
* **مسؤول مکاتبات:** دکتر مژگان امتیازجو، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده علوم و فنون دریایی، تهران، پست الکترونیکی: Moz_emtyazjoo@yahoo com

تاریخ دریافت:۸۸/۱۲/۲۰ تاریخ پذیرش:۸۹/۳/۳

چکیده

قدمت بررسی تجمع فلزات در بافت آبزیان و اثبات تأثیر آن ها بر اکوسیستم، به چند صده می‌رسد، ولی در چند دهه اخیر، مطالعات بر روی ارتباط آنزیم‌ها با فلزات سنگین، حس کنجکاوی پژوهشگران را افزایش داده است. برخی آلاینده‌های آلی و غیرآلی، سبب تنش‌های اکسایشی در ارگانیسم‌های آبزی می‌شوند. از این رو، شاخص‌های زیستی (بیو اندیکاتورها) مانند برخی از گروههای دوکفه‌ای‌ها، ماهی‌ها و بارناکل‌ها جهت تعیین مناطق آلوده ابزار مفیدی هستند که از طریق آن‌ها می‌توان میزان مواد آلاینده وارد شده به بدن آبزیان و محیط های آلوده را بررسی کرد. از سوی دیگر، در سکوهای نفتی به‌دلیل نشر مواد هیدروکربوری که فلزات سنگین به‌وفور یافت می‌شود و محیط مناسبی برای ارزیابی رابطه بین آنزیم‌ها و فلزات است. بر این اساس، تغییرات سطح آنزیم سوپراکسیدیسموتاز در بارناکل به عنوان نشانگر زیستی، انتخاب و در ۸ ایستگاه منطقه نفتی بهرگان، همراه با نمونه‌های آب دریا جهت اندازه‌گیری نیکل، وانادیوم و کبالت جمع‌آوری گردید. فلزات سنگین در نمونه‌های بافت بارناکل، به‌ترتیب میانگین ۰/۴ppm (نیکل)، ۰/۲ppm (کبالت) و ۰/۲ppm (وانادیوم) را نشان دادند. همچنین آنالیز فلزات به روش جذب اتمی صورت گرفت. بر اساس نرم افزار SPSS نتایج آزمایش‌ها نشان داد که ضریب همبستگی بین آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و فلزات وانادیوم، نیکل و کبالت در آب به‌ترتیب ۰/۴۳، ۰/۵۰ و ۰/۵۶ و در بافت به‌ترتیب ۰/۱۹- ، ۰/۱۵- و ۰/۰۶- است که توسط کیت مربوطه سنجش گردید. در میان پارامترهای محیطی و مواد مغذی، فقط پارامتر TDS همبستگی معنی‌دار مثبت نشان داد (r=۰/۷۷۵).

واژه‌های کلیدی: آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، نشانگر زیستی، فلزات سنگین، منطقه بهرگان

مقدمه

بیومارکرها یا نشانگرهای زیستی در علوم مختلف از جمله پزشکی، بیولوژی سلولی، روان‌شناسی، ژنتیک، سم‌شناسی، اپیدمولوژی و محیط‌زیست، جایگاه مهمی پیدا کرده‌اند (۱) که می‌توان از آن‌ها به عنوان بیان‌کننده تغییرات فیزیولوژیک، بیوشیمی و بافت شناختی حاصل از مواد شیمیایی و

آلاینده‌های محیط زیست در موجودات نام برد. این تغییرات در سطوح مختلف، نظیر سطح سلولی، جمعیتی و حتی اکوسیستمی رخ می‌دهد (۲).

بارناکل‌ها گروهی مهم و منحصر به فرد در رده سخت‌پوستان (زیر رده ریشه‌پایان و راسته توراسیکا) هستند و پراکندگی جهانی و فراوانی زیادی در مناطق دریایی دارند (۳).

بارناکل‌ها دارای قدرت بالایی در تحمل شوری هستند و مانند سایر موجودات سیستم آنزیمی ضداکسیداسیون (آنتی اکسیدان) نیز دارند (۳).

افزایش میزان فلزات سنگین نظیر نیکل، کبالت و وانادیوم در خلیج‌فارس ناشی از نشت مواد نفتی، رکن اصلی آلایندگی منطقه به‌شمار می‌آید. شایان ذکر است عناصر کبالت و نیکل، از دیگر منابع نیز می‌توانند وارد محیط شوند (۴). برخی آلاینده‌های آلی و غیرآلی، سبب تنش‌های اکسایشی در ارگانیسم‌های آبزی می‌شوند. از این رو، شاخص‌های زیستی (بیو اندیکاتورها) مانند برخی از گروه‌های دوکفه‌ای‌ها، ماهی‌ها و بارناکل‌ها جهت تعیین مناطق آلوده ابزار مفیدی هستند که از طریق آن‌ها می‌توان میزان مواد آلاینده وارد شده به محیط را مورد ارزیابی قرار داد (۵). گیگوئرا و همکاران (۲۰۰۳)، کاربرد بیومارکرهای ویژه مواد سمی مانند متالوتیونین را به‌طور گسترده‌ای برای تشخیص حضور فلزات سنگین معرفی نمودند (۶).

بر اساس تحقیقات مانسرات و همکاران (۲۰۰۳)، با توجه به این که بی‌مهرگان تحرک اندکی دارند و منعکس کننده آلودگی محلی هستند، می‌توان از این موجودات در برنامه‌های کنترل زیستی بهره جست (۷).

چیونگ و همکاران (۲۰۰۱)، مناسب‌بودن پارامترهای آنتی‌اکسیدانی مختلف مانند گلوتاتیون-S- ترانسفراز (GST)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، NADPH DT – دیافوراز (DT-d)، گلوتاتیون (GSH) و لیپید پراکسید (LPO) را به منظور کاربرد به‌عنوان بیومارکر در ارگانیسم‌های مختلف بررسی کردند (۸).

هر موجودی در شرایط مناسب، قادر به زندگی است و آبزیان نیز از این قاعده مستثنی نیستند، بنابراین، به منظور حفاظت از آبزیان می‌بایست آلاینده‌های محیط زیست آن‌ها تحت کنترل قرار گیرند. آبزیان به‌دلیل جایگاه خاص در رژیم غذایی انسان، از اهمیت بالایی برخوردارند و به همین جهت، حفظ و کنترل کمی و کیفی آن‌ها برای انسان نقش حیاتی دارد. در عصر حاضر با گسترش مراکز صنعتی و شهری در سواحل دریا، تردد کشتی‌ها، حفاری‌ها و تاسیسات استخراج نفت و گاز از حاشیه و بستر دریاها، تولیدات نفتی، سموم کشاورزی و بازگشت پساب‌ها به دریاها از طریق رودخانه‌ها عوامل اصلی آلاینده محیط آبزیان به‌شمار می‌آیند. در ترکیب شیمیایی این پساب‌ها، فلزات سنگین، شاخص‌ترین و خطرناک‌ترین اجزا هستند که با افزایش میزان استاندارد آن‌ها زیان غیرقابل جبرانی به محیط زیست آبزیان وارد می‌شود. این آلودگی‌ها در دریاهای نیمه بسته‌ای همچون خلیج‌فارس، به‌دلیل پایین‌بودن درجه تعویض و مبادله آب بین بخش‌های مختلف دریا، کم‌عمقی، محدودیت مساحت، تبخیر بیش از حد آب و نیز عدم اختلاط آلاینده‌ها در کل سبب شده است در منطقه آلودگی تشدید شود و این امر، نیاز به پایش و کنترل بیشتری دارد (۹).

خلیج‌فارس از مهم‌ترین مناطق دریایی جهان است. در سال ۱۹۷۹، سازمانی تحت عنوان سازمان منطقه‌ای حفاظت از محیط زیست دریایی (ROPME) تشکیل شد که تاکنون مطالعات بسیاری در زمینه آب، رسوبات و آبزیان این دریا انجام داده است (۱۰). از مهم‌ترین مطالعاتی که همه ساله توسط این سازمان انجام می‌شود، ارزیابی غلظت فلزات سنگین در آب، رسوبات و در برخی از آبزیان است (۱۱).

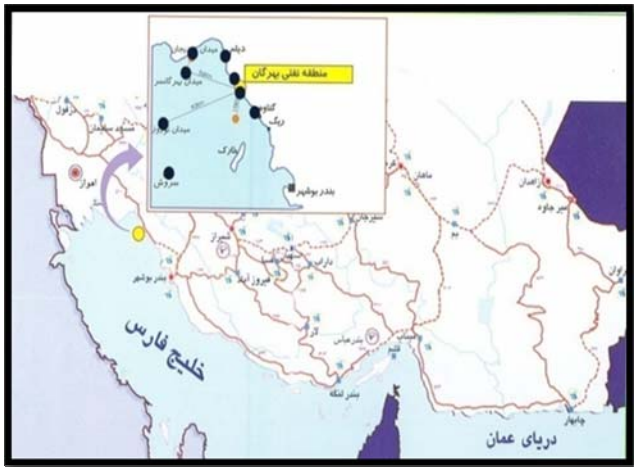
عموماً پساب خروجی از صنایع، فاضلاب خانگی و آلودگی‌های نفتی، حاوی مخلوطی از مواد آلی، معدنی، کربوهیدرات، فلزات سنگین و غیره است. از میان انواع منابع آلاینده، فلزات سنگین به‌دلیل اثرات سمی در محیط و ایجاد پدیده تجمع زیستی در آبزیان مختلف و در نتیجه تاثیر آن‌ها در زنجیره غذایی آبزیان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۹).

بر این اساس در تحقیق حاضر به تعیین میزان فلزات سنگین نیکل، کبالت و وانادیوم در بارناکل در منطقه عملیاتی بهرگان و ارتباط آن با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در راستای اهداف پروژه تعداد ۸ ایستگاه بر اساس میزان آلودگی و پراکنش موجود در منطقه انتخاب شد و نمونه‌برداری در پاییز ۱۳۸۷ صورت گرفت. همچنین پایین‌ترین زمان جزر برای نمونه‌برداری انتخاب شد.

مختصات جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری توسط GPS همراه با دمای هوا و آب و ساعت نمونه‌برداری در جدول ۱ ارائه گردیده است (جدول ۱ و تصویر ۱).



تصویر ۱- موقعیت منطقه ایستگاه‌های نمونه‌برداری.

جدول ۱- مشخصات ایستگاه‌های نمونه‌برداری منطقه نفتی بهرگان- خلیج فارس.

شماره	نام ایستگاه	مشخصات جغرافیایی	ساعت نمونه‌برداری	دمای آب °C	دمای هوا °C
۱	سکوی نوروز جدید	N ۲۸ °۲۹ '۴۰ " E ۲۳ °۴۹ '۴۰ " ▪	۱۰	۲۰	۲۱
۲	سکوی نوروز قدیم	N ۳۰ °۲۹ '۱۰۰ " E ۲۴ °۴۹ '۲۰۰ " ▪	۱۰	۲۰	۲۳
۳	گناوه	N ۲۸ °۲۹ '۳۸ " E ۲۳ °۴۹ '۳۱ " ▪	۱۹	۱۹	۱۸
۴	اسکله بهرگان سر	N ۴۶ °۲۹ '۴۶ " E ۲۳ °۴۹ '۳۱ " ▪	۹	۲۱	۲۰
۵	خور ماهی گیری	N ۴۹ °۲۹ '۳۵ " E ۲۳ °۴۹ '۳۱ " ▪	۱۴	۲۱	۱۹
۶	سکوی سروش	N ۱ °۲۹ '۷/۶۹ " E ۲۷ °۴۹ '۲۲/۱۵ " ▪	۱۰:۳۰	۱۵	۱۶۰
۷	دیلم	N ۳ °۳۰ '۱ " E ۹ °۵۰ '۳ " ▪	۱۶	۱۸	۱۷
۸	سکوی بهرگان سر	N ۵۹ °۳۰ '۲۳ " E ۵۰ °۴۹ '۵۸ " ▪	۱۰	۱۳	۱۰

سنجش مواد مغذی

نمونه‌برداری داخل ظروف شیشه ای از قبل آماده شده (۱۲) جمع آوری و روی یخ به آزمایشگاه انتقال یافت (۱۲).

سنجش مواد مغذی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل DR ۲۸۰۰) سنجش شد. مواد مغذی نیترات، نیتریت و فسفات به ترتیب با استفاده از روش احیای کادمیوم، معرف سولفونیلیک و فسفات توسط معرف اسید آسکوربیک انجام شد (۱۲).

پارامترهای محیطی

در رابطه با پارامترهای محیطی، هدایت الکتریکی با دستگاه دیجیتال (CON-۰۱، مدل ۱۵۶ ND/Sension و ۰۰-۵۱۹۷۵)، یون کلراید به روش تیتراسیون نیترات نقره و کل جامدات محلول(TDS) با استفاده از روش استاندارد متد (1995) اندازه‌گیری و در نهایت محاسبه گردید (۱۲).

نمونه‌برداری و سنجش فلزات سنگین در آب

نمونه‌برداری، داخل ظروف مناسب انجام شد (۱۳). از هر ایستگاه یک لیتر آب، برداشت و با اسید نیتریک غلیظ، تثبیت و به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌های انتقال یافته، توسط دستگاه جذب اتمی شعله مدل Spectr AA.10 سنجیده شد (۱۳).

نمونه‌برداری و سنجش فلزات سنگین در بافت

نمونه‌برداری از بارناکل‌ها به دو منظور، یعنی سنجش میزان فلزات سنگین نیکل، کبالت و وانادیوم و همچنین اندازه‌گیری سطح آنزیم سوپراکسید دسیموتاز انجام شد.

بارناکل‌ها با استفاده از قلم و چکش و کاردک، از بستر جدا شده، سپس به ۲ قسمت، تقسیم و درون فویل‌های آلومینیومی، بسته‌بندی و کدگذاری شدند. به منظور کمینه‌سازی تغییر سطح آنزیم‌ها و دقت کافی، نمونه‌ها در یونولیت‌های حاوی یخ توسط هلیکوپتر به آزمایشگاه منطقه، منتقل و منجمد شدند و از آن‌جا جهت سنجش به آزمایشگاه تهران انتقال یافتند. و تا زمان انجام آزمایش‌های مورد نیاز، در دمای ۸۰- سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۴).

سنجش فلزات سنگین در بافت بارناکل

نمونه‌های منجمد شده، پس از جدا کردن از پوسته، به درون ظروف از قبل استریل شستشو داده قرار گرفت و جهت خشک شدن بافت‌های جدا شده، نمونه‌ها به مدت ۱۸ ساعت در گرمخانه (انکوباتور) در حرارت ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (۱۵). نمونه‌های خشک شده در هاون عقیق ریخته و هموژن گردید (۱۵).

هضم نمونه‌ها

یک گرم از بافت نرم خشک شده و یکنواخت، به بشر منتقل و روی آن ۱-۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید تا نمونه‌ها مرطوب شوند. جهت هضم محتویات، اسید نیتریک غلیظ به آن اضافه و نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد (۱۵).

سنجش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

سنجش آنزیم سوپراکسید دسیموتاز بر طبق دستور کیت آنزیم سوپراکسید دسیموتاز (۱۶) با شستشوی بافت با بافر فسفات نمکی (PBS) با pH= ۷/۴ آغاز گردید. سپس بافت در ۱۰-۵ میلی‌لیتر از بافر سرد ۲۰mM HEPES با pH=۷ همراه با۱ mM EDTA، ۲۱۰mM مانیتول و ۷۰ mM ساکارز به ازای هر گرم بافت هموژنایز شد. در نهایت، نمونه‌ها در ۱۵۰۰۰ g برای ۱۰دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند و محلول رویی برای سنجش سطح آنزیم SOD به کار گرفته شد.

چاهک‌های SOD استاندارد، شامل ۲۰۰µL از رادیکال دتکتور و ۱۰µL از استاندارد (لوله‌های A-G) هستند. چاهک‌های نمونه نیز شامل ۲۰۰µL رادیکال دتکتور رقیق و ۱۰µL از نمونه اند.

آغاز واکنش‌ها به وسیله اضافه کردن ۲۰µL از گزانتین اکسیداز رقیق شده به تمام چاهک‌ها صورت

گرفت. سپس درب پلیت الایزا پوشیده شد و برای چند ثانیه در دمای اتاق مخلوط گردید. انکوباسیون پلیت برای ۲۰ دقیقه در دمای اتاق روی شیکر انجام گردید و در آخر پلیت درون دستگاه الایزا در ۴۵۰ نانومتر خوانده شد و میزان فعالیت SOD استاندارد (U/mL) از طریق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$SOD(U/mL) = [(\frac{sample OD - Y - Intercept}{Slope}) \times \frac{۰/۲۳mL}{۰/۰۱mL}] \times Sample dilution$$

میزان فعالیت ویژه SOD (U/mL/mg Protein) نیز از طریق فرمول زیر به دست آمد (۱۷).

$$\frac{\text{فعالیت آنزیم SOD (U/mL)}}{\text{میزان پروتئین نمونه}} = \text{فعالیت ویژه آنزیم SOD (U/mL/mg Protein)}$$

تحلیل آماری داده‌ها

نتایج به‌دست آمده، با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این رابطه، ضریب همبستگی هریک از فلزات سنگین (نیکل، کبالت و وانادیوم) در نمونه‌های آب و بافت با فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بررسی شد. ضریب همبستگی پیرسون بین پارامترهای محیطی به دلیل اهمیت شان در تعیین بیومارکر با آنزیم مربوطه نیز مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج

براساس اندازه‌گیری انجام شده مقدار فسفات و نیتریت در منطقه بسیار پائین بود و البته مقدار نیترات، نسبت به فسفات و نیتریت بارزتر است (جدول ۲).

جدول ۲- پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ایستگاه‌های منطقه بهرگان.

پارامتر / ایستگاه	دمای آب °C	TDS Mg/lit	نیترات mg/lit	فسفات mg/lit	نیتریت mg/lit	هدایت الکتریکی µmhos/Cm	کلراید mg/lit
اسکله بهرگان	۲۱	۳۹۲۶۰	۳/۰۹۹	۰	۰/۰۱۹۸	۵۶۹۰۰	۲۴۹۰۱
نوروز جدید	۲۰	۴۰۷۰۰	۲/۲۲	۰/۰۱	۰/۰۱۳۱	۵۸۲۰۰	۲۵۲۸۳
نوروز قدیم	۲۰	۴۰۷۱۰	۲/۲۲	۰/۰۲	۰/۰۱۶۴	۵۸۲۰۰	۲۵۱۳۰
گناوه	۱۹	۳۸۹۲۰	۲/۶۶	۰/۰۱	۰/۰۱۶۴	۵۶۴۰۰	۲۳۶۸۷
دیلم	۱۸	۴۱۵۰۰	۳/۰۹۹	۰/۰۱	۰/۰۰۹۹	۵۹۳۰۰	۲۵۸۹۶
سکوی بهرگان	۲۱	۴۱۱۰۰	۳/۰۹۹	۰/۰۳	۰/۰۱۳۱	۵۸۷۰۰	۲۵۳۵۹
سروش	۱۵	۴۰۱۰۰	۲/۶۶	۰/۰۱	۲/۶۶	۵۷۶۰۰	۲۴۸۲۳
خور ماهی گیری	۲۱	۳۸۹۳۰	۳/۰۹۹	۰/۰۱	۰/۰۱۹۸	۶۵۴۰۰	۲۴۴۴۰

بر اساس نتایج به دست آمده مقدار فلزات سنگین در آب دریا و بافت بارناکل به علت تقریباً یکسان بودن مقدار آن‌ها (به غیر از مقدار وانادیوم در ایستگاه‌های نوروز قدیم و جدید در نمونه‌های آب) همبستگی با سطح آنزیم سوپراکسیددیسموتاز نشان ندادند (جدول ۳).

جدول ۳- مقدار فلزات سنگین نیکل، کبالت و وانادیوم در نمونه‌های آب دریا و بافت بارناکل در ایستگاه‌های منطقه بهرگان برحسب ppb و ppm.

فلز / ایستگاه	نیکل		کبالت		وانادیوم	
	بافت	آب	بافت	آب	بافت	آب
سکوی بهرگان	۰/۲	۴	۰/۳	۲	۰/۳	۴
سروش	۰/۳	۵	۰/۴	۳	۰/۱	۵
نوروز جدید	۰/۵	۳	۰/۲	۵	۰/۴	۲۰
نوروز قدیم	۰/۴	۲	۰/۱	۶	۰/۲	۳۰
دیلم	۰/۶	۵	۰/۳	۷	۰/۳	۳
گناوه	۰/۲	۴	۰/۲	۸	۰/۱	۶
اسکله بهرگان	۰/۸	۶	۰/۲	۴	۰/۲	۷
خور ماهی گیری	۰/۵	۷	۰/۱	۵	۰/۴	۸

نتایج حاصل از بررسی آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در جدول ۴ آورده شده است.

جدول ۴- فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت بارناکل منطقه بهرگان

آنزیم / ایستگاه	آنزیم SOD Specific activity (U/ml/mg Protein)	آنزیم SOD activity (U/ml)
سکوی بهرگان	۱۱۵/۷	۱۹۹
سروش	۱۹۰	۴۵۵/۸۴
نوروز جدید	۱۱۷	۲۵۹/۲۶
نوروز قدیم	۵۱۲	۹۹۲/۲۹۰
دیلم	۴۲۷	۲۴۹
گناوه	۲۰۴/۵	۲۷۱/۵
اسکله بهرگان	۴/۹۵	۵/۱۹۸
خور ماهی گیری	۷۶	۱۱۷

بیشترین مقدار فعالیت ویژه آنزیم SOD مربوط به ایستگاه نوروز قدیم و کمترین آن، مربوط به ایستگاه اسکله بهرگان است.

میزان فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در بین ایستگاه‌های مختلف بدین صورت است:

نوروز قدیم> گناوه>سروش>نوروز جدید>سکوی بهرگان>خور ماهی‌گیری>اسکله بهرگان.

نتایج سنجش ضریب همبستگی بین فلزات نیکل، کبالت و وانادیوم با آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مشخص نمود که همبستگی معنی‌داری بین این پارامترها وجود ندارد. همچنین ضریب همبستگی بین پارامترهای محیطی و مواد مغذی نیز با آنزیم ارزیابی گردید و فقط پارامتر TDS با آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، همبستگی مثبت معنی‌داری را نشان داد ($r=0.775$).

بحث

نتایج به دست آمده از آزمایش نمونه‌های برگرفته از ۸ ایستگاه برای تعیین میزان سه عنصر نیکل، کبالت و وانادیوم در مقایسه با استانداردها نشان

می‌دهد که در تمام ایستگاه‌ها مقدار هر یک از فلزات سنگین در بافت بارناکل تقریباً یکسان بوده و مقدار آن‌ها در حد مجاز برآورد شده است. از طرف دیگر، طبق نتایج، سنجش فلزات سنگین در آب دریا در ۸ ایستگاه تقریباً یکسان گزارش شده است و فقط ۲ ایستگاه نوروز جدید و نوروز قدیم نسبت به ۶ ایستگاه دیگر وانادیوم بیشتری نشان داده‌اند. مقادیر اعلام شده به غیر از عنصر نیکل براساس منابع مختلف، در حد استاندارد نیست. از این رو، دو عنصر کبالت و وانادیوم به عنوان آلاینده‌های منطقه به شمار می‌آیند (۲۴-۱۷). از آن‌جایی که خلیج‌فارس یکی از مهم‌ترین آبراهه‌های جهان و میادین نفتی دنیا محسوب می‌شود، به همین جهت، اثر نشت مواد نفتی و سوخت‌های فسیلی در پایانه‌های نفتی و پالایشگاه‌ها و نیروگاههای متعددی که در حاشیه آن استقرار یافته‌اند و همچنین تخلیه پساب‌های شهری و مناطق صنعتی به دریا و رودخانه‌های منتهی به خلیج، سبب آلوده شدن این آبراهه مهم به فلزات سنگین مانند کبالت و وانادیوم موجود در ترکیبات مشتقات نفتی می‌شوند.

بر اساس تحقیقی که بر روی صدف مرواریدساز و خوراکی در چند ایستگاه خلیج فارس صورت گرفته، مشخص شده است این صدف‌ها دو عنصر نیکل و وانادیوم را در ایستگاه‌هایی که در ساحل هستند، نسبت به سایر ایستگاه‌ها (دورتر از ساحل) در بافت خود بیشتر ذخیره می‌کنند (۹). جریان‌های دریایی سبب می‌شود که در ایستگاه‌های دورتر از ساحل، فرصت لازم برای ته نشست و رسوب آلاینده‌ها نداشته باشند و بدین ترتیب آلاینده‌ها به سواحل و مناطق حاشیه، حمل و ته نشین می‌شوند. البته برخلاف این دیدگاه در تحقیق انجام شده در ۸ ایستگاه این پروژه که ۴ ایستگاه در ساحل و ۴ ایستگاه دور از ساحل قرار داشتند، غیر از دو ایستگاه نوروز جدید و قدیم که مقدار وانادیوم آن‌ها بیش از سایر ایستگاه‌ها بوده است، میزان فلزات سنگین در آب دریا و بافت بارناکل تفاوت بارزی نشان نداده‌اند.

از آن‌جایی که تجمع فلزات سنگین در بافت موجودات، به خصوص موجودات کفزی مانند دوکفه‌ای‌ها و بارناکل‌ها به شرایط محیطی و پارامترهای فیزیکوشیمیایی بستگی دارد، تعداد دفعات نمونه‌برداری می‌تواند در سنجش دقیق‌تر این عناصر مؤثر باشد.

مقدار مواد مغذی سنجش شده در این تحقیق، نیترات، فسفات و نیتریت است که مقدار فسفات و نیتریت، بسیار اندک و ناچیز و قابل اغماض است. در مقابل، مقدار نیترات، در ایستگاه‌ها بارز بود. با این وجود در زمان نمونه‌برداری، شکوفایی پلانکتونی مشاهده شد که این پدیده خود نشان‌دهنده دمای مناسب و حجم زیاد مواد مغذی است، ولی نتایج به دست آمده نشان دهنده این شرایط نیست و شاید بتوان کاهش نیتریت و فسفات را در منطقه به دلیل استفاده پلانکتون‌ها از مواد مغذی توجیه کرد.

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 جون گنادها سبب تغییراتی در سطح غلظت آلاینده‌ها و سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌شود؛ بر این اساس باید بررسی تغییرات فصل و چرخه زندگی جاندار مورد توجه قرار گیرد (برخی جانداران در بعضی سنین، حساس‌ترند (۲۵). همچنین در تحقیق دیگری که بر روی سطح سیستم‌های آنتی اکسیدانی SOD در یک نوع دوکفه‌ای بومی در طول سه سال صورت گرفته، مشخص شده است که فعالیت این آنزیم با توجه به تأثیرات فصلی، مرحله تولید مثلی و غیره نمی‌تواند به عنوان یک شاخص زیستی در ایجاد اختلال در دوکفه‌ای‌ها بیان شود (۲۶). این مطلب، با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر مغایرت دارد.

در بین فلزهای سنجش شده در ایستگاه‌ها و همچنین تعیین ضریب همبستگی آن‌ها با آنزیم SOD، مشخص گردید که به علت تقریباً یکسان بودن، فلزهای نیکل و کبالت در ایستگاه‌ها رابطه معنی‌داری با آنزیم SOD ندارند. اما فلز وانادیوم همبستگی ناقص منفی با آنزیم SOD نشان داد ($r=0.189$).

تصور بر این است که میزان فعالیت آنزیم SOD در ایستگاه نوروز قدیم به دلیل فراوانی عنصر وانادیوم، زیاد است؛ زیرا تحقیق دیگری که در رابطه با PAHS در همان مناطق صورت گرفته، نشان می‌دهد، فعالیت SOD نیز در ایستگاه نوروز قدیم، زیاد است و مقدار آلودگی این ایستگاه از نظر PAHS نسبت به سایر ایستگاه‌ها در رتبه ۲ قرار دارد (۱۰).

همچنین مقدار فلزات سنگین (نیکل، کبالت و وانادیوم) در نمونه آب ایستگاه سروش با سایر ایستگاه‌ها برابر است، ولی مقدار فعالیت SOD در این ایستگاه نسبت به سایر ایستگاه‌ها در درجه سوم فعالیت قرار دارد. این امر می‌تواند نشان‌دهنده تأثیر پارامترهای محیطی و سایر آلودگی‌ها از جمله PAHS و سایر فلزات سنگین بر میزان فعالیت SOD باشد.

واکنش‌های آنتی اکسیدانی در صدف‌ها به طور گسترده پدیده تکامل یافته است. بدین معنی که چندین آنزیم می‌توانند به طور همزمان در آن شرکت کنند و عوامل استرس اکسایشی راکاهش دهند. با افزایش درجه آلودگی، سطح فعالیت آنزیم‌ها تا مرحله‌ای زیاد می‌شود و از آن به بعد بر اثر افزایش سطح آلاینده، سطح آنزیم کاهش می‌یابد که این کاهش حاصل نتیجه منفی آلاینده بر آن است.

حضور SOD به صورت یک آنزیم پایدار و مهم در صدف هاست، زیرا این آنزیم به طور هم زمان در داخل و بیرون سلول حضور دارد و به طور موضعی می‌تواند جلوی ROS را بگیرد که به سلول‌ها آسیب می‌رساند و از این رو سریع تر تحریک می‌شود (۱۶و۲۴).

به دلیل زیاد بودن فعالیت SOD و همچنین با توجه به این امر که این آنزیم در حضور رادیکال سوپراکسید، فعال می‌شود، می‌توان انتظار داشت که مقدار بافتی این رادیکال زیاد باشد و در خثنی سازی آلودگی تحریک وسیعی داشته باشد، به همین جهت می‌توان این آنزیم را نسبت به آنزیم CAT، بیومارکر بهتری دانست (۱۲،۲۴،۱۵).

با توجه به شرایط اندازه‌گیری و نتایج به دست آمده (ضرایب همبستگی بین پارامترهای محیطی، فلزات سنگین با آنزیم SOD) می‌توان این گونه استنباط کرد که باناکل نمی‌تواند به عنوان یک بیومارکر در ارتباط با فلزات سنگین نیکل، کبالت و وانادیوم مطرح گردد.

از سوی دیگر، پارامتر محیطی TDS با آنزیم مذکور همبستگی معنی‌دار مثبت نشان داد. از این رو می‌توان SOD را برای پارامترهای محیطی به عنوان یک بیومارکر در نظر گرفت (نتایج مشابه در رابطه با این پارامتر یافت نشد). البته با تکرار این پارامترها در طول ۴ فصل سال می‌توان نتایج بهتری به دست آورد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات پرسنل زحمتکش شرکت نفت فلات قاره ایران در منطقه عملیاتی بهرگان در بخش HSE، آزمایشگاه و عملیات دریایی به خاطر کمک‌های بی شائبه آنها سپاسگزاری می‌گردد.لازم به ذکر است، این تحقیق با پشتیبانی مالی بخش پژوهش و توسعه شرکت نفت فلات قاره ایران انجام شده است.

منابع مورد استفاده

۱- اسماعیلی تاجیک، ف.، ۱۳۸۸، بررسی سطوح آنزین های ضداکسیداسیون در بارناکل به عنوان شاخص زیستی آلودگی فلزات سنگین(Ni,V,Co) 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- پایدار، م.، ۱۳۸۰، تأثیر آلودگی عناصر سنگین در تالاب انزلی بر عضله و پوسته شاه میگو

Astacus Leptodactylus، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس.

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

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

۶- سعیدپور، بهزاد،۱۳۸۶ ، پژوهش های علوم و فنون دریایی آزاد، سال ۲،شماره ۴.

۷- شهبازی، پ.، ۱۳۸۶، بررسی و تعیین غلظت عناصر سنگین (Cr, Cd, Cu, Fe, Pb, Mn, Zn, Ni) در آب و رسوب رودخانه، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم و فنون دریایی. -

۸- فصل بهار، ش.، ۱۳۸۸،استفاده از آنزیم های ضداکسیداسیون در بارناکل، به عنوان نشانگر زیستی آلودگی(Ni,Co,V) محیط به فلزات سنگین در منطقه بهرگان، پایان نامه کارشناسی ارشد علوم محیط زیست، دانشکده محیط زیست و انرژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.

۹- مرتضوی، ش.، اسماعیل ساری، ع.، ریاحی بختیاری، ع.، ۱۳۸۴، تعیین نسبت نیکل و وانادیوم ناشی از آلودگی‌های نفتی در صدف خوراکی و مروارید ساز در حاشیه سواحل استان هرمزگان، مجله منابع طبیعی، ج ۵۸، شماره ۱.

۱۰- نیک بین، ن، ۱۳۸۸،بررسی میزان انزیم های آنتی اکسیدان در بالانوس های بهرگان و ارتباط آن با آلودگی نفتی،پایان نامه کارشناسی ارشد گرایش جانوری دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی.

11- Ahmad, S., Pritsos, C. A., Bowen, S. M., Heisler, C. R., Blomquist, G. J., Pardini, R. S., 1988. Subcellular distribution and activities of superoxide dismutase, Catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase in the southern armyworm, spodopthera eridania. Arch Insect Bio Chem Physiol 7: 173-186.

12- Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A., Deuderi, M., 2007. Assessment of environment pollution at Blearic Islands applying oxidative stress biomarkers in mussel *Mytilus galloprouincialis*. Comparative Biochemistry and Physiology (part c) 146: 531 – 539.

13- Cajaraville, M. P., Bebianno, M. J., Blasco, J., Prote, C., Sarasquete C., Viarengo, A., 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian penninsola: a practical approach. The Science of the Total Enviromment 22: 13-17.

14- Cayman Chemical Campany, 2008. Super oxide Dismutase Assay kit, Catalog No. 706002.

15- Cheung, C. C. C., Zheng, G. S., Lig, A. M. Y., Richardson, B. J., Lam, P. K. S., 2001. Relationship between tissue concentrations of Polycyclic Hydrocarbons and antioxidetive responses of marine mussels, Perna riridid. Aquatic Toxicology 52: 189-203.

16- Dazy, M., Masfaraud, J. F., Ferad, J. F., 2008. Induction of oxidative stress biomarkers associated with heav metal stress in *Fontinalis antipyretica* Hedw. Chemosphere 75: 297-302.

17- Enrique, A., Dalmass, H., 2008. Planning for success in biomarker discovery. Genetic Engineering and Biotechnology News 28: 28-30.

18- Giguère, A., Couillard, Y., Campbell, P. G. C., Perceval, O., Hare, L., Pinel-Alloul, B., Pellerin, J., 2003. Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient. Aquat Toxicol 64: 185–200.

19- Franson, M. A. H., 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater, washington. American public Health association 22:56-59.

20- 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.

21- Menard, H. W., 1977. Ocean science, scientific American Inc 13: 45-51.

22- Manual of oceanographic observations and pollutant analyses methods (MOOPAM), Kuwait, 1999.

23- Monserrat, J, M., Geracitano, L, A., Bianchini, A., 2003. Current and future perspectives using biomarkers to assess pollution in aquatic ecosystems. Comments Toxicol 9: 255-269.
24- Niyogi, S., Biswas, S., Sarker, S., Datta, 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.
25- 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.
26- Vasseur, B., Cossu-Leguille, C., 2003. Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety. Environment International 28: 711-717.